



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**SEVOFLURAN ANESTEZİSİ ALTINDAKİ TAVŞANLARDA
BUPİVAKAİN İLE OLUŞTURULAN SİYATİK SİNİR
BLOĞUNA İNSÜLİNİN KLİNİK, ELEKTROFİZYOLOJİK
VE HİSTOPATOLOJİK ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Yasin AKSİN

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Ahmet Selim ÖZKAN

MALATYA-2021



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI**

**SEVOFLURAN ANESTEZİSİ ALTINDAKİ TAVŞANLARDA
BUPİVAKAİN İLE OLUŞTURULAN SİYATİK SİNİR BLOĞUNA
İNSÜLİNİN KLİNİK, ELEKTROFİZYOLOJİK VE
HİSTOPATOLOJİK ETKİSİ**

Tıpta Uzmanlık Tezi

Dr. Yasin AKSİN

ORCID ID: 0000-0001-5552-1469

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Ahmet Selim ÖZKAN

MALATYA-2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Lokal Anestezikler	2
2.1.1. Lokal Anesteziklerin Etki Mekanizması.....	2
2.1.2. Lokal Anesteziklerin Farmakodinamikleri	6
2.2. İnsülin	16
2.2.1. İnsülinin Etkisi.....	16
2.2.2. İnsülin Preparatları ve Kimyası	17
2.2.3. İnsülin Sentezi.....	17
2.2.4. İnsülinin Parçalanması.....	18
2.3. Bupivakain ve İnsülin	18
2.4. Siyatik Sinir Blok.....	19
2.4.1. Alt Ekstremitenin Anatomisi	19
2.4.2. Alt Ekstremitte Periferik Sinir Blokları	21
2.4.3. Alt Ekstremitte Periferik Blok Komplikasyonları	23
2.5. Sevofluran	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Denekler.....	25
3.1.1. Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri.....	25
3.1.2. İlaçların Hazırlanması ve Deneklerin Hazırlanması, Grupların Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları	25
3.2. Değerlendirme Yöntemleri	31

3.2.1. Motor Fonksiyon Değerlendirilmesi (Penęe ekme Motor)	31
3.2.2. Duyusal Fonksiyonun Değerlendirilmesi (Penęe ekme Duysal).....	31
3.2.3. Hot-Plate Test Değerlendirmesi.....	32
3.3. Hayvan Yaşamını Sonlandırma Yöntemi	32
3.4. Histoloji Gereç-Yöntem.....	32
3.5. Histolojik Değerlendirme	32
4. BULGULAR.....	34
4.1. Klinik Bulgular	34
4.2. Elektrofizyoloji Bulguları	45
4.3. Histolojik Bulgular	47
4.3.1. Akut Uygulama.....	47
4.3.2. Kronik Uygulama	49
4.4. İstatistiksel İncelemeler	51
5. TARTIşMA	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	60
EKLER.....	70
EK-1. Etik Kurul Onayı.....	70

TEŞEKKÜR

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu tarafından (Proje kodu: TTU-2019-1966) desteklenmiştir. Projemize verdikleri maddi destek için İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Uzmanlık eğitimim boyunca özel ilgi duyduğum algoloji alanındaki bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteğini esirgemeyen değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ'a,

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren tez danışmanım sayın Doç. Dr. Ahmet Selim ÖZKAN'a,

Tezime her türlü desteği sağlayan başta Doç. Dr. Erol KARAARSLAN ve Doç. Dr. Sedat AKBAŞ hocalarım olmak üzere bölümümüzün tüm değerli hocalarıma,

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Onural ÖZHAN'a

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ Deney hayvanları veteriner teknisyenleri Gamze ve Onur ÖZKAYA çiftine,

Uzmanlık eğitimim süresince beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, teknisyenlerimize, sağlık personelimize,

Zorlu eğitim sürecinde desteklerini esirgemeyen aileme ve her koşulda yanımda olan canım eşime, bu süreçte ailemize katılan hayatıma anlam katan canım oğlum Barış Çağan'ıma,

Teşekkür ederim

ÖZET

Sevofluran Anestezisi Altındaki Tavşanlarda Bupivakain ile Oluşturulan Siyatik Sinir Bloğuna İnsülinin Klinik, Elektrofizyolojik ve Histopatolojik Etkisi

Amaç: Bu çalışmamızda; özellikle uzun etkili lokal anesteziğin etki sürelerini kısaltarak olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak amaçlı tercih edilmiş olan ve lokal anesteziğin etki sürelerini kısaltan insülinin siyatik sinir blokajı üzerinde etkilerini, sevofluran anestezisi uygulanmış tavşanlarda, klinik, elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak göstermeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: 32 adet Yeni Zellanda tipi erkek tavşanın sağ arka ekstremitte siyatik sinirinde çalışıldı. Grup 1’de (Kontrol, Sham) 0,7 ml serum fizyolojik, Grup 2’de (İnsülin) 0,5 Ü/kg insülin (0,7 ml), Grup 3’te (Bupivakain) 0,5 mg/kg bupivakain (0,7 mL) ve Grup 4’te (Bupivakain+İnsülin) 0,5 mg/kg bupivakain + 0,5 Ü/kg insülin (0,7 ml) enjekte edildi. Tüm gruplarda cilt kapatıldıktan sonra 30 dakikada bir pençe çekme tepkisi izlenerek kaydedildi. Hot-plate testi kullanıldı. Bilgisayar destekli elektrofizyolojik yanıtlar kaydedildi. Ayrıca doku histopatolojisi incelenmek üzere 1. ve 14. günlerde örnekler alındı.

Bulgular: Pençe Çekme Testi duyuşal blok açısından 0., 30. ve 60. dakikalarda, Pençe Çekme Testi motor blok açısından tüm zaman dilimlerinde anlamlı farklılıklar saptandı. Pençe Çekme Testi motor blok açısından Grup 3’teki skorların diğer gruplardan anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilmiştir. Elektrofizyolojik ölçümlere göre insülinin bupivakainin etkisini azalttığı gösterilmiştir. Histolojik değerlendirmede bupivakain grubunda görülen fibriler dejenerasyonun, bupivakain+insülin grubunda belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

Sonuç: İnsülinin bupivakainin neden olduğu sinir blokajını klinik ve elektrofizyolojik olarak azalttığını ayrıca doku iyileşmesi üzerinde olumlu katkıları olabileceğini gösterdik.

Anahtar Kelimeler: bupivakain, insülin, siyatik blok, sevofluran, tavşan

ABSTRACT

Clinical, Electrophysiological And Histopathological Effect Of Insulin On The Sciatic Nerve Block Created With Bupivacaine In Rabbits Under Sevofluran Anesthesia

Aim: In this study; We aimed to demonstrate clinically, electrophysiologically and histopathologically the effects of insulin, which is preferred to eliminate the negative effects of long-acting local anesthetics by shortening the duration of action, and shortens the effect times of local anesthetics, on sciatic nerve blockade in rabbits administered sevoflurane anesthesia.

Materials and Methods: The right hind extremity sciatic nerve of 32 New Zealand male rabbits was studied. 0.7 ml saline in Group 1 (Control, Sham), 0.5 U/kg insulin (0.7 ml) in Group 2 (Insulin), 0.5 mg/kg in Group 3 (Bupivacaine) bupivacaine (0.7 mL) and in Group 4 (Bupivacaine+Insulin) 0.5 mg/kg bupivacaine + 0.5 U/kg insulin (0.7 ml) was injected. Paw pulling response was monitored and recorded every 30 minutes after skin closure in all groups. Hot-plate test was used. Computer-assisted electrophysiological responses were recorded. In addition, samples were taken on the 1st and 14th days to examine the tissue histopathology.

Results: Significant differences were found at 0th, 30th and 60th minutes in terms of Claw Pull Test sensory block, and at all time periods in terms of Claw Pull Test motor block. It was determined that the scores in Group 3 in terms of Claw Pull Test motor block were significantly different from the other groups. According to electrophysiological measurements, insulin has been shown to reduce the effect of bupivacaine. In histological evaluation, it was determined that fibrillary degeneration seen in the bupivacaine group was significantly reduced in the bupivacaine+insulin group.

Conclusion: We have shown that insulin reduces the nerve blockage caused by bupivacaine clinically and electrophysiologically and may have positive contributions on tissue healing.

Keywords: bupivacaine, insulin, sciatic block, sevoflurane, rabbit

SİMGELER VE KISALTMALAR

Cmax	: Maksimum Konsantrasyon
ILE	: İntralipid Emülsiyonun
i.v	: İntravenöz
KVS	: Kardiyovasküler Sistem
LA	: Lokal Anestezikler
LAST	: Lokal Anestezik Sistemik Toksisitesi
PABA	: Para-Aminobenzoik Asit
PSİS	: Posterior Süperior İliak Spine
RIA	: Radyo İmmün Assay
ss	: Spinal Sinir
SSS	: Santral Sinir Sistemi
Tmax	: Maksimum Süre
TNS	: Geçici Nörolojik Semptomlar
VGNa	: Voltaj Bağımlı Sodyum

TABLULAR LİSTESİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Klinik Kullanımdaki Lokal Anesteziklerin Fizikokimyasal Özellikleri	7
Tablo 2.2. Lokal Anesteziklerin Farklı Klinik Uygulamaları	8
Tablo 2.3. Lokal Anestezik Sistemik Toksikitesinin Tedavisi	14
Tablo 2.4. Lokal Anestezikler	15
Tablo 4.1. Grupların BHP açısından değerlendirilmesi	34
Tablo 4.2. Grupların kilo açısından değerlendirilmesi.....	35
Tablo 4.3. Grupların PÇT duyusal blok skorları açısından değerlendirilmesi.....	36
Tablo 4.4. Grupların PÇT motor blok skorları açısından değerlendirilmesi.....	37
Tablo 4.5. Grupların PÇT duyusal blok skorları açısından değerlendirilmesi.....	39
Tablo 4.6. Grupların PÇT motor blok skorları açısından değerlendirilmesi.....	41
Tablo 4.7. Grupların sıcak yüzeyde(Hot plate) kalma süreleri açısından değerlendirilmesi.....	43
Tablo 4.8. Akut uygulama gruplarında histopatolojik skor sonuçları.....	48
Tablo 4.9. Akut uygulamada ikili grup karşılaştırmaları	49
Tablo 4.10. Kronik uygulama gruplarında histopatolojik skor sonuçları	50
Tablo 4.11. Kronik uygulamada ikili grup karşılaştırmaları.....	51
Tablo 4.12. Akut ve kronik uygulamalarda ikili grup karşılaştırmaları.....	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Periferik Sinir Anatomisi	3
Şekil 2.2. Pankreas β hücrelerinde insülin sentezi.....	18
Şekil 2.3. Sakral pleksusun yapısı	20
Şekil 2.4. USG ile siyatik sinirin görüntülenmesi	22
Şekil 3.1. Yeni Zellanda Türü Tavşan.....	26
Şekil 3.2. Maske oksijen uygulaması	27
Şekil 3.3. Tavşan siyatik siniri.....	27
Şekil 3.4. Elektrofizyolojik monitörizasyon.....	28
Şekil 3.5. Siyatik sinire perinöral ilaç uygulanması	29
Şekil 3.6. Elektrofizyolojik yanıt ölçümleri	30
Şekil 4.1. BHP Süreleri.....	34
Şekil 4.2. Grupların kilo dağılımı	35
Şekil 4.3. Duyusal Blok PÇT değerleri	39
Şekil 4.4. Motor Blok PÇT değerleri.....	41
Şekil 4.5. Hot plate test değerleri	44
Şekil 4.6. İskelet siyatik sinirinde kaydedilen tipik uyarılmış kümülatif Aksiyon potansiyelleri	45
Şekil 4.7. İskelet siyatik sinirinde kaydedilen uyarılmış kümülatif eylem potansiyellerinin ortalama PSD'si.	47
Şekil 4.8. Transvers (A-D) ve longitüdüinal kesit (a-d) düzlemlerinde her bir grubun H-E ile boyanmış ışık mikroskopik görüntüleri.....	48
Şekil 4.9. Transvers (A-D) ve longitüdüinal kesit (a-d) düzlemlerinde her bir grubun H-E ile boyanmış ışık mikroskopik görüntüleri.....	50

1. GİRİŞ

Lokal anestezipler postoperatif akut ve kronik ağrının yanı sıra bölgesel bloklar için dünya çapında uzun süredir yaygın olarak tercih edilmektedir. Lokal anesteziplerin etki süreleri ve kalitelerinin artırılması ile alakalı birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmamızda; özellikle uzun etkili lokal anesteziplerin etki sürelerini kısaltarak olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak amaçlı tercih edilmiş olan ve lokal anesteziplerin etki sürelerini kısaltan insülinin siyatik sinir blokajı üzerinde etkilerini, sevofluran anestezi uygulanmış tavşanlarda, klinik, elektrofizyolojik ve histopatolojik olarak göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lokal Anestezikler

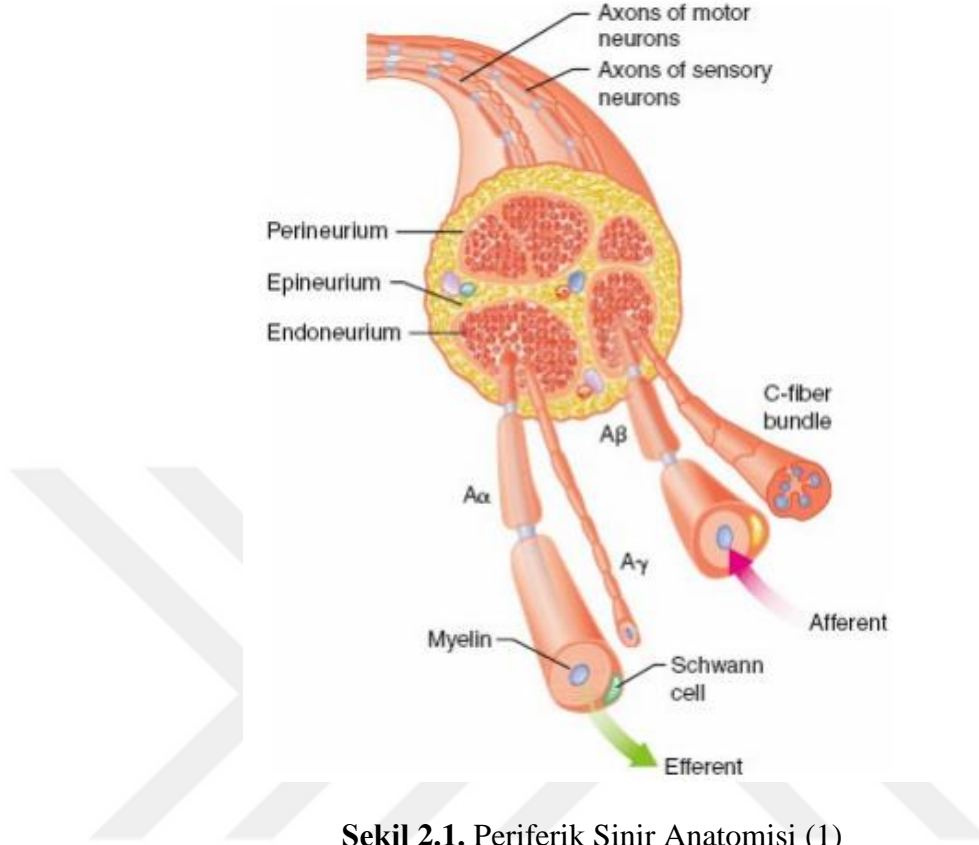
Lokal anestezikler (LA) duyuşal, motor ve otonom sinir uyarılarının iletimini geçici ve geri dönüşümlü olarak engelleyen ilaçların bir sınıfıdır. Klinik olarak LA'ler, öncelikle perioperatif anestezi ya da analjezi sağlamak için kullanılmaktadır.

2.1.1. Lokal Anesteziklerin Etki Mekanizması

A. Sinir Anatomisi

Nöron, nöral uyarıların iletiminden sorumlu temel fonksiyonel birimdir. Bu birim tipik olarak birkaç dallanma (dendritler) ve hücre gövdesi boyunca ve ileriye doğru nöral uyarıları taşıyan tek bir aksona tutunmuş bir hücre gövdesinden oluşmaktadır. Aksonlar, voltaj bağımlı sodyum (VGNa) kanallarını içeren çeşitli proteinlerin bulunduğu, iki katmanlı lipid hücre membranı içinde yer alan aksoplazma silindirleridir. Glial hücreler nöronlarla yakından ilişkilidir ve destek, yalıtım ve aksonları besleme fonksiyonu yaparlar (1).

Periferik sinir lifleri üç katmanlı bağdokusu içinde organize olmuştur. Birbirinden ayrı sinir lifleri, kılcal damarlarla birlikte fibroblastlar ve schwann hücrelerini içeren hassas bağ dokusundan oluşan, endonöryum ile bütünüyle çevrilidir. Kollajen bağ dokusundan yoğun bir tabaka, perinöryum bir fasikül halinde sinir liflerinin demetlerini kapsamaktadır. Bu yapı yabancı maddelerin sinir liflerine penetrasyonuna karşı etkili bir bariyer oluşturur. Epinöryum yapısal olarak bir koaksiyel kabloya benzeyen silindirik bir kılıf içinde lif demetlerini örten ve çevreleyen, yoğun destekleyici bir bağ dokusu tabakasıdır. Ek bir bağ doku tabakası olan ilave bir paranöral kılıf periferik sinirleri ayrıca kaplamaktadır. Bu doku katmanlarının hepsi birlikte, yalnızca periferik sinirlere koruma sağlamaz, aynı zamanda lokal anesteziklerin aksonal hücre zarından pasif difüzyonunda önemli bir bariyer oluşturur (Şekil 2.1) (2, 3).



Şekil 2.1. Periferik Sinir Anatomisi (1)

Periferik sinirler miyelinli veya miyelinsiz afferent ve efferent sinir liflerinin her ikisini de içeren karışık sinirlerdir. Schwann hücrelerinin hücre zarı (nörolemma) aksonları sarar. Miyelinsiz sinir lifleri tek bir schwann hücrelerinin nörolemması ile aynı anda kaplanmış çok sayıda akson içerir. VGNa miyelinsiz sinir liflerinin tüm aksonu boyunca düzgün dağılmıştır. Buna karşılık, bir miyelinli sinir lifi tek bir aksonu çevreleyen nörolemanın kesintisiz uzantısından oluşan miyelin kılıf ile segmental olarak kaplanmıştır. Miyelinli sinirlerin aksonları boyunca VGNa'nın olduğu yerde yoğunlaşan Ranvier düğümleri olarak bilinen özelleşmiş alanlarda miyelin kılıfı aralıklı olarak kesintiye uğrar. Na⁺ iletkenliği miyelinli aksonlar boyunca Ranvier düğümleri ile sınırlandırılmıştır. Bu sinyal iletiminin bir düğümden diğerine sıçrayarak önemli ölçüde hızlanıp aksiyon potansiyelinin yayılmasına izin verir (4, 5).

B. Voltaj Bağımlı Sodyum Kanalları ve Sinir İletiminin Elektrofizyolojisi

Nöronlar yaklaşık olarak -60,-70 mV istirahat membran potansiyelini sürdürürler. Na⁺-K⁺ pompası aktif olarak üç sodyum iyonunu hücre dışına, iki potasyum iyonunu ise

hücre içine aktif olarak pompalar. Bu yarı geçirgen hücre zarı boyunca elektrokimyasal bir konsantrasyon gradiyenti oluşturur. Elde edilen iyonik dengesizlik sonucunda K^+ iyonlarının hücre dışına, Na^+ iyonlarının hücre içine hareketini başlatır. Ancak her iki iyon için konsantrasyon gradiyentine rağmen istirahatteki hücre zarı K^+ iyonlarına nispeten daha geçirgendir. Bu olay K^+ iyonlarının hücre dışına pasif olarak akışını kolaylaştırır ve aksoplazma içinde (polarize) negatif yüklü iyonların nispeten fazlalığına neden olur (6, 7).

Sinir impulsları; çeşitli mekanik, kimyasal veya termal uyaranlar tarafından başlatılan geçici membran depolarizasyonları olan aksiyon potansiyelleri şeklinde akson boyunca iletilir. Depolarizasyon; primer olarak Na^+ iyonlarının elektrokimyasal gradiyent sayesinde VGNa ile hücre içine hızlı akışı aracılığıyla gerçekleşir. VGNa aksonal membrana sıkıca bağlanır ve bir alfa ve bir ya da iki değişik yardımcı beta alt birimden oluşur. Alfa alt birimi VGNa'nın iyon-bağımlı kanallarını yapılandırır. Ve dört homolog bağlanma bölgesi içermektedir (8; 9).

Özet olarak Na^+ iyonları ile sağlanan içe doğru pozitif akımlar membranı depolarize ederken bunun aksine K^+ iyonları ile sağlanan dışa doğru pozitif akımlar membranı repolarize etmektedir.

C. Voltaj-Bağımlı Sodyum Kanalları ve Lokal Anestezikler ile Etkileşimleri

LA'ler, aksonal membranda alfa-alt ünite içinde spesifik bir yere bağlanarak etki gösterirler. Bu membran depolarizasyonu ile ilişkili içe doğru Na^+ akımını inhibe ederek VGNa aktivasyonunu önler. LA'lerin bağlanma yeri kanal porunun içinde yer almaktadır ve 1,3 ve 4 nolu bağlanma yerinde bulunan S6 segmentlerindeki aminoasit rezidüleri tarafından oluşturulmuştur. Bu bağlama yerine iki yoldan ulaşılabilir: kanal porunun hücre içi tarafından (hidrofilik yol) veya lipid membran içinde yandan(hidrofobik yol). Uygulanan LA miktarı arttıkça, LA'ğe bağlı VGNa yüzdesinde artış ve içe doğru Na^+ akımı inhibisyonu olur. Daha sonra membran potansiyeli eşiğine ulaşılmasını inhibe ederek, depolarizasyon (bir uyarıya yanıt olarak) hızı zayıflatılmaktadır. Sonuç olarak, aksiyon potansiyeline ulaşmak giderek daha zor hale gelmektedir. Yeterli sayıda LA bağlı VGNa ile aksiyon potansiyeli artık oluşturulamaz ve impuls ilerlemesi bloke edilir. LA bağlı VGNa artık ne istirahat membran potansiyelini değiştirir ne de eşik potansiyelini değiştirir (10, 11).

LA'ler; açık konumda bulunan VGNa sayısını azaltarak tonik blokaj olarak karakterize edilen içe doğru Na⁺ akımında konsantrasyon bağımlı bir azalma oluştururlar. Buna ek olarak LA'lerin bağlanma bölgesinden ayrılma hızı, inaktive durumundan dinlenme konumuna geçiş hızından daha yavaştır. Böylece tekrarlayan stimülasyon frekans-bağımlı blokaj olarak karakterize edilen LA bağı VGNa birikimiyle sonuçlanmaktadır (10, 11).

D. Sinir Blokajının Mekanizmaları

LA'lerin VGNa'ya bağlanabilmesi için nöral membrana ulaşması gereklidir. Bu sayede LA'ler mutlaka değişen miktarlarda perinöral dokular arasından penetre olmalı ve lipid tabakadan geçerek difüze olmak için yeterli konsantrasyon gradientini sağlamalıdır. Periferik sinirlere çok yakın alanlarda toplandığında bile LA'ğin sadece küçük bir kısmı (%1,%2) nöral membrana ulaşır (24). İn vitro şartlarda kılıfı çıkarılan periferik sinirler için in vivo ortamdaki periferik sinirlerden 100 kat daha düşük LA konsantrasyonu gereklidir. Aksine, santral nöroaksiyel sinirler üç tabakalı meninkslerle: piamater, araknoid membran ve duramater ile kaplıdır. Piamater sinirlerin kendisine yapışıktır ve araknoid membrandan bu iki katman arasındaki boşluğu dolduran beyin omurilik sıvısı ile ayrılır. Spinal sinirlerin sadece piamater ile kaplı olduğu subaraknoid aralık spinal anestezi için hedeflenen alandır. Dura mater santral sinirlerin etrafını sıkıca çevreleyen dural keseyi oluşturarak araknoid membranı örter. Epidural aralık dural kese haricinde, vertebral kanal içindeki her şeyi kapsar. Burada araknoid membran ve dura materin varlığı nedeni ile komplet epidural blok oluşturmak için subaraknoid aralıkta gerekenden 10 kat daha yüksek LA dozu gereklidir (12; 13).

Sinir bloğunun kalitesi sadece seçilen LA in intrinsik gücü ile değil, aynı zamanda uygulanan lokal anesteziğin volümü ve konsantrasyonu ile belirlenir. Bir LA in etki gücü komplet sinir blokajı oluşturmak için gereken minimum etkin konsantrasyon olarak ifade edilebilir. LA in volümü, nöral impuls üretimini inhibe etmek için gereken yeterli sayıda Ranvier düğümünü veya yeterli uzunlukta aksonu bloke etme konusunda ayrıca önemlidir (14).

Farklı tiplerdeki sinir lifleri değişken minimal blok konsantrasyonları ve LA duyarlılıkları göstermektedir. Klinik olarak ilk sıcaklık hissi kaybıyla başlayan ve daha sonra derin duyu, motor fonksiyon, keskin ağrı ve son olarak hafif dokunma duyusu kaybıyla

devam eden duyuşal ve motor fonksiyon blokajında öngörülebilir bir ilerleme gözlenir. Diferansiyel blok terimi başlangıçta akson çapındaki farklılıklarla ilişkilendirilebilir; doğal olarak küçük lifler büyük lifler ile karşılaştırıldığında iletim blokajına daha duyarlıdır. Ancak küçük miyelinli lifler (A_{γ} , A_{δ}) iletim blokajına en duyarlı olanlardır. Blok duyarlılığı açısından daha sonra büyük miyelinli lifler (A_{α} , A_{β}) ve en az duyarlı olan küçük miyelinsiz C lifleridir (15).

Periferik sinirlerin içerisinde LA'ın uzunlamasına ve radyal difüzyonu sayesinde, klinik blokajın başlangıcı ve geri dönmesi sırasında, sinirin içi ve sinir boyunca değişen ilaç konsantrasyonları ortaya çıkacaktır. LA'ler periferik sinirin etrafında biriktiğinde difüzyon sinirin dış yüzeyinden (manto) merkeze (çekirdek) doğru konsantrasyon gradientine bağlı olarak ilerler. Sonuç olarak manto içinde karışık bir şekilde düzenlenmiş olan sinir liflerinde, dış tarafta olanlar önce bloke edilir. Bu dış taraftaki sinir lifleri, tipik olarak daha proksimal anatomik yapılara dağılmaktadır, halbuki merkezde bulunan lifler daha distal yapıları innerve etmektedir. Bu topografik düzenlemeler blokajın önce proksimalde başlamasını ve devamında da distalde analjezi gelişmesini, daha santralde yerleşmiş sinir liflerine lokal anestezinin geç difüzyonuyla açıklamaktadır. Özetle periferik sinir blokajının başlaması ve sonlanması, sırası karışık periferik sinirlerde topografik düzenlemenin kombinasyonuna ve onların lokal anesteziklere doğal duyarlılığına bağlıdır (16).

2.1.2. Lokal Anesteziklerin Farmakodinamikleri

A. Fizikokimyasal Özellikler, Güç ve Aktivite İlişkisi

Solüsyon içinde LA'ler tipik olarak fizyolojik pH da amin guruplarında pozitif yük taşıyan zayıf bazlardır. Prototip LA yapısı hidrofilik guruba (iyonize amin) ya amid ya da ester bağlarla bağlı bir hidrofobik gruptan (tipik olarak yağda çözünen aromatik halka) ibarettir (Tablo 2.1). Kimyasal bağ yapısı; lokal anesteziklerin amino amid veya amino ester olarak sınıflanmasının temelidir. Her ne kadar bağlantı yapısı metabolizma temellerini belirlese de (amino amidler karaciğerde metabolize olur, amino esterler plazma kolinesterazlarıyla metabolize olur), fizikokimyasal özellikler büyük ölçüde ya aromatik halka veya amin gurubu; amin grubunun iyonize olması ilişkili izomerlerin stereokimyasındaki alkil alt yapısıyla belirlenmektedir. Bu fizikokimyasal özellikler

LA'lerin gücünü etki başlama zamanını, etki süresini ve diferansiyel blok eğilimini büyük ölçüde belirlemektedir (17, 18).

Tablo 2.1. Klinik Kullanımdaki Lokal Anesteziklerin Fizikokimyasal Özellikleri (19)

Local Anesthetic	pK _a	Percent Ionized (at pH 7.4)	Partition Coefficient (Lipid Solubility)	Percent Protein Binding
Amides				
Bupivacaine*	8.1	83	3,420	95
Etidocaine	7.7	66	7,317	94
Lidocaine	7.9	76	366	64
Mepivacaine	7.6	61	130	77
Prilocaine	7.9	76	129	55
Ropivacaine	8.1	83	775	94
Esters				
Chlorprocaine	8.7	95	810	N/A
Procaine	8.9	97	100	6
Tetracaine	8.5	93	5,822	94

*Levobupivacaine has same physicochemical properties as racemate.
N/A, not available.

Lipid çözünürlüğü ya aromatik halka ya da amin grubunda ki alkil alt yapısının derecesiyle belirlenmektedir. Lipid çözünürlüğü tipik olarak hidrofobik bir solventteki (tipik olarak oktanol) partiyon katsayısıyla ifade edilmektedir. Yüksek oktanol çözünürlüğü olan bileşikler daha yüksek lipid çözünürdür. Artmış lipid çözünürlüğü lipid membranlardan penetrasyon kabiliyetini arttırmakta ve membrana bağlı VGNa'ya daha hızlı lokal anestezik geçişini sağlamaktadır ki bu durum güç ve daha az oranda etki süresiyle ters orantılı olarak gerçekleşmektedir. Her ne kadar lipid çözünürlüğü oktanol çözünürlüğü ile korele olsa da, impuls iletimini bloke edecek minimum in vivo lokal anestezik konsantrasyonu; lif çapı, tipi ve miyelinizasyonu, doku pH'ı, lokal doku dağılımı, lipidden zengin çevre yapılara dağılımı ve spesifik lokal anesteziklerin doğal vazo aktif özellikleri gibi pek çok faktörden etkilenebilir (20).

Fizyolojik pH da LA'ler, lipid çözünür baz formu ile suda çözünür iyonize form arasında eşitlik kurulana kadar zayıf bazdırlar. Her bir formun göreceli oranı disosiasyon sabiti (pKa) ve çevre doku pH'ı ile tanımlanır. pKa; Henderson- Hasselbalch Denklemi'nde tarif edildiği üzere her bir formun oranının eşit olduğu pH değeridir.

$$\text{Henderson- Hasselbalch Denklemi: } pK_a = pH + \log \frac{[BH^+]}{[B]}$$

[BH+] iyonize edilmiş, lipide çözünmeyen LA konsantrasyonudur ve [B] iyonize olmamış, lipid çözünür LA formu konsantrasyonudur.

Verilen LA için daha düşük pKa, daha yüksek lipid çözünür baz form demektir, lipid hücre membranlarını daha hızlı geçen formdur ve bu sayede etki başlama süresi daha da kısaldır. Hücre membranından aksoplazmaya geçtikten sonra baz form ile iyonize form arasında eşitleme yeniden sağlanır. VGNa kanal porlarında LA bağlanma noktalarına çabucak bağlanan aksoplazma içindeki iyonize formdur (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Lokal Anesteziklerin Farklı Klinik Uygulamaları (19)

	Bupivacaine	Chloroprocaine	Lidocaine	Mepivacaine	Prilocaine	Ropivacaine
Peripheral nerve	3.6	N/A	1	2.6	0.8	3.6
Spinal	9.6	1	1	1	1	N/A
Epidural	4	0.5	1	1	1	4

N/A, not available.

Klinikte kullanılan LA'lerin çoğu rasemik bileşikler olarak formüle edilmiştir. Bunlar benzer kimyasal bileşik olarak enantiomerik stereoizomerlerin bire bir karışımıdır, ancak bir asimetrik karbon atomunun etrafında farklı üç boyutlu yerleşimleri olan yapılardır. Her ne kadar LA'lerin enantiomerleri benzer fizikokimyasal özelliklere sahip olsa da VGNa ya bağlanma ve etkileşim alt farklılıklarından dolayı farklı klinik farmakodinami (güç) gösterirler. Örneğin levobupivakain ve ropivakain nöral iletim blokajı için eşdeğer klinik etkinliğe sahiptir. Bununla birlikte her ikisi de kardiyak sistemik toksisite açısından rasemik karışımlar veya R-enantiomerden daha az potansiyele sahiptir (22, 23).

B. Lokal Anestezik Aktivitesini Arttıran Katkıları

LA ler, stabilite ve çözünürlüklerini arttırmak için hidroklorid tuzları olarak formüle edilmektedir. Ticari olarak hazırlanan LA lerin pH'ı 3,9 ile 6,47 arasında değişmektedir ve epinefrin ile hazırlandığında özellikle asidiktir (23). En sık kullanılan LA lerin pKa'ları 7,6 ile 8,9 arasında değişmektedir, LA solüsyonların %3 ten azı fizyolojik pH da lipid çözünür nötral formdadır. Bunun yüksek olması hücre membranından penetrasyonu yavaşlatır ve iletim blokajının başlamasını geciktirir. Hatta LA lerin daha asidik pH da olan enfekte alanların içine doğru enjekte edilmesi durumunda daha düşük lipid çözünür fraksiyonu ile

klirikte karşılaşılabilir. Sonuçta LA solüsyonların sodyum bikarbonat ilavesiyle alkalinizasyonu lipid çözünür baz formu arttırarak, etki başlama süresini kısaltabilir ve iletim blokajının kalitesini arttırabilir. Klinik deneyimler sodyum bikarbonatın eklenmesinin orta etki süreli LA'lerin (lidokain ve mepivakain) etki başlama süresini hızlandırabileceğini göstermektedir. Ancak bu şekilde bir uygulama daha güçlü amid LA'lerin etki süresini uzatmada minimal etkilidir.(bupivakain ve ropivakain) (23, 24).

Epinefrin lokal anestezi solüsyonlara enjeksiyon bölgesinde vazokonstriksiyon sağlamak için yaygın olarak eklenmektedir. Epinefrin eklenmesi α -1 adreno reseptörlerle sağlanan vazokonstriktif etkilere ilaveten LA'lerin çoğunun doğal vazo dilatator etkilerini antagonize ederek lokal anestezi aktiviteyi arttırır. Sonuçta azalmış vasküler absorpsiyon, intranöral LA alımını kolaylaştırır ve korur. İletim blokajının kalitesini arttırması ve etki süresini uzatması; epinefrin eklenmesinin rapor edilen klinik faydaları arasındadır. Ayrıca pik sistemik lokal anestezi düzeyinin azalması, toksik etkileri de sınırlamaktadır. Epinefrinle iletim blokajının süresinin uzamasında enjeksiyon yeri kadar, büyük oranda LA in fizikokimyasal özellikleri de etkilidir (25, 26). Örneğin lidokaine epinefrin eklenmesiyle iletim blokajının süresi tipik olarak en az %50 uzatılır ancak bupivakaine epinefrin ilavesi çok az artışa neden olur veya klinik olarak blokaj süresinde artışa neden olmaz. Epinefrin veya klonidin ilavesiyle SSS'nde α -2 adreno reseptörlerle etkileşim sonucunda direkt endojen analjezik mekanizmaların aktive edilmesiyle mevcut analjezik etkilere ilave katkı sağlanabilir (27). Klonidin direkt α -2 agonist etkilidir ancak nöral iletim üzerine direkt inhibitör etkilere sahiptir. Klonidin epinefrinin aksine lidokain veya bupivakain kullanılmasına bakmadan iletim blokajının süresini iyileştirmektedir (28, 29).

C. Lokal Anesteziklerin Farmakokinetikleri

Lokal anestezi en yaygın olarak hedef dokuya yakın komşuluktaki ekstra vasküler dokuya verilmektedir. Nihai plazma konsantrasyonu; total verilen LA dozu sistemik absorpsiyon miktarı doku redistribüsyonu ve eliminasyon hızından etkilenmektedir. Hastaya özgü faktörler örneğin yaş, kardiyovasküler ve hepatik fonksiyon ve plazma proteinlerine bağlanma; plazma konsantrasyonunu ayrıca etkilemektedir. Bu faktörlerin iyi anlaşılmasıyla toksik sistemik ilaç düzeyleri ile ilişkili potansiyel komplikasyonlar en aza indirilirken, LA'lerin maksimum klinik uygulanması sağlanabilir.

1. Sistemik Absorpsiyon

Genelde azalmış sistemik LA absorpsiyonu, klinik pratikte daha geniş güvenlik marjı sağlamaktadır. Sistemik absorpsiyonun hız ve derecesi, total LA dozu, uygulanan yer, LA'lerin fizikokimyasal özellikleri ve vazokonstriktör(epinefrin) ilavesi de dahil pek çok faktörden etkilenmektedir. Herhangi bir yere uygulamada ise ne kadar çok LA dozu o kadar çok sistemik absorpsiyon alanı ve pik plazma konsantrasyonu demektir (Cmax). Ayrıca absorpsiyon hızının artmasıyla pik plazma düzeyine ulaşma süresi kısalmaktadır (Tmax). Klinik olarak yaygın kullanılan doz aralığında doz- yanıt ilişkisi hemen hemen lineerdir ve anestezi konsantrasyonu veya enjeksiyon hızından etkilenmez (30). Perinöral dokunun perfüzyon miktarı, sistemik absorpsiyonu anlamlı olarak etkilemektedir, öyleki yüksek perfüzyonlu perinöral dokulara LA uygulaması daha yüksek Cmax ve daha kısa Tmax' la sonuçlanmaktadır. Böylece sistemik absorpsiyonun hızı en yüksekten en düşüğe şöyledir: interplevral > intercostal > kaudal > epidural > brakial plexus > siatik/femoral > ve subkutan doku. Sistemik absorpsiyon hızı LA ajanın bireysel fizikokimyasal özelliklerinden de etkilenmektedir. Genelde daha güçlü ve lipid çözümlü LA'ler, düşük sistemik absorpsiyona sahiptirler. Daha yüksek lipid çözümlülüğü olan ajanın, hem aksanal membran hem de perinöral dokuların lipidden zengin kompartmanlarında birikmesi daha muhtemeldir. Epinefrinin etkileri tartışılmıştır çoğu LA'in doğal vazodilatör karakteristikleri ile zıt etkiye sahiptir. Epinefrin ile ilişkili olarak Cmax'ın azalması; düşük lipid çözümlü LA'lerde daha belirgindir oysa daha yüksek lipid çözümlü olanların sistemik absorpsiyonunda nöral ve perinöral dokuya bağlanma miktarı daha belirleyici olabilmektedir.

2. Dağılım

Sistemik absorpsiyondan sonra LA'ler hızla bütün vücut dokularına dağılmaktadır. Bu dağılım paterni perfüzyon partitasyon kat sayısı ve spesifik doku kompartmanlarının miktarı tarafından etkilenmektedir. Yüksek perfüzyona sahip organlar (beyin, akciğer, kalp ve böbrekler) başlangıçtaki hızlı hücre içine alımdan sorumludur, bunu daha az perfüze olan dokularda (barsaklar ve kaslar) daha yavaş dağılım takip eder. sonuç olarak Cmax ve sistemik toksik etkiler için eşik değer arteriyel enjeksiyonu takiben, venöz enjeksiyon ile karşılaştırıldığında daha düşük lokal anestezi dozları gerektirir (31).

3. Atılım

Kimyasal bağ LA'lerin biyotransformasyonunu ve LA'lerin eliminasyonunu belirlemektedir. Amino amidler karaciğerde sitokrom p-450 enzimleriyle N-dealkilasyon ve hidroksilasyon yoluyla metabolize edilmektedir. Amino amid metabolizması yüksek oranda karaciğer perfüzyonuna hepatik ekstraksiyona ve enzim fonksiyonuna bağlıdır. Bu nedenle LA klirensi siroz ve konjestif kalp yetmezliği gibi durumlarda azalmaktadır. Amino amid metabolitleri renal ekskresyon yoluyla atılır, <%5 den az miktardaki atılımı ise metabolize edilmemiş halde renal yolla gerçekleşir. Prilokain; o-toluidin'e hidrolize olan tek amino amid LA'tir ve o-toluidin de hemoglobini doz bağımlı şekilde methemoglobine okside edebilir. Prilokainin 8 mg/kg a kadar düşük dozlarda bile siyanoza (methemoglobinemi) neden olmak için yeterli methemoglobin düzeyleri üretmesi beklenebilir.

Amino ester LA ler plazma kolinesterazları ile hızla metabolize edilirler. Prokain ve benzokain nadir anaflaktik reaksiyonlarla ilişkili olan para-aminobenzoik asit'e (PABA) metabolize edilir. Genetik olarak anormal plazma kolinesterazına sahip hastalar veya kolinesteraz inhibitörü alan hastalarda amino esterlerin metabolizması azalmaktadır. Bu hastalar teorik olarak artmış sistemik toksisite riski altındadır ancak bunun klinik delilleri mevcut değildir (32).

4. Klinik Farmakokinetikler

Sistemik toksisite (esas olarak Cmax ile belirlenen) ile ilişkili olduğundan, lokal anesteziğin metabolizması klinik öneme sahiptir ve bunun gelişmesi, sistemik absorpsiyon ve eliminasyon arasındaki dengeye bağlıdır. LA'ler; doku ve plazma proteinlerine büyük oranda bağlanırlar. Bununla birlikte sistemik toksisite serbest (bağlı olmayan) plazma konsantrasyonu ile ilişkilidir. Sonuçta LA'lerin plazma proteinlerine bağlanması sistemik dolaşımdaki serbest konsantrasyonu azaltmaktadır ve bu durum sistemik toksisite riskini de azaltır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı primer olarak α -1 asid glikoprotein ve albümin seviyelerine bağlıdır ve bu plazmanın pH düzeyinden etkilenmektedir. Plazma proteinlerinde azalma ile seyreden klinik durumlarda (siroz, gebelik ve yenidoğanlarda) bağlanma kapasitesi azalmaktadır. Ayrıca, protein bağlanma oranı pH düştüğünde azalmaktadır. Sonuçta asidoz varlığında (epilepsi, kardiyak arrest, renal yetmezlik) proteine bağlı olmayan ilaç miktarı artmaktadır.

Sistemik absorpsiyonu, dağılımı etkileyen önceden bahsedilen faktörlerin hepsi ve hastaya özgü faktörler sistemik toksisite riskini azaltmak için göz önünde bulundurulmalıdır (33, 34).

D. Lokal Anesteziklerin Toksisitesi

Lokal anesteziklerin klinik olarak önemli yan etkileri; lokal anestezik sistemik toksisitesi (LAST), lokal doku toksisitesi, alerjik reaksiyonlar ve lokal anestezik spesifik etkilerini içermektedir. LAST yüksek doz lokal anestezik ajanın periferik sinir bloğu, epidural anestezisi, hatta büyük hacimli infiltrasyon anestezisi uygulaması sırasında sistemik absorpsiyonuna veya kazara direkt intravasküler enjeksiyonuna bağlı gelişebilen lokal anesteziklerin aşırı plazma konsantrasyonundan kaynaklanmaktadır. LAST'ın belirgin klinik bulguları primer olarak santral sinir sisteminde (SSS) ve kardiyovasküler sistemde gözlenmektedir.

1. Santral Sinir Sistemi Toksisitesi

Lokal anestezikler kan beyin bariyerini kolayca geçerek doza bağlı SSS toksisitesi semptom ve bulgularına neden olurlar. Başlangıç semptomları uyuşukluk, ağız çevresinde hissizlik, yüzde karıncalanma, huzursuzluk kulak çınlaması ya da işitsel halüsinasyonları içerir. İlerleyici SSS eksitasyonunun objektif bulguları titreme veya kas seğirmesi olarak görülebildiği gibi jeneralize tonik klonik konvülsiyonlar gelişebilir. Şayet LA plazma düzeyleri yeterince yükselmişse veya plazma düzeyi artış oranı hızlı ise SSS eksitasyonu generalize SSS depresyonuna ilerleyebilir, bununla birlikte koma, solunum ve hatta kardiyak arreste neden olabilir (35).

2. Kardiyovasküler Sistem Toksisitesi

SSS toksisitesine sebep olabilen dozlarla karşılaştırıldığında kardiyovasküler sistem (KVS) toksisitesi için genellikle anlamlı olarak daha yüksek LA dozu gereklidir. LA lere bağlı KVS toksisitesi direkt miyokardiyal depresyon ve direkt arteriyel vazodilatasyon kombinasyonu ile hemodinamik instabiliteye yol açabilir ki bu olay belirgin disritmilerin ve KVS'de otonomik disfonksiyonun potansiyel sebebi olabilir. SSS toksisitesine benzer şekilde lipid çözünürlüğü daha fazla olan LA'ler, daha az olanlara göre daha yüksek oranda KVS toksisitesine sahiptir. Örneğin irreversible KVS kollapsına yol açan bupivakain dozu aynı etkiye yol açan lidokain dozundan daha düşüktür. Ek olarak lipid çözünürlüğü daha

güçlü ajanlar (örn. Bupivakain) daha az güçlü ajanlarla kıyaslandığında farklı şekilde KVS depresyonu yapmaktadır. Giderek artan plazma konsantrasyonlarında bütün LA'ler hipotansiyon, miyokardiyal depresyon ve disritmilere sebep olabilir. Bununla birlikte bupivakainin toksik düzeyleri sıklıkla malign ventriküler disritmilerin neden olduğu ve geleneksel resüsitasyon protokollerine dirençli olan ani kardiyovasküler kollapsla sonuçlanabilir (36-41).

3. Lokal Anestezik Sistemik Toksisitesinde Tedavi

LAST, en iyi şekilde LA'lerin toksik plazma düzeyine ulaşmasını önleyerek, spesifik rejyonel anestezik tekniklerde gereken minimum efektif doz kullanarak, dikkatsizlikten kaynaklanan direkt intravasküler enjeksiyondan kaçınarak ve LAST'ın erken bulgu ve semptomlarını fark ederek yönetilebilir (42). SSS toksisitesi için gereken başlangıç temel tedavi destek tedavisidir. Yeterli oksijenasyon ve ventilasyon devam ettirilmeli, gerek duyulursa da hava yolu güvenceye alınmalıdır. Yeterli ventilasyon ve oksijenasyona rağmen devam eden konvülsiyonlar midazolam (0,05-0,1 mg/kg) veya propofol (0,5-1,5mg/kg) gibi sedatif hipnotik ajanlarla süratle tedavi edilmelidir (43).

KVS toksisitesinde, yeterli oksijenasyonu sağlamak için hızlı müdahale gereklidir, daha da önemlisi koroner perfüzyon basıncıdır. LA'ler kardiyak miyositlerde irreversible hasar yapmazlar. Deneysel çalışmalar yeterli koroner perfüzyon sağlandığında bupivakainin kardiyak dokudan ayrıldığını ve eş zamanlı olarak normal kardiyak fonksiyonun geri döndüğünü göstermektedir (43) (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Lokal Anestezik Sistemik Toksikitesinin Tedavisi (19)

For Patients Experiencing Signs or Symptoms of Local Anesthetic Systemic Toxicity	
1	Get Help
2	Initial Focus Airway management: ventilate with 100% oxygen Seizure suppression: benzodiazepines are preferred Basic and advanced cardiac life support
3	Infuse 20% Lipid Emulsion Initiate intravenous bolus of 1.5 mL/kg over 1 minute Continue infusion at 0.25 mL/kg/min for at least 10 minutes after the return of cardiac function If cardiovascular instability continues, consider repeating the bolus and increasing the infusion to 0.5 mL/kg/min Up to 10 mL/kg over 30 minutes is the recommended upper limit for initial dosing
4	Avoid vasopressin, calcium channel blockers, beta blockers, or local anesthetics
5	Alert the nearest facility having cardiopulmonary bypass capability
6	Avoid propofol in patients having signs of cardiovascular instability

Bupivakaine bağlı Şiddetli KVS toksisitesi standart resüsitasyona dirençlidir. Bu durumda hayatı tehdit eden disritmi ve kardiyovasküler kollapsın efektif tedavisi için kardiyopulmoner bypass erken dönemde düşünölmelidir (44, 45). Bununla birlikte ilk olarak bir deneysel hayvan çalışması, intravenöz intralipid emölsiyonun (ILE) bupivakaine bağlı KVS toksisitesini belirgin Şekilde azalttığını göstermiştir. Bunu takiben pek çok sayıda vaka raporlarında hem bupivakain hem de ropivakain ile Şiddetli KVS toksisite durumunda ILE verilmesiyle başarılı resüsitasyon bildirilmektedir (46, 47). ILE ayrıca SSS toksisitesinde de kullanılmaktadır ve bu sayede teorik olarak KVS toksisitesi gelişmesi önlenmektedir. Primer mekanizmasının; yüksek lipid çözünürlüğü olan LA'lerin bağlandığı dokulardan (miyokardiyum) plazma lipid kompartmanına geçmesi ve parçalanması olduğuna inanılmaktadır. ILE'nin KVS toksisitesinden hızla iyileşmeye katkı sağladığı ve direkt kardiyotonik etkileri olduğu gösterilmiştir (48, 49).

E. Lokal Anestezik Ajanlar

A- Aminoamid lokal anestezikler: lidokain, mepivakain, prilokain, bupivakain, ropivakain (Tablo 2.4).

B- Aminoester lokal anestezikler: prokain, klorprokain, tetrakain, kokain (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. Lokal Anestezikler (19)

Local Anesthetic	Concentration (%)	Clinical Use	Onset	Duration (hours)	Recommended Maximum Single Dose (mg)
Amides					
Bupivacaine	0.25	Infiltration	Fast	2–8	175/225 + epinephrine
Levobupivacaine	0.25–0.5	Peripheral nerve block	Slow	4–12	150
	0.5–0.75	Epidural anesthesia	Moderate	2–5	150
	0.03–0.25	Epidural analgesia	N/A	N/A	N/A
Etidocaine	0.5–0.75	Spinal anesthesia	Fast	1–4	20
	0.5	Infiltration	Fast	2–8	300/400 + epinephrine
	0.5–1	Peripheral nerve block	Fast	3–12	300/400 + epinephrine
Lidocaine	1–1.5	Epidural anesthesia	Fast	2–4	300/400 + epinephrine
	0.5–1	Infiltration	Fast	1–4	300/500 + epinephrine
	0.25–0.5	IV regional anesthesia	Fast	0.5–1	300
	1–1.5	Peripheral nerve block	Fast	1–3	300/500 + epinephrine
	1.5–2	Epidural anesthesia	Fast	1–2	300/500 + epinephrine
Mepivacaine	1.5–5	Spinal anesthesia	Fast	0.5–1	100
	4	Topical	Fast	0.5–1	300
	0.5–1	Infiltration	Fast	1–4	400/500 + epinephrine
	1–1.5	Peripheral nerve block	Fast	2–4	400/500 + epinephrine
Prilocaine	1.5–2	Epidural anesthesia	Fast	1–3	400/500 + epinephrine
	2–4	Spinal anesthesia	Fast	1–2	100
	0.5–1	Infiltration	Fast	1–2	600
Ropivacaine	0.25–0.5	IV regional anesthesia	Fast	0.5–1	600
	1.5–2	Peripheral nerve block	Fast	1.5–3	600
	2–3	Epidural	Fast	1–3	600
	0.2–0.5	Infiltration	Fast	2–6	200
Mixture	0.5–1	Peripheral nerve block	Slow	5–8	250
	0.5–1	Epidural anesthesia	Moderate	2–6	200
	0.05–0.2	Epidural analgesia	N/A	N/A	N/A
	2.5/2.5	Skin topical	Slow	3–5	20 g
Esters					
Benzocaine	Up to 20	Topical	Fast	0.5–1	200
Chloroprocaine	1	Infiltration	Fast	0.5–1	800/1,000 + epinephrine
	2	Peripheral nerve block	Fast	0.5–1	800/1,000 + epinephrine
	2–3	Epidural anesthesia	Fast	0.5–1	800/1,000 + epinephrine
Cocaine	4–10	Topical	Fast	0.5–1	150
Procaine	10	Spinal anesthesia	Fast	0.5–1	1,000
Tetracaine	2	Topical	Fast	0.5–1	20
	0.5	Spinal anesthesia	Fast	2–6	20

IV, intravenous; N/A, not available.

1. Bupivakain

Bupivakain yağda çözünürlüğü en fazla olan piperidin halkası üzerinde bir metil grubu yerine butil gurubundan dolayı mepivakainin yapısal homoloğu olan lokal anesteziktir. Böylece bupivakainin lidokaine göre etki başlama süresi yavaş, ancak etki süresi daha uzundur. Uzamış duyuşsal anestezi ve analjezi sağlamaktadır, tipik olarak motor bloğun

derinliği ve süresi daha uzundur ve bu durum özellikle düşük konsantrasyonlarda devamlı infüzyonla kullanıldığında gözlenir. Periferik sinir bloklarında uygulanan tek enjeksiyon 12 saatten uzun süreli cerrahi anestezi ve 24 saate kadar uzayabilen duyuşal analjezi sağlayabilir. Subaraknoid anesteziye yaygın olarak kullanılmaktadır ve tipik olarak etki süresi 2-3 saattir. Lidokain ve mepivakainin aksine geçici nörolojik semptomlar (TNS) çok nadir görülür (19).

2.2. İnsülin

İnsülin pankreastaki Langerhans adacıklarında β hücreleri tarafından salgılanan bir hormondur. İnsülin, moleküler DNA yapısı tanımlanan, radyo immün assay (RIA) yöntemiyle ölçülebilen ve klinik kullanımda rekombinant DNA teknolojisi ile üretilen ilk mleküldür (50).

Molekül ağırlığı 5808 dalton olan insan insülini 51 aa, A ve B olmak üzere çift zincirden oluşmaktadır (50). A ve B zincirleri arasında iki disülfid bağına ek, A zinciri üzerinde üçüncü bir disülfid bağı bulunmaktadır (51). Birçok hayvan insülini immünolojik ve biyolojik olarak insan insülini ile benzemekte olup, sığır ve domuz pankreasından elde edilen insülinler rekombinant insan insülinleri tedavide kullanıma girmeden önce geçmiş tedavilerde kullanılmıştır (50).

İnsülin glukozun yağ ve kas hücreleri içerisine alınımını sağlayan, glukozun depolanması için glikojen veya yağa dönüştürülmesine aracılık eden, karaciğer tarafından glukoz üretimini baskılayan ve protein sentezini uyarıp yıkımını engelleyen anabolik bir hormondur (50).

2.2.1. İnsülinin Etkisi

İnsülin reseptörleri 2 alfa ve 2 beta alt üniteden oluşmaktadır. İnsülin ekstrasellüler ortamda alfa alt üniteye, intrasellüler ortamda ise beta alt üniteye bağlanarak otofosforilasyona uğrar ve böylece tirozin kinaz aktiflenir (52).

İnsülin intrasellüler ortamda substrat ve iyon transportuna aracılık eder, kompartmanlar arasında protein alışverişine olanak sağlar, spesifik enzimlerin etkilerini organize eder ve gen transkripsiyonu ile mRNA translasyonunu kontrol altında tutar. İnsülinin kısa dönem etkileri (glukoz ve iyon transportu, spesifik enzim fosforilasyonu ve

defosforilasyonu gibi) saniye veya dakikalar içerisinde olurken, uzun dönem etkileri (protein sentezi ve gen transkripsiyonu ile hücre çoğalmasının düzenlenmesi gibi) saatler hatta günler içerisinde ortaya çıkabilir (52).

2.2.2. İnsülin Preparatları ve Kimyası

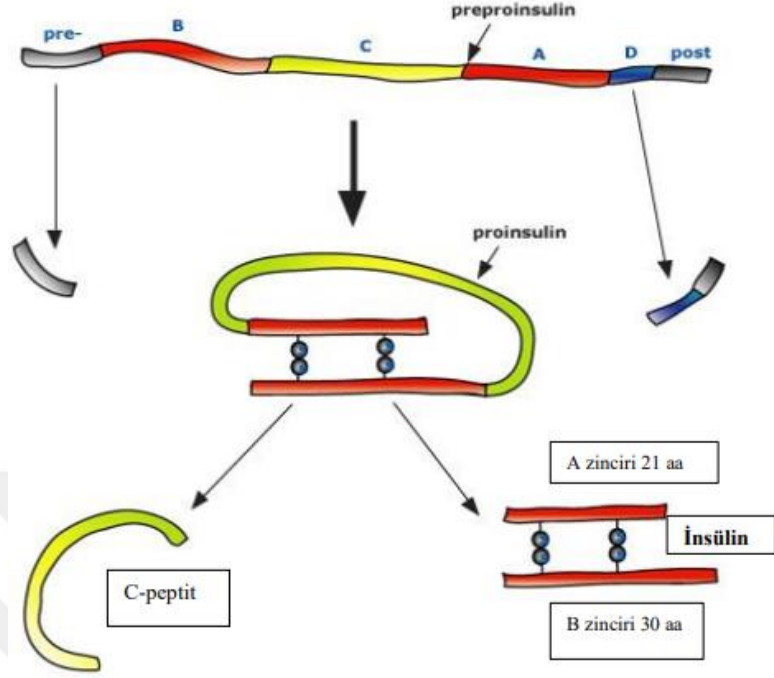
Rekombinant DNA teknolojisiyle yapılan insan insülini hidrofilik özelliktedir. Klinik kullanımda insülin preparatlarının dozları için uluslararası ünite (international units) birimi kullanılır. İnsülinin 1 ünitesi, aç bırakılmış bir tavşanın kan glukoz düzeyini 45 mg/dL'ye düşürmek için gerekli olan insülin miktarı olarak tanımlanmıştır. İnsülinin ticari preparatları, milimetresinde 3,6 mg insülin içeren, 100 ünite/ml konsantrasyonda çözelti ya da süspansiyon şeklinde sunulmaktadır. Hormon dirençli hastalarda kullanılmak üzere, insülinin daha konsantre çözeltileri de piyasada mevcuttur (52).

A. Kısa Etkili Regüler İnsülin

Doğal ya da regüler insülin formları nötr halde ki sulu çözeltilerde hegzamerler oluşturur ve bu hegzamer yapısı subkutan enjeksiyon sonrası absorpsiyonunu azaltmaktadır. Regüler insülin uygulandıktan 30-45 dk sonra beslenilmelidir. Regüler insülin iv veya im de uygulanabilir (52). Regüler insülinin etkisi 30-60 dakikada başlar, 2-3 saatte pik oluşturur ve 4-6 saat sürer (52).

2.2.3. İnsülin Sentezi

Preproinsülin 100 aa'lık bir protein olarak pankreas β hücrelerinin düz endoplazmik retikulumunda ribozomlar aracılığı ile sentezlenmektedir. Preproinsülin hızlı bir şekilde dolaşımdaki enzimler sayesinde 86 aa'lık proinsüline dönüştürülür (53). Proinsülin ise salgı yapan veziküllerde eşit miktarda insülin ve C-peptite ayrılır (Şekil 2.2) (54). Proinsülinin C-peptit ve insüline ayrışması kalsiyum duyarlı prohormon konvertaz enzimi tarafından sağlanmaktadır (52). İnsülin ve C-peptit dolu veziküllerin hücre zarı ile füzyonunu takiben insülin ve C-peptit portal dolaşıma verilmektedir. Böylelikle oluşan bazal insülin salınımı 9-14 dk'lık periyotlarda pulsatil şekilde gerçekleşir (54).



Şekil 2.2. Pankreas β hücrelerinde insülin sentezi (54).

2.2.4. İnsülinin Parçalanması

Portal dolaşıma salınan insülinin karaciğerden ilk geçişte neredeyse %50'si parçalanmaktadır. Karaciğer ilk geçiş etkisinden dolayı plazma insülin düzeyleri, direkt olarak insülin sekresyon hızını doğru şekilde yansıtmamaktadır. Böbrekler aracılığı ile insülinin bir kısmı parçalanmaktadır. Glomerüllerden filtre edilen insülinin bir kısmı reabsorbe olurken bir kısmı da proksimal tübüllerde parçalanır. Kandaki insülinin yarı ömrü yaklaşık 4-5 dk civarındadır (53).

2.3. Bupivakain ve İnsülin

Bupivakain, voltaja duyarlı sodyum kanallarını bloke ederek (55) aksiyon potansiyelinin yukarı tırmanış hızını azaltır. Ayrıca, geçici dışa doğru K^+ akımı (Ito) inhibisyonu aracılığı ile repolarizasyonu geciktirir. Böylelikle aksiyon potansiyeli süresini uzatarak (56) kardiyak iletimi inhibe eder. Bupivakain'in sarkoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salınımını baskılayarak miyokardiyal kontraktiletiyi inhibe ettiği de bilinmektedir. In vitro çalışmalar, lokal anestetiklerin sıçan neokortikal nöronlarında geçici dışa doğru K^+ akımını ve repolarizasyonu inhibe ettiğini göstermiştir (57). Ayrıca sıçan dorsal kök ganglion

nöronlarında Ca^{2+} akımı lokal anesteziyle bloke edilmiştir (58). Bupivakainin periferik sinirler üzerindeki etkisi ve kardiyotoksik özellikleri bu mekanizmalarla açıklanmaktadır.

İnsülin, sarkoplazmik retikulumu geçici dışa doğru K^+ akımı ve Ca^{2+} taşınmasını aktive eder ve sitoplazmik glukoz konsantrasyonunu ve mitokondriyal piruvat mevcudiyetini artırır (59, 60). Ayrıca insülin, iskelet kaslarında ve karaciğerde bir Na^+/K^+ pompası aracılığıyla hücre dışı boşluğa potasyum taşınmasını kolaylaştırır ve ardından kan K^+ konsantrasyonunu düşürür. İnsülinin bu etkisi infüze edilen hacimle orantılıdır, uygulamadan sonraki 10 dakika içinde ortaya çıkar ve 60 dakikadan fazla sürer (61). Köpeklerde yapılan deneysel çalışmalar, insülin uygulamasının şiddetli bupivakaine bağlı kardiyotoksikiteyi başarılı bir şekilde tedavi ettiğini ve kalp hızı, QTc, PR aralığı, QRS süresi ve kalp debisinin insülinle tedavi edilen bir grupta kontrol grubuna göre daha hızlı düzeldiğini göstermiştir (62, 63).

Başka bir çalışmada insülinin, halihazırda lokal anestetiklerle bağlanmış voltaj kapılı Na^+ kanalı üzerinde doğrudan etkisinin olup olmadığı bilinmemekle birlikte, geçici dışa doğru K^+ akımını ve repolarizasyonu arttırdığı gösterilmiştir (64) sıçanlarda supraoptik çekirdek nöronlarındaki Ca^{2+} akımının insülin tarafından artırıldığı gösterilmiştir (65).

Bu bulgular bizi, insülinin lokal anestetiklerin neden olduğu periferik sinir bloğunu tersine çevirebileceği ve dolayısıyla fizyolojik bir antagonist olabileceği hipotezine götürdü.

2.4. Siyatik Sinir Blok

2.4.1. Alt Ekstremitenin Anatomisi

Alt ekstremitenin lumbosakral pleksus olarak bilinen lomber ve sakral pleksuslardan orjin alan sinirlerce innervasyonu sağlanmaktadır.

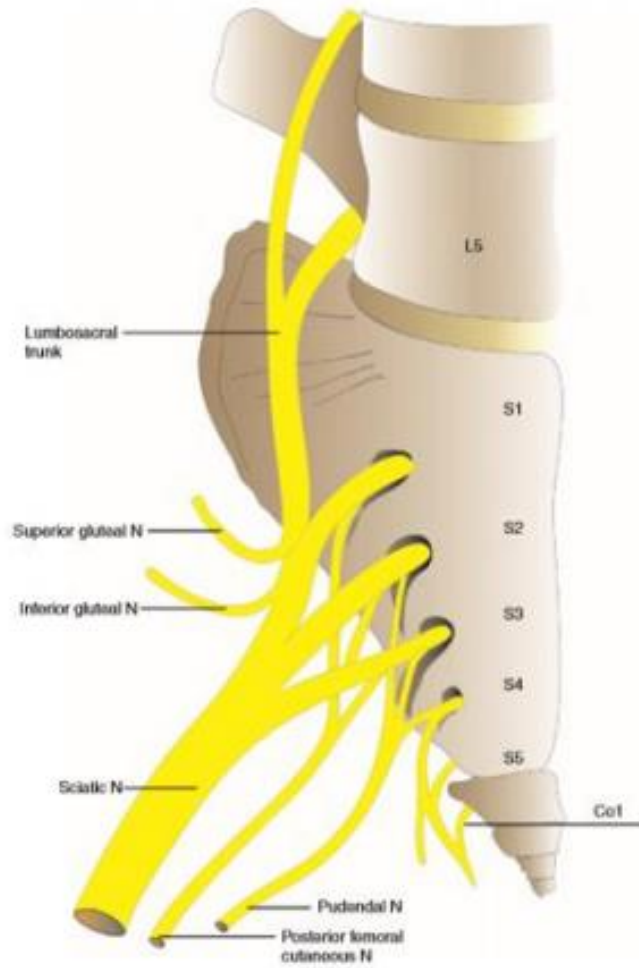
A. Lomber Pleksus

Lomber pleksus L1, L2, L3 spinal sinirlerinin ön dalları ile L4 spinal sinirinin üst dalı tarafından meydana gelmektedir (Şekil 2.3). İnsanların %50'sinde T12 Spinal Sinirsen (ss) de bir katılım söz konusudur. L4 SS'in alt dalı, L5 ss'in ön dalının tamamı ile birlikte sakral pleksusa katılır. Lomber ve sakral pleksusun her ikisinin de dalları alt ekstremitede birlikte dağılım gösterdiğinden genellikle lumbosakral pleksus olarak adlandırılır. Lomber pleksusun

majör sinirleri iliohipogastrik, ilioinguinal, genitofemoral, lateral femoral kutanöz, obturator ve femoral sinirlerden oluşmaktadır (66).

B. Sakral Pleksus

Sakral pleksus, lumbosakral trunkusa (L4-L5 SS) ilaveten S1-S4 SS'in ön dallarından oluşur (Şekil 2.3). Sakral pleksusun major sinirleri başlıca siyatik sinir ve pudental sinirden oluşmaktadır. Siyatik sinir pelvisi major siyatik forameninden terk ederek trokanter major ve tuber iskiadikum arasında ilerlediği gluteal alana girer. Uyluğun proksimalinde yüzeyinde biceps femoris kasının uzun başı ile örtülü biçimde trokanter minörün arka kısmında devam eder. Popliteal fossaya vardığında peroneal ve tibial sinir olmak üzere ikiye ayrılır (66).



Şekil 2.3. Sakral pleksusun yapısı (66)

2.4.2. Alt Ekstremitte Periferik Sinir Blokları

A. Siyatik Sinir Bloğu

Siyatik sinir bloğu için farklı yaklaşımlar söz konusudur. Siyatik sinir blokajı posterior yaklaşım tekniği ile alt ekstremitte cerrahisi ve ağrı tedavisinde yaygın klinik kullanıma sahiptir. Diğer bloklara göre nisbeten uygulanması kolay ve başarı oranı yüksektir. Özellikle diz eklemi ve distalindeki cerrahi alan için oldukça uygundur. Femoral sinirin dalı olan safen sinir aracılığı ile duyusu alınan medial cilt bölgesi hariç olmak üzere diz altındaki bacak bölgesinde tam anestezi sağlar. Lomber pleksus bloğu ile birlikte uygulandığında ise ilgili alt ekstremitenin tamamında anestezi sağlanabilir (66).

Siyatik sinir bloğu uygulanırken hasta yan yatar pozisyondayken hafifçe öne doğru yatar. Bloke edilecek taraftaki ayak, motor cevabın gözlenebilmesi için diğeri üzerinde olacak şekilde konumlandırılmalıdır (66).

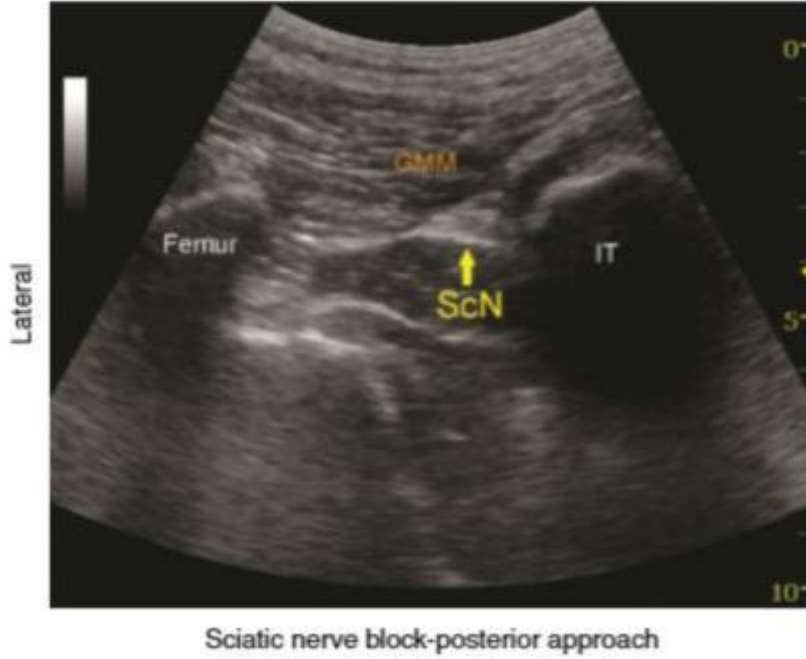
1. Sinir Stimülatörü Eşliğinde

Posterior yaklaşım tekniğinde siyatik sinir blokajı için belirleyici noktalar birçok hastada kolayca tespit edilebilir. Uygun palpasyon tekniği ile bu mümkündür, çünkü gluteal bölge adipoz doku içerdiğinden kemik çıkıntılar belirsizleşebilir. Trokanter major ile Posterior Süperior iliak spine (PSİS) arasına çizilen hayali çizginin orta noktasına dik bir şekilde çizilen ikinci bir çizginin kaudale doğru 4. cm'i iğne giriş noktasını gösterir. İğne cilt düzlemine dik bir şekilde, gluteal kasların ve siyatik sinirin stimülasyonunun gözlemlenebilmesi için ilerletilir (66).

İğne ilerletildiğinde ilk önce gluteal kasların kontraksiyonu beklenir. Gluteal kontraksiyonlar ortadan kalktığında, siyatik sinir uyarımının spesifik hareketleri (hamstring gurubu kontraksiyonlar ile ayak fleksiyon ve ekstansiyonları) oluşur. Siyatik sinirin başlangıç stimülasyonu sağlandığında akım kademeli olarak kontraksiyonlar kayboluncaya kadar 0,2 ile 0,5 mA seviyelerine düşürülür. Negatif aspirasyon sonrası 15 ile 20 ml lokal anestetik basınç duyarlılığı gözetilerek yavaşça enjekte edilir. Enjeksiyon sırasında herhangi bir basınç artışı, direnç gerçekleşmesi durumunda işlem durdurulmalı ve tekrar enjekte edilmeden önce iğne 1 mm geri çekilmelidir (66).

2. USG Eşliğinde

Ultrasonografi kullanımı ile siyatik sinir farklı seviyelerde görüntülenebilir (parasacral, transgluteal, subgluteal). Hangi yaklaşım kullanılacağı hastanın anatomisine ve anesteziistin tercihinine bağlıdır. USG eşliğinde transgluteal yaklaşım ile kısa aks üzerinde hiperekoik görünüme sahip iki kemik yapı tuber iskiadikum ve trokanter major arasında siyatik sinir görüntülenebilir (Şekil 2.4). Siyatik sinir gluteus maximus ile kuadratus femoris kasları arasında, oval veya üçgenimsi hiperekoik bir görünüme sahiptir. Subgluteal yaklaşımda ise siyatik sinir, biceps femoris ve adduktor magnus kaslarının arasında hiperekoik bir görünümle ayırt edilebilir (66).



Siyatik sinir genellikle oval veya üçgen şeklindedir ve gluteus maksimus kasının [GMM] altında tuber iskiadikum [IT] ile femur arasına yerleşmiştir

Şekil 2.4. USG ile siyatik sinirin görüntülenmesi (66)

Hastaya lateral dekübit ile pron pozisyon arası bir şekil sağlanır. Kalça ve diz fleksiyona alınır. Siyatik siniri belirlemek için konveks prob gluteal bölgeye yerleştirilir. Eğer sinir net bir şekilde görüntülenemezse prob proksimale ve distale doğru tilt yapılarak kontrastı artırılır. Siyatik sinir belirlenince iğne in-plane yaklaşımla sinir yakınına ulaştığında ve negatif aspirasyon ile damar içi yerleşim ekarte edilir daha sonra, 1-2 ml lokal anestezi uygun enjeksiyon yerini belirlemek amacıyla verilir. Lokal anestezi enjeksiyonu sonrası

siyatik sinirin çevre dokudan ayrımı daha net yapılabilir. Enjeksiyon uygulanırken yüksek basınç oluşması durumunda (>15 psi) enjeksiyon işlemi sonlandırılmalıdır, bu intranöral bir enjeksiyonun belirteci olabilir. Erişkin hastada genellikle 15-20 ml lokal anestezi blok için yeterlidir (66).

2.4.3. Alt Ekstremité Periferik Blok Komplikasyonları

Periferik sinir bloklarında komplikasyon oranları % 0,05 gibi oldukça düşük olarak rapor edilirken nörolojik ve diğer komplikasyonlar hasta için yıkıcı olabilir (67). Alt ekstremité periferik bloklarında gözlenen nörolojik hasarın etyolojisinde iğnenin direkt travması, intranöral enjeksiyon ve nöronal iskemi gibi faktörler blokaja bağlı komplikasyonlar arasında yer alırken, cerrahi nedenlere bağlı hematomlar, retraksiyona ve pozisyona bağlı hasarlar da görülebilir. Birçok olguda gözlenen nörolojik komplikasyonlar bu faktörlerin kombinasyonu sonucu gelişmektedir (68). Periferik sinirlerin endonöral ve epinöral olmak üzere ikili bir damar sistemi bulunur. Bu dolaşımın bir şekilde azalması iskemiye yol açar. İnanöral enjeksiyon yapıldığında çok küçük bir volüm bile dolaşımı durduracak kadar endonöral basıncın ve buna bağlı olarak da kapiller perfüzyon basıncının artmasına neden olur. Bu olay da endonöral iskemi ile sonuçlanır (69).

Lokal anestezipler hem lokal hem de sistemik toksisiteye neden olabilirler. Tüm lokal anestezipler nörotoksiktir ve kalıcı nörolojik hasar oluşturabilirler (70). Lokal anesteziplerin sistemik toksisitesi lokal anesteziplerin yüksek plazma seviyelerine bağlı görülen istenmeyen bir tablodur. Genelde kazara yapılan intravenöz (i.v) enjeksiyona veya bilgi eksikliğine bağlı doğrudan yüksek doz kullanımına bağlıdır. Kuvvetli ve hızlı yapılan enjeksiyonların yavaş yapılanlara oranla daha yüksek oranda toksisiteye neden olduğu gösterilmiştir (71). Lokal anestezi toksisitesinde dilde uyuşma, görme bozukluğu, kas kasılması ve bilinç bulanıklığı gibi santral sinir sistemi bulgularının görülebileceği, en ciddi bulguların ise konvülsiyon, koma, solunum durması ve kardiyovasküler depresyon olduğu görülmüştür (70). Alt ekstremité periferik bloklarından bazıları iğnenin derin penetrasyonunu gerektirmektedir ve buna bağlı hemorajik komplikasyonlar gelişebilir. Lomber pleksusun psoas kompartman yaklaşımı, obturator sinir bloğu ve siyatik sinirin klasik ve parasakral yaklaşımları bu bloklar arasında yer alır (68). Femoral sinir bloğu sırasında, vasküler ponksiyon sıklığı %5,6 olarak bildirilmiştir (72). Enfeksiyon, kontamine malzeme veya medikasyon gibi uygulama ile ilgili

ya da hastaya ait nedenlere bağlı meydana gelebilir. Hematojen yolla uzak odaklardan ya da kateter ve iğne ile ciltten taşınabilir (73).

2.5. Sevofluran

Genel anestezikler; hayati fonksiyonları geçici olarak etkileyen, kalıcı olmayan bilinç kaybı yapan, refleksleri azaltan maddelerdir. Genel anestezi uygulaması; hastanın operasyon sürecindeki hissiyatını engeller, analjezi sağlar ve kas gevşemesi oluşturarak cerrahi işlemlerin yapılmasını kolaylaştırır. Bu etkileri ile genel anestezinin birincil amacı, cerrahi için uygun koşulları sağlamaktır (74).

Günümüzde bu amaçla sıklıkla kullanılan ajanlardan biri sevoflurandır. Sevofluran 1960'lı yıllarda üretilmiş, fakat 1990'lı yıllarda klinik kullanıma başlanmış inhaler bir genel anesteziktir. Sevofluran, metil izopropil eterin yüksek florürlü bir türevidir. Kimyasal formülü florometil-2, 2, 2-trifloro-1-(triflorometil) etil eter yapısındadır. Kaynama noktası; 760 mmHg'da: 58,5°C, su buharı basıncı; 25°C'de: 197 mmHg olup metallerle etkileşim yapmaz.

Sevofluran; oda ısısında sıvı halde bulunan yanıcı ve patlayıcı özellikleri olmayan bir maddedir. Kokusu keskin olmamakla beraber apne, laringospazm ve öksürük gibi solunumsal komplikasyonlara sebep olmaz. Bu nedenle maske indüksiyonu için ideal inhalasyon anestezidir (75, 76).

Sevofluran, düşük kan/gaz çözünürlüğü nedeni ile anestezi indüksiyonunda olduğu gibi derlenme sırasında da hızlıdır. İnhalasyon anestezisi, insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da ve orta ve uzun süreli anestezi sağlamak amacıyla kullanılan bir yöntemdir (77).

Tavşanlarda anestezi indüksiyonu için maske veya endotrakeal tüp yoluyla özel vaporizatörlerde halotan, izofluran veya sevofluran gibi ajanlar verilerek inhalasyon anestezisi oluşturmak mümkündür. Maske indüksiyonu hayvanlarda tutma stresine neden olduğu için anestezi kutusunun kullanılması daha uygundur. İnhalasyon anestezisiyle indüksiyondan sonra anestezik madde oksijen içinde doğru oranda verilmelidir (78, 79).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu onayı (2019/A-38) alınarak İnönü Üniversitesi Deneyleer Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Laboratuvarları'nda gerçekleştirildi. Çalışma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu tarafından (Proje kodu: TTU-2019-1966) desteklendi.

3.1. Denekler

İnönü Üniversitesi Deneyleer Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi laboratuvarlarında yetiştirilen, ağırlıkları 3-5 kilogram (kg) arası değişen ve normal motor aktiviteye sahip 32 adet erkek Yeni Zellanda türü erkek tavşan araştırmaya alındı. Tavşanlar bir odada, her biri ayrı kafeste olacak şekilde kafeslere yerleştirildi. Hayvanlara 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ışık düzenlemesi yapıldı.

3.1.1. Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri

- Siyatik sinir eksplorasyonu sırasında siyatik sinirin yanlışıklıkla kesilmesi,
- Lokal anestetik uygulanan tavşanlarda motor blok oluşmaması,
- İzlem sırasında blok ortadan kalkmadan veya izlem süresi bitmeden tavşanın ölmesi,
- Kesi yapılan bölgede siyatik sinirde anatomik varyasyon olması,
- Eksplorasyon sahasında, sinir etrafında enfeksiyon veya hemoraji olması

3.1.2. İlaçların Hazırlanması ve Deneklerin Hazırlanması, Grupların Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları

Lokal anestezi oluşturmak üzere Bupivakain (Marcain %0,5 flakon, Astra Zeneca İlaç Sanayii ve Ticaret Limited Şirketi, Lüleburgaz, Türkiye) tercih edildi ve her uygulanan ilaç miktarı uygun dozlarda olacak şekilde 0,7 ml olacak şekilde hazırlandı.

Çalışmaya ağırlıkları 3-4 kilogram (kg) arası değişen ve normal motor aktiviteye sahip 32 adet erkek Yeni Zellanda türü tavşan alındı (Şekil 3.1). Tavşanları yalancı (sham-kontrol) grubu da dahil olmak üzere her grupta 8 tavşan olmak üzere 4 gruba ayrıldı.



Şekil 3.1. Yeni Zellanda Türü Tavşan

Cerrahi prosedürler için anestezi indüksiyonu %2-3 sevofluran (Sevoflurane- AbbVie Tıbbi İlaçlar San. ve Tic. Ltd. Şti.Saray Mah., Dr. Adnan Büyükdeniz Cad.,No:2,Kelif Plaza, Kat: 16-17, 34768 Ümraniye –İstanbul) ve 3 L.dk-1 oksijen inhalasyonu (maske oksijen uygulaması) ile gerçekleştirildi (Şekil 3.2). Gluteal ve uyluk bölgeleri traş edildikten sonra, prone pozisyonda ayakları tespit edildi. %2-3 sevofluran ve 3L.dk-1 oksijen inhalasyonu maske ile anestezi idamesi sürdürüldü. Siyatik sinir bölgesi %10 povidon iyot (İSOSOL, Merkez Lab. İlaç Sanayi ve Tic. Anonim Şirketi, Taşdelen-Çekmeköy, İstanbul) ile temizlendi. Ardından aynı kişi tarafından uyluk cilt ve cilt altı dokusu lateral insizyonla kesilip, kas ve yüzeysel fasya ayrılarak siyatik sinir açığa çıkarıldı.

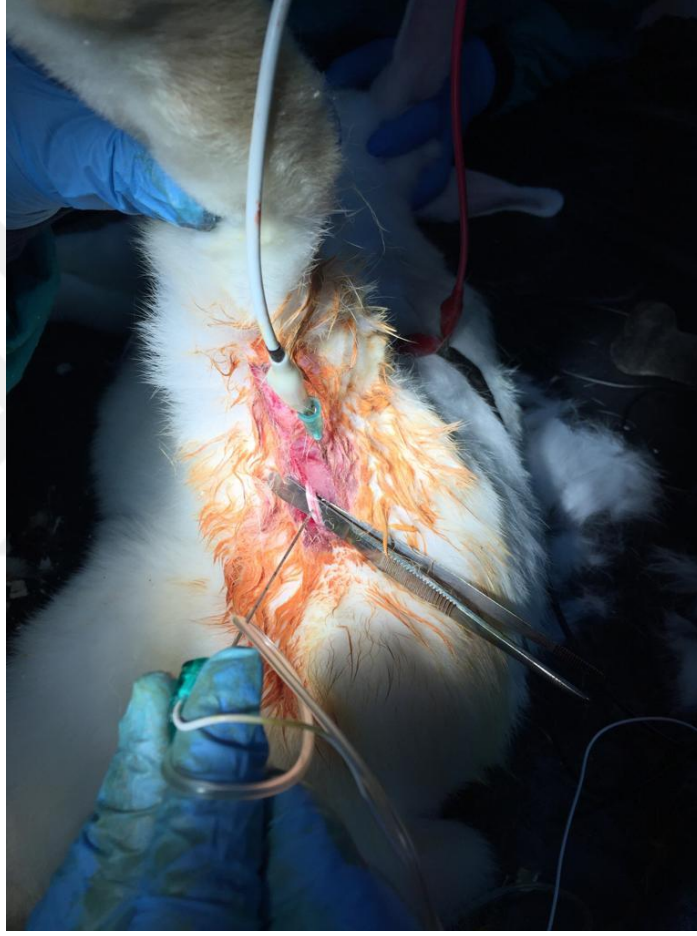


Şekil 3.2. Maske oksijen uygulaması



Şekil 3.3. Tavşan siyatik siniri

Siyatik sinire eksplorasyon sonrası periferik sinir stimülatörü (StimuplexR, B. Braun, Melsungen AG, Germany) eşliğinde 22-gauge yalıtımlı sinir blok iğnesi kullanılarak siyatik sinire 0,2 miliamper (mA) ile 0,5 mA aralığında uyarı verildi (80). Motor yanıt alınan tavşanlarda siyatik sinirin sağlam olduğu kabul edilerek çalışmaya devam edildi, motor yanıt alınmayan tavşanlar ise çalışmadan çıkarıldı (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Elektrofizyolojik monitörizasyon

Çalışma metodu şu şekilde planlandı ve gruplara uygulamalar şu şekilde uygulandı;

Grup 1 (Kontrol, Sham): Deney hayvanına sevoflurane ile inhalasyon anestezisi uygulandıktan sonra arka ekstremitenin siyatik siniri; baldır üzerinde lateral insizyon kullanarak ve süperfisiyal fasiya ayrılarak ortaya çıkarıldı. Siyatik sinir görüldükten sonra, 0,7 ml serum fizyolojik yapıldıktan sonra cilt kapatıldı.

Grup 2 (insülin): Deney hayvanına sevoflurane ile inhalasyon anestezisi uygulandıktan sonra arka ekstremitenin siyatik siniri; baldır üzerinde lateral insizyon kullanarak ve süperfisiyal fasiya ayrılarak ortaya çıkarıldı. Siyatik sinir görüldükten sonra, perinöral alana 0,5 Ü/kg insülin (0,7 ml) enjekte edildi.

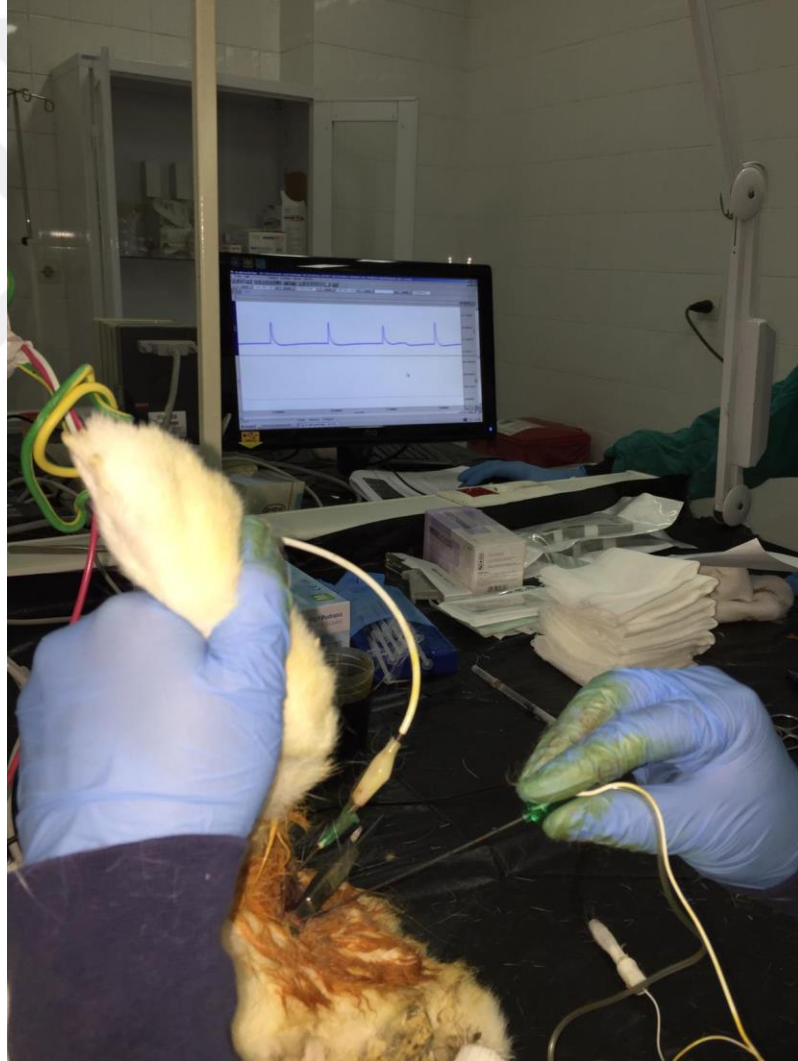
Grup 3 (Bupivakain): Deney hayvanına sevoflurane ile inhalasyon anestezisi uygulandıktan sonra arka ekstremitenin siyatik siniri; baldır üzerinde lateral insizyon kullanarak ve süperfisiyal fasiya ayrılarak ortaya çıkarıldı. Siyatik sinir görüldükten sonra, perinöral alana 0,5 mg/kg bupivakain (0,7 ml) enjekte edildi.

Grup 4 (bupivacaine+insülin): Deney hayvanına sevoflurane ile inhalasyon anestezisi uygulandıktan sonra arka ekstremitenin siyatik siniri; baldır üzerinde lateral insizyon kullanarak ve süperfisiyal fasiya ayrılarak ortaya çıkarıldı. Siyatik sinir görüldükten sonra, perinöral alana 0,5 mg/kg bupivakain + 0,5 Ü/kg insülin (0,7 ml) enjekte edildi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Siyatik sinire perinöral ilaç uygulanması

Tüm gruplarda cilt kapatıldıktan (yüzeyel kas tabakası 5.0 ipek ile ve cilt 3,0 ipek ile) ve anestezinin etkisi geçip hayvan uyandıktan sonra (yaklaşık tahmini 5-10 dk) tavşanlar 30 dk'da bir benzer çalışmalarda kullanılmış yöntemlerle, motor fonksiyon, duyu fonksiyon ve derin duyu fonksiyonu açısından tamamen normal haline gelene kadar izlendi ve kaydedildi. Analjezi değerlendirmesi için hot-plate testi kullanıldı. Akımın yavaşlamasını veya gecikmesini elektrofizyolojik olarak da göstermek için bilgisayar destekli elektrofizyolojik yanıtlar kaydedildi (ilaç uygulanmasından 5 dk sonra başlayarak 5 dk süreyle) (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Elektrofizyolojik yanıt ölçümleri

Ayrıca enjeksiyon yapılan bölgenin histopatolojik değerlendirmesi için doku histopatolojisi incelendi. İlacın uygulandığı yere sütür konarak tekrar açıldığında siyatik sinir preparatının aynı yerden alınması sağlandı ve cilt kapatıldı.

Her gruptan 4 tavşan, ilaç uygulandıktan sonraki 24. saatte, her gruptaki kalan 4 tavşan ise ilaç uygulandıktan 14 gün sonra sevofluran ile uyutularak siyatik sinirlerinin ilaç uygulanan kısmı alındı ve yüksek doz anestezik ile hayvanlara ötenazi uygulandı.

3.2. Değerlendirme Yöntemleri

3.2.1. Motor Fonksiyon Değerlendirilmesi (Pençe Çekme Motor)

Arka ekstremitedeki motor fonksiyon 30 dk'da bir (81) motor blok tamamen ortadan kalkana kadar 4 dereceli skor ile değerlendirildi (82, 83).

0= Normal motor fonksiyon (ayak normal dorsifleksiyonda, parmaklar açık, yürüyor),

1=Ayak normal dorsifleksiyonda, parmaklar kıvrılmış, yürüyor,

2= Ayak hafif dorsifleksiyonda, parmaklar kıvrılmış, yürüyor,

3= Ayakta tam dorsifleksiyon kaybı, parmaklar kıvrılmış, yürüyor.

Motor yanıt derecelendirilirken, normal motor fonksiyon skor 0 olarak kabul edildi. Skor ≥ 1 , bloklu motor fonksiyon olarak kabul edildi. Normal motor fonksiyona dönme süreleri kaydedildi.

3.2.2. Duyusal Fonksiyonun Değerlendirilmesi (Pençe Çekme Duysal)

Arka ekstremitedeki duyusal blok, ağırlı uyarana ayak çekme refleksi ile blok tamamen ortadan kalkana kadar 30 dk'da bir değerlendirildi (82, 84, 85). Bu amaçla ayak-lateral metatarsus üzerindeki cilt katlantısı üzerine forceps kullanılarak basınç uygulandı (85). Doku hasarı yapmamak için basınç uygulama işlemi maksimum 1 saniye ile sınırlandırıldı. Değerlendirmede dört puanlı skala kullanıldı.

0=Sıkıştırmaya güçlü ayak çekme yanıtı (normal duyu fonksiyonu),

1=Orta derecede ayak çekme yanıtı,

2=Hafif ayak çekme yanıtı,

3=Sıkıştırmaya yanıt yok (tam duyusal blok) (82, 84).

Duyusal yanıt derecelendirilirken, normal duyusal yanıt skor 0 olarak kabul edildi. Skor ≥ 1 , blokluyusal fonksiyon olarak kabul edildi. Normal duyusal fonksiyona dönme süreleri kaydedildi.

3.2.3. Hot-Plate Test Değerlendirmesi

Dijital termometre kullanılarak kontrol edilebilen Hot-Plate'in (Electro mag Instruments, İstanbul, Türkiye) yüzeyi, 50°C'lik sabit bir sıcaklığa ulaşmak için ısıtıldı. Tavşanlar sıcak plaka yüzeyine yerleştirildiğinde sallama, pençe yalama ve plakadan atlama arasındaki süre (saniye cinsinden) gecikme süresi olarak kabul edildi. Doku hasarını önlemek için kesme süresi 60 saniyeye ayarlandı (86). Başlangıç, ilaç enjeksiyonundan 0 ve 30 dakika önce sağlanan ortalama yanıt süreleri olarak yansıtıldı ve tavşanların ısı etkisine normal yanıtı olarak kabul edildi. Sıcak plaka testindeki gecikme süresi, ilaç uygulamasından 0, 30, 60, 90 ve 120 dakika sonra kaydedildi.

3.3. Hayvan Yaşamını Sonlandırma Yöntemi

Her gruptan 4 tavşan, ilaç uygulandıktan sonraki 24.saatte, her grupta kalan 4 tavşan ise ilaç uygulandıktan 14 gün sonra sevofluran ile uyutularak siyatik sinirlerinin ilaç uygulanan kısmı alındı ve yüksek doz anestezik ile hayvanlara ötenazi uygulandı.

3.4. Histoloji Gereç-Yöntem

Deney sonunda alınan siyatik sinir dokuları %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Tespit sonunda çeşme suyunda yıkanan dokular, dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilen kesitler, genel değerlendirme için hematoksilen-eozin (H-E) ile boyandı. Boyanan preparatlar Leica DFC-280 araştırma mikroskopu ile Leica Q Win Image Analiz Sistemi (Leica Micros Imaging Solutions Ltd.,Cambridge, UK) kullanılarak incelendi.

3.5. Histolojik Değerlendirme

H-E boyama metodu uygulanan her bir kesit, 40'luk büyütmede, infiltrasyon, konjesyon fibriler dejenerasyon (aksonal şişme, miyelin kılıfta bozulma) ve Schwann hücre

yoğunluğu yönünden değerlendirildi. Histolojik değerşiklikler; yok (0), hafif (1), orta (2), şiddetli (3) olarak skorlandı (87, 88).



4. BULGULAR

Çalışma sekizer tavşandan oluşan dört grup ile yapılmıştır. Kontrol grubu “Grup 1”, insülin grubu “Grup 2”, Bupivakain grubu “Grup 3” ve Bupivakain+İnsülin grubu “Grup 4” olarak adlandırılmıştır.

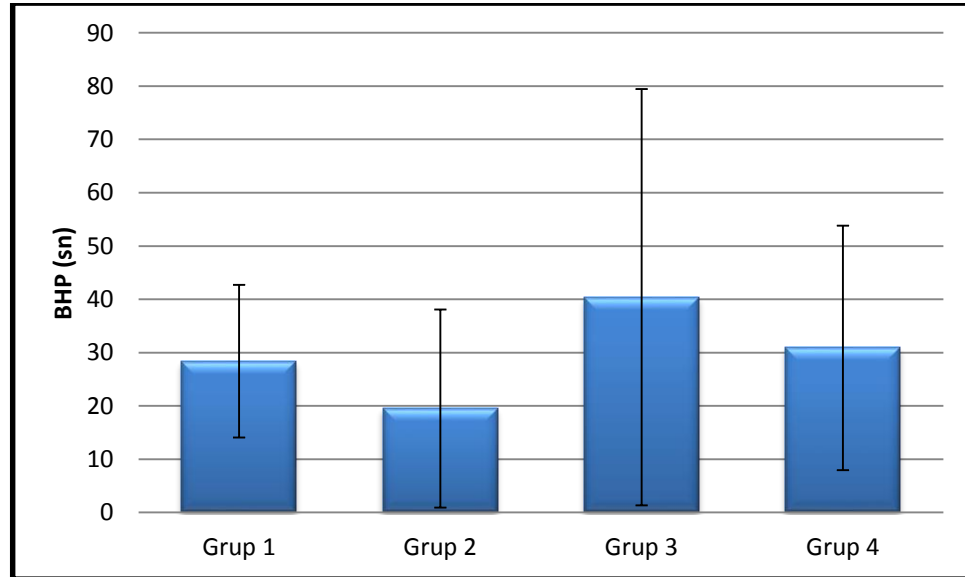
4.1. Klinik Bulgular

Tablo 4.1. Grupların BHP açısından değerlendirilmesi

Grup	BHP (sn)			p
	Min-Max	Ort±SS	Medyan	
Grup 1	11-52	28,38±14,30	25,5	0,374
Grup 2	8-64	19,50±18,60	13,5	
Grup 3	9-100	40,38±39,08	20,5	
Grup 4	8-70	30,88±22,92	28,0	

Kruskal Wallis Test

BHP: Bazal hot plate



Şekil 4.1. BHP Süreleri

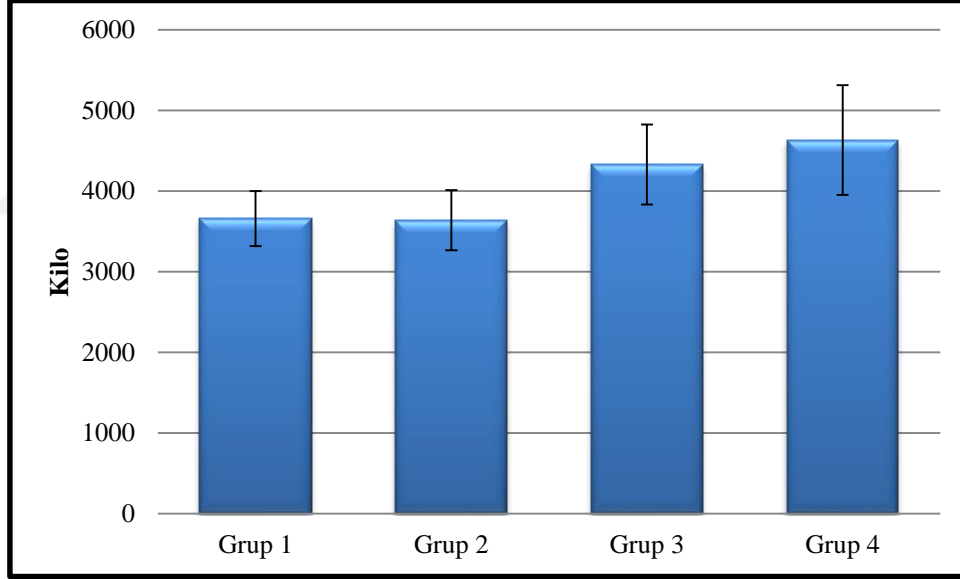
Gruplar arasında bazal sıcak yüzeyde (bazal hot plate) tavşanların durma süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Tablo 4.2. Grupların kilo açısından değerlendirilmesi

Grup	Kilo			p
	Min-Max	Ort±SS	Medyan	
Grup 1	3000-4100	3657,50±341,50	3740	0,001*
Grup 2	3215-4150	3639,63±373,41	3665	
Grup 3	3350-5150	4327,50±496,03	4335	
Grup 4	3360-5350	4632,13±680,52	4640	

Kruskal Wallis Test

* $p<0,05$



Şekil 4.2. Grupların kilo dağılımı

Gruplar arasında tavşanların kilo ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 4'teki tavşanların kilo ortalamaları Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,003$; $p_2:0,002$; $p<0,05$). Grup 3'teki tavşanların kilo ortalamaları Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,014$; $p_2:0,008$; $p<0,05$). Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanların kiloları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 3 ve Grup 4'deki tavşanların kiloları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Tablo 4.3. Grupların PÇT duyusal blok skorları açısından değerlendirilmesi

PÇT Duyusal Blok		Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0.dk	0	4 (%50)	5 (%62,5)	2 (%25)	0 (%0)	0,000*
	1	4 (%50)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	
	2	0 (%0)	3 (%37,5)	0 (%0)	0 (%0)	
	3	0 (%0)	0 (%0)	6 (%75)	8 (%100)	
30.dk	0	4 (%50)	8 (%100)	3 (%37,5)	1 (%12,5)	0,000*
	1	4 (%50)	0 (%0)	3 (%37,5)	0 (%0)	
	2	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	1 (%12,5)	
	3	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	6 (%75)	
60.dk	0	6 (%75)	7 (%87,5)	4 (%50)	2 (%25)	0,048*
	1	1 (%12,5)	1 (%12,5)	2 (%25)	1 (%12,5)	
	2	1 (%12,5)	0 (%0)	1 (%12,5)	0 (%0)	
	3	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	5 (%62,5)	
90.dk	0	7 (%87,5)	7 (%87,5)	6 (%75)	3 (%37,5)	0,285
	1	1 (%12,5)	0 (%0)	1 (%12,5)	1 (%12,5)	
	2	0 (%0)	1 (%12,5)	0 (%0)	1 (%12,5)	
	3	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	3 (%37,5)	
120.dk	0	6 (%75)	7 (%87,5)	6 (%75)	4 (%50)	0,144
	1	1 (%12,5)	0 (%0)	1 (%12,5)	0 (%0)	
	2	1 (%12,5)	1 (%12,5)	0 (%0)	0 (%0)	
	3	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	4 (%50)	

Ki-kare test

* $p<0,05$

Gruplar arasında PÇT duyusal blok 0.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Grup 2'de hafif çekme (2) oranı (%37,5), Grup 1 (%0), Grup 3 (%0) ve Grup 4'ten (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,029$; $p_2:0,006$; $p_3:0,000$; $p<0,05$). Grup 1'de ılımlı çekme oranı (%50), Grup 2 (%0), Grup 3 (%0) ve Grup

4'ten (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,029$; $p_2:0,005$; $p_3:0,001$; $p<0,05$). Grup 3 ve Grup 4 arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT duyusal blok 30.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Grup 1'de ılımlı çekme oranı (%50), Grup 2 (%0) ve Grup 4'ten (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,021$; $p_2:0,005$; $p<0,05$). Grup 4'te tüm blok (3) oranı (%75), Grup 1 (%0) ve Grup 2'den (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,005$; $p_2:0,002$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT duyusal blok 60.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,048$; $p<0,05$). Grup 4'te tüm blok (3) oranı (%62,5), Grup 1 (%0) ve Grup 2'den (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,046$; $p_2:0,020$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT duyusal blok 90.dakika ve 120.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Tablo 4.4. Grupların PÇT motor blok skorları açısından değerlendirilmesi

PÇT Motor Blok		Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	p
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
0.dk	0	4 (%50)	4 (%50)	0 (%0)	0 (%0)	0,003*
	1	4 (%50)	3 (%37,5)	2 (%25)	6 (%75)	
	2	0 (%0)	1 (%12,5)	6 (%75)	2 (%25)	
30.dk	0	5 (%62,5)	6 (%75)	0 (%0)	0 (%0)	0,004*
	1	3 (%37,5)	2 (%25)	8 (%100)	7 (%87,5)	
	2	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	
60.dk	0	5 (%62,5)	7 (%87,5)	3 (%37,5)	0 (%0)	0,028*
	1	2 (%25)	1 (%12,5)	4 (%50)	7 (%87,5)	
	2	1 (%12,5)	0 (%0)	1 (%12,5)	1 (%12,5)	
90.dk	0	8 (%100)	7 (%87,5)	4 (%50)	0 (%0)	0,001*
	1	0 (%0)	0 (%0)	3 (%37,5)	7 (%87,5)	
	2	0 (%0)	1 (%12,5)	1 (%12,5)	1 (%12,5)	
120.dk	0	8 (%100)	6 (%75)	4 (%50)	0 (%0)	0,004*
	1	0 (%0)	2 (%25)	4 (%50)	7 (%87,5)	
	2	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	1 (%12,5)	

Ki-kare test

* $p<0,05$

Gruplar arasında PÇT motor blok 0.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,003$; $p<0,05$). Grup 3'te ılımlı, orta dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (2) oranı (%75), Grup 1 (%0), Grup 2 (%12,5) ve Grup 4'ten (%25) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,005$; $p_2:0,021$; $p_3:0,046$; $p<0,05$). Grup 4'te ılımlı, orta dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (2) oranı (%25), Grup 1'den (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,041$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 30.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,004$; $p<0,05$). Grup 3'te normal dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (1) oranı (%100), Grup 1 (%37,5) ve Grup 2'den (%25) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,007$; $p_2:0,002$; $p<0,05$). Grup 4'te normal dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (1) oranı (%87,5), Grup 1 (%37,5) ve Grup 2'den (%25) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,022$; $p_2:0,008$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 60.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,028$; $p<0,05$). Grup 4'te normal dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (1) oranı (%87,5), Grup 1 (%25) ve Grup 2'den (%12,5) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,020$; $p_2:0,002$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 90.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). Grup 4'te normal dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (1) oranı (%87,5), Grup 1 (%0) ve Grup 2'den (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,001$; $p_2:0,001$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 120.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,004$; $p<0,05$). Grup 4'te normal dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (1) oranı (%87,5), Grup 1 (%0) ve Grup 2'den (%25) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,001$; $p_2:0,008$; $p<0,05$). Grup 3'te normal dorsofleksiyon yeteneği ve kıvrılmış ayakla yürüme (1) oranı (%50), Grup 1'den (%0) anlamlı şekilde yüksektir ($p_1:0,021$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

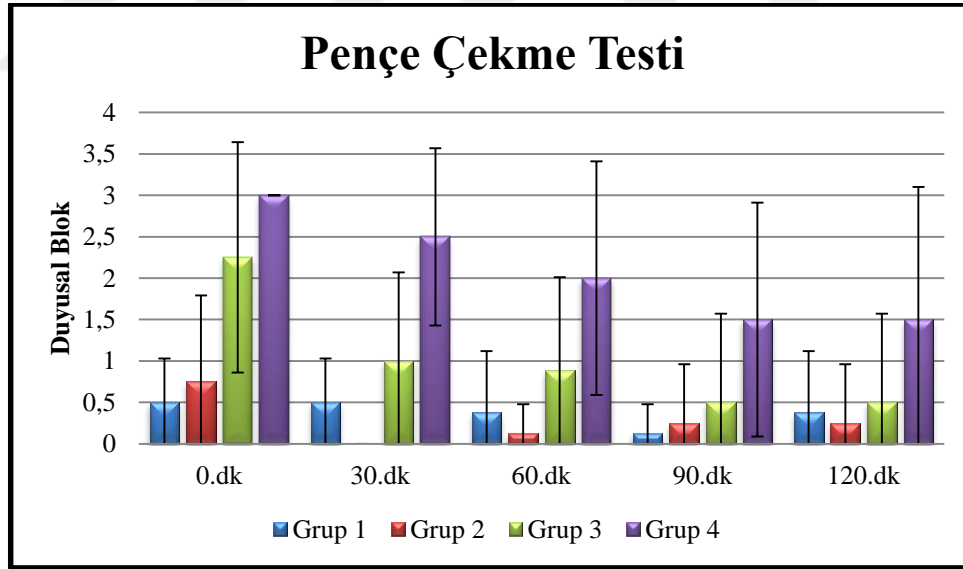
Tablo 4.5. Grupların PÇT duyuşal blok skorları açısından değerlendirilmesi

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	
PÇT Duyusal Blok	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	¹ p
0.dk	0,5±0,53 (0,5)	0,75±1,04 (0)	2,25±1,39 (3)	3±0 (3)	0,000*
30.dk	0,5±0,53 (0,5)	0±0 (0)	1±1,07 (1)	2,5±1,07 (3)	0,001*
60.dk	0,38±0,74 (0)	0,13±0,35 (0)	0,88±1,13 (0,5)	2±1,41 (3)	0,018*
90.dk	0,13±0,35 (0)	0,25±0,71 (0)	0,5±1,07 (0)	1,5±1,41 (1,5)	0,060
120.dk	0,38±0,74 (0)	0,25±0,71 (0)	0,5±1,07 (0)	1,5±1,6 (1,5)	0,236
0.dk-30.dk ² p	1,000	0,083	0,057	0,180	
0.dk-60.dk ² p	0,564	0,102	0,056	0,102	
0.dk-90.dk ² p	0,083	0,157	0,034*	0,039*	
0.dk-120.dk ² p	0,564	0,157	0,034*	0,046*	

¹Kruskal Wallis Test

²Wilcoxon sign test

*p<0,05



Şekil 4.3. Duyusal Blok PÇT değerleri

Gruplar arasında PÇT duyuşal blok 0.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0,000; p<0,05). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 4'teki tavşanların 0.dk skorları, Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (p₁:0,002; p₂:0,003; p<0,05). Grup 3'teki tavşanların skorları Grup 1 ve Grup

2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,013$; $p_2:0,017$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT duyusal blok 30.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 4'teki tavşanların 30.dk skorları, Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,044$; $p_2:0,000$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT duyusal blok 60.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,018$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 4'teki tavşanların 60.dk skorları, Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,013$; $p_2:0,020$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT duyusal blok 90.dakika ve 120.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 1'de; 0.dk duyusal blok skoruna göre 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

Grup 2'de; 0.dk duyusal blok skoruna göre 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

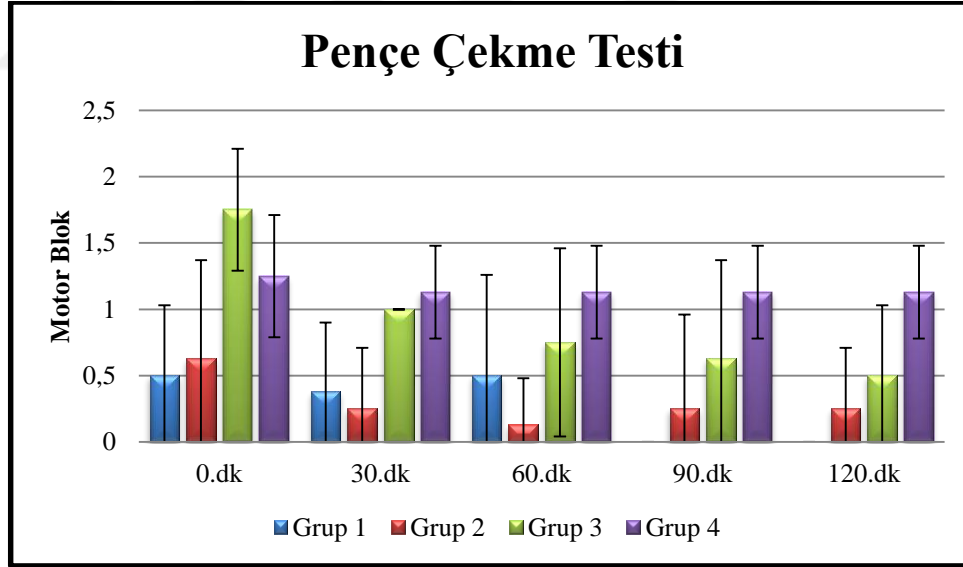
Grup 3'te; 0.dk duyusal blok skoruna göre 30.dk, 60. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmezken ($p>0,05$). 0.dakikaya göre 90.dk ve 120.dakikalarda görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Grup 4'te; 0.dk duyusal blok skoruna göre 30.dk, 60. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmezken ($p>0,05$). 0.dakikaya göre 90.dk ve 120.dakikalarda görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Tablo 4.6. Grupların PÇT motor blok skorları açısından değerlendirilmesi

PÇT Motor Blok	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	¹ p
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
0.dk	0,50±0,53 (0,5)	0,63±0,74 (0,5)	1,75±0,46 (2)	1,25±0,46 (1)	0,002*
30.dk	0,38±0,52 (0)	0,25±0,46 (0)	1±0 (1)	1,13±0,35 (1)	0,001*
60.dk	0,5±0,76 (0)	0,13±0,35 (0)	0,75±0,71 (1)	1,13±0,35 (1)	0,010*
90.dk	0±0 (0)	0,25±0,71 (0)	0,63±0,74 (0,5)	1,13±0,35 (1)	0,001*
120.dk	0±0 (0)	0,25±0,46 (0)	0,5±0,53 (0,5)	1,13±0,35 (1)	0,001*
0.dk-30.dk ² p	0,317	0,083	0,014*	0,317	
0.dk-60.dk ² p	1,000	0,046*	0,038*	0,317	
0.dk-90.dk ² p	0,046*	0,257	0,024*	0,317	
0.dk-120.dk ² p	0,046*	0,257	0,015*	0,317	

¹Kruskal Wallis Test ²Wilcoxon sign test *p<0,05



Şekil 4.4. Motor Blok PÇT değerleri

Gruplar arasında PÇT motor blok 0.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır (p:0,002; p<0,05). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 3'teki tavşanların 0.dk skorları, Grup 1, Grup 2 ve Grup 4'teki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek

bulunmuştur ($p_1:0,001$; $p_2:0,002$; $p_3:0,044$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 30.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 3'teki tavşanların 30.dk skorları, Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,015$; $p_2:0,020$; $p<0,05$). Grup 4'teki tavşanların 30.dk skorları, Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,033$; $p_2:0,007$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 60.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,010$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 4'teki tavşanların 60.dk skorları, Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,007$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 90.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 4'teki tavşanların 90.dk skorları, Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,001$; $p_2:0,012$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında PÇT motor blok 120.dakika skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 4'teki tavşanların 120.dk skorları, Grup 1 ve Grup 2'deki tavşanlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p_1:0,001$; $p_2:0,013$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Grup 1'de; 0.dk motor blok skoruna göre 30.dk, 60. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmezken ($p>0,05$). 0.dakikaya göre 90.dk ve 120.dakikalarda görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Grup 2'de; 0.dk motor blok skoruna göre 30.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). 0.dakikaya göre 60.dakikada görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

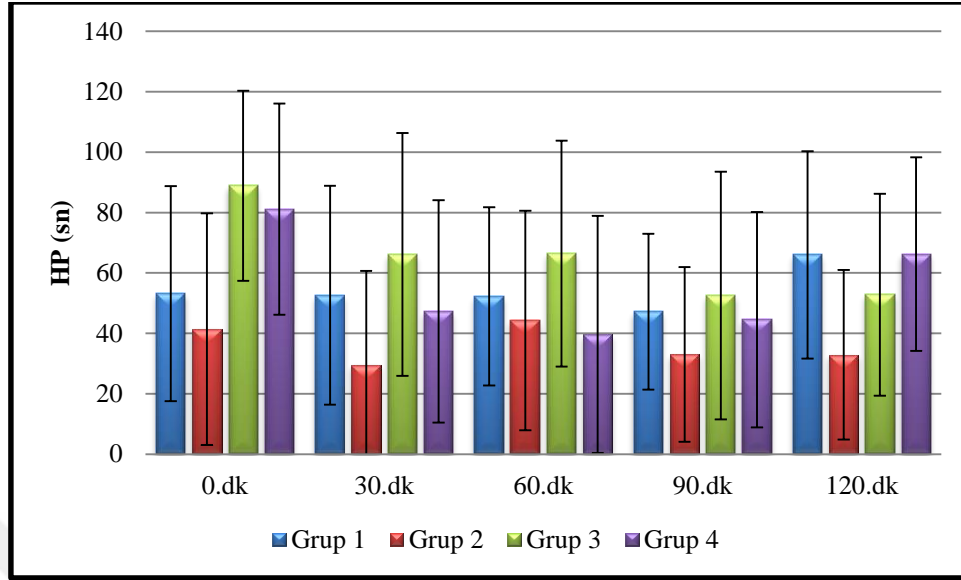
Grup 3'te; 0.dk motor blok skoruna göre 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Grup 4'te; 0.dk motor blok skoruna göre 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.7. Grupların sıcak yüzeyde(Hot plate) kalma süreleri açısından değerlendirilmesi

HP (sn)	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	¹ p
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	
0.dk	53,13±35,62 (39,5)	41,38±38,37 (22,5)	88,88±31,47 (100)	81,13±34,95 (100)	0,045*
30.dk	52,63±36,27 (36,5)	29,5±31,15 (15)	66,13±40,18 (80)	47,25±36,82 (37,5)	0,292
60.dk	52,25±29,49 (50) 47,13±25,81	44,25±36,4 (31,5)	66,38±37,39 (77,5)	39,63±39,26 (19)	0,289
90.dk	(39,5)	33±28,96 (25)	52,5±41,04 (36,5)	44,5±35,63 (28,5) 66,25±32,04	0,519
120.dk	66±34,34 (69)	32,88±28,1 (23)	52,75±33,43 (46)	(66,5)	0,067
0.dk-30.dk ² p	1,000	0,398	0,068	0,075	
0.dk-60.dk ² p	0,866	1,000	0,144	0,027*	
0.dk-90.dk ² p	0,889	0,499	0,043*	0,075	
0.dk-120.dk ² p	0,237	0,866	0,046*	0,463	

¹Kruskal Wallis Test ²Wilcoxon sign test * $p<0,05$



Şekil 4.5. Hot plate test değerleri

Gruplar arasında 0.dakika sıcak yüzeyde tavşanların durma süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,045$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda; Grup 2'deki tavşanların 0.dk sıcak yüzeyde durma süreleri, Grup 3 ve Grup 4'teki tavşanlardan anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p_1:0,032$; $p_2:0,017$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

Gruplar arasında tavşanların 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda sıcak yüzeyde durma süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Grup 1'te; 0.dk süresine göre 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

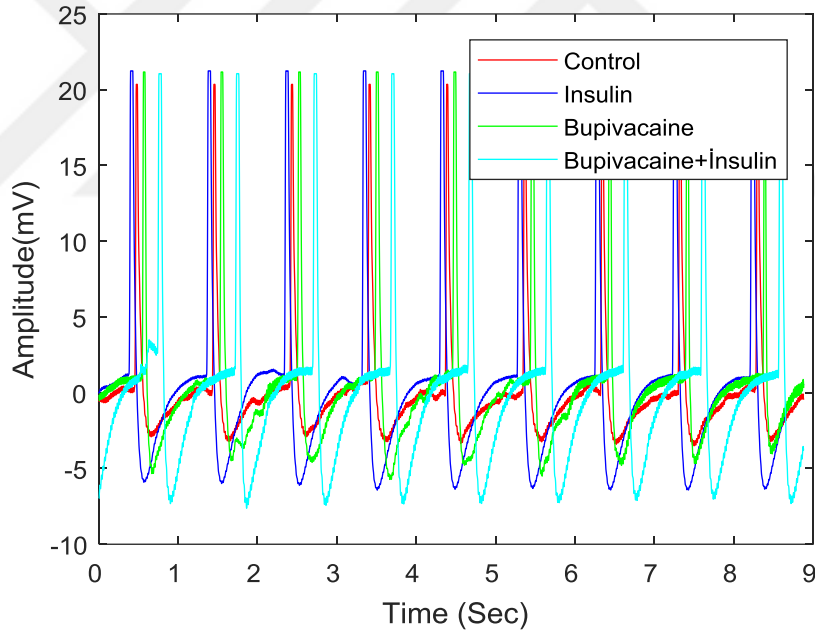
Grup 2'de; 0.dk süresine göre 30.dk, 60.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$).

Grup 3'te; 0.dk süresine göre 30.dk ve 60.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). 0.dakikaya göre 90.dk ve 120.dakika sürelerinde görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Grup 4'te; 0.dk süresine göre 30.dk, 90.dk ve 120.dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). 0.dakikaya göre 60.dakika süresinde görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

4.2. Elektrofizyoloji Bulguları

Bu elektrofizyolojik çalışmada siyatik sinir uyarıcı bir darbe StimuplexR, B. Braun, Melsungen AG, Germany ile uyarılmış ve $s(t)$ olarak adlandırılan siyatik sinir üzerinde uyarılmış bileşik aksiyon potansiyelleri ölçülmüştür. Ölçümler MP100 veri ölçme cihazı ile 1000 ve 500 örnekleme frekansı kazanımı ile elde edildi. Kontrol, Bupivakain, İnsülin ve Bupivakain + İnsülin uygulamasıyla kaydedilen tipik hareket darbe dizileri $s(t)$ Şekil 4.6'te gösterildi.



Şekil 4.6. İskelet siyatik sinirinde kaydedilen tipik uyarılmış kümülatif Aksiyon potansiyelleri

Tüm vakalarda görülebileceği gibi, nabız hızları, amplitüdlere neredeyse ayırt edilemezdir, bu nedenle anestetik maruziyetinin etkisi çıkarılamaz. Farklı gruplardan kaydedilen sinyaller arasında değişen tek sinyal bileşeni, sinyallerin hiperpolarizasyon fazıydı. Ne yazık ki Aksiyon potansiyellerinin hiperpolarizasyon evreleri her grup içinde

farklıydı. (89)'de verilen bilginin aksine, aksiyon potansiyellerinin zamansal olarak yer değiştirmesi, esas olarak güçlü sinir stimülasyonu nedeniyle önemli ölçüde değişmedi.

Başka bir perspektiften bakmak için, bu tipik sinyallerin spektral içeriği, aşağıdakiler tarafından verilen Fourier Dönüşümü kullanılarak hesaplandı:

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} s(t) \exp(-j\omega t) dt$$

Burada $s(t)$, Şekil 4.6'da sunulan uyandırılmış Bileşik Eylem Potansiyelleridir. Şekil 4.7'da gösterildiği gibi, elde edilen spektrumların, başka herhangi bir işleme tabi tutulmadan gruplarla kolayca gözlemlenebilir bir korelasyon göstermediği bulundu. Bu nedenle sinyaller, deneyde kullanılan gruplar üzerinden ortalaması alınan bu sinyallerin Güç Spektral Yoğunluğunu (PSD) hesaplarken önemli ayırt edilebilir bilgiler elde etmek için daha fazla işlendi.

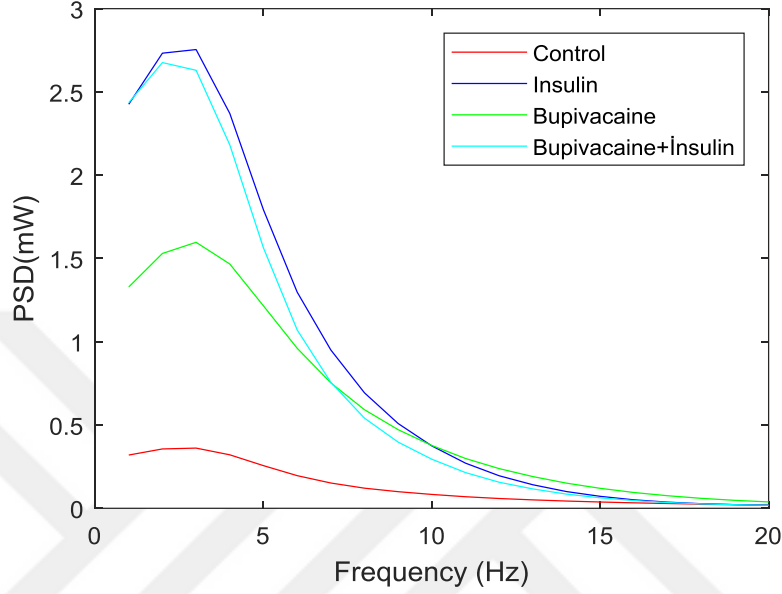
$$PSD(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} |S(\omega)|^2 d\omega$$

Ortalaması alınan PSD sinyallerinden önemli ölçüde belirgin bilgiler elde edildi. Bu temsil biçiminde, gücün çoğu esas olarak Eylem Potansiyellerinin repolarizasyon bileşeni nedeniyle üretilmiştir ve bu nedenle, bu çalışmada burada ele alınan anestetiklerin etkisi hakkında önemli bilgiler göstermektedir.

Şekilde gösterilen PSD verileri, insülin ve insülin + Bupivakainin, esas olarak siyatik sinir hücrelerinin yüksek hiperpolarizasyon seviyesinden dolayı kümülatif etki potansiyellerinin gücünü önemli ölçüde artırdığını açıkça göstermiştir. Bu yüksek seviyedeki repolarizasyon, insülinin doğrudan Na^+-K^+ pompasını aktive ettiği ve dolayısıyla hiperpolarizasyonla aktive olan içe doğru I_h akımını artırdığı için tahmin edilebilir.

Bupivakain ile kaydedilen sinyaller, yalnızca insülin ile kaydedilenlerden daha düşük kümülatif aksiyon potansiyeli gücü gösterdi (Şekil 4.7). Bu, Bupivakain'e insülin eklendiğinde, sinir kasılmasının önemli ölçüde arttığını ve bunun $Na^+ - K^+$ ve Ca

kanallarının aktivasyon süreciyle bağlantılı olabileceğini gösterir. Bu sonuçlar (90; 91; 89)'de bulunan sonuçlarla tutarlıdır.



Şekil 4.7. İskelet siyatik sinirinde kaydedilen uyarılmış kümülatif eylem potansiyellerinin ortalama PSD'si.

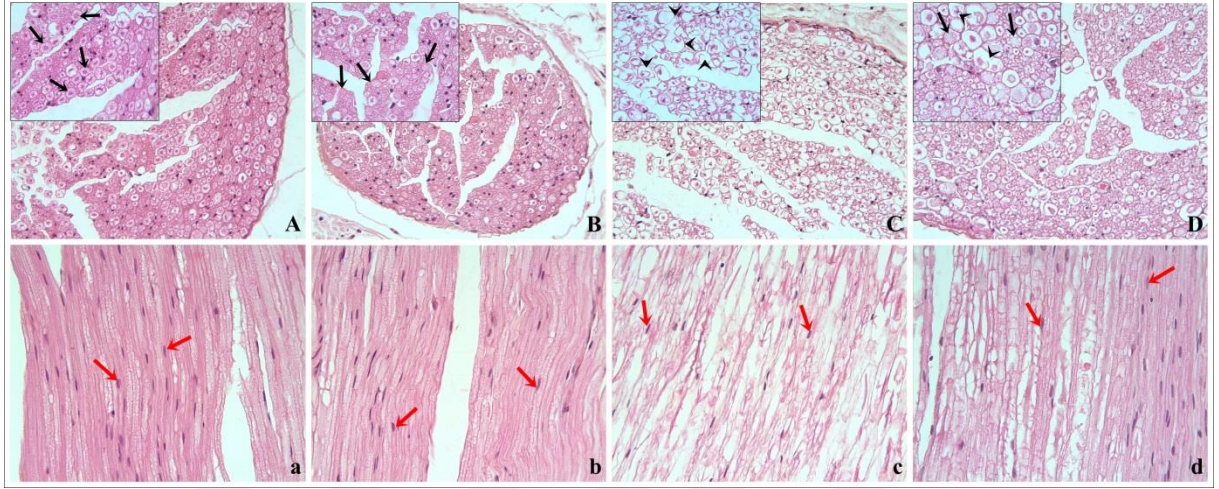
4.3. Histolojik Bulgular

4.3.1. Akut Uygulama

Kontrol grubuna ait kesitlerde yer yer dejenerer sinir fibrillerine rastlanmakla beraber, sinir fibrillerinin çoğunun belirgin akson ve aksonu çevreleyen düzenli bir miyelin kılıftan oluştuğu gözlemlendi (Şekil 4.8. A, a). İnsülin grubunda da çoğu sinir fibrilinin, kontrol grubuna benzer şekilde normal histolojik görünümde olduğu izlendi (Şekil 4.8. B, b). Bupivakain grubunda, sinir fibrillerinde belirgin dejeneratif değişiklikler gözlemlendi. Bu grupta, aksonların şişme, yıkılma gibi dejeneratif değişiklikler geçirdiği ve miyelin kılıf yapısının bozulduğu dikkat çekti (Şekil 4.8. C, c). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bupivakain grubunda izlenen bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,001$). Diğer yandan, bupivakain grubunda gözlenen fibriler dejenerasyonun, bupivakain+insülin grubunda belirgin şekilde azaldığı (Şekil 4.8. D, d) ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Ayrıca, tüm gruplarda dikkat çekici olarak, benzer düzeylerde perinöral infiltrasyon ve konjesyon bulgularına rastlandı.

Schwann hücre yoğunluğu için yapılan değerlendirmelerde, tüm grupların benzer hücre yoğunluğuna sahip olduğu tespit edildi ($p>0,05$).

Grupların histopatolojik değerlendirme sonuçları Tablo 4.8’de, ikili grup karşılaştırmaları Tablo 4.9’da verildi.



Şekil 4.8. Transvers (A-D) ve longitudinal kesit (a-d) düzlemlerinde her bir grubun H-E ile boyanmış ışık mikroskopik görüntüleri.

Kontrol (A, a) ve insülin (B, b) gruplarında normal histolojik görünümdeki sinir fibrilleri izlenmekte (oklar). Bupivakain grubunda (C, c), akson ve miyelin kılıf yapısının bozulduğu dejenere sinir fibrilleri (ok başları) dikkati çekmekte. Bupivakain+insülin grubunda (D, d), bupivakain grubuna göre belirgin şekilde azalmış fibriler dejenerasyon izlenmekte (oklar normal, ok başları dejenere sinir fibrilleri). Tüm gruplarda benzer düzeyde Schwann hücre yoğunluğu (kırmızı oklar) izlenmekte. H-E; x40.

Tablo 4.8. Akut uygulama gruplarında histopatolojik skor sonuçları (med (min-mak)).

Gruplar	Fibriler dejenerasyon	Schwann hücre yoğunluğu	İnfiltrasyon	Konjesyon
Kontrol	0,0 (0,0-2,0)	0,0 (0,0-1,0)	1,0 (0,0-3,0)	0,5 (0,0-3,0)
İnsülin	1,0 (0,0-2,0)	0,0 (0,0-0,0)	1,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-3,0)
Bupivakain	3,0 (2,0-3,0) ^a	0,0 (0,0-1,0)	1,0 (0,0-3,0)	0,0 (0,0-3,0)
Bupivakain+insülin	2,0 (0,0-3,0) ^b	0,0 (0,0-1,0)	1,0 (0,0-3,0)	0,0 (0,0-3,0)

^aKontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış ($p<0,001$).

^bBupivakain grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış ($p<0,001$).

Tablo 4.9. Akut uygulamada ikili grup karşılaştırmaları

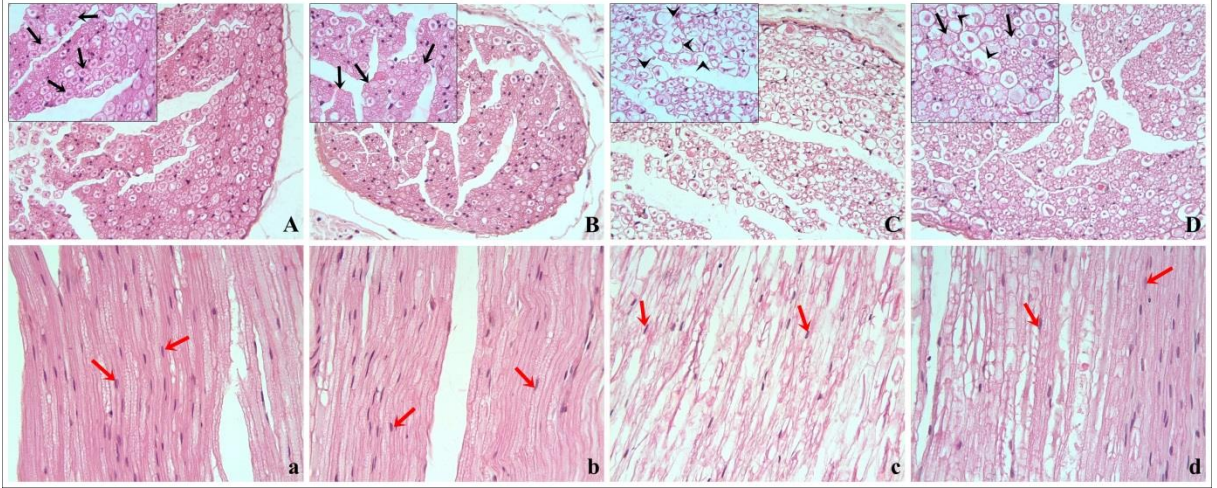
İkili grup karşılaştırmaları	Fibriler dejenerasyon	Schwann hücre yoğunluğu	İnfiltrasyon	Konjesyon
Kontrol - İnsülin	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Bupivakain - Kontrol	<0,0001	>0,05	>0,05	>0,05
Bupivakain - Bupivakain+insülin	<0,0001	>0,05	>0,05	>0,05

4.3.2. Kronik Uygulama

Fibriler dejenerasyon ve Schwann hücre yoğunluğu yönünden yapılan değerlendirmelerde, kontrol ve insülin gruplarının benzer olduğu saptandı (Şekil 4.9. A, a ve B, b). Diğer yandan, bupivakain grubunda izlenen dejeneratif fibril ve Schwann hücre yoğunluğunun, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,001$) (Şekil 4.9. C, c). Bupivakain+insülin grubunda, fibriler dejenerasyonun bupivakain grubuna göre azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0,05$) (Şekil 4.9. D, d). Schwann hücre yoğunluğu yönünden de bupivakain ve bupivakain+insülin gruplarının benzer olduğu bulundu.

Akut uygulamadan farklı olarak, kronik uygulama gruplarında infiltrasyona rastlanmazken ($p<0,05$); konjesyon bulgularının kronik uygulama gruplarında, akut uygulama gruplarına benzer şekilde devam ettiği gözlemlendi. Fibriler dejenerasyon ve Schwann hücre yoğunluğu yönünden, kontrol ve insülin gruplarının akut ve kronik uygulamalarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p<0,05$). Diğer yandan, bupivakain ve bupivakain+insülin gruplarının akut ve kronik uygulamalarında, fibriler dejenerasyon benzer düzeyde devam ederken; Schwann hücre yoğunluğunun kronik bupivakain ve bupivakain+insülin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı ($p<0,05$).

Kronik grupların histopatolojik değerlendirme sonuçları Tablo 4.10'da, ikili grup karşılaştırmaları Tablo 4.11'de verildi. Akut ve kronik uygulamaların ikili grup karşılaştırmaları Tablo 4.12'de verildi.



Şekil 4.9. Transvers (A-D) ve longitudinal kesit (a-d) düzlemlerinde her bir grubun H-E ile boyanmış ışık mikroskopik görüntüleri.

Kontrol (A, a) ve insülin (B, b) gruplarında sinir fibrilleri (oklar). Bupivakain grubunda (C, c) dejenere sinir fibrilleri (ok başları). Bupivakain+insülin grubunda (D, d), bupivakain grubuna göre hafif düzeyde azalmış fibriler dejenerasyon (oklar normal, ok başları dejenere sinir fibrilleri). Schwann hücre yoğunluğu (kırmızı oklar) H-E; x40.

Tablo 4.10. Kronik uygulama gruplarında histopatolojik skor sonuçları (med (min-mak)).

Gruplar	Fibriler dejenerasyon	Schwann hücre yoğunluğu	İnfiltrasyon	Konjesyon
Kontrol	1,0 (0,0-3,0)	1,0 (0,0-2,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-2,0)
İnsülin	2,0 (0,0-3,0)	2,0 (0,0-3,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-2,0)
Bupivakain	3,0 (1,0-3,0) ^a	3,0 (1,0-3,0) ^a	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-2,0)
Bupivakain+insülin	3,0 (0,0-3,0)	3,0 (1,0-3,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-1,0)

^a Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış (p<0,001).

Tablo 4.11. Kronik uygulamada ikili grup karşılaştırmaları

İkili grup karşılaştırmaları	Fibriler dejenerasyon	Schwann hücre yoğunluğu	İnfiltrasyon	Konjesyon
Kontrol - İnsülin	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Bupivakain - Kontrol	<0,0001	<0,0001	>0,05	>0,05
Bupivakain - Bupivakain+insülin	<0,0001	>0,05	>0,05	>0,05

Tablo 4.12. Akut ve kronik uygulamalarda ikili grup karşılaştırmaları

İkili grup karşılaştırmaları	Fibriler dejenerasyon	Schwann hücre yoğunluğu	İnfiltrasyon	Konjesyon
Akut kontrol - Kronik kontrol	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
Akut insülin - Kronik insülin	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
Akut bupivakain - Akut bupivakain	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05
Akut bupivakain+insülin - Kronik bupivakain+insülin	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05

4.4. İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilks testleri ile değerlendirilmiş ve parametrelerin normal dağılıma göstermediği saptanmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken niceliksel verilerin karşılaştırılmasında parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Dunn's testi kullanıldı. Parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Histolojik değerlendirmedeki analizler İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı tarafından geliştirilen istatistiksel yazılım programı ile yapıldı. Çalışmada yer alan tüm gruplardaki ölçülebilir değişkenlerin normallik

testlerine göre normal dağılım göstermediği saptandı. Bu nedenle, istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi, tüm değişkenler yönünden grupların genel karşılaştırılmasında kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar, Mann-Whitney-U testi ile yapıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler, dağılıma bağlı olarak medyan (minimum-maksimum) (Med (Min-Mak)) olarak ifade edildi.



5. TARTIŞMA

Çalışmamızda amacımız, tercih edilen lokal anestezi olan bupivakainin sevofluran anestezisi altındaki tavşanlarda siyatik blok uygulamasına insülinin etkisini fiziksel ve elektrofizyolojik testler ile araştırmak ve histopatolojik olarak etkilerini karşılaştırmaktır. Çalışmamız göstermiştir ki belirlenen dozlarda insülin uygulanması bupivakain ile sağlanan siyatik blokta blok etkisini kısaltmada etkindir ve sinirsel iletimini yavaşlatmıştır. Bu etki elektrofizyolojik olarak da gösterilmiştir. Ayrıca histopatolojik sonuçlarımız, insülin uygulamasının akut dönemde (ilk 1 gün) fibriler dejenerasyonun azaltılması ya da yara yeri iyileşmesinde pozitif anlamda etkilerinin mevcut olduğunu da göstermiştir.

Çalışmamızın verileri incelendiğinde farklı testler arasında bazı farklılıklar olduğu, bunun da kullanılan ilaçların etki süreleri veya etki mekanizmaları ile alakalı olabileceği düşünüldü. Analjezi düzeyinin değerlendirildiği test olan Hot plate uygulaması açısından gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark bulunamadı. Hot plate değerlendirmelerinde insülinin etkisinin olmadığı, lokal anestezi uygulanan Grup 3 ve Grup 4 açısından anlamlı bir fark oluşmadığı tespit edildi. Pençe Çekme Testi duysal blok skorlamaları açısından 0., 30. ve 60. dakikalar için gruplar arasında anlamlı fark saptandı. Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda, Pençe Çekme Testi duysal blok skorlamaları açısından Grup 3 ve Grup 4 arasında anlamlı fark olmasa da diğer gruplara göre bu iki grupta anlamlı farklılıklar tespit edildi. Ayrıca Pençe Çekme Testi duysal blok skorlamaları açısından Grup 3 ve Grup 4'te 0. dakikaya göre 90. ve 120. dakikalardaki düşüşlerin anlamlı olduğu görüldü. Pençe Çekme Testi motor blok skorlamaları açısından tüm zaman dilimlerindeki ölçümlerde gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptandı. Pençe Çekme Testi motor blok skorlamaları açısından anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan ikili değerlendirmeler sonucunda, 0.dakika ölçümlerinde Grup 3'teki skorların diğer gruplardan (özellikle Grup 4'ten olan farkı önemli) anlamlı derecede farklı olduğu tespit edildi. Özellikle bu farkın bupivakain kullanılan diğer grup olan Grup 4'ten de farklı ve az olması insülinin motor blok etkisini azalttığı veya kısalttığı yönündeki sonucu desteklemektedir. Fakat bu etki 0.dakikada böyle iken Grup 3 ve Grup 4 arasındaki bu fark 30.dakika ve sonrasında ortadan kalkmıştır. Bu

hızlı etki değişimi insülinin sinir üzerindeki etki süresi veya kısa etkili insülin kullanımı ile alakalı olabilir. Elektrofizyolojik ölçümlere göre insülin, bupivakainin etkisini azalttığı veya kısalttığı, sadece insülin uygulanan grup ile bupivakain+insülin uygulanan grupların etki değerlerinin birbirine yaklaştığı gösterilmiştir. Bupivakain insülin eklendiğinde, sinir kasılmasının önemli ölçüde arttığı elektrofizyolojik ölçümlerde gösterilmiştir ve bunun Na-K ve Ca kanallarının aktivasyon süreciyle bağlantılı olabileceği düşünülmüştür. Akut Histolojik Değerlendirme'ye göre kontrol grubuna göre bupivakain uygulanan grupta anlamlı dejeneratif değişikliklerin görüldüğü tespit edilmekle beraber, bupivakain grubunda gözlenen fibriler dejenerasyonun, bupivakain+insülin grubunda belirgin şekilde azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Buna göre insülinin yara yeri iyileşmesi ya da fibriler dejenerasyonun azalması yönünde pozitif bir etkisinin olduğu ön görülebilir. Fakat kronik uygulamada (14 gün sonra alınan örneklerdeki bulgulara göre) fibriler dejenerasyon farkının Grup 4'te Grup 3'e göre azalmış olduğu görülse de bu farkın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Bu da kronik dönemde insülinin olumlu etkisinin kısmen ortadan kalktığını göstermektedir. İnsülinin yara yeri iyileşmesi ya da fibriler dejenerasyon üzerine olan etkisi için izole insülinin etkilerini gösteren ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kronik Histolojik Değerlendirme'ye göre fibriler dejenerasyon ve Schwann hücre yoğunluğu yönünden yapılan değerlendirmelerde, kontrol ve insülin gruplarının benzer olduğu, bupivakain grubunda izlenen dejeneratif fibril ve Schwann hücre yoğunluğunun, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu, bupivakain+insülin grubunda, fibriler dejenerasyonun bupivakain grubuna göre azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Diğer yandan, bupivakain ve bupivakain+insülin gruplarının akut ve kronik uygulamalarında, fibriler dejenerasyon benzer düzeyde devam ederken; Schwann hücre yoğunluğunun kronik bupivakain ve bupivakain+insülin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı saptandı.

Lokal anestezipler postoperatif akut ve kronik ağrının yanı sıra bölgesel bloklar için dünya çapında uzun süredir yaygın olarak tercih edilmektedir (92). Lokal anesteziplerin etki süreleri, etki güçleri ve etki başlama süreleri hangi lokal anesteziğin blok uygulamalarında kullanılacağına dair ön bilgiler vermektedir. Kısa süreli işlemlerde daha çok kısa ve hızlı etki süreli lokal anestezipler tercih edilirken, uzun süreli anestezi ve analjezi sağlanması istenen

durumlarda daha çok uzun etkili lokal anestezipler tercih edilmektedir. Bu nedenle analjezinin ve anestezinin daha uzun süre sağlanabildiği durumları sağlayabilmek amacıyla alternatif yöntemler araştırılmakta ve uygulanmaktadır. Lokal anesteziplerin periferik sinirler üzerindeki etki süresini uzatmak ve analjezi kalitesini arttırmak amacıyla birçok adjuvan ilaç kullanılmakta veya doğru adjuvan ilacın ve dozunun bulunmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır (93). Spinal anestezi uygulamalarında bupivakain içeren solüsyon içerisinde belirli oranlarda dekstroz eklenerek subaraknoid bölgedeki beyin omurilik sıvısı içerisinde lokal anesteziğin istenen bölgede daha fazla kalarak etki gücünün ve süresinin uzatılması sağlanabilmiştir. Bu amaçla yaptığımız bir çalışmada (94) lokal anesteziplere adjuvan olarak eklenen fenitoinin duysal ve motor blokaj sürelerini etkilemeden analjezi kalitesini ve süresini arttırdığını göstermiştik. O çalışmamızda fenitoinin histopatolojik olarak yıkıcı etkilerinin olması bir kısıtlılık olarak kabul edilmiş ve buna yönelik toksik etkilerinin ortadan kaldırılabilmesi amacıyla ileri çalışmalar önerilmiştir. Yine yaptığımız başka bir çalışmada alfa 2 adrenerjik agonist olan deksmedetomidinin tavşanlardaki siyatik bloğa olan etkisini araştırmış, izole deksmedetomidin motor ve duysal bloğu etkilemezken analjezi kalitesini arttırdığını, deksmedetomidine eklenen sodyum bikarbonatın bu etkileri değiştirmedğini göstermiştik (95). Benzer bir çalışmamızda bupivakaine eklenen sodyum bikarbonatın duysal bloğu uzattığı ve analjezi kalitesini arttırdığı gösterilmiştir (96). Bu çalışmamızda insülinin tercih etmemizin nedeni ise diğer çalışmalarımızda histopatolojik olarak ortaya çıkan artmış fibriler dejenerasyon gibi olumsuz histopatolojik sonuçlarla burada da karşı karşıya gelmemek idi. Çalışmamızın histopatolojik sonuçlarına göre insülinin eklendiği grupta özellikle akut dönemde fibriler dejenerasyonun anlamlı olarak daha az görülmesi bu hipotezimizi de desteklemiştir.

Lokal anesteziplerin etki mekanizmaları değerlendirildiğinde, periferik sinirlerde voltaj kapılı sodyum kanallarını, geçici olarak dışı doğru potasyum kanallarını ve kalsiyum kanallarını inhibe ederek etki gösterirler (97). Bupivakain de voltaja bağımlı sodyum kanallarını bloke ederek sinir iletimini engelleyen, lokal ve geri dönüşümlü anestezi sağlayan uzun etkili bir lokal anesteziptir. Her ne kadar insülinin voltaj bağımlı sodyum kanalları üzerine olan etkisi tam olarak bilinmese de özellikle potasyum ve kalsiyum kanalları üzerine olabilecek muhtemel etkileri hem çalışmamızın ana hipotezi olmakta hem de istenen düzeyde geri dönüşün belirlenebilmesi açısından yol göstermektedir. İnsülin kullanımının lokal

anestezikler üzerinde inhibe edici etkisinin ortaya çıkarak lokal anesteziklerin etki sürelerinin kılmasına yol açması hipotezi aslında uzun ve kuvvetli etkileri olan bazı lokal anesteziklerin daha kısa süreli bloke edici etkisini ortaya çıkarmak amaçlıdır. Hatta yapılan bir çalışmada magnezyum sülfat uygulamasının lokal anesteziklerin etki süresini kısalttığı veya etki gücünü kısmen inhibe ettiği gösterilmiştir (98). Her ne kadar insülinde olduğu gibi magnezyum sülfat kullanımında da etki mekanizması tam olarak henüz bilinmese ve ortaya çıkarılmamış olsa da insülinin kullanımındaki çalışmada klinik ve elektrofizyolojik veriler bu etkinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (99). Ayrıca özellikle ratlarda yapılan siyatik blok çalışmalarının birçoğunda çalışmada (94) anestezi sağlamak için kullanılan ketaminin analjezi kalitesini veya süresini etkileme potansiyeli olması bir kısıtlılık olarak kabul edilmiş olduğundan, çalışmamızda tavşanlarda anestezi sağlamak amacıyla çalışmamızı etkilememesi açısından sevofluran ile anestezi sağlanmasına karar verildi ve mevcut cihazlarımız ile yeterli ve efektif düzeyde anestezi uygulanabildi.

Çalışmamızda motor fonksiyon (pençe çekme motor), duysal fonksiyon (pençe çekme duysal), hot plate (analjezi) testleri ile tavşanlarda bupivakaine eklenmiş insülinin klinik etkilerinin gösterilmesi planlandı. Ayrıca bu etkinin daha iyi gösterilebilmesi ve desteklenebilmesi amacıyla elektrofizyolojik testler ile siyatik sinirdeki ileti yavaşlamasının gösterilmesi sağlandı. Her iki bulgu da gösterdi ki insülin lokal anesteziklerin sinir üzerindeki iletimini yavaşlattı. Ayrıca bu etkinin meydana gelen doku hasarı kaynaklı olmadığını da göstermek amacıyla histopatolojik değerlendirme de yapıldı ve insülinin özellikle dejeneratif değişiklikler açısından iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiş oldu. Çalışmamızda fibriler dejenerasyon açısından izole kullanılan bupivakainin olumsuz etkileri olduğu görülmesinin yanında bupivakaine insülin eklenen grupta bu etkilerin anlamlı olarak daha az olması yapılacak ileri çalışmalara da ışık tutacaktır.

Deneyde kullanılacak insülinin dozu ile alakalı birçok çalışma değerlendirildiğinde, insülin uygulaması sonrası serum potasyum ve kan şekeri değerlerinde dalgalanmalar (artış veya azalış) olmaması açısından diğer çalışmalardaki yüksek dozların aksine (6-36 IU/kg) (100) çalışmamızda 0,5 IU/kg dozu tercih edilmiştir. Kim ve ark. (99) tercih ettiği doza (0,4 IU/kg) yakın bir doz seçilerek diğer çalışmalar ile karşılaştırma sağlanabilmiştir. Yine de çalışmamızda kan şekeri ve elektrolitlerinin değerlendirilmemiş olması bir kısıtlılık olarak sayılabilir. Her ne kadar kullanılan insülin dozu diğer çalışmalara göre az olsa ve bu doza

göre beklenen değişikliklerin görölme ihtimali düşse de başka çalışmalarda buna da dikkat edilmesi önerilebilir. Ayrıca diğer benzer yan etkilerden korunabilmek amacıyla çalışmanın değerlendirme süreleri içerisinde etkisi ortadan kalkmayacak ama uzun süreli etkilerin de ortaya çıkmasını engelleyecek şekilde kısa etkili insülin kullanılması daha objektif değerlendirme fırsatı sunmuştur.

Ratların ve tavşanların anestezisinde sıklıkla kullanılan ketamin ve ksilazin analjezi sürelerini etkileyebildiğinden veya anesteziden derlenme süreleri uzayabildiğinden dolayı yapılan ölçümlerde yanlışlığa neden olabilmektedir (101). Bu nedenle bu yanıtıcı etkinin ortadan kalkabilmesi için çalışmamızda sevofluran anestezisinin uygulanmasına karar verildi. Özellikle tavşanlarda uygulanan ketamin ve ksilazin anestezisinden derlenme 15-20 dakikaya kadar uzayabildiğinden benzer çalışmalardaki öneriler de göz önünde bulundurularak yaklaşık 2-3 dakika içinde derlenme sağlayan sevofluran anestezisinin uygulanmasının değerlendirmelerde avantaj sağlayacağı düşünöldü (96). Çalışmamızda maske ile %2-3 oranında sevofluran tavşanlara koklatılarak 15 saniye içinde tavşanların anesteziyeye girmesi sağlandı ve spontan solunumları devam ettiğinden dolayı ve işlem kısa olduğundan tavşanların entübe edilmesine gerek kalmadı. Ayrıca daha erken olarak tavşanların derlenmesine de olanak sağlanmış oldu. Bu da daha erken sürelerde ilaçların etkilerini (en fazla 5 dakika içinde) göstermek için testlerin yapılmasına imkan sağladı. Bu nedenle özellikle analjezi çalışmalarında tavşanlarda kullanım kolaylığı olması, ayrıca erken derlenme ve değerlendirmeye olanak sağlaması açısından entübe etmeden sevofluran anestezinin uygulanmasının kolaylık sağlayacağı kanaatindeyiz.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Lokal anestezi ve insülin açıkta kalan bir sinire perinöral olarak uygulandığından ve kompartman etkisinden yaralanma gibi bir durum oluşmadığından dolayı lokal anestezinin etki gücü sınırlanmış olabilir. Ayrıca ilaçların emilmesi sonrası oluşacak kan seviyeleri belirlenmediğinden emilim ve lokal veya sistemik etkisi açısından hem insülin hem de lokal anestezi ilaç için kesin bir veri verilememiştir. Uygulanan lokal anestezi ve insülinin sistemik etkileri veya kan seviyeleri ile alakalı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Başka bir kısıtlama olarak, Kim ve ark (102) çalışmalarında dozu sabit tutup farklı hacimlerde ilaç uygulamışken hacim farklılığının getirdiğı kısıtlamaları ortadan kaldırmak amacıyla çalışmamızda uygulanan ilacın hacmi (0,7 ml) sabit tutulmuştur. Fakat bu durumda ilacın verilen hacimdeki konsantrasyonunu değiştirmiştir. Ayrıca serum

sodyum, potasyum ve kalsiyum değerlerinin de değerlendirilmesi ve doz artışıının buna uygun olarak planlanması gerekmektedir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, insülinin bupivakainin neden olduğu periferik sinir blokajını kısalttığını, ayrıca elektrofizyolojik olarak insülinin, bupivakainin sinir iletimindeki bloke edici etkisini geri çevirdiğini ve histopatolojik olarak insülinin doku iyileşmesi üzerinde olumlu katkıları olabileceğini gösterdik. Bu geri çevirici etkinin kuvvetli ve uzun süreli etkisi olan bupivakain gibi lokal anesteziyelere insülin eklenmesi ile kısa süreli girişimlerde kullanılabileceği yönünde ışık tutmaktadır. Ayrıca insülinin yara yeri iyileşmesi ile alakalı olumlu etkilerinin de ileri çalışmalarla desteklenmesi kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Adapted with permission from Strichartz GR. Neural physiology and local anesthetic action. In: Cousins MJ, Bridenbaugh PO, eds. *Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Management of Pain*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven ve 1998: 35.
2. Ritchie JM, Ritchie B, Greengard P. The effect of the nerve sheath on the action of local anesthetics. *J Pharmacol Exp Ther* 1965, 150: 160-4.
3. Coggeshall RE. A fine structural analysis of the myelin sheath in rat spinal roots. *Anat Rec* 1979, 194: 201-11.
4. Waxman SG, Ritchie JM. Organization of ion channels in the myelinated nerve fiber. *Science* 1985, 228: 1502-7.
5. Koester J. *Passive membrane properties of the neuron*. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of Neuroscience*. 3rd ed. New York: Elsevier Science; 1991: 25.
6. Hodgkin AL, Katz B. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J Physiol* 1949, 108: 37-77.
7. Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* 1952, 117: 500-10.
8. Sigworth FJ, Neher E. Single Na⁺ channel currents observed in cultured rat muscle cells. *Nature* 1980: 287-447.
9. Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: The structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 2000, 26: 13-25.
10. Scholz A. Mechanisms of (local) anaesthetics on voltage-gated sodium and other ion channels. *Br J Anaesth* 2002, 89: 52-61.
11. Ulbricht W. Sodium channel inactivation: Molecular determinants and modulation. *Physiol Rev* 2005, 85: 1271-301.
12. Fink BR, Cairns AM. Differential slowing and block of conduction by lidocaine in individual afferent myelinated and unmyelinated axons. *Anesthesiology* 1984, 60: 111-20.

13. Fink BR, Cairns AM. Differential use-dependent (frequency-dependent) effects in single mammalian axons: Data and clinical considerations. *Anesthesiology* 1987, 67: 477-84.
14. Fink BR. Mechanisms of differential axial blockade in epidural and subarachnoid anesthesia. *Anesthesiology* 1989, 70: 851-8.
15. Gasser HS, Erlanger J. The role of fiber size in the establishment of a nerve block by pressure or cocaine. *Am J Physiol* 1929, 88: 581-91.
16. Gokin AP, Philip B, Strichartz GR. Preferential block of small myelinated sensory and motor fibers by lidocaine: In vivo electrophysiology in the rat sciatic nerve. *Anesthesiology* 2001, 95: 1441-54.
17. Narahashi T, Frazier DT, Yamada M. The site of action and active form of local anesthetics. I. Theory and pH experiments with tertiary compounds. *J Pharmacol and Exp Therap* 1970, 171: 45-51.
18. Strichartz GR, Sanchez V, Arthur GR, et al. Fundamental properties of local anesthetics. II. Measured octanol: Buffer partition coefficients and pKa values of clinically used drugs. *Anesth Analg* 1990, 71: 158-70.
19. Spencer S. L. *Local Anesthetics, Clinical Anesthesia*, 8. Edt. (Ed. Paul GB. Bruce FC. Robert KS. Michael KC. M. Christine S. Rafael O. Sam RS. Natalie FH.), Wolter Kluwer, Philadelphia, ABD, 2017: 4432-78.
20. Bokesch PM, Post C, Strichartz G. Structure-activity relationship of lidocaine homologs producing tonic and frequency-dependent impulse blockade in nerve. *J Pharmacol Exp Ther* 1986, 237: 773-81.
21. Foster RH, Markham A. Levobupivacaine: A review of its pharmacology and use as a local anaesthetic. *Drugs* 2000, 59: 551-79.
22. McClellan KJ, Faulds D. Ropivacaine: An update of its use in regional anaesthesia. *Drugs* 2000, 60: 1065-75.
23. Ikuta PT, Raza SM, Durrani Z. pH adjustment schedule for the amide local anesthetics. *Reg Anesth* 1989, 14: 229-35.

24. Lambert DH. Clinical value of adding sodium bicarbonate to local anesthetics. *Reg Anesth Pain Med* 2002, 27: 328-9.
25. Neal JM. Effects of epinephrine in local anesthetics on the central and peripheral nervous systems: Neurotoxicity and neural blood flow. *Reg Anesth Pain Med* 2003, 28: 124-34.
26. Sinnott CJ, Cogswell III LP, Johnson A, et al. On the mechanism by which epinephrine potentiates lidocaine's peripheral nerve block. *Anesthesiology* 2003, 98: 181-8.
27. Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L, Zbinden, A. M. Epidural epinephrine and clonidine: Segmental analgesia and effects on different pain modalities. *Anesthesiology* 1997, 87: 785-94.
28. Eisenach JC, De Kock M, Klimscha W. Alpha(2)-adrenergic agonists for regional anesthesia: A clinical review of clonidine (1984–1995). *Anesthesiology* 1996, 85: 655-74.
29. Butterworth JF, Strichartz GR. The α 2-adrenergic agonists clonidine and guanfacine produce tonic and phasic block of conduction in rat sciatic nerve fibers. *Anesth Analg* 1993, 76: 295-301.
30. Morrison LM, Emanuelsson BM, McClure JH, et al. Efficacy and kinetics of extradural ropivacaine: comparison with bupivacaine. *Br J Anaesth* 1994, 72: 164-9.
31. Tucker GT, Mather LE. Pharmacology of local anaesthetic agents: Pharmacokinetics of local anaesthetic agents. *Br J Anaesth* 1975, 47: 213-24.
32. Thomson PD, Melmon KL, Richardson JA, et al. Lidocaine pharmacokinetics in advanced heart failure, liver disease, and renal failure in humans. *Ann Intern Med* 1973, 78: 499-508.
33. Rosenberg PR, Veering BT, Urmev WF. Maximum recommended doses of local anesthetics: A multifactorial concept. *Reg Anesth Pain Med*. 2004, 29: 564-75.
34. Braid DP, Scott DB. Dosage of lignocaine in epidural block in relation to toxicity. *Br J Anaesth* 1996, 38: 596-602.
35. Groban L. Central nervous system and cardiac effects from long-acting amide local anesthetic toxicity in the intact animal model. *Reg Anesth Pain Med* 2003, 28: 3-11.

36. Butterworth JF. Models and mechanisms of local anesthetic cardiac toxicity. *Reg Anesth Pain Med* 2010, 35: 167-76.
37. Mather LE, Copeland SE, Ladd LA. Acute toxicity of local anesthetics: underlying pharmacokinetic and pharmacodynamic concepts. *Reg Anesth Pain Med* 2005, 30: 553-66.
38. Knudsen K, Beckman Suurkula M, Blomberg S, et al. Central nervous and cardiovascular effects of i.v. infusions of ropivacaine, bupivacaine and placebo in volunteers. *Br J Anaesth* 1997, 78: 507-14.
39. Stewart J, Kellett N, Castro D. The central nervous system and cardiovascular effects of levobupivacaine and ropivacaine in healthy volunteers. *Anesth Analg* 2002, 97: 412-416.
40. Vanhoutte F, Vereecke J, Verbeke N, et al. Stereoselective effects of the enantiomers of bupivacaine on the electrophysiological properties of the guinea pig papillary muscle. *Br J Pharmacol* 1991, 103: 1275-81.
41. Valenzuela C, Snyders D, Bennett PB, et al. Stereoselective block of sodium channels by bupivacaine in guinea pig ventricular myocytes. *Circulation* 1995, 92: 3014-24.
42. Weinberg GL. Current concepts in resuscitation of patients with local anesthetic cardiac toxicity. *Reg Anesth Pain Med* 2002, 27: 568-76.
43. Weinberg GL. Treatment of local anesthetic systemic toxicity (LAST). *Reg Anesth Pain Med* 2010, 35: 188-93.
44. Long WB, Rosenblum S, Grady IP. Successful resuscitation of bupivacaine-induced cardiac arrest using cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 1989, 69: 403-6.
45. Soltész EG, van Pelt F, Byrne JG. Emergent cardiopulmonary bypass for bupivacaine cardiotoxicity. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2003, 17: 357-8.
46. Weinberg GL, VadeBoncouer T, Ramaraju GA. Pretreatment or resuscitation with a lipid infusion shifts the dose-response to bupivacaine-induced asystole in rats. *Anesthesiology* 1998, 88: 1071-5.
47. Weinberg GL, Ripper R, Feinstein DL, et al. Lipid emulsion infusion rescues dogs from bupivacaine-induced cardiac toxicity. *Reg Anesth Pain Med* 2003, 28: 198-202.

48. Rosenblatt MA, Abel M, Fischer GW, et al. Successful use of a 20% lipid emulsion to resuscitate a patient after a presumed bupivacaine-related cardiac arrest. *Anesthesiology* 2006, 105: 217-8.
49. Litz RJ, Popp M, Stehr SN, Koch, T. Successful resuscitation of a patient with ropivacaine-induced asystole after axillary plexus block using lipid infusion. *Anaesthesia* 2006, 61: 800-1.
50. Nader Rifai ARH, Carl T. Wittwer. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Sixth Edition ed, Elsevier, Missouri, 2018: 33.
51. Fu Z, Gilbert ER, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Curr Diabetes Rev* 2013, 9: 25-53.
52. Brunton LL, Randa HD. *Hormonlar ve Hormon Antagonistleri*. In: Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics 2017: 669-788.
53. Denton, RM. Regulation of mitochondrial dehydrogenases by calcium ions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 2009, 1787: 1309-16.
54. Kayıpmaz AE, Güllalp B, Benli S. Lipofilik ajan toksisitesinde yeni ufuklar. *J. of Academic Emergency Med. / Akademik Acil Tip Olgu Sunum Derg* 2011, 10: 80-5.
55. Clarkson CW, Hondeghem LM. Mechanism for bupivacaine depression of cardiac conduction: fast block of sodium channels during the action potential with slow recovery from block during diastole. *Anesthesiology* 1985, 62: 396-405.
56. Castle NA. Bupivacaine inhibits the transient outward K⁺ current but not the inward rectifier in rat ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1990, 255: 1038-46.
57. Andreasen M, Hablitz JJ. Local anesthetics block transient outward potassium currents in rat neocortical neurons. *Journal of Neurophysiology* 1966, 69: 1966-75.
58. Scholz A. Mechanisms of (local) anaesthetics on voltage-gated sodium and other ion channels. *British J of Anaesthesia*, 2002, 89: 52-61.
59. Zierler K, Wu FS. An early outward transient K⁺ current that depends on a preceding Na⁺ current and is enhanced by insulin. *Pflugers Arch* 1992, 422: 267-72

60. Gupta MP, Innes IR, Dhalla NS. Characterization of insulin receptors in cardiac sarcolemmal and sarcoplasmic reticular membranes. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987, 10: 259-67.
61. Blumberg A, Weidmann P, Shaw S, Gnädinger M. Effect of various therapeutic approaches on plasma potassium and major regulating factors in terminal renal failure. *Am J Med* 1988, 85: 507-12
62. Kim JT, Jung CW, Lee KH. The effect of insulin on the resuscitation of bupivacaine-induced severe cardiovascular toxicity in dogs. *Anesth Analg* 2004, 99: 728-33.
63. Cho HS, Lee KH, Lee S, Lee JJ, Shin BS. The Effects of Insulin in Treating Bupivacaine-Induced Cardiac Depression. *Korean J Anesthesiol* 2000, 38: 130-8
64. Zierler K, Wu FS. An early outward transient K⁺ current that depends on a preceding Na⁺ current and is enhanced by insulin. *Pflugers Archiv. European Journal of Physiology* 1992, 3: 267–272.
65. Song ZL, Stevens W, Sladek CD. Insulin (Ins) induced increase in intracellular calcium ([Ca²⁺]_i) in the supraoptic nucleus (SON) neurons requires activation of PI3 kinase (PI3K), *The FASEB Journal*, 27, 2013: 32.
66. Hadzic A. Hadzic's Peripheral Nerve Blocks and Anatomy for Ultrasound-Guided Regional Anesthesia. *McGraw-Hill Education / Medical* 2012: 3-27
67. Barrington MJ, Lirk P. Reducing the risk of neurological complications after peripheral nerve block: what is the role of pressure monitoring? *Anaesthesia*. 2018: 33.
68. Enneking FK, Chan V, Greger J, Hadzić A, Lang SA, Horlocker TT. Lower-extremity peripheral nerve blockade: essentials of our current understanding. *Reg Anesth Pain Med* 2005, 30: 4-35.
69. Barrington MJ, Watts SA, Gledhill SR, Thomas RD, Said SA, Snyder GL, et al. Preliminary results of the Australasian Regional Anaesthesia Collaboration: a prospective audit of more than 7000 peripheral nerve and plexus blocks for neurologic and other complications. *Reg Anesth Pain Med* 2009, 34: 534-41.

70. Keçik Y, Alkış N, Yörükoğlu D, Alanoğlu Z. *Temel Anestezi*, 2. Baskı. Güneş Tıp Kitabevi; 2016: 121-30.
71. Mather LE. The acute toxicity of local anesthetics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2010, 6: 1313-32.
72. Cuvillon P, Ripart J, Lalourcey L, Veyrat E, L'Hermite J, Boisson C, et al. The continuous femoral nerve block catheter for postoperative analgesia: bacterial colonization, infectious rate and adverse effects. *Anesth Analg* 2001, 93: 1045-9.
73. Loo CC, Dahlgren G, Irestedt L. Neurological complications in obstetric regional anaesthesia. *Int J Obstet Anesth* 2000, 9: 99-124.
74. Kayaalp O. *Tıbbi Farmakoloji*. Pelikan Kitapevi, Ankara, 1990, 645-9.
75. Kayhan Z. *Klinik Anestezi*. Taş Yayıncılık, Ankara, 2004: 117-143
76. Osawa M, Shinomura T. Compound A Concentration Is Decreased By Cooling Anaesthetic Circuit During Low-Flow Sevoflurane Anaesthesia. *Canadian Journal Of Anaesthesia*. 1998, 45: 1215-8
77. Amin AJ, Abid SA. Comparison of different regimens of nerulepanesthesia in rabbits. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences* 2009, 23: 161-7.
78. Hall LW, Clorke KW, Trim CM. *Anaesthesia of Birds, Laboratory Animals and Wild Animals in Veterinary Anaesthesia*. W.B Saunders, 2001: 463-78.
79. Wenger S. Anesthesia and analgesia in rabbits and rodents. *Journal of Exotic Pet Medicine* 2012; 21: 7-16.
80. Grant GJ, Vermeulen K, Zakowski MI, Sutin KM, Ramanathan S, Langerman L, Weissman TE, Turndorf H. A rat sciatic nerve model for independent assessment of sensory and motor block induced by local anesthetics. *Anesth Analg* 1992, 75: 889-94.
81. Dyhre H, Söderberg L, Björkman S, Carlsson C. Local Anesthetics in Lipid-Depot Formulations Neurotoxicity in Relation to Duration of Effect in a Rat Model. *Regional Anesthesia and Pain Medicine* 2006, 31: 401-8.

82. Brummett CM, Norat MA, Palmisano JM, Lydic R. Perineural Administration of Dexmedetomidine in Combination with Bupivacaine Enhances Sensory and Motor Blockade in Sciatic Nerve Block without Inducing Neurotoxicity in Rat. *Anesthesiology* 2008, 109: 502–11.
83. Erdogan MA, Polat A, Yucel A, Aydogan MS, Parlakpınar H, Tekin S, Durmuş M, Ersoy MO. Effects of perineural administration of dexmedetomidine in combination with levobupivacaine in a rat sciatic nerve block. *Current Therapeutic Research* 2013, 74: 74-8.
84. Kau YC, Hung YC, Zizza AM, Zurakowski D, Greco WR, Wang GK, Gerner P. Efficacy of lidocaine or bupivacaine combined with ephedrine in rat sciatic nerve block. *Reg Anesth Pain Med* 2006, 31: 14–8.
85. Carnaval TG, Sampaio RM, Lanfredi CB, Borsatti MA, Adde CA. Effects of opioids on local anesthesia in the rat: a codeine and tramadol study. *Brazilian Oral Research* 2013, 27: 455- 62.
86. Forster MJ, Lal H. Estimating age-related changes in psychomotor function: influence of practice and of level of caloric intake in different genotypes. *Neurobiol Aging* 1999, 20: 167-76.
87. Shabeeb D, Musa AE, Keshavarz M, Esmaily F, Hassanzadeh G, Shirazi A, Najafi M. Histopathological and Functional Evaluation of Radiation-Induced Sciatic Nerve Damage: Melatonin as Radioprotector. *Medicina* 55, 502-6.
88. Chen J, Yu Q, Wu B, Lin Z, Pavlos NJ, Xu J, Zheng MH. Autologous tenocyte therapy for experimental Achilles tendinopathy in a rabbit model. *Tissue Engineering Part A*, 2011, 17: 2037-48.
89. Kim JM, Choi SH. *Reversing Effect of Insulin on Local Anesthetics-Induced Sciatic Nerve Block in Rats*. Hindawi BioMed Research International Volume 2019: 44.
90. Frenkel C, Wartenberg HC, Rehberg B, et al. Interactions of ethanol with single human brain sodium channels. *Neurosci Res Commun* 1997, 20: 113-20.

91. Scholz A, Appel N, Vogel W. Two types of TTX-resistant and one TTX-sensitive Na⁺ channel in rat dorsal root ganglion neurons and their blockade by halothane. *Eur J Neurosci* 1998, 10: 2547-56.
92. Zhao Y, Zhou L, Liu J, Chen Z, Yang L, Shi H. Preparation and investigation of a novel levobupivacaine in situ implant gel for prolonged local anesthetics. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2017, 45: 404-8.
93. Dogru K, Yıldırım D, Ulgey A, Aksu R, Biçer P. Adding magnesium to levobupivacaine for axillary brachial plexus block in arteriovenous fistule surgery. *Bratisl Lek Listy* 2012, 113: 607-9.
94. Özkan AS, Akbas S, Durak MA, Erdogan MA, Parlakpınar H, Vardi N, Ozhan O, Ozer A. Effects of perineural administration of phenytoin in combination with levobupivacaine in a rat sciatic nerve block. *Medicine Science*, 2018, 7: 891-7.
95. Akbas S, Ozkan AS, Sevimli R, Alan S. The clinical and histopathological effects of perineural dexmedetomidine and in combination with sodium bicarbonate in sciatic nerve block in rabbits after sevoflurane anesthesia: A placebo controlled, randomized experimental study. *Annals of Medical of Research*, 2019, 26: 169-76.
96. Sevimli R, Türkmen E, Özkan AS, Akbaş S, Alan S. The effect of perineural application of bupivacaine combined with sodium bicarbonate on the synaptic nerve block in rabbits after sevofluran anesthesia. *Ann Med Res* 2020, 27: 1596-600
97. Butterworth JF, Strichartz GR. Molecular mechanisms of local anesthesia: a review. *Anesthesiology* 1990, 72: 711-34.
98. Hung YC, Chen CY, Lirk P, Wang CF, Cheng JK, Chen CC, Gerner P. Magnesium sulfate diminishes the effects of amide local anesthetics in rat sciatic-nerve block. *Regional Anesthesia & Pain Medicine* 2007, 32: 288-95.
99. Kim JM, Choi SH. Reversing Effect of Insulin on Local Anesthetics-Induced Sciatic Nerve Block in Rats. *Biomed Res Int.* 2019, 11, 4252349.
100. Okamoto MM, Anhê, GF, Sabino-Silva R. Intensive insulin treatment induces insulin resistance in diabetic rats by impairing glucose metabolism-related mechanisms in muscle and liver. *Journal of Endocrinology* 2011, 1: 55–64.

101. Akbas S, Ozkan AS, Sevimli R, Alan S. The clinical and histopathological effects of perineural dexmedetomidine and in combination with sodium bicarbonate in sciatic nerve block in rabbits after sevoflurane anesthesia: A placebo controlled, randomized experimental study. *Annals of Medical Research* 2019, 26: 169-76
102. The effect of perineural application of bupivacaine combined with sodium bicarbonate on the synaptic nerve block in rabbits after sevofluran anesthesia. Resit Sevimli, Ahmet Selim Ozkan, Sedat Akbas, Saadet Alan, Ersen Turkmen. *Ann Med Res* 2020, 27: 1596-600.



EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

