

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**TEKRARLANAN EPİDURAL DEKSMEDETOMİDİN
ENJEKSİYONLARININ
TAVŞANLARDA NÖROTOKSİSİTE YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet Kaan TOPALOĞLU

Tez Danışmanı
Doç. Dr. E. Alp YENTÜR

Manisa, 2007

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemdeki değerli katkılarından dolayı tüm hocalarıma ve uzmanlarıma, gösterdikleri dostluk ve yardımseverlikleri için araştırma görevlisi arkadaşlarıma, bu uzmanlık tezimde katkı ve yardımlarından dolayı değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. E. Alp Yentür' e, emeği geçen Uzm. Dr. İsmet Topçu, Doç. Dr. İbrahim Tuğlu ve Doç.Dr.Cüneyt Temiz'e, beni yetiştiren aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. M. Kaan Topaloğlu

İÇİNDEKİLER

1. Giriş	-----	5
2. Genel Bilgiler	-----	7
3. Gereç ve Yöntem	-----	29
4. Bulgular	-----	34
5. Tartışma	-----	42
6. Sonuçlar	-----	46
7. Özet	-----	47
8. İngilizce Özet	-----	49
9. Kaynaklar	-----	51

KISALTMALAR

AEC	3-amino-9-ethylcarbazole
AİDS	Erişkin immün yetmezlik sendromu
ANOVA	Tek yönlü varyasyon analizi
BOS	Beyin omurilik sıvısı
CGRP	Kalsitonin genle ilgili peptit
DAB	3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride
DPDPE	Delta-opioid receptor agonist, [Tyr-D-Pen-Gly-Phe-D-Pen]-enkephalin
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HE	Hemotoksilen - eosin
i.m.	İntramusküler
i.v.	İntravenöz
iNOS	İnducible nitric oxide synthase
NMDA	N-metil-D-aspartat
NOS	Nitric oxide synthase
PAG	Periaküaduktal gri madde
PBS	Phosphate buffered saline
SCC	Sodium citrate/sodium chloride buffer
sP	Substans P
SS	Standart sapma
SSS	Santral sinir sistemi
TdT	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase
TENS	Transkutanöz elektriksel sinir stimülatörü
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling
VIP	Vazoaktif intestinal peptid
VR-1	Vanilloid receptor subtype 1

1. GİRİŞ

Adjuvan analjezik ilaçlar, asıl etkileri ve kullanım alanları analjezik amaçlı olmayan ancak analjeziklerle birlikte kullanıldığında bunların etkilerini potansiyalize eden veya spesifik ağrılarda etkili olan ilaçlardır (1). Klonidin ve deksmedetomidin selektif olarak alfa-2 reseptörlerine agonist etki yapan, aynı zamanda ağrı tedavisinde kullanılan adjuvan ilaçlardır. Klonidin, analjezi sağlamak amacıyla epidural aralığa verilmek suretiyle klinikte uzun süreden beri kullanılmakta olmasına rağmen, deksmedetomidin klinik kullanıma yeni girmiştir. Deksmetomidinin in vivo nörotoksikite çalışmaları da yetersizdir (2,3). Deksmetomidin, opioid ve lokal anestezi ile birlikte kullanıldığında additif etkileşim olmakta, opioid gereksinimini azaltmakta ve lokal anestezi ile de etki süresini uzatmaktadır (4).

İntratekal yoldan kullanılan ilaçlar, spinal kordda histopatolojik lezyonlara ve bölgesel hemodinamik değişikliklere sebep olabilmektedirler. Nörolojik lezyonların nedenleri arasında; intratekal enjeksiyon veya kateter takılması esnasında spinal kord ve sinir köklerinin direkt travması, spinal kord perfüzyonunun bozulması ve direkt nörotoksik etki sayılabilir (5,6).

İlaçların santral sinir sistemine direkt olarak uygulanması kan-beyin bariyerinden ilacı koruyarak yüksek bir nörofarmakolojik aktivite elde etmek amacıyla yapılır. Bu yolla kanser hastası dışında örneğin spastik nörolojik hastalıklarda, amiotrofik lateral sklerozis ve Alzheimer'in demansında (7) direkt olarak santral sinir sistemine ilaç uygulamaları yapılmaktadır. Ancak enteresan olan bu hastalıklarda kullanılan ilaçların menikslere, sinir köklerine ve spinal kordun kendisine toksik etkilerinin olmadığına ait veri bulunmamasına rağmen bunların kullanılmış olmasıdır.

Köpeklerde Kroin ve ark. (7) tarafından intratekal bupivakainin prelinik toksikolojik çalışmasının yapılması bu hatanın düzeltilmesinde önemli bilimsel bir basamaktır. Bilinen zararlı elementler (civa, kurşun gibi) ile elde edilen laboratuvar çalışmalarının sonuçlarının; lokal anesteziklerin ve narkotiklerin kronik spinal etkilerinin sonuçlarının karşılaştırılması ile toksisite sorularına cevap bulunmaya çalışılmıştır (7).

Bu çalışmada, analjezik etkinliği daha önce ortaya konulan alfa-2 adrenerjik reseptör agonisti deksmedetomidinin tavşanlarda epidural yolla tekrarlanan dozlarının sinir yapılar üzerine ışık mikroskopu düzeyinde toksik etkileri araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağrı

Doku bütünlüğünün bozulduğunun göstergesi olan somatik ağrı, sinir-sisteminin uyarılması ile oluşur. (8). Sensoryal sinir uçlarında bulunan nosiseptörler doku hasarını algılayan reseptörlerdir. Periferik afferent sinir uçlarındaki ortam değişikliği, doku hasarına bağlı olarak gelişir, kapiller duvarının geçirgenliğindeki artış nedeniyle plazmanın damar dışına sızmasından kaynaklanır. Bu olaylar üçlü yanıtta sorumludur: kızarma (rubor; lokal arteriolar dilatasyon), yerel ödem ve bölgesel olarak ağrı eşiğinin düşmesi yani daha zayıf uyarının ağrı oluşturabilmesi (hiperaljezi). Ciltteki reseptör alanlarının az zarar görmesi, polimodal nosiseptörlerin (C liflerin) ve yüksek eşik mekanoseptörlerinin eksitabilitesinde önemli artışa neden olur. Bunlar zarar görmüş dokudan ve lokal C liflerinin akson refleksleri ile aktive olan duyuşal afferentlerin periferik uçlarından allojenik ajanların serbestleşmelerinin sonucudur. Karmaşık olmakla birlikte bu araçların etkileri başlıca 2 grupta toplanır:

1. C liflerinin direk uyarılması ile uçlarının aktivasyonu ve ağrı,
2. Ortamdaki bazı nörotransmitterler aracılığı ile C liflerinin aktivasyonunun kolaylaşması nedeniyle belirli bir uyarıya alınan ağrı yanıtının artışı (hipereksitasyon).

Bu inflamasyon ürünlerinin travma sonrası ağrının oluşumundaki rolü küçümsenemez. C liflerinin büyük bölümüne sessiz nosiseptörler denir. Bunların spontan aktiviteleri yoktur veya çok azdır. Uyarılma eşikleri çok yüksek olduğundan ancak çok yoğun fiziksel etkenlerle aktive olurlar. Ancak travma ve inflamasyon ürünlerinin varlığında, bu uçlar daha küçük uyarılarla aktive olabilirler. Bu ürünlerden histamin (mastosit, bazofil ve trombositlerdeki granüller) ve serotonin (mastosit ve trombositlerde) değişik

uyarılar sonucu (mekanik travma, ısı, radyasyon, doku hasarının bazı yan ürünleri, trombin, kollajen, adrenalin, araşidonik asit kaskadının ürünleri; lökotrienler ve prostanoidler) serbestleşir. Bunlar serbest sinir uçlarını uyarır ve vazodilatasyon oluştururlar. Değişik kininler, özellikle bradikinin fizik travma sonucu serbestleşir. Bu faktör XII'nin kallikrein ve tripsin gibi ajanlar tarafından aktivasyonu ile ortaya çıkar. Bradikinin özel reseptörleri (B1 ve B2) etkileyerek serbest sinir uçlarını aktive eder. Fosfolipaz A2'nin aktivasyonu ile hücre membranlarından araşidonik asit serbestleşir. Lipooksijenaz ve siklooksijenazın buna etkisi ile lipidik asitler ortaya çıkar. Prostaglandin E2 dahil olmak üzere bir seri prostanoidler C liflerini doğrudan aktive edebilirler. Prostosiklin ve tromboksan A2, C liflerinin uyarılabilmesini önemli ölçüde kolaylaştırır. Bu etkiler özel membran reseptörleri tarafından da sağlanır. İnterlökinler C liflerinin duyarlılığını artırır. Primer afferent peptidler [kalsitonin genle ilgili peptit (CGRP) ve substans P (sP)] C liflerinin periferdeki uçlarında bulunurlar ve oradan serbestleşirler. Bu periferik uçların ağrı iletimindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. Substans P ve CGRP antidromik sinir uyarısı ile serbestleşir ve ciltte lokal vazodilatasyon yapar, plazmanın damar dışına sızmasına ve uyarılan duyu sinirinin innerve ettiği cilt bölgesinde sensitizasyona neden olur (9-13)

Uyarılan reseptörlerden kalkan impulslar 'Ağrı bilgisi' afferent lifler boyunca iletilir (8). Bilgiyi ileten sensorial afferent lifler A delta ve C lifleridir. Bu lifler dorsal kök ganglionundaki sinir hücrelerinin aksonlarıdır. Bu sinir hücrelerinin dendritleri medulla spinalisin arka köküne gelirler ve buradaki hücreler ile sinapslar yaparlar. Buradan impulsların çıkış yolları ön köke geçerek, buradaki motor nöronları uyararak efferentler yolu ile kaçma refleksini meydana getirir veya yine arka kök ganglionları ile sinaplaşan arka boynuzdaki sinir hücrelerinin uzantıları ile substantia gelatinosadan gelip orta hattan karşı tarafa geçerek spinotalamik traktus ve spinoretikuler traktusları meydana getirerek yukarı doğru yol alırlar. Traktus spinoretikularis formasyon retikulariste sonlanır. Formasyon retikularis ağrının vegetatif reaksiyonundan sorumludur. Ağrılı uyarılar sonucu vegetatif reaksiyonlar uyku düzeni bozukluğuna, terlemeye, midriyazise neden olur.

Traktus spinotalamikusun büyük bir kısmı talamusun nukleus ventralis posterior inferiorunda sonlanır. Talamusun somatik özel ve asosiyatif fonksiyonları vardır. Uyananlar talamustan girus postsantralise ulaşırlar.

2.1.1. GÜNÜMÜZDE AĞRI TEDAVİ YÖNTEMLERİ

2.1.1.A. Ağrı yollarının kesintiye uğratılması (14)

- Geçici yöntemler:

Bölgesel anestezi yöntemle

Epidural ve intratekal ilaç uygulama yöntemleri

- Uzun süreli ya da kalıcı yöntemler:

Nörolitik yöntemler

Fizik etkenlerle tahrip

Termokoagulasyon (radyofrekans)

Kriyoanaljezi

Cerrahi yöntemler

2.1.1.B. Stimülasyon yöntemleri

-Hiperstimülasyon analjezisi

- Elektrik stimülasyon

- Santral stimülasyon

- TENS

- Akupunktur

2.1.1.C. İlaç tedavisi

- Nonopiooid analjezik ilaçlar (asetilsalisilik asit, metamizol, paracetamol, diclofenac, ibuprofen, indometasin, piroksicam v.b.)

- Opioidler (alfentanil, pentazocin, tramadol, morfin, pethidin, pritramid, fentanil)

- Adjuvan analjezik ilaçlar (kortikosteroidler, antikonvulzifler, nöroleptikler, antidepresanlar, diüretikler, santral etkili kas gevşeticiler, alfa-2 agonistler)

2.1.1.D. Psikolojik kontrol ve destekleyici tedavi

- Psikolojik destek

- Releksasyon
- Davranış terapisi
- Biofeedbek
- Hipnoz

2.1.1.E. Fizyoterapi

Bu yöntemlerden biri ya da birkaçı ağrının tipine, hastanın yaş, fiziksel özellikleri ve yandaş hastalıkların bulunup bulunmamasına göre seçilip uygulanmaktadır.

2.2. LOMBER EPİDURAL SİNİR BLOĞU

2.2.1.Tarihsel Bakış

1921 yılında Pages tarafından önerilen lomber epidural alana paramidline yaklaşımın tarifi, lumbar epidural sinir bloğunun bu konuyla ilgili ilk klinik raporu olarak kabul edilmektedir. Pages'in tekniği ligamentum flavumu geçerek epidural alanın ayırt edilmesinde ve iğnenin dokunma duyusu etkisi için kullanılmaktadır. Epidural alanda iğne yerinin doğrulanması iğneden spinal sıvının serbest akışının engellenmesine ve lokal anestezi enjeksiyonuna direnç olmamasına bağlıdır. Bu, teknik olarak dikkat gerektiren ve anlamlı oranda başarısızlık ile sonuçlanan bir yaklaşımdır. Forestier ve Sicard sıvı dolu enjektörü iğneye ilişitirerek, omurganın ligamentlerinden geçerken devamlı enjeksiyon yöntemini savunmuşlardır (15). Sicard, enjeksiyonun, ilerletilen iğneden atravmatik olarak durayı iterek 'sıvı-trokar' gibi iş gördüğünü düşündü. Dogliotti 1993 yılında Sicard ve Forestier'in çalışmalarından esinlenerek klinik uygulamaya direnç kaybı tekniğini getirdi (16). Dogliotti'nin tekniği iğnenin ligamentum flavumdan epidural mesafeye geçtiği an enjeksiyona ani belirgin direnç kaybı varlığına dayanmaktadır. Bağımsız olarak ve aynı yılda Gutierrez epidural alanın negatif basıncının epidural alanın ayırt edilmesinde kullanılabileceğini önerdi. Bu teknik bir damla lokal anesteziğin epidural alana doğru ilerletilecek olan iğnenin arka ucuna yerleştirilmesini gerektirir. Gutierrez iğnenin flavumdan epidural alanın negatif basıncına doğru

girdiğinde lokal anestezi damlanın iğnenin içinden epidural alana doğru emildiği gerçeğini kabul etmiştir. Daha sonra epidural basıncın ölçülmesi bu mekanizmanın sorgulanmasına neden olmuştur. Teknik ilerlemelere rağmen 20. yy'ın ilk yarısında birçok anestezi uzmanı spinal anestezi ile karşılaştırıldığında epidural anestezinin güvenilir bir anestezi tekniği olmadığını düşünmüşlerdir. Bundan dolayı epidural anestezi uygulaması sınırlı kalmıştır. 1946 yılında nöromusküler bloke edici ajanlarla tanışılması ile epidural anestezinin bulunduğu rejyonel anestezi tekniklerinin popülerliğinde azalmaya neden olmuştur. İlginç olan epidural anestezinin tekrar canlanmasının nedeni yeni ilaçlardan ziyade bir iğnedir. Tuohy iğnesi sadece yanlılıkla dura delinme sıklığını azaltmakla kalmayıp aynı zamanda iğnenin içine yerleştirilen kateterlerin kullanılması ile de anestezi uzmanlarına uzun süre analjezinin uygulama imkanı sağlamıştır (17). 1950'lerin başlarında lidokainin klinik uygulamaya girmesi, epidural anestezinin güvenliğini artırmış ve obstetride epidural anestezi kullanımında artışa neden olmuştur. 1960'ların başlarında bupivakainin klinik kullanımı anestezi uzmanlarına tek enjeksiyonla uzun süreli nöral blok imkanı sağlamış ve birçok farklı alanda epidural sinir bloğunu bir seçenek haline getirmiştir. Steroidlerin, radikülopati ve diğer ağrılı durumların ve kanser ilişkili ağrıların tedavisinde epidural yolla uygulanmasının keşfi ile epidural sinir bloğunun ağrı tedavisinin ana yöntemlerinden biri durumuna getirmiştir.

2.2.2. Epidural Aralığın Anatomisi

Epidural alanın üst sınırını foramen magnum seviyesinde duranın spinal ve periosteal katlarının birleşimi oluşturur (18). Epidural alan aşağıda sakrokoksigeal membran, önde posterior longitudinal ligament ve arkada vertebral lamina ve ligamentum flavum ile sınırlanmıştır. Vertebral pediküller ve intervertebral foraminalar epidural alanın lateral sınırlarını oluştururlar. Epidural alan ligamentum flavum ve dura arasındaki L2 aralığında en geniş olup, yetişkinlerde 5-6 mm kadardır (19).

Epidural alan yağlı areolar doku ile doludur. Epidural yağ miktarı vücudun herhangi bir yerinde depolanmış yağ miktarı ile direkt orantılı

olarak değişir (20). Yoğunluktaki bu değişim, yetişkinde özellikle epidural alana kaudal yaklaşımda gerekli ilaç dozlarında anlamlı değişiklikleri açıklayabilir. Epidural yağ, dural kesenin içerikleri ve dura ve epidural alanın diğer içerikleri için darbe emici olarak ve epidural alana enjekte edilen ilaçlar için depo olarak fonksiyon görmektedir.

Epidural venler epidural alanın anterolateral bolumunde daha fazla bulunurlar (20). Bu venler valfsizdirler ve bundan dolayı intratorasik ve intraabdominal basınçların ikisini de duyarlıdırlar. Bu vücut boşluklarının herhangi birinde basınç artar ise Valsalva manevrasına veya gebe uterus veya tumor kitlesi ile vena kava inferiora basınca bağlı epidural venler şişer ve epidural alanın volümü azalır. Volumdeki bu azalma nöral blokun istenen düzeyde oluşturulması için gerekli ilaç volümünü doğrudan etkileyebilir. Bu venöz pleksus bütün spinal kolona yeterli olur, bundan dolayı hematogen enfeksiyonların yayılımı için uygun bir yoldur.

Epidural kordu ve epidural alanın kemik ve ligamentöz sınırlarını besleyen arterler, epidural alana intervertebral foramenler aracılığı ile girerler (21). Epidural arterlere travma epidural hematom oluşumu ile sonuçlanabilir ve spinal kordun kanlanması tehlikeye atabilir.

Epidural alanın lenfatikleri, dural kökler bölgesinde yoğunlaşmıştır ve bu sayede subaraknoid ve epidural bölgeden yabancı materyalin uzaklaştırılmasına katkıda bulunurlar (20).

Lomber epidural alana iğnenin orta hattan yerleştirilmesi sırasında, deri ve subkutanöz doku geçildikten sonra spinöz proeslerin apeksleri arasında vertikal olarak uzanan supraspinoz ligamente ulaşılır (22). İlerletilen iğneye supraspinoz ligament biraz direnç gösterir. Daha sonra spinöz proesler arasında oblik olarak uzanan interspinöz ligamente ulaşılır ve iğnenin yerleştirilmesine ilave dirençle karşılaşılır. İnterspinoz ligamentin ligamentum flavum ile komşuluğundan dolayı iğnenin ucu interspinöz ligament ile ligamentum flavum arasındaki boşluğa girdiğinde klinisyen yanlış direnç kaybı algılayabilir. İğnenin ilerlemesine dirençte anlamlı bir artış iğne ucunun yoğun ligamentum flavuma ulaştığını işaret eder. unku bu ligament hemen hemen tamamen elastin liflerden oluşmuştur, iğne

ligamentum flavumdan geçerken direnç artar, sonuç olarak iğne üzerine ligamentin engeli vardır. İğne ucu epidural alana girdiği an aniden bir direnç kaybı oluşur. Normal epidural alana ilaç enjeksiyonu yapılırken hiçbir direnç ile karşılaşılmasıdır.

2.2.3. Lomber Epidural Sinir Bloğu Endikasyonları ve Kontrendikasyonları

Cerrahi ve obstetrik anesteziye ilave olarak, lokal anestezi olarak lomber epidural sinir bloğu alt abdominal, sırt, kasık, pelvik, mesane, perineal, genital, rektal ve alt ekstremitelerde ağrılarında diagnostik amaçla da kullanılmaktadır (23).

Akut ağrıların farmakolojik ve cerrahi tedavisi etkin olana kadar lokal anestezi veya opioidler ile lomber epidural sinir bloğundan faydalanılabilir (24,25). Bu teknik alt abdomen, sırt, retroperitonium, pelvis ve alt ekstremiteleri kapsayan travmalara sekonder ağrı ve postoperatif ağrıların tedavisinde kullanışlıdır. Akut herpes zoster, üreteral ve kanser ağrıların lokal anestezi ve opioidlerin epidural uygulanımı ile tedavi edilmesi mümkündür (26). Buna ek olarak bu teknik, donma ve ergotamin toksisitesini de içeren vazospastik ve vazookluzif hastalıklara sekonder alt ekstremitelerin akut vasküler yetmezliklerinde ağrı duyan hastalarda da kullanışlıdır (27). İskemi nedeniyle alt ekstremitelerde amputasyonu planlanan hastalarda profilaktik veya preemtif lomber epidural sinir bloğunun kullanımı fantom bacak ağrıların insidansını azaltması ile sonuçlandığına dair kanıtlar vardır (28).

Lomber radikülopati, bel ağrısı, spinal stenoz, post laminektomi sendromu, fantom bacak ağrısı, vertebral kompresyon fraktürü, diyabetik polinöropati, postherpatik nevralji, refleks sempatik distrofi, proktalji ve pelvik ağrı sendromlarını içeren değişik kronik benign ağrı sendromlarında lomber yaklaşım yolu ile epidural alana lokal anestezi veya steroid uygulanması kullanılmaktadır (28,29,30).

Lokal anestezi ve/veya opioidlerle kombinasyonunun lomber epidural uygulanımı, kasık, sırt, pelvik, rektal ve kansere bağlı alt

abdomen ağrılarının azaltılmasında etkilidir (31). Bu teknik özellikle göğüs ve prostat kanseri olmak üzere diğer malignitelerin, omurgaya metastatik hastalıklarına sekonder ağrının azaltılmasında çok başarılı olmuştur. Kronik benign ağrı sendromlarının tedavisinde epidural opioidlerin rolü halen yaygın olarak değerlendirilmektedir.

Lomber epidural sinir bloğunun kontrendikasyonları, lokal enfeksiyon, sepsis, antikoagulan terapi veya koagülopatidir. Hipovolemi ise rölatif kontrendikasyondur.

2.2.4. Lomber Epidural Bloğun Komplikasyonları ve Yan Etkileri

A. Dura Delinmesi

Deneyimli ağrı uzmanlarının elinde lomber epidural sinir bloğu sırasında olguların %0.5'in altında meydana gelir (32). Dura delinmesi sonucu gelişen baş ağrısı, hastada kalıcı zarara neden olmamasına karşın ciddi rahatsızlık verir.

B. Subdural Enjeksiyon

Epidural iğne veya kateterin yanlışlıkla subdural aralığa yerleştirilmesi mümkündür. Eğer bu sorun fark edilmez ve lokal anesteziklerin epidural dozu bu alana verilirse masif subdural enjeksiyona benzer semptom ve belirtilere neden olur ve sonuçta motor ve sensoriyal blok meydana gelebilir (33). Eğer opioidler subdural alana verilir ise belirgin solunum ve santral sinir sistemi depresyonu gelişir.

C. İntravenöz Enjeksiyon veya Kateter Yerleştirilmesi

Lomber epidural alan vasküler yapı yönünden zengin bir bölgedir. Lomber epidural anestezi uygulanan hastaların yaklaşık %0.5-1 arasında venöz ponksiyon görülür (32). Bu komplikasyon büyük intraabdominal tümör kitleli veya epidural venlerin genişlemiş olduğu hastalarda daha fazla görülür. Eğer yanlış yerleşme fark edilmez ise lokal anestezi enjeksiyonunun direk epidural venlere enjeksiyonu önemli lokal anestezi toksisitesi ile sonuçlanır (34). Epidural alana ilaçların enjeksiyonundan önce dikkatli aspirasyon, bu gibi olası sorunları ayırt etmek için zorunludur.

D. Hematom ve Ekimoz

Epidural alan vasküler yapı yönünden zengindir. Epidural venlerin iğne ile travması, kendi kendini sınırlayan kanama ile sonuçlanabilir. Epidural alana kontrol edilemeyen kanamanın olması hızla nörolojik defisit gelişmesi ve spinal kord basısı ile sonuçlanabilir. Lomber epidural blok sonrası epidural hematomdan sonra önemli nörolojik defisitler oldukça seyrek olmasına rağmen, epidural sinir bloğundan sonra hızlı gelişen alt ekstremitte zayıflığı gibi semptomların varlığı durumunda, kauda equina sendromu göz önüne alınmalıdır (35).

E. Enfeksiyon

Epidural alanın enfeksiyonu, özellikle kanser veya AIDS gibi immün sistemi baskılanmış hastalarda görülebilir (36). Epidural venöz sistemin doğasından dolayı, epidural enfeksiyon geliştiğinde SSS'ne hematogen yayılım mümkündür (32). Epidural enfeksiyondaki sorumlu ajan genellikle stafilokok aureus olduğundan, kültür sonuçları çıkana dek başlangıç antibiyotik tedavisi bu ajana yönelik olmalıdır (37). Epidural abse gelişir ise spinal kord basısı ve irreversibl nörolojik defisitlerden kaçınmak için genellikle acil cerrahi drenaj gerekir. Enfeksiyonun erken tanı ve tedavisi hayatı tehdit eden sekel olasılıklarını da önlemede önemlidir.

F. Nörolojik Komplikasyonlar

Lomber epidural bloğun nörolojik komplikasyonları eğer uygun teknik kullanılır ise çok nadirdir. Bu komplikasyonlar genellikle lomber bloğun kendisinden çok daha önceki nörolojik lezyonlar veya cerrahi veya obstetrik travma ile ilişkilidir. Spinal korda veya sinir köklerine direk travma genellikle ağrıya neden olur (38). Epidural iğnenin veya kateterin yerleştirilmesi sırasında veya enjeksiyon sırasında herhangi bir ağrı, klinisyeni uygulamayı hemen durdurması için uyarmalıdır ve muhtemel eklenebilecek sinir travmasını önlemek için ağrının nedeni bulunmalıdır (32). Epidural sinir bloğundan önce intravenöz sedasyon veya genel anestezi uygulaması, eğer iğne yanlış yerleştirilmiş ise hastayla doğru sözlü iletişimde zorluk çekilmesine neden olabilir ve bundan dolayı kaçınılmalıdır (39).

G. Üriner Retansiyon ve İnkontinans

Lokal anesteziğin veya opioidlerin lomber ve sakral sinir köklerine uygulanması yüksek sıklıkta üriner retansiyona yol açabilir (38). Lomber epidural sinir bloğunun bu yan etkisi yaşlı hastalarda, multipl kadınlarda ve daha önce üriner veya perineal cerrahi geçirmiş olan kişilerde daha sıktır. Lomber epidural blok olacak hastaların ağrı merkezlerinden ayrılmadan önce mesaneyi boşaltma kabiliyetleri tespit edilmelidir.

2.2.5. Kontinü Epidural Analjezi Uygulaması

Akut ve kronik ağrıda epidural alana infüzyon uygulaması sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu tekniğin, travmaya bağlı akut ağrıda, cerrahiden sonra ve akut medikal durumlarda yararlı olduğu görülmüştür. Aynı zamanda kronik ağrıda, kronik bel ağrısı olan hastaların rehabilitasyonunda, refleks sempatik distrofide, periferik nöropatide ve kanser ağrısında da yararlı bulunmuştur.

Kontinü epidural analjezi yeni uygulanan bir yöntem değildir. Bu teknik ilk olarak 1849 yılında ameliyattan sonra 1-5 gün boyunca lokal anestezi maddenin belirli aralıklarla bolus dozlarında verilmesi şeklinde uygulanmıştır. Bununla birlikte etkili bir analjezi yöntemi olarak, değişen düzeylerde analjezik ile anlamlı bir sempatik blokajın ağrıda belirli bir azalmayı sağladığı gösterilmiştir. Aralıklı bolus enjeksiyonlarla kontinü epidural analjezi, yoğun çalışmayı ve hastaya belli saat aralıklarla enjeksiyon yapacak deneyimli personeli gerektirir. Bu nedenlerle epidural lokal anesteziğin kontinü infüzyonu yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.2.6. Epidural Alana Uygulanabilen Analjezik Ajanlar

A. Lokal anesteziğin

Lokal anestezi ajanları, postoperatif ağrının giderilmesinde analjezi ve anestezi için en sık kullanılan ilaçlardır. Lidokain, bupivakain ve ropivakain analjeziyi etkili bir şekilde sağlar ve sürdürür (40). Lidokain kullanımını genellikle bolus uygulaması ile sınırlandırılmıştır. Buna karşın bupivakain infüzyon olarak da kullanılabilir. Ropivakain, bupivakain ile karşılaştırıldığında; etkisinin başlangıcının kısa süreli olması, motor blok

süresinin kısa olması, A-delta ve C liflerine selektivitesinin yüksek olması ve kardiyotoksitesinin düşük olması nedeniyle daha geniş kullanım alanı bulmuştur (41,42). Lokal anesteziğin epidural kateterden bolus tarzında verilmesinin doğal bir sonucu taşiflaksi gelişmesidir. Buna karşın bupivakainin infüzyon uygulaması ile taşiflaksi gelişmez.

Lokal anesteziğin solüsyonlarının kontinü infüzyonu analjezi kalitesini artırır. Bununla birlikte ağrının geçmesi için gereken konsantrasyonlar genellikle progresif sensorimotor blokaj oluşturur. Hastaların yürüme yeteneği tehlikeye girebileceği için bu etkiler istenmez. Lokal anesteziğin maddelerin tek başına kullanımları sistemik dolaşımdaki miktarlarını arttırabilir (40,42). Bu etki uzun etkili olanlara göre lidokain gibi kısa etkili ajanlarda daha belirgindir. Abdominal cerrahiden sonra bupivakain 72 sa uygulandığı zaman serum bupivakain düzeyi yükselir ve pik seviyesine 48-60 saatte ulaşır (43). Lokal anesteziğin ajanlar yavaş bir şekilde uygulandıkları zaman daha az toksiktirler fakat santral sinir sistemi depresyonu, konvülsiyon veya kardiyak arrest riskleri daima vardır.

Lokal anesteziğin maddelerin analjezi etkileri ve yan etkileri konsantrasyonlarına bağlıdır. Bupivakainin sabit oranda infüzyonu (en azından %0.25); hipotansiyon, kas güçsüzlüğü ve bazen ilacın sistemik toksik seviyelerine ulaşmasına neden olabilir. Yaşlı veya zayıf hastalarda plazma seviyeleri yüksek olabilir. Bupivakainin düşük dozda ve sabit oranda (%0.03-%0.06) epidural kateterden verilmesi istenilen dermatomal seviyede ağrı kontrolünü sağlar ve yan etki oranını düşürür.

B. Opioidler

İdeal bir intraspinal opioidin; hidrofilik, opioid reseptörlerine yüksek afiniteye sahip ve analjeziyi sağlamak için daha az reseptör temasına gereksinim duyması gereklidir. Spinal yoldan kullanılan opioidler sıklıkla; morfin, meperidin, fentanil ve sufentanildir. Postoperatif morfin sülfat aralıklı enjeksiyonlarla ve infüzyonla verilebilir. Meperidin de epidural olarak enjekte edilebilir ve lokal anesteziğin özelliklerine sahiptir. Metaboliti olan normeperidin artması endişe uyandırır. Son 10 yıl içinde fentanilin kullanımı yaygınlaşmıştır. Fentanilin morfine göre avantajı rostral

yayılımının daha az olmasıdır. İntraspinal enjeksiyonlardan sonra spinal veya sistemik etkinin olup olmamasında, epidural fentanilin hızlı analjezi sağlamasının önemli etkisi vardır. İlacın bu özelliği akut ağrıda kullanımında etkili olur. Lipit çözünen fentanilin karakteristik özellikleri sufentanil ile benzerdir. Bunun teorik avantajı sufentanilin Mü reseptörlerine olan yüksek afinitesi ve gelecekte kanser tedavisi için kullanım potansiyeli olmasıdır (1).

C. Lokal Anestezik Opioid Kombinasyonu

Bazı araştırmacılar, epidural infüzyonda morfin ve bupivakain kombinasyonunu çalışmışlardır (44,45). Çalışmalar değişik dozlardaki opioid ve bupivakainin dilüe konsantrasyonları arasındaki sinerjistik veya additif etkilerini göstermiştir (46,47). Ağrının geçmesi için kullanılan birçok kombinasyon tek başına kullanılan ajanlardan daha güçlü etkiye sahiptir ve yan etki görülme oranı daha azdır. Bu avantaj her ajanın değişik analjezik özellikleri ve ağrıyı bloke etmek için spinal kordda farklı bölgelere etki etmesi ile açıklanabilir. Opioidler, analjeziyi substantia gelatinosa'daki opioid reseptörlerine spesifik olarak bağlanarak ve aktive ederek oluştururken, lokal anestezikler sinir köklerinde ve dorsal ganglion köklerinde uyarı taşınmasını bloke ederek oluşturur.

Bupivakain; morfin, fentanil veya meperidin ile birlikte sıklıkla %0.03-%0.125 arası konsantrasyonlarda kullanılır. Morfin ve bupivakain kombinasyonu, torasik ve abdominal cerrahi sonrası etkili bir analjezi sağlar. Fentanil-bupivakain kombinasyonu, morfin-bupivakain kombinasyonundan daha az yan etki oluşturur (48.49).

İlaçların konsantrasyonları ve infüzyonlarının oranı hastalar tarafından tolere edilebilir olmalıdır. Bu kombinasyonlar; lokal anestezik konsantrasyonu azaltılarak, lokal anestezik - opioid infüzyonun oranı azaltılarak sağlanabilir.

2.2.7. Epidural Anestezide Adjuvan İlaç Kullanımı

Adjuvan analjezik ilaçlar, günümüzde diğer analjeziklerin kullanılan dozunu düşürmek ve dolayısıyla doza bağlı yan etkilerini en aza indirmek amacıyla uygulanır. Ayrıca anesteziklerin etki süresini uzatmak için de

kombine edilebilir. Günümüzde, lokal anestezi ilaçlarıyla birlikte periferik sinir bloklarında sadece epinefrinin kullanımı kabul görünürken, epidural anestezi / analjezi için sufentanil ve epinefrinin lokal anestezi ilaçlarıyla kombinasyonu onaylanmaktadır. Bu ajanlara ek olarak diğer opioidler de, hem lokal anestezi dozunu düşürmek, hem de etki süresini uzatmak amacıyla epidural analjezi ve spinal anestezi uygulamalarında kombine edilmektedir. Özellikle klonidin bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan yeni araştırmalarda, neostigmin ve adenozinin tek başına ve lokal anestezi ilaçlarıyla kombine şekilde spinal uygulamaları üzerinde çalışılmaktadır. Sonuçta opioidler, alfa-2 adrenoreseptör agonistler, kolinesteraz inhibitörleri ve nitrik oksit için periferik etki bölgeleri gösterilmiştir. Bu ajanların tek başına ve lokal anestezi ilaçlarıyla kombine periferik enjeksiyonu analjezi oluşturabilir.

Rejyonel anesteziyi meydana getirmede temel ilaçlar lokal anestezi ilaçlarıdır. Rejyonel anestezide kullanılan diğer ilaçlar, adjuvanlar olarak adlandırılan çok farklı farmakolojik gruplardan gelen, birbirlerinden farklı etki mekanizmaları olan ilaçlardır. Bu ilaçların ortak yanları anestezi-analjeziyi artırmalarıdır. Adjuvan ilaçların bazıları direkt analjezi sağlayarak, bazıları da analjezik etkiyi destekleyerek etkili olmaktadır. Rejyonel anestezi tekniklerinde, lokal anestezi ilaçlarıyla birlikte ilaç kombinasyonlarının kullanılmasıyla hem daha hızlı etki başlangıcı, hem de daha uzun süreli analjezi elde edilmesi hedeflenir. Lokal anestezi ilaçlarının adjuvanlarla birlikte kullanılmasındaki bir diğer amaç ise, ilaçlara bağlı yan etkilerin en aza indirilmesidir. Bu amaçla en sık kullanılan ajanlar morfin ve fentanildir. Son yıllarda sufentanil, ketamin, klonidin, tramadol, midazolam, neostigmin, kortikosteroidler, droperidol, somatostatin, kalsitonin, kalsiyum kanal blokerleri, adenozin, magnezyum ve deksmedetomidin de kullanılmaktadır.

2.3. ALFA-2 ADRENORESEPTÖR AGONİSTLERİ

Alfa-2 adrenoreseptör agonistleri anestezide ve yoğun bakımda giderek daha fazla kullanılmaya başlanmıştır. Sadece sempatik tonusu azaltmak ve anestezide, cerrahiye stres yanıtı azaltmakla kalmaz; sedasyon

ve analjezi sağlayan etkileri de vardır (50). Adjuvan ilaç olarak rejyonel anestezide de kullanılmaktadır. Alfa-2-agonistlerinin cerrahi esnasında anestezik gereksinimini azalttığı, kardiyovasküler ve adrenerjik stabiliteyi düzelttiği gösterilmiştir (3).

Bu sınıftaki prototipik ilaç olan klonidin, başlangıçta bir nazal dekonjestan olarak geliştirilmiştir (51) ve 1960'lardan itibaren antihipertansif olarak kullanılmaktadır. Analjezik etkisinin bulunması 1980'lerde olmuştur. Hem sistemik (oral, im., iv.) hem de spinal olarak uygulandığında analjezik olarak etkindir. Klonidinin analjezik etkisi, spinal (preganglioner sempatik nöronlarda) ve supraspinal (nükleus rafe dorsalis, PAG, lokus seruleus) alfa-2 adreno reseptörleri aktive ederek noradrenerjik inhibisyonu stimüle etmesi ile oluşmaktadır. Bunun yanında alfa-2 adreno reseptörlerin endorfin salınımını uyardıkları da bilinmektedir. Bu nedenle analjezinin opioid sistem ile ilişkili olarak da meydana geldiği ileri sürülmektedir. Deksmetomidin alfa-2 adreno reseptörlere klonidine göre daha fazla afinitesi olduğu gösterilen yeni bir agonist ajandır (50).

Alfa-2 agonistler hem hipotansiyon hem hipertansiyona neden olur. Düşük dozda dominant etkisi sempatolitik etkidir. Otonom sinir sisteminin alfa-2_A adrenerjik reseptör subtipini uyarması ile sempatik blokaj olur (52). Yüksek dozdaki alfa-2 agonist, alfa-2 adreno reseptör aktivasyonu ile hipertansif yanıt verir. Bu reseptörlerin esansiyel hipertansiyon patogenezinde rol aldığı ileri sürülmektedir (53). İntravenöz alfa-2 agonist uygulamadan önce periferik etki ile sınırlı olan bir antagonist verilirse sedatif-hipnotik ve santral sempatolitik etkisi olurken, hemodinami üzerine etkilerden kaçınılmış olur. Fakat böyle bir sınırlı periferik antagonist klinik olarak yoktur. Alfa-2 agonistlerin iyi bilinen sedatif-hipnotik, analjezik ve anksiyolitik etkisinin yanında, sedatif-hipnotik ajanların etkisini arttırdığı insanlarda gösterilmiştir. Sallinen ve ark. (54), alfa-2 agonistlerin anksiyolitik etkisinin mekanizmasını aydınlatmıştır. İlacın alfa-2_C reseptör aracılığıyla etkisi bazı hastalıklarda terapötik olarak değerlendirilir. Bunlar şizofreni, dikkat eksikliği-hiperaktivite, postravmatik stres bozukluğu ve ilaç geri çekilme sendromudur. Alfa-2 agonistlerin iskemi ve travma sonrası sinir

sistemi hasarını morfolojik ve fonksiyonel olarak etkilediği gösterilmiştir. İnsanlarda nöroprotektif etkisi araştırılmamıştır. Yapılan çalışmalarda MK801 (N-metil-D-aspartat antagonisti) ve klonidin kombinasyonu nöropatik hayvan modellerinde antihiperaljezi sağlamıştır. NMDA antagonistinin nörotoksik etkisinin de küçük doz klonidin ile önlendiği gösterilmiştir (55).

Randomize klinik çalışmalarda alfa-2 agonistlerin analjezik etkisi, sedatif-hipnotik etkisi ve sempatolitik özelliği gösterilmiştir. Bu grup ilaçların güvenlik aralıkları oldukça geniştir.

Alfa-2 agonist uygulaması kısa süreli ve uzun süreli perioperatif ağrı kontrolünde uygulanan yöntemlerden biridir. Yapılan çalışmalarda alfa-2 agonistlerin tek başına, lokal anesteziyle veya opioidlerle kombinasyonlarının kısa süreli ağrı tedavisinde iyi bir seçim olduğu gösterilmiştir (56). Postoperatif ağrı tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılabilir.

Uzun yıllardan beri alfa-2 agonistler perioperatif sedasyon ve anksiyoliz amacı ile ve intraoperatif anestezi ihtiyacını azaltmada kullanılmıştır. Son zamanlarda postoperatif mekanik ventilasyon ihtiyacı olan hastalarda sedasyon için uygun olduğu klinik çalışmalarla gösterilmiştir (57). Bu hastalarda alfa-2 agonist ajanlarla ile sağlanan sedasyon sırasında hastaların koopere olduğu ve iletişim kurabildiği gösterilmiştir. Scheinin ve ark. (58), atipamezole (selektif alfa-2 reseptör antagonisti) ile deksmedetomidinin sedatif etkisinin geri çevirebildiğini göstermiştir.

2.3.1. Deksmetomidin

Deksmetomidin hidroklorid (Precedex ®) kimyasal olarak, (+)-4-(S)-[1-(2,3-dimetifenil)etil]-1H-imidazol monohidroklorid şeklinde düzenlenmiştir. Moleküler ağırlığı 236.7'dir; ampirik formülü C₁₃H₁₆N₂.HCl şeklindedir (59). Deksmetomidin medetomidinin farmakolojik olarak aktif d-izomeridir (60). Medetomidin, alfa-2 adreno reseptörler için selektivitesi olduğu gösterilen oldukça lipofilik bir ajandır (3,50). alfa-2 adreno reseptörler stimüle edildiğinde noradrenalin salınımını engeller (61,62), sempatik aktiviteyi inhibe eder, kan basıncını ve kalp hızını azaltır ve sedasyon, anksiyoliz ve analjeziye yol açar (3,50). Deksmetomidin hidroklorid beyaz

veya beyazımsı bir tozudur, suda tamamen çözünür ve 7.1'lik bir iyonizasyon sabitine (pKa) sahiptir. pH'ı 4.5-7 arasında olan berrak, renksiz, izotonik bir solüsyondur. 1 mL'si, 118 µg'lık deksmedetomidin HCl (100 µg baz deksmedetomidine eşdeğer) ve 9 mg sodyum klorid içermektedir. Bu solüsyonda koruyucu bulunmaz ve solüsyon additif veya kimyasal stabilizatörler içermez (59).

Alfa-2 adreno reseptörler periferel ve santral sinir sisteminde, trombositlerde ve birçok diğer organlarda bulunur. Beyin ve spinal kordda bu reseptörlerin stimülasyonu ile sinirsel iletiyi inhibe eder. Hipotansiyon, bradikardi, sedasyon ve analjeziye neden olur. Diğer organlardaki yanıtı ise tükürük salınımının azalması, sekresyonların azalması, barsak motilitesinin azalması, renin salınımının inhibisyonu, glomerüler filtrasyonun artması, böbrekten sodyum ve su sekresyonunun artması, intraoküler basıncın azalması ve pankreasdan insülin salınımının azalmasıdır. Deksmetomidinin etki mekanizması klonidin'den farklı olarak selektif alfa-2 reseptör agonisti olup, özellikle bu reseptörlerden 2A subtipine bağlanarak klonidinden daha efektif sedatif ve analjezik etkiye neden olur (63).

Adrenerjik reseptörler norepinefrin, epinefrin ve birkaç sentetik adrenerjik agonistin aktivitelerini kontrol ederler (3). Adrenerjik reseptörlerin tipleri arasında alfa-1 ve alfa-2 adreno reseptörler bulunur. Sempatik sinir uçlarındaki alfa-2 adreno reseptörlerin presinaptik aktivasyonu katekolamin noradrenalin salınımını engeller (62). Santral sinir sistemindeki alfa-2 adreno reseptörlerin postsinaptik aktivasyonu sempatik aktivitenin inhibisyonuna, kan basıncı ve kalp hızında azalmaya neden olur. Sedasyon ve anksiyoliz de oluşabilir. Ek olarak, spinal korddaki alfa-2 adreno reseptörlere agonistlerin bağlanması aracılığı ile analjezi sağlanır (50). Alfa-1 adreno reseptörler beyin, kalp, düz kas, karaciğer ve dalak dokularında bulunmaktadır. Nöroeffektör bileşkede alfa-1 adreno reseptör agonistlerin bağlanması; vazokonstriksiyon, glikojenoliz ve kalp hızında artış ile sonuçlanabilir (63). Dexmedetomidin, alfa-1 adreno reseptörlere kıyasla, spesifik ve selektif olarak 1600:1 oranında alfa-2 üzerine etki yapmaktadır (64). Bu durum SSS üzerindeki selektif etkisini doğrular (46).

Dexmedetomidin dopamin ve serotonin reseptörleri gibi diğer nörotransmitter reseptörlere bağlanmamasından dolayı, alfa-2 adreno reseptörler için yüksek seçiciliğe de sahiptir. Diğer alfa-2 adreno reseptör agonistlerine benzer şekilde, SSS'de ve beyinde bulunan alfa-2 adreno reseptörleri etkileyerek sedatif ve analjezik etkilerini gösterir (50,60). Sedatif etkileri, lokus sereleus'taki (51) postsinaptik alfa-2 adreno reseptörlerin aktivasyonu ile sağlanmaktadır (56). Analjezik yanıt ise alfa-2 agonistlerin nosiseptif yoldaki substans P'nin salınımını bloke ettiği dorsal kök nöron düzeyinde oluşmaktadır.

Dexmedetomidin hızlı bir dağılım gösterir, dağılım yarı ömrü 6 dk'dır. Dağılım hacmi yaklaşık olarak 118 L'dir (59). Ortalama proteine bağlanma oranı %93.7'dir. Cinsiyet ve renal bozukluğun proteine bağlanmada etkisi yoktur. Karaciğer bozukluğu olanlarda proteine bağlanmada değişiklikler olabilir.

Karaciğerde yoğun biyotransformasyona uğrar. İdrarla %95 ve feçesle %4 oranında atılır. Atılan temel metabolitler N-glukuronitler ve N-metil-O-Glukuronittir. Dexmedetomidinin terminal eliminasyon yarı ömrü yaklaşık olarak 2 saattir (59). Bilinen aktif metaboliti yoktur.

Deksmedetomidin plasentadan geçmektedir. Çocuklarda ve gebelerde güvenli olduğu kanıtlanmamıştır. En sık görülen yan etkisi; hipotansiyon, hipertansiyon, bulantı, bradikardi, atrial fibrilasyon, hipoksi ve çeşitli atrioventriküler bloklardır (65).

Deksmedetomidinin anksiyolitik, sedatif, analjezik ve sempatolitik özellikleri olduğu için premedikasyonda kullanılabilir. Preoperatif stres istenmeyen hastada uygundur. Hastanın anksiyetesini azaltır, sempatoadrenal yanıtını azaltır ve opioid analjezik ihtiyacını azaltır (66). İntraoperatif periyotta 0.2-0.7 µg/kg/sa'den uygulanır. Laringoskopi, entübasyon ve cerrahi yanıtı bağlı sempatoadrenal stres yanıtı azaltır. Hemodinamik stabilite sağlar. Anestezi metodu ne olursa olsun intraoperatif anesteziklerin etkilerini potansiyalize eder. Aho ve ark. (67), küçük cerrahi sonrası tek ilaç olarak analjezik etkisini göstermiştir. Anestezi esnasında deksmedetomidin uygulanması hemodinamik stabiliteyi sağlar. Daha az

dozda anestezi ve opioid kullanımına olanak sağlar. Derlenme süresi daha kısa olup, postoperatif analjezi ihtiyacını azaltır. Hastanede kalış süresini kısaltır. Deksmetomidinin respiratuar yan etkileri çok az gibi görünmektedir. Spontan soluyan hastalarda ekstübasyonun güvenli olmasını sağlar. Deksmetomidinin postoperatif hemodinamik etkisi bradikardi alfa-2 adrenerjik stimülasyon ve oksijen ihtiyacının azalmasına bağlıdır.

Klonidin rejyonel anestezi ve analjezide kullanılan adjuvan ilaçlardandır. Deksmetomidin ile ilgili çok az çalışma vardır. Epidural ve subaraknoid alfa-2 adrenerjik agonist uygulaması spinal asetilkolin ve nitrik oksit salınımı ile analjezi sağlar. Bu etki de subaraknoid neostigmin ile kuvvetlenirken, N-metil-L-arginin ile inhibe olur. Bauaziz ve ark (68) çalışmasında klonidin ve deksmedetomidin koyunların subaraknoid mesafesine uygulanmış, doza bağımlı benzer etkilerde analjezi sağlanmıştır. Önceden neostigmin uygulanan grupta klonidin deksmedetomidinden daha fazla potent olduğu, N-metil-L-arginin deksmedetomidinin uyardığı analjeziyi etkilemediği görüldü. Sabbe ve ark. (69) Deksmetomidinin spinal düzeyde ortaya çıkan daha güçlü antinosiseptif etki oluşturduğu ve aynı zamanda belirgin kardiyorespiratuar etkilerle birlikte hipnotik bir durum meydana getirdiği sonucuna varmışlardır.

2.4. NÖROTOKSİSİTE

2.4.1. Medulla Spinalis Anatomisi

Medulla spinalis, embriyolojik nöral tüpün en az değişikliğe uğrayan ve primitif segmental konumunu erişkinlerde de koruyabilen filogenetik olarak en eski merkezi sinir sistemi parçasıdır. Sinir sistemi nöral plak denilen ve yaklaşık üçüncü haftada beliren terlik şeklindeki kalınlaşmış embriyonik ektoderm bölgesinden gelişir. Medulla spinalis, medulla oblongata'nın devamı şeklinde aşağıya doğru uzanır ve yaklaşık olarak 40-45 cm uzunluğunda, 1 cm çapında ve 30 gr ağırlığında bir oluşumdur.

Kanalis vertebralis içerisinde beyin omurilik sıvısı ile çevrili halde bulunur. Atlas'ın üst kenarı hizasında ensefalon'un medulla oblongata parçası ile birleşir. Koni şeklinde olan alt ucu (konus medullaris) erişkin erkeklerde birinci ve ikinci lumbal vertebralar arasındaki diskus intervertebralis hizasına; kadınlarda ise ikinci lumbal vertebranın ortası veya alt sınırına kadar uzanır. Bu fark kemik gelişiminin erkeklerde kadınlara oranla daha fazla olmasından kaynaklanır. Medulla spinalis, alt ucunda konus medullaris'i oluşturmak üzere incelik ve ince bir piamater uzantısı şeklinde olan filum terminale ile sonlanır. Filum terminale ortalama 20 cm uzunluğunda olup, 15 cm'lik üst bölümü duramater spinalis'in oluşturduğu boşluğun içerisinde bulunur ve filum terminale internum (piaie) adını alır. Dıştan duramater spinalis ve arachnoidea mater spinalis ile kuşatılmış olarak ikinci sakral vertebranın alt kenarına kadar uzanır. Duramater spinalis'in oluşturduğu boşluğun dışında kalan son beş cm'lik kısmına ise filum terminale externum denilir. Dıştan duramater spinalis ile sarılı olarak birinci koksigeal vertebranın dorsal yüzüne tutunarak sonlanır. Medulla spinalis kesitlerinin ortasında izlenen kanalis santralis de filum terminale içinde 5-6 cm kadar devam eder. Lumbal ve sakral spinal segmentlerden çıkan spinal sinir kökleri, filum terminale çevresinde at kuyruğuna benzer bir görünüm oluştururlar. Ön ve arka spinal sinir köklerinin medulla spinalisin son kısmı olan konus medullarisin altındaki demetlerine kauda equina adı verilir. Medulla spinalis, tam bir silindir şeklinde olmayıp önden arkaya biraz basıktır. Servikal ve lumbal bölgelerde iki genişleme gösterir.

Medulla spinalis 33 segmentten oluşmuştur. Bu segmentlerden sekizi boyun (pars servikal), on ikisi göğüs (pars torasik), beşi lumbal (pars lumbal), beşi sakral (pars sakral), üçü de koksigeal (pars koksigeal) bölgede yer alırlar. Her bir medulla spinalis segmentinden de bir çift spinal sinir çıkar. Ancak son iki medulla spinalis segmentinin rudimenter kalmış olması nedeniyle sadece bir çift koksigeal spinal sinir bulunur. Her bir çift spinal sinir bir vücut segmentini innerve etmektedir.(70)

2.4.2. Medulla Spinalis Histolojisi

Medulla spinalis değişik düzeylerde varyasyon gösterse de temel histolojik yapısı aynıdır. Enine kesitte medulla spinalis merkezde sinir hücrelerinden oluşmuş kelebek veya H şeklinde gri cevher ve bunu dıştan saran beyaz cevher görülür. H bölgesinin iki dikey çizgisini birleştiren yatay çizgisi kommissura grisea adını alır. Bu yapının ortasında ependim hücre ile çevrili kanalis santralis bulunur. H bölgesinin her iki tarafındaki uzantılar ön boynuz (kornu anterior) ve arka boynuz (kornu posterior) olarak isimlendirilir. Torasik kısımda ise medulla spinalis, gri cevherden oluşmuş yan (lateral) boynuzlar bulunur. Ön boynuzda 70-120 µm çapındaki büyük multipolar hücreler vardır ve sitoplazmasında kaba Nissl granülleri içerir. Arka boynuzda perikaryonları küçük sinir hücresi vardır. Yan boynuzlarda ise sempatik nöronlar bulunur. Gri cevherde protoplazmik astrositler, oligodentrositler ve mikroglia hücreleri bulunurken, beyaz cevherde bulunan glia tipi daha çok fibröz astrositlerdir. Beyaz cevher medulla spinalis boyunca inen ve çıkan miyelinli ve miyelinsiz sinir liflerinden oluşmuştur. Funikuluslara ayrılan beyaz cevher arka median septum ile gri cevherin arka boynuzu arasında posterior funikulus bulunur. Beyaz cevherin geri kalan kısmı ise ventral boynuz ve sinir kökleri vasıtası ile lateral sütünlara, ön median fissura ile de ventral sütünlara ayrılmıştır. Arka boynuzların uç kısmı ile medulla spinalisin yüzeyinin arasında ince sinir liflerin bulunduğu beyaz cevher bölgelerine de Lissauer hattı denir. Gri cevher uzantılarının beyaz cevhere karıştığı bölgeye formasyo retikularis denir. (70)

2.4.3. Arka Kök Gangliyonunun Anatomisi

Dışta fibroz bağ dokusundan bir kapsülle sarılırlar. Ganglion hücreleri pseudounipolar tiptedir. Soma yuvarlaktır. Nukleus sentrik yerleşimlidir. Perikaryon sinaps taşımaz. Etrafları tek sıra Satellit hücrelerince çevrelenir. Akson satelit hücrelerinin dışına çıktığında gövde etrafında bir tur atar.

Arka kök gangliyonları, arka spinal kök üzerinde yer alan ve periferden merkeze ileti taşıyan nöron gövdelerinin oluşturduğu yapılardır. Oval şekilli olan bu yapıların boyutu kökün büyüklüğü ile orantılıdır Arka kök

gangliyonları servikal (birinci ve ikinci servikal gangliyon hariç), torakal ve lomber bölgede, intervertebral foramen içinde yer alırken birinci ve ikinci servikal gangliyon atlas ve axisin posterior arkusları üzerinde, sakral gangliyonlar ise sakral kanal içinde yer alır. Bazı bireylerde birinci servikal gangliyon bulunmayabilir. Ön ve arka spinal kökler pia mater ile örtülüdür, bunun çevresinde ise, köklerin dura materi deldiği bölgeye kadar uzanan ve kökleri gevşek olarak saran araknoid mater bulunur. Ayrı dura mater kılıfları içerisinde seyreden ön ve arka kökleri, spinal siniri oluşturmak üzere birleştiğinde, çevredeki dural kılıf spinal sinirin epinöryumu olarak devam eder (70).

2.4.4. Arka Kök Gangliyonunun Histolojisi

Arka kök gangliyonları histolojik olarak, kapsül hücreleri ve kollajenden oluşmuş bir kapsül ile kaplı olan, duysal iletiyi medulla spinalise taşıyan nöronların gövdelerinin, bunların çevresindeki satellit hücrelerin ve miyelinli, miyelinsiz sinir tellerinin oluşturduğu yapılardır. Arka kök gangliyonları içindeki nöronlar pseudounipolar nöron sınıfındadır, nöron gövdesinden çıkan kısa aksonal yapı iki adet lif ayrılır. Bu liflerden biri özelleşmiş reseptörleri ile duysal iletiyi alan uzun periferik lif, diğeri ise spinal korda girerek arka boynuz nöronlarıyla sinaps yapan santral lifdir. Nöronların etrafında, nöron hücrelerine göre çok daha ufak boyutlu olan ve nöron gövdesini tamamen saran satellit hücreler bulunur. Bu hücrelerin görevi, nöron hücresi etrafında koruyucu bir bariyer oluşturmaktır ve bu hücreler aksonların çevresini saran ve miyelin kılıfını oluşturan Schwann hücreleri ile devam eder. (70)

2.4.5. Spinal Ajanların Nörotoksitesisi

Farmakolojik ajanların direkt santral sinir sistemine verilmesi ile kan - beyin bariyeri aşıldığı için daha fazla nörofarmakolojik aktivite görülebilir (71). Spinal kordda monoaminerjik ve opioid reseptörlerin gösterilmesi ile insanlarda spinal opioidler hızla kullanılmaya başlanmıştır (6). Spinal anestezi ve analjezinin yaygın kullanımı ile beraber ilaçların intratekal

uygulanması sonucu oluşan fizyolojik ve farmakolojik etkilerin değerlendirilebilmesi için hayvan modelleri geliştirilmiştir (72). Bir ilacın nörotoksitesisi araştırılırken, insanlarda kullanımından önce hayvanlarda ışık mikroskobu, elektron mikroskobu ile doku toksitesisi ve lokal kan akımını incelemelerinin yapılması gerekir (6,72). Nörotoksitenin olmadığı gösterildikten sonra insanlarda güvenle kullanılabilirler (73). Toksikolojik hayvan çalışmalarında şu yollar izlenmelidir:

- Tek doz ilaç verilip kısa sürede histopatolojik inceleme,
- Tek doz ilaç verilip geç dönemde histopatolojik inceleme,
- Tekrarlayan dozlarda ilaç verilip kısa sürede histopatolojik inceleme (74).

İntratekal kullanılan ilaç hemoraji veya spinal kord ve sinir kökleri üzerine bası yaparak da irreversibl hasara yol açabilir. Kullanılan ilacın ozmolaritesi pH'ı ve iyonik içeriği spinal fonksiyonları etkileyebilir. Spinal kord myelinle çevrili olduğu için ilacın yağda çözünürlüğü de ilacın spinal kordda yapacağı etkide rol oynar (75).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, fakülte hayvan etik kurulunun onayı alındıktan sonra 20 adet, yaklaşık 1.5-2 kg arası, erkek ve albino Yeni Zelanda tavşanları üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmadan 4 gün önce tavşanlar beslenme, su gibi gereksinimleri sınırlanmaksızın, standart çevresel koşullarda (ısı 22 °C, nem %65, gündüz gece siklusu 12 sa-12 sa). Tüm çalışmalar gündüz periyodunda ve 10:00 ile 12:00 arasında yapıldı. Tavşanlar randomize olarak 2 eşit gruba ayrıldı;

Grup 1 (Deksmedetomidin grubu),

Grup 2 (Kontrol grubu).

Çalışmanın birinci gününde epidural kateter yerleştirilmesi için hayvanlara intramusküler ketamin (20 mg/kg) ve xylazine (5 mg/kg) kombinasyonu ile genel anestezi uygulandı. Cerrahi alan tıraşlandıktan sonra %10 povidon iodin ile temizlendi. Ayrıca analjezi amacı ile subkütan ve periostal lidokain injeksiyonu ile yapıldı. Steril teknik kullanılarak tavşanın kuyruğu anüs korunarak ampüte edildi. Epidural kanal bu yöntemle görünür hale getirildi. Epidural kateter epidural aralıktan 5 cm ilerletilerek yerleştirildi. Kateterin ucu şiş yardımı ile sırt bölgesinden subkütan olarak geçirilip oksipital bölgeden dışarı çıkartıldı ve ucuna takılan bakteri filtresiyle hayvanın kafasına cerrahi dikiş ile sabitlendi. Postoperatif ağrı tedavisi için 1 mg/kg intramusküler diklofenak kullanıldı. Çalışmaya başlamadan önce hayvanlar 2 gün serbest bırakıldı.

Enjeksiyonların yapıldığı 14 gün boyunca hayvanlar motor değişiklikler açısından gözlemlendi. Gözlemler hayvanlar açık bir alana salıverildikten sonra yapıldı.

Nörolojik etki motor disfonksiyon indeksi ile belirlendi (*);

0: normal motor fonksiyonları,

1: yürüme sırasında koordinasyon bozukluğu,

- 2: yürümede yetersiz, fakat oturma fonksiyonunu yapabiliyor,
- 3: oturamıyor, fakat bacaklarda hareket var,
- 4: total paralizi

Denekler sonraki günlerde izlenmek amacıyla hayvan laboratuvarındaki kafeslerine kondu. Her bir hayvanın gözlem boyunca yiyecek, su ve diğer gerekli bakımı sağlandı. Davranış, beslenme ve motor hareketleri gözlemlendi.

Motor disfonksiyon, lokal veya sistemik infeksiyon gelişen ve 14. gün öncesi kateteri çıkan tavşanlar çalışma dışı tutuldu. Deksmetomidin grubuna %1 deksmedetomidin 0.5 ml (%0.9 salin ile dilüe) ve kontrol grubuna izotonik salin 0.5 ml 14 gün boyunca her gün sabah aynı saatte (10-11 arasında) verildi. Son enjeksiyondan bir gün sonra hayvanlara aynı ilaçlarla genel anestezi verildi. Sol ve sağ ventrikül kanüle edildi. Sol ventriküle yerleştirilen kateterden yaklaşık 1 L %2 glüteraldehit ve %1 formaldehit karışımı (0.1 ml/L fosfat tamponlu, ısı 38 derece, pH: 7.4) verilerek, sağ ventriküle yerleştirilen kateterden kan gelmeyinceye kadar perfüze edildi. Sonra 30 dk içinde laminektomi uygulandı. Kateterlerin ucunun 1 cm rostralinden spinal kordun 5 cm kısmı dikkatlice çıkartıldı ve aynı fiksatifle hemen korundu. Fiksasyon sonrası doku blokları parafine gömüldü ve spinal kord preparatları transvers 5 µ'luk dilimlere ayrıldı. Bu örnekler ışık mikroskopi ile incelenmek için boyandı. Mikroskopi çalışmaları kör bir histolog tarafından gerçekleştirildi. Medulla spinalis ve arka kök ganglionları ödem, karyoliz ve myelin hasarı açısından incelendi.

Işık Mikroskopik İnceleme:

Örnekler oda ısısında, %10'luk formalin solüsyonu parafin doku takibine alındı. Doku örnekleri dehidratasyon, şeffaflaştırma parafine gömme, bloklardan alınan 5 µ'luk seri kesitlere deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemlerinden sonra rutin hemotoksilen - eosin (HE) boyası ile boyandı. Preparatlar entellan ile kapatılıp gerekirse diğer histokimyasal boyamalarda yapıldı (76,77).

İmunohistokimyasal İnceleme:

Seri kesitler indirekt immunoperoksidaz yöntemi ile değerlendirildi. Apoptozis için TUNEL ve oksidatif stres için iNOS ve eNOS immun boyamalarına tabi tutuldu. İmmunoreaktivitelerin spesifik olup olmadığını test etmek amacıyla birer kesit PBS ile negatif kontrol ve iskemik testis örneklerinde pozitif kontrol boyaması yapıldı.

NOS için İmmunohistokimya Analizi:

Deney sonunda genel anestezi altındaki hayvanlara önce nötral formalinle kardiyak perfüzyon uygulandı daha sonra dokular alınarak 48 saat süre ile fikse edildi. Etanolden dokular alınarak, örnekler %10 formalin solüsyonu içinde bir gece fikse edildi. Alınan kesitler immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 °C'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'er dk iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından %95'ten %60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dk bekletildi. % 0.5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dk tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5'er dk fosfat tampon solüsyonu (PBS; Phosphate buffer solution) ile yıkanan kesitlere bloklama amacıyla 1 saat bloklama solüsyonu ile muamele edildi. Bloklama solüsyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikolar (eNOS, Zymed, eNOS Ab-1 Rabbit PAb RB-1605-P Neomarkers, USA, iNOS, Zymed, Ab-1 Rabbit PAb RB-1711-P Neomarkers, USA) ile bir gece inkübe edildi. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, anti hidrojen peroksidaz ikincil antikoru (Zymed Histostain kit 85-9043 San Francisco, USA) ile 30'er dk boyandı. Yine üç defa 5'er dk tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler, oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla AEC ile 5 dk boyandı. Mayer's Hematoksilen ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan kesitler kapatma medyumuna ile kapatıldı. Preparatlar Olympus Bx50 ışık mikroskopunda incelendi (77,78).

TUNEL Yöntemi İle Apoptotik Hücre Ölümünün Belirlenmesi:

Dead End Colorimetric TUNEL system, Promega G7130 kiti kullanılarak 5 µm kalınlığındaki parafin bloklardan alınmış kesitlere

uygulandı. Kesitler 1 gece 60°C'lik etüvde deparafinize edildi. Ardından 1 sa ksilen ile tekrar deparafinize edildi. Azalan alkol serileri ile rehidratasyon uygulandıktan sonra dokular serum fizyolojik ile muamele edildi. 20-µg/ml proteinase K ile 10 dk'lık işleme tabi tutuldu. PBS ile yıkamayı takiben %3 hydrogen peroxide ile endojen peroksidasyon bloklandı. %4'lük paraformaldehit uygulamasından sonra Equilibration buffer ile 5 dk muamele edildi. TdT-enzimi ile nemli atmosferik ortamda 37°C de 60 dk tutuldu. SCC (Sodium citrate/sodium chloride buffer) yıkamasının ardından 5 dk hidrojen peroksit uygulanması sonrası antistreptavidin-peroxidase ile 30 dk'lık inkübasyona tabi tutuldu ve ardından DAB ile boyama yapıldı. Aralarda PBS yıkama solüsyonu ile yıkamalar yapıldı. Arda boyaması Mayers Hematoksileni ile yapıldı. Kör yöntemle TUNEL pozitif hücreler saptanmaya çalışıldı. Negatif kontrol için primer antikor yerine PBS, pozitif kontrol olarak da apoptozis olduğu bilinen testis dokuları kullanıldı (79-81).

Patolojik Skorum ve Histomorfometrik ölçüm:

Hem H-E hem de immunoboyamalarda morfometrik analizler yapılarak medulla spinalis, ön, arka, yan boynuz nöron ve akson, arka kök ganglionları için hücre ve akson olası hasar ve dejeneratif değişiklikler için değerlendirildi. Kesitlerin dijital ortama aktarılması sonrasında görüntüler kör bir şekilde ödem, schwann hücre ve miyelin bozuklukları açısından az (+1), orta (+2) ve çok (+3) olmak üzere her grubun farklı deneklerden alınan örnekler için derecelendirildi. Ortalama ve standart sapmaları (SS) bulundu. Daha önceki çalışmalardan uyarlanan morfometrik yöntem kullanılması ile akson sayısı, çapı ve miyelin kalınlığı hesaplanarak bu veriler excel 5.0 grafik-matematik ve Graphpad 1.0 istatistik programları kullanılarak değerlendirildi. Alanların hesabı + işaretlerinin bulunduğu bir skala içeren şablonun ışık mikroskopik fotoğrafların üzerine sabitlenmesi ve her bir akson alanının ve miyelin kalınlığının saptanması ile sağlandı. Her bir miyelinli aksonun çapı oranında standardize edilmiş miyelin alanı bulunarak bu verilerin aritmetik ortalaması, standart sapması Excel 5.0 programında hesaplanıp bu verilere bağlı grafikler Excel 5.0'da çizildi ve istatistiksel değerlendirilmesi Graphpad 1.0 programı ile yapıldı. Verilerin ortalama ve

standart sapmaları Excel 5.0 da hesaplanıp, Graphpad 1.0 programı ile tek yönlü varyasyon analizi (ANOVA) uygulanarak gruplar arasında saptanan istatistiksel fark $p<0.001$, ileri derecede anlamlı (***) ve $p<0.05$ anlamlı (*) olarak değerlendirildi (82-85).

4. BULGULAR

Deneklerin hiçbirisinde 14 gün süre ile yapılan uygulamada motor, duyuşsal ve davranışsal değişiklik görölmedi. Yapılan histopatolojik incelemede bakteri ve mantar yangısına rastlanmadı.

Kontrol grubunda ışık mikroskopik olarak medulla spinalis ve arka kök ganglionları için kanama, inflamasyon veya dejenerasyon benzeri patolojik bulgu göstermedi (Resim 1). Medulla spinalis ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve arka kök ganglionları (F) HE boyamaları için hücrelerin normal görünümde olduğu ve toksik etkiye işaret edecek patoloji içermediği saptandı. Deksmetomidin uygulaması ile hiçbir değişikliğin oluşmadığı görüldü (Resim 2).

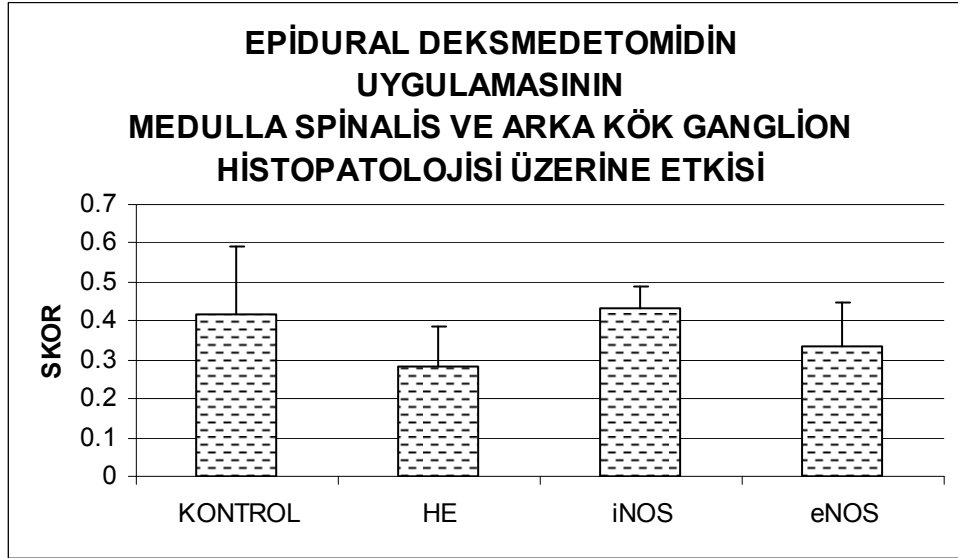
Apoptotik hücre saptaması için yapılan TUNEL immunboyamasında (Resim 3) medulla spinalis ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve arka kök ganglionları (F) için pozitif boyanmış hücre bulunmadı. Bu durum hem kontrol hem de deksmedetomidin grubu için aynı şekilde bulundu.

NOS boyamalarında hem iNOS (Resim 4) hem de eNOS (Resim 5) için medulla spinalis ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve arka kök ganglionları (F) bölgelerinde kontrol grubunda bulunan basal düzeyde boyamanın deksmedetomidin uygulaması ile değişmediği görüldü.

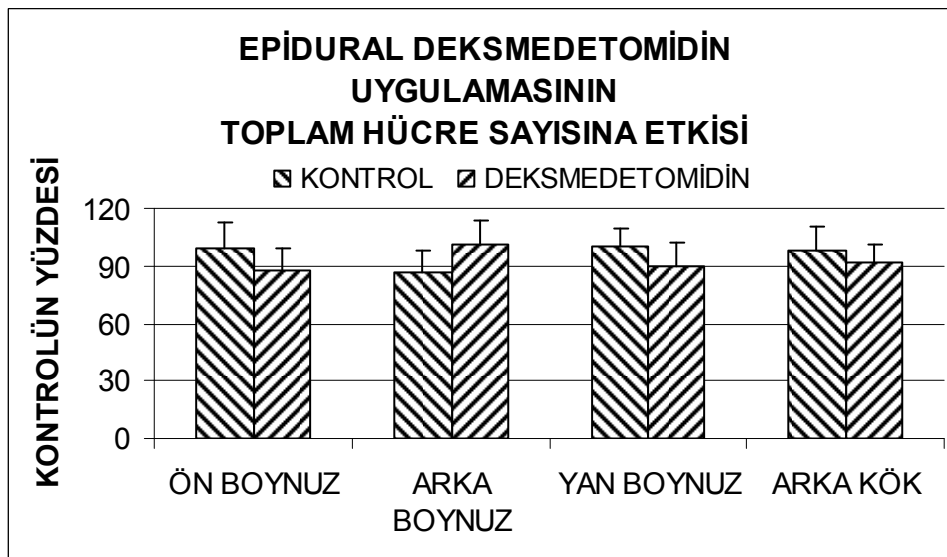
Yapılan morfometrik incelemede deksmedetomidin uygulamasına bağlı HE ve NOS boyamalarında histopatolojik bozukluk oluşmadığı (Tablo 1), toplam hücre sayısında değişiklik olmaması nedeni ile toksik etkiye bağlı gliozisin oluşmadığı (Tablo 2), nöron sayısının değişmemesine bağlı nörotoksik etkisinin bulunmadığı (Tablo 3) saptandı. Önemli bir gözlem olarak ılımlı toksik etkiyi gösterebilecek TUNEL boyamasının negatif olması

ve akson kalınlığının değişmemesi myelin hasarının gerçekleşmediğini (Tablo 4) net olarak ortaya koydu ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

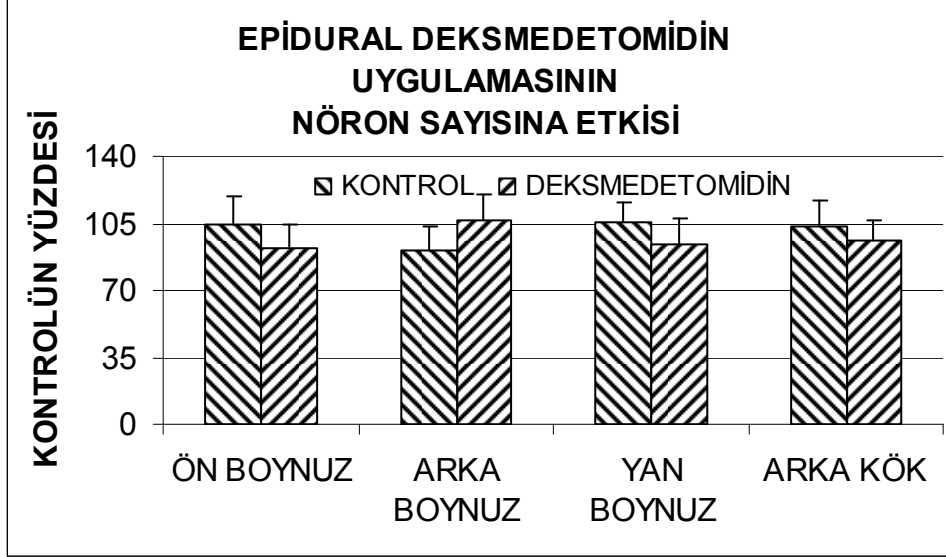
Tablo 1. HE boyamalarda yapılan histopatolojik skora



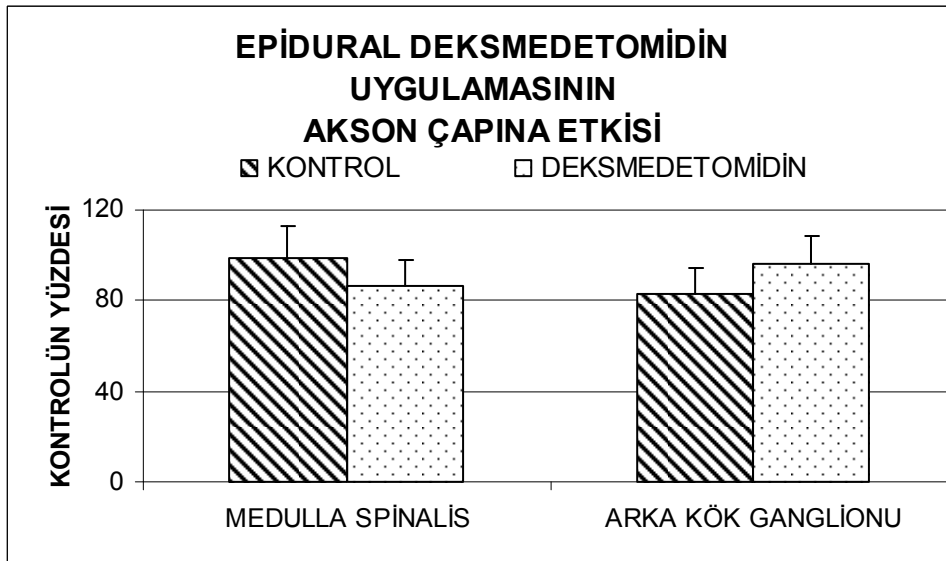
Tablo 2. HE boyamalarda yapılan toplam hücre sayısı morfolometri. Hücre sayısının değişmemesi gliozisin olmadığını göstermektedir.

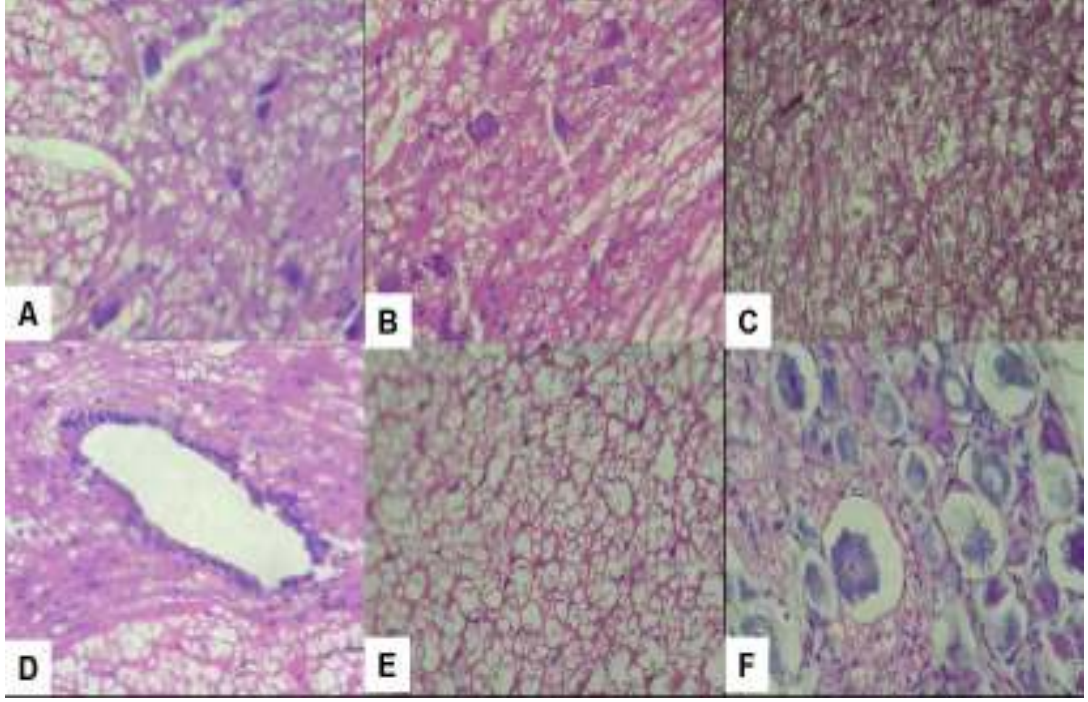


Tablo 3. HE boyamalarda yapılan nöron sayısı morfometrisi, hücre sayının değişmemesi nörotoksisitenin olmadığını göstermektedir.

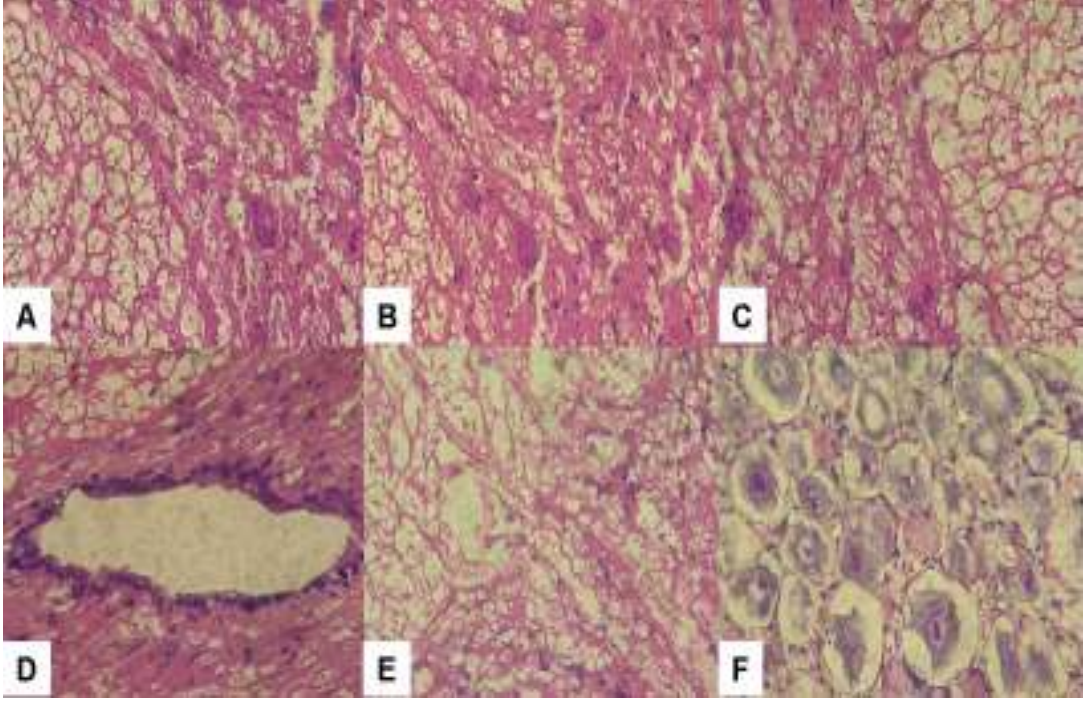


Tablo 4. HE boyamalarda yapılan akson çapı morfometrisi. Çapların değişmemesi ılımlı toksisiteye bağlı değişmediğini ve patolojik olmadığını göstermektedir.

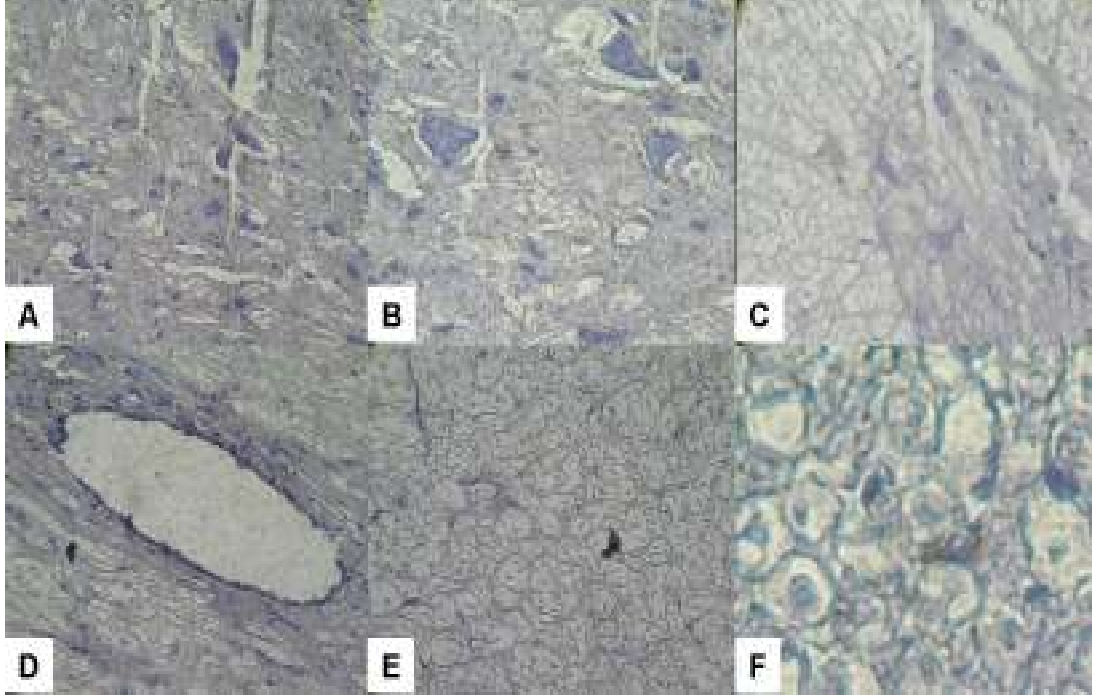




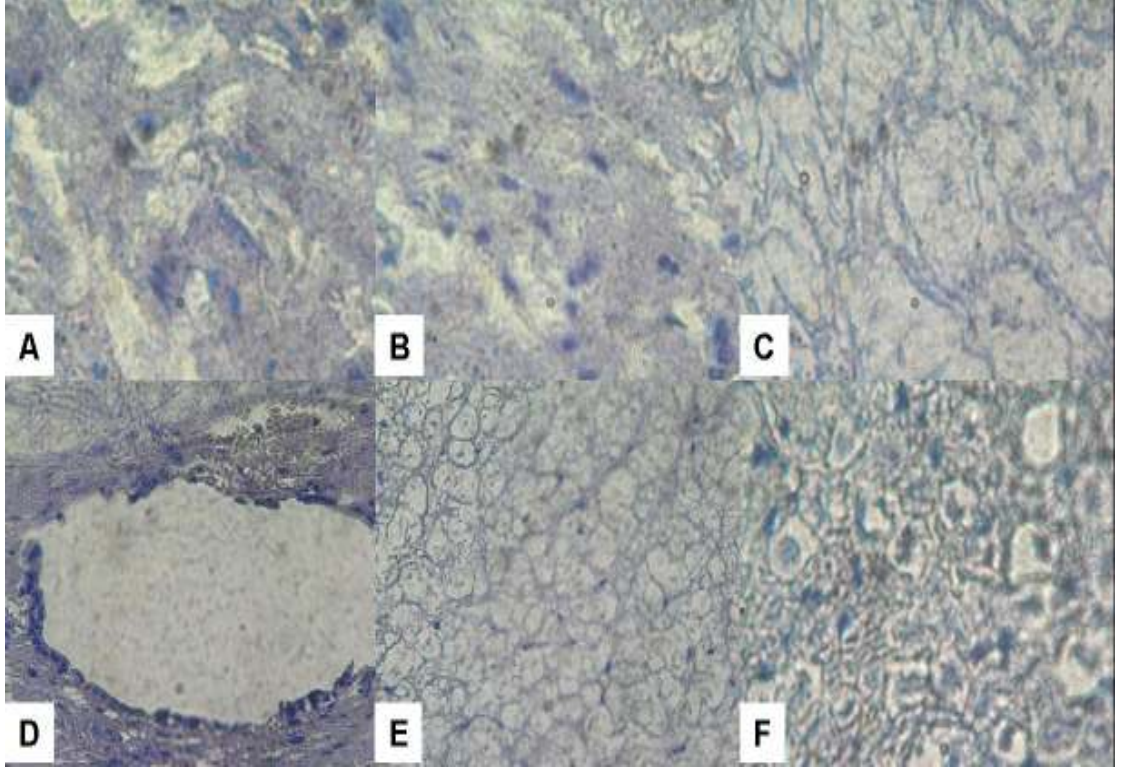
Resim 1. Kontrol grubu medulla spinalis ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve arka kök ganglion (F) HE boyamaları. Hücrelerin normal görünümde ve toksik etkiye işaret edecek patoloji saptanmadı.



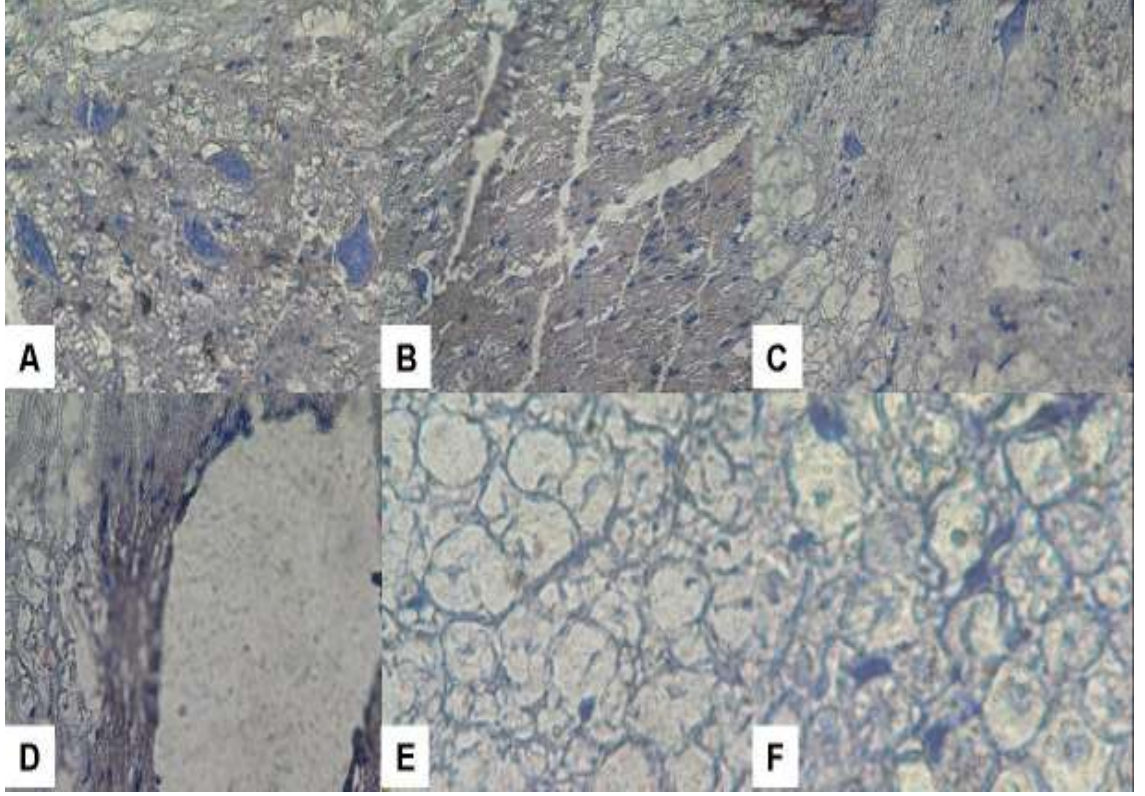
Resim 2. Deksmetomidin grubu MS ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve AKG (F) HE boyamaları. Hücrelerin normal görünümde ve toksik etkiye işaret edecek patoloji saptanmadı.



Resim 3. Deksmetomidin grubu medulla spinalis ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve arka kök ganglionu (F) TUNEL boyamaları. Apoptotik görünüm ve pozitif boyanma saptanmadı.



Resim 4. Deksmetomidin grubu medulla spinalis ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve arka kök ganglionu (F) iNOS boyamaları. Kontrol grubundan farklı olmayan bazal düzeyde boyanma görüldü, oksidatif strese işaret edecek bir boya artışı saptanmadı.



Resim 5. Deksmedetomidin grubu medulla spinalis ön (A), arka (B), yan (C) boynuz, merkez kanal (D), beyaz cevher (E) ve arka kök ganglionu (F) eNOS boyamaları. Kontrol grubundan farklı olmayan bazal düzeyde boyanma görüldü, oksidatif strese işaret edecek bir boya artışı saptanmadı.

5. TARTIŞMA

İlaçların santral sinir sistemine direkt verilmesiyle kan - beyin bariyerine takılmadan etkilerinin artırılacağı düşünülmektedir (71). Bu da klinisyenleri opioidler, alfa-2 agonistler gibi çeşitli analjeziklerin ve adjuvan ilaçların intratekal ve epidural kullanımlarıyla ilgili klinik çalışmalara teşvik etmektedir. Uzun süreli intraventiküler veya intratekal ilaç infüzyonlarının kanser ağrılarında, spastisiteli olgularda, amiyotrofik lateral sklerozda, Alzheimer demansında ve daha birçok benzer olguda kullanımı yaygınlaşmaktadır (71). Bir çok ilacın epidural kullanımdaki etkinliği hakkında elimizde yeterli bulgu olmamasına karşılık, bunların daha önceki klinik deneyimlere dayanılarak yapılan çıkarımlar sonucunda epidural kullanımda da etkili olabileceklerini düşündüren bulgular vardır. Ancak burada ortaya çıkan temel kısıtlayıcı faktör i.v. veya i.m. kullanım amacı ile üretilmiş olan bu ilaçların epidural kullanımlarında nörotoksik etkiye neden olup olmadıkları konusunda yeterli çalışmanın bulunmamasıdır.

Kurşun veya civa gibi nörotoksik oldukları laboratuvar araştırmaları ile kanıtlanan ajanların aksine, lokal anesteziğin ve analjeziklerin kronik spinal etkileri ile ilgili çalışmalar birçok soruyu beraberinde getirmektedir (71). Hangi ajan intratekal veya epidural kullanıma en uygundur? Spinal kordda araştırılacak esas lezyonlar nelerdir? Myelin, nöronal cisim veya aksonlarda görülen mikroskopik değişiklikler yeterli göstergeler midir? Nörotransmitter seviyelerini veya reseptörlerini etkilemiş eski değişiklikleri değerlendirebilir miyiz? Bu sorulara cevap verecek derecede yeterli spinal kord model çalışması henüz bildirilmemiştir.

Klinik çalışmalar bir çok nonopioid ilacın intratekal veya epidural bölgeye uygulanmasının analjezik etki ortaya çıkardığını göstermektedir. Bu grupta yer alan ajanlara örnek olarak serotonin, klonidin, deksmedetomidin,

ketamin, midazolam, droperidol, neostigmin, somatostatin, oktreotid ve kalsitonin söylenebilir. Bununla beraber, bu ajanlardan bir kısmı ile yapılan hayvan deneylerinde motor fonksiyonu bozduğu veya nörotoksisite yaptığı gösterilmiştir (86). Ketaminin antinosiseptif etkileri ve nörotoksisitesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (5,73). Son yıllarda klonidinin ağrı tedavisinde etkili olduğu ve uzun süreli epidural morfin kullanımında gelişen toleransı geri döndürdüğü bildirilmektedir (6). Yaksh ve ark. (87) maymunlar üzerinde yaptığı bir çalışmada intratekal düşük doz morfin ve meperidinin alfa-2 adrenerjik agonist olan klonidin ile birlikte kullanılması sonucunda analjezik etkilerinin arttığı gösterilmiştir (87).

Deksmedetomidin yeni kullanıma giren bir ilaç olup; sedatif ve hipnotik etkileri dışında epidural veya intratekal kullanıldığında antinosiseptif etkilerinin bulunduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (88-90). Bu alfa-2 agonistler ağrı tedavisi amacı ile intratekal olarak kullanılabilirse de, hızla supraspinal alana yayılması sonucunda sedasyon ve hipotansiyon gibi yan etkiler ortaya çıkabilmektedir (91).

Nörotoksik etkinin spinal uygulamalarda varlığı somatostatin ile gösterilmiş ve histopatolojik olarak ventral ve arka boynuz nöronlarında lokalize inflamasyon ve nükleozis yaptığı bildirilmiştir (92). Benzer şekilde substans P'nin intratekal uygulaması da lomber bölgede yaygın nekroza neden olmuştur (93). Bu çalışmalar spinal yoldan uygulanan ajanların medulla spinalis hasarı yapabileceğine ve nörotoksik potansiyellerine işaret ederek, uygulamalarda güvenliğe önem verilmesi gerektiğini düşündürmektedir. Çalışmamızda alınan örneklerin makroskobik bakılarında medulla spinalis ve arka kök ganglionları için değişiklik saptanmadı. Mikroskobik incelemede hem HE hem de immunboyamalarda hiçbir patolojik bulguya rastlanılmadı. Özellikle TUNEL pozitifliğinin olmaması ve akson-myelin yapısında ışık mikroskobik düzeyde bozulmanın bulunmaması, uygulamanın ılımlı anlamda bile toksik etki göstermediğine işaret etti.

Önceki çalışmalarda intratekal lokal anestezi uygulamaya bağlı hem gri cevher nöron ve glia hücrelerinde hem de beyaz cevher akson yapısında

bozulmalar gösterilmiş aynı zamanda bu etkiye bağı makrofaj infiltrasyonu saptanmıştır (94-96). Çalışmamızda, ışık mikroskopisinde; medulla spinalis ön, arka, yan boynuz, merkez kanal, beyaz cevher yapılarında nöron ve aksonların normal görünüşleri ve arka kök ganglionları için normal morfolojide gangliyon hücreleri yanında gangliyon hücreleri arasında düzgün yapı ve yerleşimde myelinli ve myelinsiz lifler gözlemlendi ve gangliyon hücreleri etrafında düzgün dizilimde satelit hücreleri belirlendi. Deksmetomidin uygulaması ile bu yapılarda herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi.

Opioidler gibi güçlü analjezikler ve alfa-2 adrenerjik agonistlerin intratekal veya epidural uygulamalarında, etkili oldukları reseptörlerin yakınına verilmeleri nedeni ile sistemik uygulamalarından daha çok etkilidirler (1). Medulla spinalis uyarılmasında glutamate, substant P, CGRP (kalsitonin geni ile ilgili peptid) ve VIP (vazoaktif intestinal peptid) aracılığı ile aktive olan eksitatuvar nörotransmisyon yolu önemli olmakta ve intratekal veya epidural alfa-2 adrenerjik agonist enjeksiyonu bu salınımı engelleyerek ağrıyı azaltmaktadır (97,98). Arka kök ganglion hücrelerinin kapsaisin ile VR-1 reseptörleri üzerinden glutamat salgılamasını arttırdığı ve morfin, norepinefrin, potasyum ve μ -opioid yanı sıra alfa-2 reseptör agonist uygulamasının bunu engellediği gösterilmiştir (98,99). Sıçanlarda arka kök ganglionları hücrelerinin alfa-2A/D ve alfa-2C reseptörleri içerdikleri ve etkilerini bu alt tip reseptörlerle yaptıkları gösterilmiştir (100).

Alfa-2 adrenerjik agonist uygulamasının normal sıçanlarda intratekal atropinle etkisi sürerken, spinal sinir ligasyonu yapılmış ve duyarlı hale getirilmiş sıçanlarda etkiyi antogonize ettiği ileri sürülmüştür (101). Periferik sinir zedelenmesi hayvan örneklerinde C fibrillerinin dejenerasyon ve bozulması görülmüş ve lezyonun olduğu tarafta alfa-2 adrenerjik reseptör immunoboyamasının medulla spinalis ipsilateralde kaybolduğu bulunmuştur. Normal sıçanlarda özellikle arka kök ganglionları sinaptozomlarında kapsaisin ile C fibrillerinden salınan glutamat inhibisyonu intratekal alfa-2 adrenerjik agonistlerin uygulamasına bağı akut analjeziyi sağladığı düşünülmektedir (102).

Deneysel çalışmalarda epidural uygulamaların, sıçanlarda sıklıkla ventral boynuzda histopatolojik değişiklik yapmadan önce medulla spinalis kan akımını azalttığı ve ilaca bağlı iskemi nedeniyle hasar oluştuğunu göstermiştir (103,104). Ancak alfa-2 adrenerjik agonistlerin uygulamasının oluşturduğu hipotermi nöroprotektif etki oluşurmaktadır (105).

Nöroaksiyal ilaç uygulamaları spinal anestezi olarak başlamış ve yüzyıldan fazladır uygulanmaktadır. Bunlar içinde intratekal olarak direk BOS içine ve epidural olarak dura etrafındaki yağ dokuya yapılan enjeksiyon veya infüzyon tarzındaki uygulamalar uzun zamandır bilinmektedir. Opioidlerden morfin, fentanil ve sufentanil sıklıkla kullanılan ajanlardır. Klonidin, dexmedetomidin ve epinefrin de alfa adrenerjik reseptör üzerinden etkiyen genellikle lokal anesteziklerle opialara adjuvan olarak ağrıyı engellemek için kullanılan ajanlardır (106). Bunlardan lokal anesteziklerin epidural uygulamalarında doza ve sreye bağlı özellikle de sürekli verilmelerinde toksik etkilerinin varlığı gösterilmiştir (107,108).

Epidural uygulamaların güvenilirliğinin sorgulanmasında medulla spinalis ve arka kök ganglionları doku ve hücrelerinde oluşan histopatolojik değişiklerin nörotoksik etki ile ilişkisi değerlendirilmeli, ilaç konsantrasyonu ve BOS sıvısındaki biyokimyasal değişikliklerle olan ilgisi ortaya konmalıdır. Bu incelemede uygulama seviyesinin yakın ve uzak bölümleri ayrı olarak değerlendirilmelidir. Uygulama sırasında oluşacak kanamanın da sonuçların yorumlanmasında önemli olduğu unutulmamalıdır. Spinal uygulamalarda ilaçlar aseptik inflamasyon, nöron ölümü ve demyelinasyon gibi lokal reaksiyonlara neden olabilir (109). Klonidin (110), adenosin (111), neostigmin (112,113) ve morfinin 28 gün süresince köpeklere uygulamalarında böyle bir toksik etki saptanmazken bir delta-opioid peptid DPDPE (114) ve yüksek konsantrasyondaki morfinin (115) toksik etki gösterdiği saptanmıştır. Ancak insan uygulamaları ile ilişkilendirildiğinde kullanılan ilaç konsantrasyonlarının çok daha düşük düzeyde kalıyor olması bu uygulama ve ilaçların güvenilirliğine işaret etmektedir (116).

6. SONUÇLAR

Alfa-2 adrenerjik agonist deksmedetomidinin, tavşanlarda epidural tekrarlayan uygulamalarında, nörotoksisite yönünden değerlendirdiğimiz bu çalışmamızda; ışık mikroskopik incelemelerde nörotoksisiteyi destekleyen bulgulara rastlanmadı. Sonuç olarak tekrarlanan epidural deksmedetomidin uygulamasının nöronlar üzerinde toksik etkisinin olmadığı kanısına varıldı. Işık mikroskopik patolojinin saptanmaması, eğer varsa bile nörotoksik etkinin proteinler gibi daha alt düzeyde gerçekleşebileceğini düşündürdü. Alfa-2 adrenerjik agonistlerin epidural uygulamasının güvenli olduğunu daha da kesin olarak söyleyebilmek için, moleküler düzeyde yapılacak uzun süreli etkilerinin incelendiği çalışmalara gereksinim vardır.

7. ÖZET

Bu çalışmada, alfa-2 agonist olan deksmedetomidinin, tavşanlarda tekrarlayan epidural uygulamalarının, nöronlar üzerindeki etkilerini nörotoksosite açısından ışık mikroskopisi yardımıyla değerlendirdik.

Çalışmamız 20 adet, yaklaşık 1.5-2 kg arası, erkek ve albino Yeni Zelanda tavşanlarından oluşan 2 grup üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmanın birinci gününde tüm hayvanlara genel anestezi altında epidural kateter yerleştirildi. Yerleştirilen epidural kateterden deksmedetomidin grubuna %1 deksmedetomidin 0.5 ml (%0.9 salin ile dilüe) ve kontrol grubuna izotonik salin 0.5 ml 14 gün boyunca uygulandı ve hayvanlar motor değişiklikler açısından gözlemlendi. Son enjeksiyondan bir gün sonra hayvanlara aynı ilaçlarla genel anestezi verildi. Sonra 30 dk içinde laminektomi uygulandı. Kateterlerin ucunun 1 cm rostralinden spinal kordun 5 cm kısmı dikkatlice çıkartıldı ve aynı fiksatifle hemen korundu. Fiksasyon sonrası doku blokları parafine gömüldü ve spinal kord preparatları transvers 5 mikronluk dilimlere ayrıldı. Bu örnekler ışık mikroskopi ile incelenmek için boyandı. Mikroskopi çalışmaları kör bir histolog tarafından gerçekleştirildi. Medulla spinalis ve arka kök ganglionları ödem, karyoliz ve myelin hasarı açısından incelendi.

Deneklerin hiçbirisinde 14 gün süre ile yapılan uygulamada motor, duyuşsal ve davranışsal değişiklik görülmedi. Yapılan histopatolojik incelemede bakteri ve mantar yangısına rastlanmadı. Kontrol grubunda ışık mikroskopik olarak medulla spinalis ve arka kök ganglionları için kanama, inflamasyon veya dejenerasyon benzeri patolojik bulgu gözlenmedi. Medulla spinalis ön, arka, yan boynuz, merkez kanal, beyaz cevher ve arka kök ganglionları HE boyamaları için hücrelerin normal görünümde olduğu ve toksik etkiye işaret edecek patoloji içermediği saptandı. Deksmetomidin uygulaması ile hiçbir değişikliğin oluşmadığı görüldü. Apoptotik hücre

saptaması için yapılan TUNEL immunboyamasında medulla spinalis ön, arka, yan boynuz, merkez kanal, beyaz cevher ve arka kök ganglionları için pozitif boyanmış hücre bulunmadı. Bu durum hem kontrol hem de deksmedetomidin grubu için aynı şekilde bulundu. NOS boyamalarında hem iNOS hem de eNOS için gruplara arasında fark saptanmadı. Yapılan morfometrik incelemede deksmedetomidin uygulamasına bağlı HE ve NOS boyamalarında histopatolojik bozukluk oluşmadığı, toplam hücre sayısında değişiklik olmaması nedeni ile toksik etkiye bağlı gliozisin oluşmadığı, nöron sayısının değişmemesine bağlı nörotoksik etkisinin bulunmadığı saptandı.

Sonuç olarak çalışmamızda ışık mikroskopik incelemelerde nörotoksititeyi destekleyen bulgular olmaması nedeniyle tekrarlanan epidural olarak verilen deksmedetomidinin nörotoksik etkisinin olmadığı kanısına varıldı.

8. SUMMARY

In this study, we evaluated the effects of dexmedetomidine, an alpha-2 agonist, upon the neurons by repeated epidural administrations in the rabbits via light microscope for neurotoxicity.

Our study was performed in 2 groups with 20 male, albino New Zealand rabbits, weighing 1.5-2 kg. In the first day of the study, epidural catheter was placed into the all rabbits under general anesthesia. 0.5 ml 1% dexmedetomidine (diluted with 0.9% saline) to dexmedetomidine group and 0.5 ml isotonic saline to control group were administered through epidural catheter during 14 days and the rabbits were observed for motor alterations. One day after the last injection, the rabbits were anesthetized with the same drugs and then laminectomy was performed in 30 minutes. The section of 5 cm of spinal cord was dissected fastidiously from 1 cm of the rostral of the catheter tip and immediately protected in the same fixative. Tissue blocks were embedded in paraffin after fixation and spinal cord sections were divided transversely into 5 μ slices. These samples were stained for the evaluation by light microscope. Microscope studies were performed by a blind histologist. Medulla spinalis and dorsal root ganglions were evaluated for edema, myelin injury and choriolysis.

No motor, sensory and behavioural differences were obtained during 14 days of study in the rabbits. There was no bacterial or fungal inflammation according to the histopathological examination. Pathological findings like degeneration, inflammation or bleeding in medulla spinalis and dorsal root ganglions were not observed by light microscope in the control group. No pathological finding leading to toxic effect was seen and anterior, posterior, lateral horn of medulla spinalis, central channel, white matter and dorsal root ganglions were obtained as normal due to HE (hematoxylin-

eosin) staining. No difference was seen by dexmedetomidine administration. There was no positive stained cell in anterior, posterior, lateral horn of medulla spinalis, central channel, white matter and dorsal root ganglions according to TUNEL immunostaining for apoptotic cell detection. This situation was obtained the same in both control and dexmedetomidine group. No difference was found between the groups for iNOS and eNOS due to NOS staining. In morphometric examination there was no histopathological disorder, gliosis related to toxic effect as seen no difference in total cell count or neurotoxic effect because of unchanged neuron number according to the HE and NOS staining related to dexmedetomidine administration.

Consequently; as there is no finding supporting neurotoxicity due to light microscope evaluations, we consider that repeated epidural administration of dexmedetomidine has no neurotoxic effect.

9. KAYNAKLAR

1. Garber JE, Hassenbusch SJ. Ağrı tedavisi için nonopioid analjeziklerin spinal uygulanımı. Çeviri: Erhan E. In Steven. D. Waldman (ed) Girişimsel ağrı tedavisi, Çeviri editörü: Nurettin Lüleci, İstanbul, Tibyan yayıncılık, 2006, p. 621-626.
2. Bisenach JC, Shafer SL, Bucklin BA, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology* 1994; 80: 1349-1359.
3. Aantaa R, Kallio A, Virtanen R. Dexmedetomidine, a novel alpha 2-adrenergic agonist. A review of its pharmacodynamic characteristics. *Drugs Future* 1993; 18: 49-56.
4. Smith H, Elliott J. Alpha-2 receptors and agonists in pain management. *Curr Opin Anaesthesiol* 2001; 14(5): 513-518.
5. Yentür EA, Mirzai IT, Mirzai H, et al. Repeated epidural injections of ketamine with preservative benzethonium chloride produce evidence for neurotoxicity in rabbits. *The Pain Clinic* 2003;15: 299-308.
6. Madsen JB, Jensen FM, Faber T, et al. Chronic catheterization of the epidural space in rabbits: a model for behavioral and histopathological studies. Examination of meptazinol neurotoxicity. *Acta Anaesthesiol Scand* 1993; 37: 307-313.
7. Kroin JS, McCarthy RJ, Penn RD, et al. The effect of chronic subarachnoid bupivacaine infusion in dogs. *Anesthesiology* 1987; 66(6): 737-742.
8. Tahtacı Nursan: Ameliyat Sonrası Epidural Kateterle Uygulanan Morfin Analjezisinin Solunum Fonksiyonlarına Etkisi (Uzmanlık Tezi). 1989, İstanbul, s. 11-12.

9. Handwerker HO, Reeh PW. Pain and inflammation. In: Bond CR, Charlton JE, Wolf CJ, editors. Proceedings of the Vth world congress on Pain, Amsterdam: Elsevier; 1991, 59-70.
10. Schmidt RF, Schaible HG, Messlinger K, et al. Silent and active nociceptors: structure, functions, and clinical implications. In: Gebhart, GF, Hammond DL, Jensen TS: Proceedings of the world congress on pain, progress in pain research and management. Vol. 2. IASP Press, Seattle 1994, 213-250.
11. Levine JD, Fields HL, Basbaum AI. Peptides and the primary afferent nociceptor. *J Neurosci* 1993; 13: 2272-2286.
12. Gary MG, Miller KE, Seybold VS. Lumbar dorsal root ganglia of the cat: A quantitative study of peptide immunoreactivity and cell size. *J Comp Neurol* 1987; 284: 36-47.
13. Smith WL. Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *Am J Physiol* 1992; 263: 181-191.
14. Esener Z. Klinik Anestezi, Logos Yayıncılık, İstanbul, 1991.
15. Bromage PR. Identification of the epidural space. In Bromage PR(ed): Epidural Analgesia. Philadelphia, M Saunders, 1978, p. 138.
16. Dogliotti AM. A new method of block: segmental peridural spinal anesthesia. *Am J Surg* 1993; 20: 107-118.
17. Bromage PR. Introduction. In Bromage PR (ed): Epidural Analgesia. Philadelphia, WB Saunders, 1978, p. 3.
18. Katy J. Lumbar approach-single injection technique. In Katz J (ed): Atlas of Regional Anesthesia. Norwalk, Conn, Appleton Lange, 1994, p. 178-179.
19. Reynolds AF, Roberts PA, Pollay M, et al. Quantitative anatomy of the thoracolumbar epidural space. *Neurosurgery* 1985; 17:905.
20. Bromage PR: Anatomy. In Bromage PR(ed): Epidural Analgesia. Philadelphia, WB Saunders, 1978, p.14.
21. Woollam DHM, Millen JW. An anatomical background to vascular disease of the spinal cord. *Proc R Soc Med* 1958; 51: 540.

22. Brown DL: Lumbar epidural block. In Brown DL (ed): Regional anaesthesia and analgesia. Philadelphia, WB Saunders, 1999, p. 329-346.
23. Waldman SD. Epidural nerve block. In RS Weiner(ed): Innovations in Pain Management Orlando, Fla, PMD Pres, 1990, p. 4-5
24. Waldman SD. Management of acute pain. Postgrad Med 1992; 87: 15-17.
25. Waldman SD: Acute and postoperative pain management. In Weiner RS (ed): innovations in Pain Management. Orlando, Fla, PMD Pres, 1993, p. 12-13.
26. Waldman SD. Acute herpes zoster and postherpetic neuralgia. Intern Med 1990; 11: 33-34.
27. Raj PP. Chronic pain. In Raj PP (ed): handbook of regional anesthesia. New York, Churchill Livingstone 1985, pp 103-107.
28. Waldman SD. Lumber epidural block. In Waldman SD, Arks of interventional pain management techniques. Philadelphia WB Saunders, 1998, p. 308-317.
29. Waldman SD, Grek CR, Greenfield MA. The caudal administration of steroids in combination with local anesthetics in the palliation of pain secondary to radiographically documented lumber herniated disc.- a prospective outcome study with six-month follow-up. The Pain Clinic 1998; 11: 43.
30. Wilson NAT, Waldman SD. Role of the epidural administration of steroids in combination with local anesthetics in the palliation of pain secondary to vertebral compression fractures. Pain Digest 1992; 1194-1295.
31. Portenoy RK, Waldman SD. Managing cancer pain non-pharmacologically. Contemp Ob/Gvn 1994; 39: 82-87.
32. Bromage PR. Complication and contraindications. In Bromage PR(ed): Epidural Analgesia. Philadelphia, WB Saunders, 1978, p. 654-711.

33. Waldman SD. Subdural injection as a cause of unexplained neurological symptoms. *Reg Anesth* 1992; 17: 55.
34. Braid DP, Scott DB. The systemic absorption of local anesthetic drugs. *Br J Anaesth* 1965; 37: 394.
35. Cousins MJ. Hematoma following epidural block. *Anesthesiology* 1972; 37: 263.
36. Poroney RK, Waldman SD. Managing cancer pain. *Contemp Oncol* 1993; 3: 33-41.
37. Hancock DO. A study of 49 patients with acute spinal extradural abscess. *Paraplegia* 1973; 10(4): 285-288.
38. Armitage EN. Lumbar and thoracic epidural. In Wildsmith JAW, Armitage EN (eds): *Principles and practice of regional anesthesia*. New York, Churchill Livingstone, 1987, p. 109.
39. Cousins MJ, Bromage PR. Epidural neural blockade. In Cousins MJ, Bridenbaugh DO (eds): *Neural Blockade*. Philadelphia, JB Lippincott, 1988, p. 340-341.
40. Scott NB, Mogensen T, Bigler D, et al: Continuous thoracic extradural 0.005% bupivacaine with or without morphine. Effect on quality of blockade, lung function and surgical stress response. *Br j Anesth* 1989; 63: 253-257.
41. Scott DB, Lee A, Fagan D, et al. Acute toxicity of ropivacaine compared with that of bupivacaine. *Anesth Analg* 1989; 69: 563-569.
42. Tucker GT, Cooper S, Littlewood D, et al. Observed and predicted accumulation of local anesthetics during continuous extra-dural analgesia. *Br J Anesth* 1977; 49: 237.
43. Schweitzer SA, Morgan Dj. Plasma bupivacaine concentrations during postoperative continuous epidural analgesia. *Anaest Intensive Care* 1987; 15: 425-430.
44. Chestnut DH, Owev CL, Bates JN, et al. Continuous infusion epidural analgesia during labor: A randomized double-blind comparison of 0.0625% bupivacaine/0.0002% fentanyl versus 0.125 bupivacaine. *Anesthesiology* 1988; 68: 754-759.

45. Logas WG, El-Baz NM, El- Ganzouri A, et al. Continuous thoracic epidural analgesia for postoperative pain relief following thoracotomy: A randomized prospective study. *Anesthesiology* 1987; 67: 787-791.
46. Fisher R, Lubenow TR, Liceaga A, et al: Comparison of continuous epidural infusion of fentanyl-bupivacaine and morphine-bupivacaine in the management of postoperative pain. *Anesth Analg* 1988; 67: 559-563.
47. Hjortso NC, Lund C, Mogensen T, et al. Epidural morphine improves pain relief and maintains sensory analgesia during continuous epidural bupivacaine after abdominal surgery. *Anesth Analg* 1986; 65: 1033-1036.
48. Rawal N, Sjöstrand U, Dahlström B. Postoperative pain relief by epidural morphine. *Anesth Analg* 1981; 60: 726-731.
49. Rutberg H, Hakkanson E, Anderberg B, et al. Effects of extradural administration of morphine or bupivacaine on the endocrine response to upper abdominal surgery. *Br J Anaesth* 1980; 52: 247-252.
50. Aantaa R. Assessment of sedative effects of dexmedetomidine, an alpha 2- adrenoceptor agonist, with analysis of saccadic eye movements. *Pharmacol Toxicol* 1991; 68:394-398.
51. Maze M. Clinical uses of alpha 2 agonists. In Barash PG, ed. *The American Society of Anesthesiologists*. Philadelphia: Lippincott JB, 1992: p. 133-142.
52. Lakhlani PP, MacMillan LB, Guo TZ, et al. Substitution of a mutant α_{2a} adrenergic receptor via 'hit and run' gene targeting reveals the role of this subtype in sedative, analgesic and anesthetic-sparing responses in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 9950-9955.
53. Makaritsis KP, Johns C, Gavras I, et al. Role of alpha (2) adrenergic receptor subtypes in the acute hypertensive response to hypertonic saline infusion in anephric mice. *Hypertension* 2000; 35: 609-613.
54. Sallinen J, Haapalinna A, Viitamaa T, et al. Adrenergic alpha2c-receptors modulate the acoustic startle reflex, prepulse inhibition and aggression in mice. *J Neurosci* 1998; 18. 3035-3042.

55. Jevtovic-Todorovic V, Wozniak DF, Powell S, et al. Clonidine potentiates the neuropathic pain-relieving action of MK-801 while preventing its neurotoxic and hyperactivity side effects. *Brain Res* 1998; 781: 202-211.
56. Gautier PE, De Kock M, Fanard L, et al. Intrathecal clonidine combined with sufentanil for labor analgesia. *Anesthesiology* 1998; 88: 651-656.
57. Bachand RT, List W, Etropolski M, et al. A phase 3 study evaluating dexmedetomidine for sedation in postoperative patients. *Anesthesiology* 1999; 91: A296.
58. Scheinin H, Aantaa R, Anttila M, et al. Reversal of the sedative and sympatholytic effects of the dexmedetomidine with a specific alpha 2-adrenoreceptor antagonist atipamezole: a pharmacodynamic and kinetic study in healthy volunteers. *Anesthesiology* 1998; 89: 574-584.
59. Precedex product label, Abbott Laboratories Inc.
60. Hayashi Y, Maze M. Alpha 2-adrenoceptor agonist and anaesthesia. *Br J Anaesth.* 1993; 71: 108-118.
61. Maze M. Sedation in the intensive care unit. *International Congress and Symposium Series-Redifining Sedation.* 1998: 221: 3-10.
62. Aantaa R, Kanto J, Scejheinin M, et al. Dexmedetomidine, and alpha 2-adrenoceptor agonist, reduces anaesthetic requirements for patients undergoing minor gynecological surgery. *Anesthesiology* 1990; 73: 230-235.
63. Ralph Gertler, H. Cleighton Brown, et al. Dexmedetomidine: a novel sedative-analgesic agent. *BUMC Proceedings* 2001; 14: 13-21.
64. Dyck JB, Shafer SL. Dexmedetomidine pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Anesth Pharm Review* 1993; 1: 238-245.
65. EbertTJ, Hall JE, Barney JA, et al. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans. *Anesthesiology* 2000; 93: 382-392.

66. Jaakola ML. Dexmedetomidine premedication before intravenous regional anesthesia in minor outpatient hand surgery. *J Clin Anesth* 1994; 6(3): 204-211.
67. Aho MS, Erkola OA, Scheinin H, et al. Effect of intravenously administered dexmedetomidine on pain after laparoscopic tubal ligation. *Anesth Analg* 1991; 73: 112-118.
68. Bouaziz H, Hewitt C, Eisenach JC. Subarachnoid neostigmine potentiation of alpha-2-adrenergic agonist analgesia. dexmedetomidine versus clonidine. *Reg Anesth* 1995; 20(2): 121-127.
69. Sabbe MB, Penning JP, Ozaki GT, et al. Spinal and systemic action of the alpha-2- receptor agonist dexmedetomidine in dogs. Antinociception and carbon dioxide response. *Anesthesiology* 1994; 80(5): 1057-1072.
70. Williams PL, *Gray's Anatomy*. Churchill Livingstone, London, 1995:8: 975-1011 .
71. Hodgson PS, Neal JM, Pollock JE, et al. The neurotoxicity of drugs given intrathecally (spinal). *Anesth Analg* 1999; 88: 797-809.
72. Borgbjerg F, Svensson B. Histopathology after repeated intrathecal injection of preservative-free ketamine in the rabbit. *Anesth Analg* 1994; 79: 105-111.
73. Mavinovsky JM, Cozian A, Lepage JY, et al. Ketamine and midazolam neurotoxicity in the rabbit. *Anesthesiology* 1991; 75: 91-97.
74. Errando CL, Sifre C, Moliner S, et al. Subarachnoid ketamine in swine-pathological finding after repeated doses: Acute toxicity study. *Reg Anaesth Pain Med* 1999; 24(2): 146-152.
75. Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976; 17: 1031-1036.
76. Lukacova N, Cizkova D, Krizanova O, et al. Peripheral axotomy affects nicotinamide adenine dinucleotide phosphatediaphorase and nitric oxide synthases in the spinal cord of the rabbit. *J Neurosci Res* 2003; 71(2): 300-313.

77. Merighi A, Cruz F, Coimbra A. Immunocytochemical staining of neuropeptides in terminal arborization of primary afferent fibers anterogradely labeled and identified at light and electron microscopic levels. *J Neurosci Methods* 1992; 42(1-2): 105-113.
78. Pavel J, Lukacova N, Marsala J, et al. The regional changes of the catalytic NOS activity in the spinal cord of the rabbit after repeated sublethal ischemia. *Neurochem Res* 2001; 26(7): 833-839.
79. Fan LH, Wang KZ, Cheng B, et al. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of tetramethylpyrazine following spinal cord ischemia in rabbits. *BMC Neurosci* 2006; 7: 48.
80. Kiyoshima T, Fukuda S, Matsumoto M, et al. Lack of evidence for apoptosis as a cause of delayed onset paraplegia after spinal cord ischemia in rabbits. *Anesth Analg* 2003; 96(3): 839-846.
81. Mackey ME, Wu Y, Hu R, et al. Cell death suggestive of apoptosis after spinal cord ischemia in rabbits. *Stroke*. 1997; 28(10): 2012-2017.
82. Svensson BA, Welin M, Gordh T Jr, et al. Chronic subarachnoid midazolam (Dormicum) in the rat. Morphologic evidence of spinal cord neurotoxicity. *Reg Anesth* 1995; 20(5): 426-434.
83. Saito H, Mimatsu K, Sato K, et al. Histopathologic and morphometric study of spinal cord lesion in a chronic cord compression model using bone morphogenetic protein in rabbits. *Spine* 1992; 17(11): 1368-1374.
84. Bozkurt P, Tunalı Y, Kaya G, et al. Histological changes following epidural injection of midazolam in the neonatal rabbit. *Paediatr Anaesth* 1997; 7(5): 385-389.
85. Borgbjerg FM, Svensson BA, Frigast C, et al. Histopathology after repeated intrathecal injections of preservative-free ketamine in the rabbit: a light and electron microscopic examination. *Anesth Analg* 1994; 79(1): 105-111.
86. Vercauteren MP, Velde MV. Neostigmine as the fourth spinal component for labor analgesia. *Anesthesiology* 2000; 93: 1552-1553.

87. Yaksh T, Reddy SV. Studies in the primate on the analgesic effects associated with intrathecal actions of opiates, alpha-adrenergic agonists and baclofen. *Anesthesiology* 1981; 54: 451-467.
88. Brock F, Mark HZ, Tony LY, et al. Antinociceptive properties of intrathecal dexmedetomidine in rat. *Eur J Pharmacol* 1991; 192: 221-225.
89. Gyöngyi H, Gabriella J, Ildiko D, et al. The synergistic antinociceptive interactions of endomorphin-1 with dexmedetomidine and/or s(+)-ketamine in rat. *Anesth Analg* 2001; 93: 1018-1024.
90. Horvath G, Kovacs M, Szikszay M, et al. Mydriatic and antinociceptive effects of intrathecal dexmedetomidine in conscious rats. *Eur J Pharmacol* 1994; 253: 61-66.
91. Bisenach JC, Shafer SL, Bucklin BA, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intraspinal dexmedetomidine in sheep. *Anesthesiology* 1994; 80: 1349-1359.
92. Gaumann DM, Yaksh TL. Intrathecal somatostatin in rats: antinociception only in the presence of toxic effects. *Anesthesiology* 1988; 68(5): 733-742.
93. Post C, Paulsson I. Antinociceptive and neurotoxic actions of substance P analogues in the rat's spinal cord after intrathecal administration. *Neurosci Lett* 1985; 57(2): 159-164.
94. Sakura S, Kirihara Y, Muguruma T, et al. Persistent sacral sensory deficit induced by intrathecal local anesthetic infusion in the rat. *Anesthesiology* 1994; 80: 847-852.
95. Sakura S, Chan VWS, Ciriales R, et al. The addition of 7.5% glucose does not alter the neurotoxicity of 5% lidocaine administered intrathecally in the rat. *Anesthesiology* 1995; 82: 236-240.
96. Kirihara Y, Saito Y, Sakura S, et al. Comparative neurotoxicity of intrathecal and epidural lidocaine in rats. *Anesthesiology* 2003; 99: 961-968.

97. Kuraishi Y, Hirota N, Sato Y, et al. Noradrenergic inhibition of the release of substance P from the primary afferents in the rabbit spinal dorsal horn. *Brain Res* 1985; 359(1-2): 177-182.
98. Ueda M, Oyama T, Kuraishi Y, Akaike A, Satoh M. Alpha 2-adrenoceptor-mediated inhibition of capsaicin-evoked release of glutamate from rat spinal dorsal horn slices. *Neurosci Lett* 1995; 188(2): 137-139.
99. Shinomura T, Nakao S, Adachi T, et al. Clonidine inhibits and phorbol acetate activates glutamate release from rat spinal synaptoneuroosomes. *Anesth Analg* 1999; 88(6): 1401-1405.
100. Stone LS, Broberger C, Vulchanova L, et al. Differential distribution of alpha2A and alpha2C adrenergic receptor immunoreactivity in the rat spinal cord. *J Neurosci* 1998; 18(15): 5928-5937.
101. Xu Z, Chen SR, Eisenach J, et al. Role of spinal muscarinic and nicotinic receptors in clonidine-induced nitric oxide release in a rat model of neuropathic pain. *Brain Res* 2000; 861(2): 390-398.
102. Stone LS, Vulchanova L, Riedl MS, et al. Effects of peripheral nerve injury on alpha-2A and alpha-2C adrenergic receptor immunoreactivity in the rat spinal cord. *Neuroscience* 1999; 93(4): 1399-1407.
103. Meert TF, Noorduyn H, Van Craenendonck H, et al. Effects of adrenaline, an alpha 2-adrenoceptor agonist, the volume of injection, and the global pain state of the animal on the activity of epidural sufentanil. *Acta Anaesthesiol Belg* 1989; 40(4): 247-261.
104. Macdonald R. Extradural clonidine-the need for well designed controlled trials. *Br J Anaesth* 1994; 72(3): 258-262.
105. Bicer C, Esmoğlu A, Akin A, Boyacı A. Dexmedetomidine and meperidine prevent postanaesthetic shivering. *Eur J Anaesthesiol* 2006; 23(2): 149-153.
106. Schug SA, Saunders D, Kurowski I, et al. Neuraxial drug administration: a review of treatment options for anaesthesia and analgesia. *CNS Drugs* 2006; 20(11): 917-933.

107. Muguruma T, Sakura S, Saito Y. Epidural lidocaine induces dose-dependent neurologic injury in rats. *Anesth Analg* 2006; 103(4): 876-881.
108. Li X, Eisenach JC. Alpha 2A-adrenoceptor stimulation reduces capsaicin-induced glutamate release from spinal cord synaptosomes. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299(3): 939-944.
109. Hodgson PS, Neal JM, Pollock JE, et al. The neurotoxicity of drugs given intrathecally (spinal). *Anesth Analg* 1999; 88: 797-809.
110. Yaksh TL, Rathbun M, Jage J, et al. Pharmacology and toxicology of chronically infused epidural clonidine.HCl in dogs. *Fundam Appl Toxicol* 1994; 23(3): 319-335.
111. Chiari A, Yaksh TL, Myers RR, et al. Preclinical toxicity screening of intrathecal adenosine in rats and dogs. *Anesthesiology* 1999; 91(3): 824-832.
112. Yaksh TL, Grafe MR, Malkmus S, et al. Studies on the safety of chronically administered intrathecal neostigmine methylsulfate in rats and dogs. *Anesthesiology* 1995; 82(2): 412-427.
113. Yaksh TL, Rathbun ML, Dragani JC, et al. Kinetic and safety studies on intrathecally infused recombinant-methionyl human brain-derived neurotrophic factor in dogs. *Fundam Appl Toxicol* 1997; 38(1): 89-100.
114. Horais K, Hraby V, Rossi S, et al. Effects of chronic intrathecal infusion of a partial differential opioid agonist in dogs. *Toxicol Sci* 2003; 71(2): 263-275.
115. Yaksh TL, Horais KA, Tozier NA, et al. Chronically infused intrathecal morphine in dogs. *Anesthesiology* 2003; 99(1): 174-187.
116. Eisenach JC, Curry R, Hood DD, et al. Phase I safety assessment of intrathecal ketorolac. *Pain* 2002; 99(3): 599-604.