



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON

ANABİLİM DALI

**DENEYSEL METHEMOGLOBİNEMİ
MODELİNDE OKSİJEN İLE TEDAVİ SÜRESİ VE
ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet KORKUT

TEZ DANIŞMANI:

Prof. Dr. Ayşe Pervin SUTAŞ BOZKURT

İSTANBUL ~ 2014

ÖNSÖZ

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Uzmanlık eğitimimde bilgi ve becerilerinin yanı sıra tecrübelerinden büyük kazanç sağladığım ve yetişmemde sonsuz emekleri olan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fatiş Altıntaş, Sayın Prof. Dr. Ayşe Pervin Sutaş Bozkurt ile Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda eğitim veren değerli hocalarım Prof. Dr. Güner Kaya, Prof. Dr. Hülya Erolçay, Prof. Dr. Saffet Karaca, Prof. Dr. Yalın Dikmen, Prof. Dr. Oktay Demirkıran, Prof. Dr. Ercan Türeci, Doç. Dr. Lale Yüceyar, Doç. Dr. Yusuf Tunalı, Doç. Dr. Güniz M. Köksal, Doç. Dr. Ferit Pekeş, Doç. Dr. Tuğhan Utku, Doç. Dr. Çiğdem Tütüncü ve Doç. Dr. Özlem Korkmaz Dilmen' e;

Tez çalışmamda beni yönlendiren, her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda görevli değerli uzmanlarım Uzm. Dr. Gürcan Güngör ve Uzm. Dr. Cem Sayılğan'a;

Eğitimim boyunca yetişmemde her yönden katkıları ve emekleri olan, desteklerini her zaman hissettiğim, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda görevli değerli uzmanlarıma;

Eğitimim süresince birlikte uyum içerisinde çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarıma;

Bezmialem Vakıf Üniversitesi bünyesindeki Araştırma Merkezinde görevli Uzm.Vet. Öznur Inan, Tıbbi Biyo. Önder Hüseyinbaş, Vet. Tek. Nurhayat Dönek, Biyokimya Anabilim Dalı'nda görevli Doç. Dr. Şahabettin Selek, Dr. Sıdıka Kesgin, Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda görevli Yrd. Doç. Dr. Ömer Uysal'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde en büyük destekçilerim olan anneme, babama ve ağabeyime;

Sevgili eşim Ahu KORKUT'a

En içten teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Mehmet KORKUT

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
GRAFİK VE RESİM LİSTESİ.....	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. ATMOSFERDEN DOKUYA O ₂ AKTARIMI.....	3
2.2. OKSİJENİZASYONUN SAPTANMASI.....	6
2.2.1. Spektrofotometrik Analiz	6
2.2.2. Nabız Oksimetre.....	6
2.2.3. Ko-oksimetre	8
2.3. Methemoglobinemi.....	9
2.3.1. Herediter Methemoglobinemi	9
2.3.2. Akkiz Methemoglobinemi.....	9
2.4. METHEMOGLOBİNEMİ'DE KLİNİK GÖRÜNÜM	10
2.5. METHEMOGLOBİNEMİ TANISI	12
2.6. METHEMOGLOBİNEMİ TEDAVİSİ.....	12
3. GEREÇ - YÖNTEM.....	15
3.1. KULLANILAN DENEKLER	15
3.2. DENEKLERİN BAKIM VE BARINMA KOŞULLARI.....	15
3.3. YÖNTEM	15
3.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	17
4. BULGULAR	18
4.1. OKSİJEN SATÜRASYONU (SpO ₂)	21
4.2. KALP ATIM HIZI (KAH)	24
4.3. KAN GAZLARI (PaO ₂ ve PaCO ₂)	27
4.4. % MetHb DÜZEYLERİ	28
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ.....	36
7. ÖZET	37
8. SUMMARY.....	38
9. KAYNAKLAR.....	39

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

TABLolar

Tablo 1. Hb Türleri ve Kandaki Oranları	4
Tablo 2. Methemoglobinemi'ye yol açabilen ajanlar	10
Tablo 3. Ön Çalışma; Deneklerin Ağırlıkları, Verilen Prilokain Miktarları, Oda Isısı ve Oda Nemi	18
Tablo 4. Denek Hayvanlarının Ağırlıkları ve Prilokain Miktarları	19
Tablo 5. Grup Oda ve Grup O ₂ ' deki Deneklerde Prilokain Öncesi-180. Dk' larda Ölçülen Hct (%) Değerleri	21
Tablo 6. Grup Oda ve Grup O ₂ ' de Prilokain Öncesi-180. Dk Zaman Aralığında 15 Dk' da Bir Ölçülen SpO ₂ Değerleri	22
Tablo 7. Grup Oda ve Grup O ₂ , SpO ₂ Değerleri, Ortalama, Standart Sapma, Grup İçi ve Gruplar Arası Karşılaştırma (p)	23
Tablo 8. Grup Oda ve Grup O ₂ 'de Prilokain Öncesi-180. Dk Zaman Aralığında 15 Dk' da Bir Ölçülen KAH Değerleri	25
Tablo 9. KAH Değerleri; Grup Oda ve Grup O ₂ 'de, Ortalama, Standart Sapma, Grup İçi ve Gruplar Arası Karşılaştırmada Anlamlı Fark Yoktur (p>0,05)	26
Tablo 10. Grup Oda, Grup O ₂ 'de, Prilokain Öncesi ve 180. Dk' da Ölçülen PaO ₂ , PaCO ₂ Değerleri	28
Tablo 11. Grup Oda ve Grup O ₂ ' de, Prilokain Öncesi-180. Dk Zaman Aralığında 30 Dk' da Bir Ölçülen MetHb Değerleri	29
Tablo 12. Grup Oda ve Grup O ₂ ' de, MetHb Değerleri, Ortalama ve Standart Sapma Grup İçi Karşılaştırmada Grup O ₂ ' de Anlamlı Farklılık (p<0,05), Gruplar Arası Karşılaştırmada Anlamlı Fark Bulunmamıştır (p>0,05)	30

ŞEKİLLER

Şekil 1. Oksijen Disosiasyon Eğrisi (ODE).....	5
Şekil 2. FİO ₂ : 1.0 Oksijen inspirasyonunda SpO ₂ ve FO ₂ Hb/FCOHb ilişkisi.....	7
Şekil 3. FİO ₂ : 1.0 Oksijen inspirasyonunda SpO ₂ ve FO ₂ Hb/FMetHb ilişkisi.....	8
Şekil 4. MetHb' nin HHb' ye dönüşümü.....	13
Şekil 5. Deney Ortamı: O ₂ Tüpü, Anestezi Cihazı, Monitör, İndüksiyon Kutusu İçerisinde Grup O ₂ ' de Bir Denekten Görünüm	20



GRAFİK VE RESİM LİSTESİ

GRAFİKLER

- Grafik 1. SpO₂ Değerleri, Gruplar Arası Ortalama ve Standart Sapma 24
- Grafik 2. KAH değerleri, Gruplar Arası Ortalama ve Standart Sapma 27
- Grafik 3. MetHb düzeyleri, Gruplar Arası Ortalama ve Standart Sapma..... 30

RESİMLER

- Resim 1. Sağ tarafta methemoglobinemi gelişmiş bir hastanın koyu renkli venöz kanı, sol tarafta ise normale dönmüş hali gözlenmektedir 11
- Resim 2. Sağ tarafta methemoglobinemi gelişmiş bir hastanın deri rengi ve tırnak yatağında gözlenen siyanoz, sol tarafta ise normale dönmüş hali gözlenmektedir 11
- Resim 3. Monitörize Edilmiş, Grup Oda'da Bir Denek Görünümü 20

KISALTMALAR

MetHb	: Methemoglobin
Hb	: Hemoglobin
O₂	: Oksijen
ODE	: Oksijen Disosiasyon Eğrisi
DO₂	: Oksijen Sunumu
Prlk	: Prilokain
CO₂	: Karbondioksit
AC	: Akciğer
PAO₂	: Parsiyel Alveolar Oksijen Basıncı
PACO₂	: Parsiyel Alveolar Karbondioksit Basıncı
PaO₂	: Parsiyel Arteriyel Oksijen Basıncı
PaCO₂	: Parsiyel Arteriyel Karbondioksit Basıncı
SaO₂	: Arteriyel Oksijen Satürasyonu
ADP	: Adenozin Difosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
α	: Alfa
β	: Beta
Fe⁺²	: Ferröz Demir
Fe⁺³	: Ferrik Demir
Fe	: Demir Atomu
O₂Hb	: Oksihemoglobin
HHb	: Deoksihemoglobin
COHb	: Karboksihemoglobin
SHb	: Sulfhemoglobin
CO	: Karbonmonoksit
2,3 DPG	: 2, 3 Difosfogliserat
FO₂Hb	: Fraksiyonel Oksihemoglobin
tHb	: Toplam Hemoglobin Miktarı
cO₂Hb	: Oksihemoglobin Miktarı
cHHb	: Deoksihemoglobin Miktarı
cMetHb	: Methemoglobin Miktarı

cCOHb	: Karboksihemoglobin Miktarı
cSHb	: Sulfhemoglobin Miktarı
nm	: Nanometre
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
FDA	: Food and Drug Administration
SpO₂	: Nabız Oksimetrede Oksijen Satürasyonu
NADPH-MR	: NADPH Methemoglobin Redüktaz
G6PD	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
gr	: gram
mg	: miligram
kg	: Kilogram
ml	: mililitre
KAH	: Kalp Atım Hızı
Akg	: Arteriyel Kan Gazı
SF	: Serum Fizyolojik
µlitre	: Mikrolitre
dk, (')	: Dakika
°C	: Santigrat Derece
ort	: Ortalama
StsdS	: Standart Sapma
Hct	: Hematokrit
P. Ö.	: Prilokain Öncesi
iv	: İntravenöz

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Methemoglobin (MetHb), anormal hemoglobin (Hb) formlarından biri olup, ağır santral siyanozda düşünülmesi gereken nedenlerin başında yer alır. MetHb, hemoglobin molekülündeki demirin ferröz formdan (Fe^{+2}), ferrik forma (Fe^{+3}) oksidasyonu ile oluşur. Sağlıklı kişide MetHb oranı toplam Hb' in %2' sinden azdır. Oksijen (O_2) taşıma yeteneği olmayan MetHb' in artması; oksijen disosiasyon eğrisi' ni (ODE) sola kaydırarak doku hipoksisi, laktik asidoz ve ciddi vakalarda ölüme yol açabilir. Methemoglobinemide, Hb' nin oksidasyona uğramayan kısmının O_2 ' ne yüksek affinite göstermesi ve ek olarak MetHb molekülünün O_2 taşıma yeteneğinin bozuk olması nedeniyle doku oksijenizasyonu bozulur.

Okside edici kimyasal ve ilaçlara maruz kalınması en sık görülen methemoglobinemi nedenidir. Anestezi pratiğinde yüksek dozda kullanılan lokal anestezikler, toksinler arasında en sık methemoglobinemi nedenidir. İkinci en sık etken, altı aydan küçük bebeklerde diyare ve dehidratasyon sonucu gelişen ve ciddi metabolik asidoz ile ilişkili olan idiyopatik formdur. Nitrat ve nitrit içeren yiyeceklerin tüketilmesi üçüncü en sık methemoglobinemi nedenidir. Etyolojide dördüncü sırayı otozomal resesif geçişli genetik form alır. Yenidoğanda kardiyak veya pulmoner kökenli patolojilerle ilişkilendirilemeyen santral siyanoz varlığında, ayırıcı tanıda mutlaka methemoglobinemi düşünölmelidir (1).

Yaşamın ilk üç aylık döneminde, MetHb redüktaz aktivitesinin düşük olması ve fetal hemoglobinin daha kolay oksitlenmesi nedeniyle ilaçlar ve toksik maddelere bağlı methemoglobinemi riski daha yüksektir. Literatürde bildirilen olguların çoğu bu yaş grubunda görölmektedir (2).

Toksik methemoglobinemi tedavisinde öncelikle metilen mavisi veya askorbik asit kullanılmaktadır. Destek tedavide hiperbarik O_2 tedavisi de uygulanmaktadır. Burada hedef plazmada çözülmüş O_2 düzeyini arttırarak metabolizmanın korunmasını sağlamaktır. Hiperbarik oksijen tedavisi ile geçici olarak oksijen sunumunu (DO_2) korumak mümkündür. Diğer alternatif olan kan değişimi de hiperbarik O_2 uygulaması gibi metilen mavisine kısa sürede ulaşılabilen ve yanıtız durumlarda uygulanmaktadır.

Hiperbarik O₂ uygulamasında O₂ tedavisinin etkinliği ve tedavi süresine olan etkisi hakkında yeterli deneyim bulunmamaktadır (3). Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda prilokain ile deneysel olarak methemoglobinemi oluşturularak, oda havasında ve %100 O₂ tedavisi ile MetHb düzeyi, oksijenasyon ve hemodinami üzerine %100 O₂ tedavisinin etkilerini ortaya koymaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. ATMOSFERDEN DOKUYA O₂ AKTARIMI

Solunumun amacı, dokulara O₂ sağlamak ve karbondioksiti (CO₂) uzaklaştırmaktır. Bu amacı gerçekleştiren faktörler; akciğer (AC) ventilasyonu, alveoller ile kan arasında O₂ ve CO₂ diffüzyonu, kanda O₂ ve CO₂ taşınmasıdır (4).

Gaz değişimi AC' lerin en küçük yapısal birimi alveol ve onu çevreleyen pulmoner kapiller ağ arasında gerçekleşir. Asimetrik olarak düzenlenmiş olan alveol duvarının kalın tarafında, su ve suda eriyen maddelerin değişimi gerçekleşirken, ince tarafında gaz değişimi gerçekleşmektedir (5). Alveol membranından gazların geçiş hızlarını belirleyen faktörler; membran kalınlığı, membran yüzeyi, membran içinden geçen gazın diffüzyon katsayısı ve membranın iki tarafı arasındaki basınç farkıdır (6).

Deniz seviyesinde atmosfer basıncı 760 mmHg' dir. Bunun yaklaşık %21' i O₂' den oluşur (5). Solunumla alınan havadaki su buharı basıncı 47 mmHg' dir. Böylece deniz seviyesinde alınan havadaki O₂ parsiyel basıncı (PAO₂ = %21 x (760 - 47)) yaklaşık 150 mmHg' dir (7). Alveol içerisinde CO₂ basıncı (PACO₂) da hesaba katıldığında (normokapnide yaklaşık 40 mmHg), PAO₂ yaklaşık olarak 100-105 mmHg' ya düşer (5). Alveol içerisindeki PAO₂' nin sabit kalması alveolokapiller membranda gaz değişiminin sürdürülmesi ile sağlanmaktadır. Alveolar PACO₂ düzeyi de, alveoler ventilasyon ile sabit tutulur. Oksijenize kan sistemik arterlerle periferik dokulara iletilir. Dokulardaki mitokondrilere sunulan PaO₂ (parsiyel arteriyel oksijen basıncı), dokunun aktivitesine bağlı olarak 1 mmHg' ye kadar düşmektedir (7). Çok düşük PaO₂ düzeyleri, normal reaksiyonların sürdürülmesi için yeterlidir. Hücre içi PaO₂' nin 1 mmHg' nin üzerinde olduğu durumlarda, kimyasal reaksiyonların sürdürülmesi için hız sınırlayıcı faktör Adenozin Difosfat (ADP) konsantrasyonudur. Normal koşullarda hücrelerin O₂ kullanım hızı, Adenozin Trifosfat'ın (ATP) ADP' ye yıkım hızı ile kontrol edilir. Hipoksik durumlarda ise O₂ sunumu hız sınırlayıcı faktör durumuna gelir (5).

Kanda çözülmüş olarak bulunan moleküler O₂, büyük oranda (%98) Hb' ye bağlı olarak bulunur (8). Sağlıklı bir insanın kanında Hb A₁ % 95 - 96, Hb A₂ %2.5 - 3.5 ve Hb F ise % 1' den daha az oranda bulunur. Bileşik bir protein molekülü olan Hemoglobin A₁, iki alfa (α) ve iki beta (β) zincirinden oluşmuştur. Hb, kanda eritrosit

hücrelerinde bulunmakta, görevi vücudun neresinde ihtiyaç duyulursa oraya O₂ taşımaktır.

Her bir kırmızı kan hücresinde 300 milyon Hb molekülü mevcuttur. Hb molekülü bir protein olan “globin” ile prostetik grup olan “hem” den oluşur. Molekülün globin kısmında 4 adet polipeptid zinciri bulunur. Bu polipeptidlerin her biri, bir hem grubuna bağlıdır. Tüm Hb’ lerde hem grubu aynı yapıdadır. Bu grup, ortasında ferröz demir (Fe⁺²) bulunan, yan zincirlere sahip, birbirine metil köprüleriyle bağlanmış 4 pirol halkasından oluşmaktadır. İnsandaki normal Hb’ ler Hb A₁, Hb A₂, Hb F, Hb Gower 1, Hb Gower 2 ve Hb Portland’ dır (9).

Tablo 1. Hb Türleri ve Kandaki Oranları

Hb Tipi	Moleküler Yapı	Yetişkin	Yenidoğan
Hb A ₁	$\alpha_2 \beta_2$	%97	%19
Hb A ₂	$\alpha_2 \delta_2$	%2	%0.5
Hb F	$\alpha_2 \gamma_2$	%1	%80
Gower 1	$\zeta_2 \epsilon_2$	0	0
Gower 2	$\alpha_2 \epsilon_2$	0	0
Portland	$\zeta_2 \gamma_2$	0	0

Hem molekülünde bulunan demir atomu (Fe) O₂’ ne tersiyer olarak bağlanır. Fe, Fe⁺² (ferröz) veya okside şekli olan Fe⁺³ (ferrik) halde bulunabilir. Hem molekülü sadece ferröz formda O₂ bağlama yeteneğine sahiptir. Klinik olarak rastlanan en önemli gen mutasyonları alfa veya beta zincir sentez miktarının azalması (talasemi) veya Hb’ in çözünürlüğünün azalmasıdır (HbC veya HbS). Nadiren gen mutasyonları Hb’ in O₂’ ne olan affinitesini değiştirebilir.

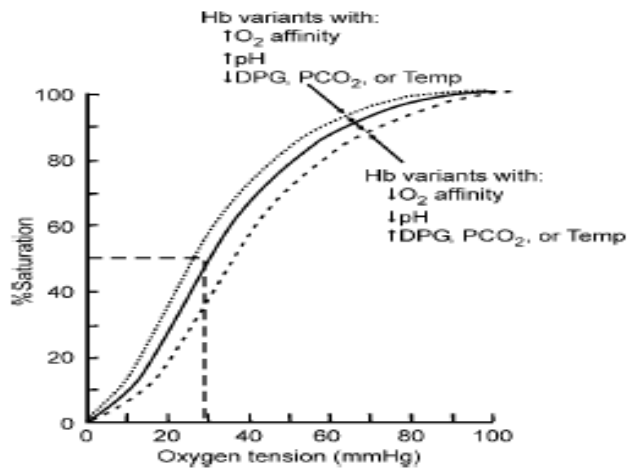
Hb, O₂ bağlayabilen (normal Hb) ve O₂ bağlama yeteneği olmayan (dishemoglobin) olmak üzere iki gruba ayrılır. Normal Hb, oksihemoglobin (O₂Hb) ve deoksihemoglobin (HHb) şeklinde bulunur. Dishemoglobin ise karboksihemoglobin (COHb), MetHb ve sulfhemoglobin (SHb) şeklinde ortaya çıkabilir.

COHb, ortamda karbonmonoksit (CO) varlığında Hb’ e bağlandığı zaman oluşur. SHb, porfirin halkasının pirol grubundan sülfür atomu kopması sonucu meydana gelen Hb’ in parçalanma ürünüdür. MetHb, Fe⁺³ (ferrik) şekline sahip Hb’ in deoksi formudur. Hb (Fe⁺²) O₂ bağlanması oksijen disosiyasyon eğrisi (ODE) ile görselleştirilmektedir.

ODE, O₂ basıncı ile O₂ doygunluğu arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Yüksek O₂ basıncında (sıklıkla AC' lerde) O₂Hb oluşturmak üzere oksijen Hb' e bağlanır. Düşük O₂ basıncına yanıt ise, eritrositlerle dokulara ulaşan O₂Hb' den O₂ salıverilmesidir. ODE' deki O₂' in Hb' e ilişkisi sigmoidal şekil gösterir.

O₂' in Hb' in ilk zincirine bağlanması, Hb' in diğer zincirlerinin O₂' e olan affinitesini artırır. Böylece normal O₂ basıncında AC' lerde Hb' in O₂ ile doygunluğuna katkıda bulunulmuş olur. Aynı sürecin tersten çalışması da söz konusudur. O₂' in Hb' in bir zincirinden ayrılmasıyla, diğer Hb zincirlerinden daha kolay O₂ ayrılabilir.

COHb ve MetHb' in kanda artan oranları tehlikeli sonuçlar ortaya çıkarabilir. Birincisi, COHb ve MetHb O₂ bağlanmasını, 'Hem Demirinin' O₂ bağlama kısmını bozarak; ikincisi, bir veya daha fazla Fe atomuna karbon monoksit bağlanarak veya okside edilip, kalan hem gruplarının O₂' e olan ilgisini artırır. Böylece dokulara O₂ sunumunu azaltırlar. Sonuç olarak ODE sola kaymış olur. ODE' ni etkileyen diğer koşullar sıcaklık, pH, pCO₂, 2, 3 difosfogliserat (2, 3 DPG) konsantrasyonudur. Bu koşullar Hb' in O₂' e olan ilgisini değiştirmektedir. PaO₂' nin %50 O₂ saturasyonu P50 olarak tanımlanmaktadır. P50 değeri ile Hb' in O₂' e olan affinitesi arasında ters orantı söz konusudur. ODE' ni sağa kaydıran nedenler (pH azalması, DPG konsantrasyonunun artması, sıcaklığın artması, PaCO₂' nin artması) P50 değerini arttırarak Hb' in O₂' e olan affinitesinin azaldığı anlamına gelir (8).



Şekil 1. Oksijen Disosiyasyon Eğrisi (ODE)

Kelley's Textbook of Internal Medicine, 4th ed. (2000, Fig. 241.2). © Lippincott Williams & Wilkins: 29-32 (10)

2.2. OKSİJENİZASYONUN SAPTANMASI

Dishemoglobin bulunmayan sağlıklı bireyler 3 farklı yöntemle yapılan ölçümlerle birbirine yakın sonuçlar elde edilmektedir. COHb ve MetHb düzeylerinin arttığı olgularda SpO₂ ve fraksiyonel oksihemoglobin (FO₂Hb) düzeyleri önem kazanmaktadır.

$$\text{Toplam Hemoglobin Konsantrasyonu (tHb)} = c\text{O}_2\text{Hb} + c\text{HHb} + c\text{MetHb} + c\text{COHb} + c\text{SHb}$$

$$\text{FO}_2\text{Hb} = c\text{O}_2\text{Hb}/c\text{tHb} \times \%100$$

$$\text{Hemoglobin Oksijen Konsantrasyonu (SpO}_2) = c\text{O}_2\text{Hb}/c\text{O}_2\text{Hb} + c\text{HHb}$$

FO₂Hb yalnızca çoklu dalga boylu spektrofotometre yöntemi ile çalışan ko-oksometre ile ölçülebilir. FO₂Hb, oksihemoglobinin toplam Hb' e (oksijenize olmayan Hb' de dahil) oranını temsil eder. Sağlıklı bireylerde SpO₂ ve FO₂Hb yaklaşık olarak eşit değerlerde ölçülür.

Methemoglobinemi ve CO zehirlenmesinde nabız oksimetrede ölçülen SpO₂ değeri, kanda SaO₂ düşmesine rağmen normal düzeylerde saptanabilir. Bu durumda kanda düşmüş olan oksijenlenme kapasitesi saptanamadığından ölümcül sonuçlara varan durumlara neden olabilir (8).

2.2.1. Spektrofotometrik Analiz

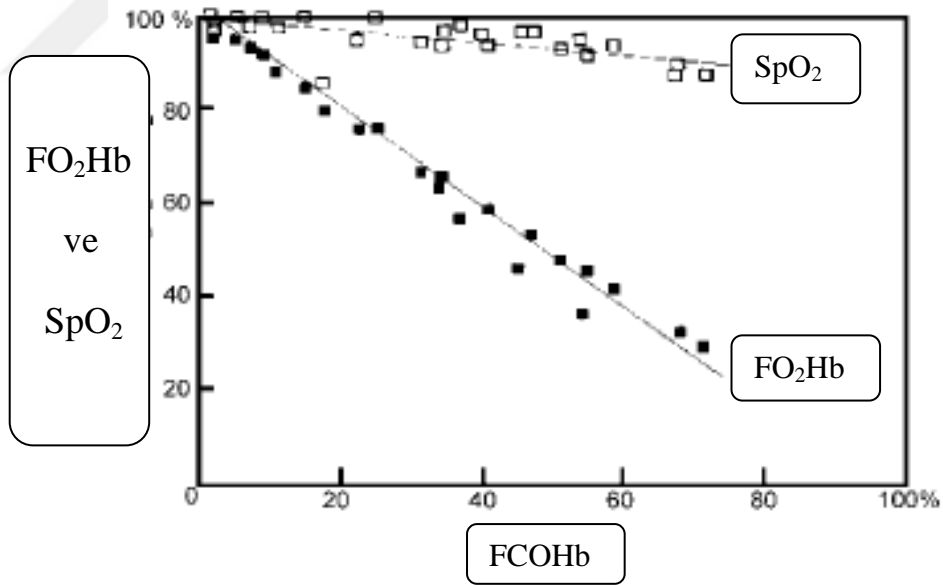
Spektrofotometrik metodun çalışma prensibi, çözünmüş Hb konsantrasyonunun değişik dalga boylarında absorbansının saptanmasıdır. Bu absorbans farkı ile karışık kanda Hb konsantrasyonunun ölçümü sağlanır. Absorbans, belirli bir dalga boyunda bir taraftan ışık yayılarak diğer tarafta yoğunluğun belirlenmesi ile saptanır. Nabız oksimetre sadece iki dalga boyunda O₂Hb ve HHb'yi saptayan basit bir yöntemdir. Daha kompleks bir yapıya sahip olan ko-oksimetre 128 dalga boyunda çalışan, FHb, FO₂Hb, FHb, FMetHb ve FSHb'nin ölçümünü sağlar.

2.2.2. Nabız Oksimetre

Nabız oksimetre kutanöz vasküler yatakta (parmak, kulak gibi) iki farklı dalga boyunda (660 nanometre (nm) ve 940 nm) ışıkla pulsatil arteriyel kanda absorbans ölçümü yaparak çalışır. O₂Hb ve HHb'nin 660 ve 940 nm' de ışığın absorbans oranı saptanarak SpO₂ değeri belirlenir. Kırmızı kızılötesi (660 nm) ve yakın değerde 940 nm' de oksijen doygunluğu kalibrasyon eğrisi saptanarak belirlenir. Nabız oksimetrede kalibrasyon sağlıklı bireylerde hipoksemi değerlerinin başlangıç seviyelerine göre

yapılır. Örneğin; A660/940 absorbans oranı 0.43 olan birinin SpO₂ %100, 3.4 absorbans oranı olan birinin SpO₂ değeri %0 olarak saptanır. Dishemoglobin yokluğunda 1.0 absorbans oranı ise %85 SaO₂' a karşılık gelir. Nabız oksimetrede ölçülen SpO₂ değeri, COHb ve MetHb varlığında yanıltıcı sonuç verebilir. Dispneik, bilinci kapalı, aynı zamanda başka problemleri olan bir hastada nabız oksimetrenin yanında dishemoglobin yokluğunu ekarte etmek için ko-oksime tre de kullanılmalıdır.

Barker ve Tremper' in yaptığı bir çalışmada, köpeklere CO ventile ettirilerek COHb düzeyinin artışı sağlanmış, nabız oksimetre kullanarak SpO₂, ko-oksime tre kullanarak FO₂Hb değerleri saptanmıştır (Şekil 2). Artan COHb değerlerine karşın SpO₂ %90 oranında kalarak, klinik açıdan yetersiz durum oluşturur. COHb' in %70 olan ölümcül oranında nabız oksimetrede SpO₂ %90 oranında gözlemlenirken, ko-oksime trede FO₂Hb ise %30' lara gerilemiştir. Nabız oksimetrede ölçülen SpO₂ oranı ile ko-oksime tre tarafından ölçülen FO₂Hb oranı arasındaki fark 'nabız oksimetre farkı' olarak adlandırılır. Sağlıklı bireylerde %3 - %5 oranında olan nabız oksimetre farkı CO zehirlenmelerinde artar.

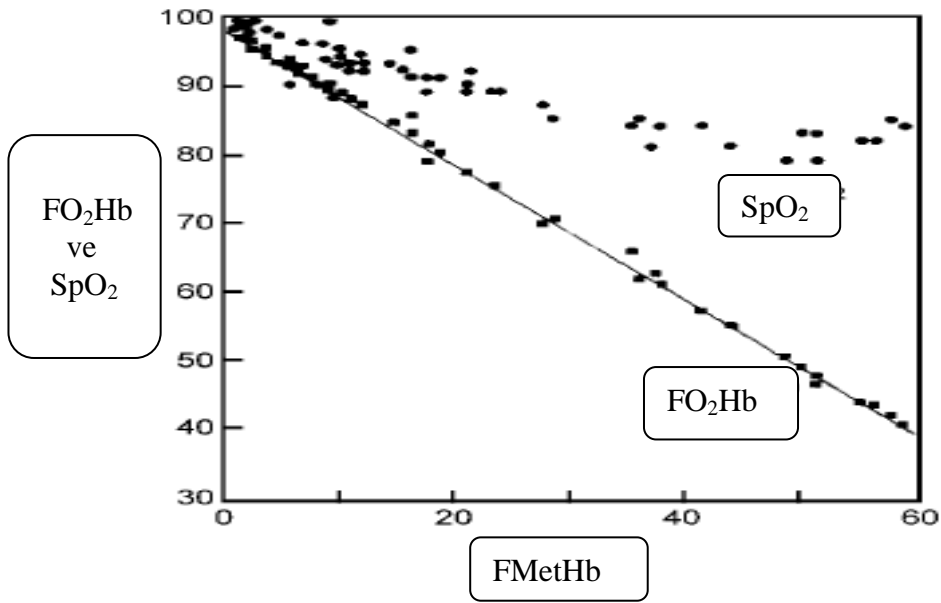


Şekil 2. FIO₂: 1.0 Oksijen inspirasyonunda SpO₂ ve FO₂Hb/FCOHb ilişkisi

Barker SJ and Tremper KK. The effect of carbon monoxide inhalation on pulse oximetry and transcutaneous PaO₂. Anesthesiology 1987; 66: 677-9 (uyarlanarak) (11)

Başka bir çalışmada ise köpeklere intratekal benzokain verilerek artan MetHb düzeyi ile nabız oksimetre değerleri araştırılmıştır. MetHb düzeyindeki artışla nabız oksimetrede ölçülen SpO₂ ile ko-oksime trik ölçümü yapılan FO₂Hb arasında belirgin bir

fark saptanmıştır (Şekil 3). MetHb düzeyinde artışla birlikte grafikte de görüldüğü gibi ko-oksime trede FO₂Hb oranında doğrusal olarak azalış meydana gelmektedir. MetHb düzeyinin %35' in üzerindeki konsantrasyonunda ise nabız oksime trede SpO₂ %84-%86 oranında plato oluşturur. Bu noktada nabız oksime tre değeri ile MetHb düzeyi arasında olan ilişki kaybolmuştur. 660 nm' de MetHb absorban s HHb ile benzer olsa da, 940 nm' de MetHb absorban s HHb ve O₂Hb'e oranla daha büyüktür. Sonuçta nabız oksime trede algılanan MetHb absorban s, HHb ve O₂Hb'e katkı sağlayarak, 660nm/940nm absorban s oranında hem pay, hem de payda da artış sağlayarak bu oranın 1.0 olmasına yol açar. Birçok nabız oksime trede absorban s oranının 1.0 olması %85 SpO₂ oranına karşılık gelmektedir. Barker ve arkadaşları hayvan modellerinde artan COHb ve MetHb varlığında nabız oksime trede saptanan SpO₂ değerinin gerçeği yansıtmadığını göstermişlerdir. Buna benzer çalışmalar insanlarda da gösterilmiştir.



Şekil 3. FiO₂: 1.0 Oksijen inspirasyonunda SpO₂ ve FO₂Hb/FMetHb ilişkisi
Barker SJ et al. Effects of methemoglobinemia on pulse oximetry and mixed venous oximetry. Anesthesiology 1989; 70: 112-7 (uyarlanarak) (12)

2.2.3. Ko-oksime tre

Ko-oksime trelerin ilk kullanıldığı yıllarda 4 veya daha fazla dalga boyunda çalışan cihazlar kullanılmaktaydı. 1980' lerin ortalarında 6 dalga boyunda çalışan, farklı Hb türlerini (HHb, O₂Hb, COHb, MetHb) saptayabilen cihazlar kullanıma girdi. Güncel cihazlarda ise 128 dalga boyunda ölçüm yapılabilmekte, bu cihazlar '**devamlı dalga spektrofotometresi**' olarak adlandırılmaktadır. Yüksek COHb ve MetHb

düzeylerinde FO₂Hb ve SpO₂ oranının eşdeğer olduğu varsayılmaz. Bu nedenle dishemoglobin varlığı dışlanarak FO₂Hb oranı belirlenir. Toplam oksijenize Hb miktarı PaO₂ ve toplam Hb miktarı ile ilişkilidir, SpO₂ ve FO₂Hb bu değeri yansıtmaz (8).

2.3. Methemoglobinemi

MetHb, ferröz (Fe⁺²) hemoglobin demirinin oksidasyon ile ferrik (Fe⁺³) hale geçmesi sonucu oluşan fonksiyonel olmayan Hb şeklidir. Kanda artan MetHb düzeyleri '**methemoglobinemi**' oluşumuna yol açar. Methemoglobinemi kırmızı kan hücrelerinin metabolizması veya yapısında meydana gelen genetik defektlere bağlı gözlemlendiği gibi, sağlıklı bireylerde oksidan ilaç ve toksinlerle temas sonucu oluşabilir.

2.3.1. Herediter Methemoglobinemi

Konjenital formlardan biri HbM hastalığıdır. HbM hastalığı otozomal dominant geçişli bir hemoglobinopatidir. Eritrositin globulin zincirinde yapısal bir anomali sonucu hemoglobin okside durumdadır. Konjenital methemoglobinemilerin sık görülen ikinci nedeni ise eritrositte enzimatik redüksiyon kapasitesinin azaldığı konjenital redükleyici enzim eksikliklerine bağlıdır. Bunlardan sık görüleni otozomal resesif kalıtım gösteren, nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) sitokrom b5 redüktaz (diaforaz 1) enzim eksikliğidir (%95). NADH sitokrom b5 redüktaz enzimi, indirgenme mekanizmasının ana yolağıdır. NADH sitokrom b5 redüktaz enzim eksikliği ile seyreden herediter methemoglobinemi iki tiptir; eritrositer (Tip1) ve genel (Tip 2). Tip 1 herediter methemoglobinemi eritrositlerde çözülmüş halde bulunan NADH sitokrom b5 redüktaz yokluğuyla seyreder, tek semptomu siyanozdur (13). Tip 2 formunda sadece eritrositler değil bütün dokular etkilenerek gelişimsel anomalilere, mental retardasyona, nörolojik defisitlere, sıklıkla prematüre ölümlere neden olmaktadır (14). Konjenital methemoglobinemilerden biri de sitokrom b5 eksikliğidir (%5) (13).

2.3.2. Akkiz Methemoglobinemi

Sepsis, orak hücre anemi krizi, çocuklarda gözlenen gastrointestinal enfeksiyonlar gibi ikincil patolojik durumlarda ve çeşitli oksidan ilaçlara maruz kalınması methemoglobinemi oluşumuna yol açabilir. Akkiz methemoglobineminin kesin prevalansı bilinmemesine karşın, herediter methemoglobinemiden daha sık olduğu gözlenmektedir. Çeşitli oksidan ajanlar kanın redüksiyon kapasitesini azaltarak, okside Hb oranını 100 ile 1000 kat arttırarak methemoglobinemi oluşumuna yol açar.

İlaçlardan sık kullanılan lokal anestezipler (lidokain, benzokain, prilokain), dapson, fenasetin ve malarya tedavisinde kullanılan ilaçlar methemoglobinemiye neden olabilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) endoskopide topikal anestezi olan benzokain kullanımı nedeniyle methemoglobinemi vakaları gözlenmiş olup, FDA tarafından bu ilaç yasaklanmıştır. Toksik methemoglobinemi vakalarının büyük çoğunluğu gıda boyası ve gıda koruyucu ürünlerinde kullanılan güçlü oksidan özellik gösteren nitrit, nitrat içeren ürünlerdir. Ayrıca ABD'nin az gelişmiş bölgeleri ile Hindistan'ın kırsal kesimlerinde, düzensiz su kaynakları kullanımı sonucu yöre insanında methemoglobinemi sık görülmektedir (3).

Tablo 2. Methemoglobinemi'ye yol açabilen ajanlar (8)

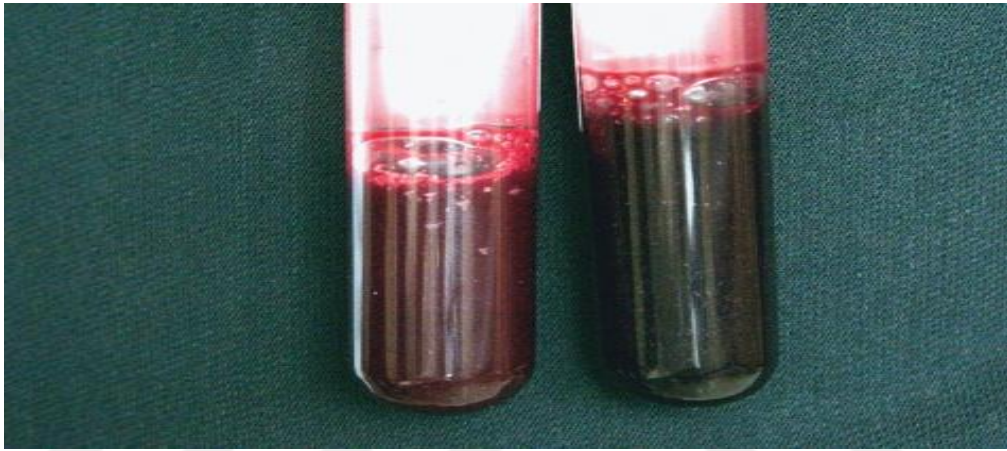
Methemoglobinemi Etiyolojisi		
Hereditör	-HbM -NADH-MetHb Redüktaz eksikliği	
Akkiz	-İlaçlar	
	*Amil nitrat *Benzokain *Dapson *Lidokain *Prilokain *Nitrogliserin *Nitroprusit *Fenasetin	*Fenazopiridin *Primakin *Kinakrin *Sülfonamidler Sülfasalazin Sülfopiridin Sülfometaksazol
	-Kimyasallar	
	*Anilin Türevi Boyalar *Bütil Nitrat *Klorobenzen *Nitrat İçeren Yiyecekler *Naftalin	*Nitrofenol *Nitröz Gazlar *Gümüş Nitrat *Nitrat İçeren Kuyu Suyu
	-Pediatrik	
	*Azalmış NADH-MetHb Redüktaz Aktivitesi(<4 ay) (Düşük doğum ağırlığı, prematürel, dehidratasyon, asidoz, diyare ile ilişkili)	

2.4. METHEMOGLOBİNEMİ'DE KLİNİK GÖRÜNÜM

Methemoglobinemi akut veya kronik olarak gözlenebilir. %0 - %2 aralığındaki MetHb değerleri fizyolojik sınırlardadır. %10 - %20 aralığındaki değerler tolere edilebilirken, %20'nin üzerindeki değerlerde genellikle semptomlar gözlenir. %70'in üzerinde saptanan MetHb değeri ölüme neden olabilir. Çoğu methemoglobinemi hastası

hayatı boyunca asemptomatik seyrederken, oksidan ilaç ve toksinlerle karşılaştığında şiddetli semptomlar gözlenebilir (14).

Methemoglobin düzeyi $<2\%$ ise normal, $3\% - 15\%$ arasındaki değerlerde sıklıkla normal, bazen gri cilt rengi, $15\% - 30\%$ MetHb değerlerinde siyanoz, çikolata kahverengi kan rengi, $30\% - 50\%$ MetHb değerlerinde dispne, baş ağrısı, yorgunluk, güçsüzlük, baş dönmesi, senkop, $50\% - 70\%$ MetHb değerlerinde takipne, metabolik asidoz, kardiak aritmiler, inme, santral sinir sistemi depresyonu, koma, $> 70\%$ MetHb değerinde ise ölüm gözlenmektedir (3).



Resim 1. Sağ tarafta methemoglobinemi gelişmiş bir hastanın koyu renkli venöz kanı, sol tarafta ise normale dönmüş hali gözlenmektedir

Hamirani SY, Franklin W, Grifka GR, Stainback FR. Methemoglobinemia in a young man. Tex Heart Inst J 2008; 35: 76-7 (15)



Resim 2. Sağ tarafta methemoglobinemi gelişmiş bir hastanın deri rengi ve tırnak yatağında gözlenen siyanoz, sol tarafta ise normale dönmüş hali gözlenmektedir

Hamirani SY, Franklin W, Grifka GR, Stainback FR. Methemoglobinemia in a young man. Tex Heart Inst J 2008; 35(1): 76-7 (16)

2.5. METHEMOGLOBİNEMİ TANISI

Nonspesifik semptomlar nedeniyle methemoglobinemi tanısını konulması güçleşir. Yüksek oranda MetHb içeren kan çikolata kahverengi renk ihtiva etmesine karşın, deoksijenize kan koyu kırmızı renktedir. Yatak başında uygulanabilen yöntemde ise, hastadan bir damla kan numunesi alınarak beyaz filtre kağıda damlatılır. Havayla temas etmesi sonucu kanda çikolata kahverengi renk gözlenirse kanda MetHb varlığı gösterilmiş olur (17).

Spektrofotometrik yöntemde, daha önce bahsedildiği gibi çözülmüş Hb konsantrasyonunun değişik dalga boylarında absorbansı saptanarak, bu absorbans farkı ile karışık kanda MetHb konsantrasyonunun ölçümü sağlanır. Methemoglobinemi tanısında nabız oksimetre ile gerçek O₂ doygunluğunu saptamak olanaksızdır. MetHb>%30 olduğunda nabız oksimetrede O₂ doygunluğu (SpO₂) %85 civarında olacaktır. Ko-oksimetre yardımıyla da direkt olarak MetHb varlığı saptanabilir. Ancak bu yöntemin pahalı ve yaygın olmamasından ötürü kullanımı kısıtlıdır. Evelyn-Malloy testi methemoglobinemi tanısında kullanılan doğrulayıcı bir testtir. Diğer yöntemler, elektroforez ve sitokrom b5 redüktaz aktivitesi ölçümüdür (17).

2.6. METHEMOGLOBİNEMİ TEDAVİSİ

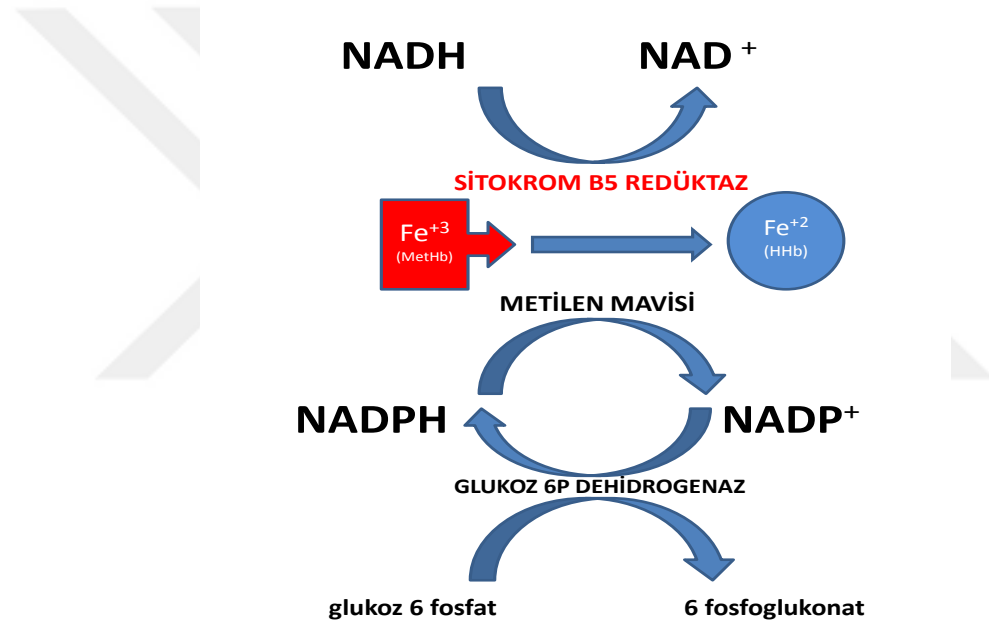
Methemoglobinemi tedavisi esas olarak hastalığın şiddetine göre yapılmalı, kan MetHb düzeyi tedavi açısından ikinci planda değerlendirilmelidir. Genel olarak methemoglobinemi vakalarında hafif belirtiler gözlenir. Bu gibi hastalarda indükleyici ajanı ortadan kaldırmak, %100 O₂ uygulamak, ko-oksimetrik değerlendirme ve takip gerekmektedir. İndükleyici ajan kesildikten yaklaşık 36 saat sonra kan FMetHb düzeyi normal seviyelerine döner.

Destekleyici O₂ tedavisi plazmada çözülmüş O₂ düzeyini arttırarak, DO₂' ye katkıda bulunur. Bir hayvan çalışmasında, domuzlarda ölümcül methemoglobinemi oluşturulup hiperoksik pulmoner ventilasyonla (1.0 O₂ fraksiyonunda) yaşam süresinin uzadığı gösterilmiştir.

Baş dönmesi, baş ağrısı, anksiyete, dispne, düşük kalp debisi, somnolans, inme gibi önemli klinik durumlarda metilen mavisi tedavide kullanılmaktadır. Bazı yazarlar semptomların var olup, olmamasına bakılmaksızın kan MetHb>%30 olması durumunda metilen mavisi kullanılması gerektiğini savunmuşlardır. Bu görüş özellikle genel

anestezi uygulanmış veya derin sedasyon altında veya kafa travması geçirip şuur kaybı yaşayan hastalarda önerilmektedir. Methemoglobinemide gözlenen doku hipoksisi bulguları (metabolik asidoz, hiperlaktatemi, ST segment değişiklikleri, taşikardi, kardiyovasküler şok) geri dönüşsüz kalıcı sekel gelişimine neden olmaktadır.

Metilen mavisi, NADPH methemoglobin redüktaz (**NADPH - MR**) enzimi ile MetHb düzeylerini düşürmektedir. Metilen mavisi, NADPH - MR enzimiyle metaboliti olan leukometilen mavisine dönüşerek, enzimatik reaksiyon sonucu MetHb' nin HHb' ye dönüşümünü sağlar (**Şekil 4**). Gerçekte metilen mavisi oksidan ajan, onun metaboliti olan leukometilen mavisi indirgeyici ajandır.



Şekil 4. MetHb' nin HHb' ye dönüşümü

Methemoglobinemide metilen mavisi tedavisi 1 - 2 mg/kg intravenöz (iv) yoldan %1' lik çözelti formunda 5 dakika (dk) uygulanması şeklinde yapılmaktadır. Ayrıca bazı vakalarda intraosseöz ve oral uygulama yapılmaktadır. Subkutan uygulamada ise uygulama bölgesinde abse oluşumu gözlenmiştir. İlk doz uygulandıktan 30 - 60 dk sonra belirgin düşüş gözlenmektedir. Gerekirse her saat ek doz verilebilir. Metilen mavisinin günlük maksimum dozu 7 mg/kg' dır. Tavsiye edilen dozun üzerindeki uygulamalarda iv olarak verilen metilen mavisi hastada, göğüs ağrısı, nefes darlığı, hipertansiyon, terleme ve MetHb düzeylerinde paradoksal bir artış gözlenebilir. 15

mg/kg üzerindeki dozlarda kırmızı kan hücrelerinde hemoliz ve Heinz Body oluşumu gözlenir. Metilen mavisi ve metaboliti olan leukometilen mavisinin de eliminasyonu böbreklerden olduğundan böbrek yetmezliği olan hastalarda dikkatli olunmalıdır. Tedavi esnasında idrarda, ciltte, müköz membranlarda mavi renk değişikliği oluşur. Bu durum siyanoze olmuş hastanın takibinde sıkıntı yaratmaktadır. Ayrıca gastrointestinal semptomlar, nadiren anaflaktik reaksiyon da gelişebilmektedir.

Konjenital methemoglobinemide (sitokrom b5 redüktaz eksikliği) metilen mavisi tedavisine ilişkin olumlu sonuçlar bulunmaktadır. HbM hastalarında ise metilen mavisi ile tedaviye yeterli yanıt gözlenmez. Çünkü kırmızı kan hücrelerindeki enzimatik redüksiyon aktivitesi normaldir. Demir oksidasyonu globin tarafından stabilize edilir. Methemoglobinemide metilen mavisi tedavisine yanıtız diğer durumlar ise; NADPH MetHb redüktaz eksikliği, glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) eksikliğidir. Ayrıca SHb' nin ko-oksime trede hatalı olarak MetHb olarak gözlendiği durumda da metilen mavisi etkisizdir. G6PD eksikliğinde kırmızı kan hücrelerinde NADPH yeterli miktarda yapılamamakta, böylece metilen mavisi leukometilen mavisine dönüşümü azalmaktadır. Bu tip hastalarda N-asetilsistein (elektron vericisi olarak) kullanılır.

Diğer tedaviler askorbik asit, kan değişimi ve hiperbarik oksijen tedavisidir. NADH - MR eksikliğinde 300 ile 1000mg arasında askorbik asit iv yoldan kullanılır. Kazanılmış methemoglobinemide ise askorbik asit tedavisine yanıt yoktur. Çünkü endojen enzim sistemi MetHb' ni azaltmak için yetersiz kalır. Hiperbarik O₂ tedavisi şiddetli anemi varlığında, plazmada çözünmüş O₂ düzeyini arttırarak metabolizmanın korunmasını sağlar. Hiperbarik O₂ tedavisi ile geçici olarak DO₂' yi korumak mümkündür (kan değişimi ile O₂ taşıma kapasitesi normale dönünc eye kadar). Bu yüzden kan değişimi ve hiperbarik O₂ tedavisi metilen mavisine yanıtız durumlarda uygulanmaktadır. Ayrıca bu hastaların yoğun bakım servislerinde solunum ve dolaşım desteği açısından yakın takibi gerekmektedir (3).

3. GEREÇ - YÖNTEM

Çalışmamıza Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu **27.12.2012** tarihli toplantısında **2012/423** no' lu karar ile etik kurul onayı alınmıştır. Etik kurul onayında belirtilen koşullar, Bezmialem Vakıf Üniversitesi bünyesindeki Araştırma Merkezinde uygulanmıştır. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından '32967' nolu tez projesi ile **21/06/2013** tarihinde desteklenmiştir. Kanda MetHb ölçümleri Bezmialem Vakıf Üniversitesindeki Biyokimya Laboratuvarında yapılmıştır.

3.1. KULLANILAN DENEKLER

Prilokain toksik dozunu belirlemek için yapılan ön çalışmalarda toplam 16 adet Sprague - Dawley cinsi 244 - 404 gr aralığında erkek sıçan kullanıldı.

Çalışma protokolü 12 adet Sprague-Dawley cinsi 318 - 419 gr aralığında erkek sıçan üzerinde uygulandı. Sıçanlar Bezmialem Vakıf Üniversitesi bünyesindeki Araştırma Merkezi' nden temin edildi.

3.2. DENEKLERİN BAKIM VE BARINMA KOŞULLARI

Deney öncesinde her kafeste 2 hayvan olacak şekilde 21 - 22 °C oda sıcaklığında, 12 saat gündüz/12 saat gece fotoperiyodunda, %18 - 20 protein içeren pellet sıçan yemi ve içme suyu ile beslenen sıçanlarda deneyler uygulandı.

3.3. YÖNTEM

Ön çalışma:

Prilokain toksik doz belirleme çalışması için oda havasında erişkin erkek Sprague-Dawley türü 16 sıçan kullanıldı. Anestezi, Ksilazin (**Rompun**[®]) 10 mg / kg dozunda 0,3 - 0,4 ml, Ketamin (**Ketalar**[®]) 75mg/kg dozda intraperitoneal yolla verilerek sağlandı. Monitorizasyon amacıyla deneklerin, ayağına satürasyon probu yerleştirilerek, oksijen satürasyonu (SpO₂), kalp atım hızı (KAH) (**Nihon Kohden**[®], **Japonya**) izlendi. Kan gazları ve MetHb düzeyi tesbiti için 2.5 ml' lik heparinli enjektörle intrakardiyak yolla yaklaşık 1000 mikrolitre (µlitre) kan örneği alınarak **RapidLab**[®] (**Siemens, Almanya**) ko-oksimetreli kan gazı cihazında incelendi. Başlangıç PaO₂, PaCO₂, SaO₂, KAH, MetHb değerleri kayıt edildi.

Saf toz prilokain (**prilocaine hydrochloride-P9547 sigma[®]**) hassas tartıda tartılarak 600mg/kg dozdan (**n=6**), diğer gruba ise 300mg/kg dozdan (**n=6**) ve diğer bir gruba 200mg/kg (**n=4**) 1 ml serum fizyolojik (SF) ile sulandırılarak intraperitoneal uygulandı. Deneklerden 30 dk aralıklarla 1000 µlitre intrakardiyak kan alındı. Sıvı açığını karşılamak için 1 ml SF 60. dk' da intraperitoneal yolla verildi. Ancak deneklerden çoğu 60 dk içerisinde kaybedildi. Deneklerin ölümü prilokain' in toksik etkisine, sık intrakardiyak yolla kan alınmasındaki yöntemin invazifliğine ve alınan kan miktarının fazlalığına bağlı olduğu düşünöldü. 200mg/kg prilokain doz grubunda alınan kan volümünü azaltmak amacıyla heparinli insölin enjektörüyle intrakardiyak yolla yaklaşık 300 µlitre kan örneği alındı. 100 µlitre kan, **Epoc[®]** ko-oksümetreli kan gazı cihazında (**Epocal Inc, Kanada**) çalışılarak PaO₂ ve PaCO₂, 200 µlitre ise heparinli tüpte saklanarak biyokimya laboratuvarında spektrofotometrik analiz ile MetHb düzeyi saptandı. Doz azaltıldığından çalışmada saflaştırılmış toz prilokain yerine klinikte kullanılan **Priloc[®]** 100 mg/kg dozdan kullanılması planlandı. Ayrıca 30 dk' da bir intrakardiyak yolla alınan MetHb ölçümü için gereken kan örneğinin, kuyruk veninden alınmasına karar verildi.

Uygulanan çalışma protokolü:

Ön çalışmalar ışığında tekrar düzenlenen çalışma protokolünde deneklere; aynı koşullarda anestezi ve monitorizasyon sağlandı ve değerler kaydedildi. Çalışma sırasında denekler uyandığında Ketamin (**Ketalar[®]**), 45mg/kg dozda intraperitoneal yolla ilave edilerek anestezi sürdüröldü. Oda havasında tüm deneklerden prilokain verilmeden heparinli insölin enjektörüyle intrakardiyak yolla yaklaşık 300 µlitre kan örneği alındı. 100 µlitre kan, yatak başı **Epoc[®]** kan gazı cihazında anında çalışılarak PaO₂ ve PaCO₂, 200 µlitre ise heparinli tüpe konularak biyokimya laboratuvarında spektrofotometrik analiz ile MetHb düzeyi tespit edildi. Oda havası grubunda (n=6) çalışma aynı ortamda sürdüröldü. Oksijen grubundaki denekler (n=6) 10 dk öncesinde 10 lt/dk akım ile oksijenize edilen indüksiyon kutusu (**VetEquip, Inc. Pleasanton, CA, USA**) içerisine konuldu ve çalışma bu kutu içine 10lt/dak anestezi cihazı (**VetEquip, Inc. Pleasanton, CA, USA**) akım flowmetre ayarı sabit tutularak sürdüröldü. Tüm deneklerden 30 dk aralıkla 180 dk' ya kadar 200 µlitre kan örneği kuyruk veninden alındı ve spektrofotometrik yöntemle MetHb değerleri ölçöldü. Aynı zamanda monitorize edilen KAH ve SpO₂ ölçümleri 15 dk' da bir kayıt edildi. Prilokain

verilmeden önce ve 180. dk' da intrakardiyak yolla alınan kan örneklerinde kan gazları bakıldı. 180 dk sonunda yaşamaya devam eden denekler dekapitasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Ön çalışma ve çalışma grubundaki tüm deneklerin karaciğer, akciğer, böbrek ve beyinleri alınarak tek organların yarısı, çift organların birer tanesi daha ileride yapılacak olan çalışmalar için formol içine diğer yarısı veya parçaları histokimyasal inceleme için kuru tüpte - 20 °C' de korundu. Örnekler Cerrahpaşa Tıp Fakültesi patoloji ve biyokimya laboratuvarlarında saklandı.

3.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

İstatistik değerlendirmede IBM SPSS 19 istatistik programı kullanıldı ve tanımlayıcı veriler ortalama standart sapma ve medyan olarak sunuldu. İki grubun karşılaştırmada Mann Whitney U Testi kullanıldı. Grup içinde tekrarlayan ölçümlerin farkı ise Friedman Testi ile değerlendirildi. Tüm testlerde anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Prilokain' in toksik dozunu belirlemek için ön çalışmamız 16 denekle yapılmıştır. Oda havasında yapılan ön çalışmamızda oda sıcaklığı, oda nemi, deneklerin ağırlıklarına göre hesaplanan prilokain miktarları ve ağırlık çizelgesi **Tablo 3'** de sunulmuştur.

Tablo 3. Ön Çalışma; Deneklerin Ağırlıkları, Verilen Prilokain Miktarları, Oda Sıcaklığı ve Oda Nemi

Denek No (Oda Havası)	Ağırlık (gr)	Prilokain Dozu (mg)	Oda Nemi (%)	Oda Sıcaklık (°C)
600mg/kg-1	312	187	57	20.9
600mg/kg-2	261	156	57	20.9
600mg/kg-3	285	171	57	20.9
600mg/kg-4	244	146	57	20.9
600mg/kg-5	290	174	57	20.9
600mg/kg-6	314	188	57	20.9
300mg/kg-1	270	162	60	19.8
300mg/kg-2	222	133	60	19.8
300mg/kg-3	266	159	60	19.8
300mg/kg-4	296	177	60	19.8
300mg/kg-5	295	177	60	19.8
300mg/kg-6	265	159	60	19.8
200mg/kg-1	370	74	59	20.4
200mg/kg-2	400	80	59	20.4
200mg/kg-3	404	81	59	20.4
200mg/kg-4	362	73	59	20.4

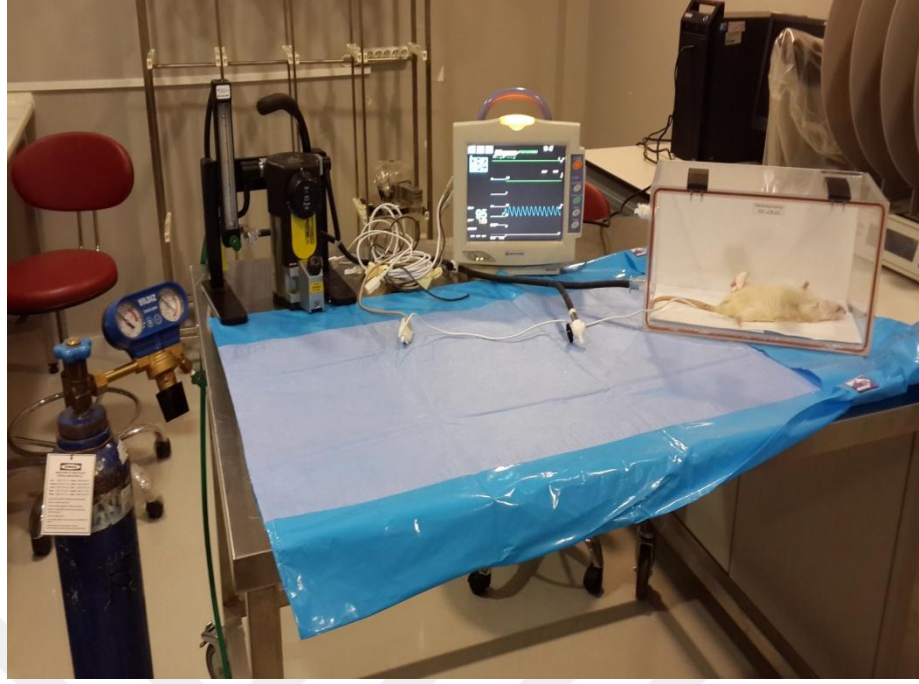
Çalışmada Grup Oda' da ağırlıkları 318 - 415 gr arasında erişkin erkek Sprague-Dawley türü 6 sıçan ve Grup O₂' de ağırlıkları 351 - 419 gr arasında 6 sıçan kullanıldı. Tüm deneklere 100 mg/kg prilokain verildi.

Tablo 4. Denek Hayvanlarının Ağırlıkları, Prilokain Miktarları, Oda Sıcaklığı ve Oda Nemi

	Grup Oda (%21 O₂) Ort*±StdS* Medyan	Grup O₂ (%100 O₂) Ort±StdS Medyan	Gruplar Arası Karşılaştırma P
Ağırlık (mg)	372±33,9 377	375,5±24,5 374,5	0,87
Prilokain Dozu (mg)	37,2±3,3 37,7	37,5±2,4 37,4	0,87
Oda Sıcaklık (°C)	19,6±0,4 19,4	19,8±0,0 19,8	0,10
Oda Nemi (%)	0,5±0,01 0,58	0,63±0,0 0,63	0,002

*Ort: Ortalama, *StdS: Standart Sapma, Gruplar Arası Karşılaştırma Anlamlı Farkları Yoktur (p>0, 05)

Denek ağırlığı, verilen prilokain dozu ve oda sıcaklığı açısından Grup Oda ve Grup O₂ karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (p>0, 05). Oda nemi açısından iki grup karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur (p<0, 05).



Şekil 5. Deney Ortamı: O₂ Tüpü, Anestezi Cihazı, Monitör, İndüksiyon Kutusu İçerisinde Grup O₂' de Bir Denekten Görünüm



Resim 3. Monitörize Edilmiş, Grup Oda'da Bir Denek Görünümü

Grup Oda ve Grup O₂' de deneklerin deney başlangıcında (prilokain verilmeden önce) ve sonunda (180. dk) kan gazı cihazında ölçülen hematokrit (Hct) değerleri **Tablo 5'** de sunulmuştur.

Tablo 5. Grup Oda ve Grup O₂' deki Deneklerde Prilokain Öncesi-180. Dk' larda Ölçülen Hct (%), Ort/StdS Değerleri

Denek No	P.Ö. Hct%	180. dk Hct%
Oda 1	42	32
Oda 2	34	26
Oda 3	46	39
Oda 4	37	31
Oda 5	38	31
Oda 6	33	31
Ort±StdS	38,3 ± 4,9	31,6 ± 4,1
Denek No	P.Ö. Hct%	180. dk Hct%
O ₂ 1	42	38
O ₂ 2	40	39
O ₂ 3	39	29
O ₂ 4	43	35
O ₂ 5	43	29
O ₂ 6	42	37
Ort ± StdS	41,5 ± 1,6	34,5 ± 4,4

* P. Ö. : Prilokain Öncesi

4.1. OKSİJEN SATÜRASYONU (SpO₂)

Grup Oda ve Grup O₂' de 12 denek monitörize edilerek prilokain verilmeden önce-180 dk arasında her 15 dk'da bir ölçülen SpO₂ (%) değerleri **Tablo 6'** da sunulmuştur.

Tablo 6. Grup Oda ve Grup O₂' de Prilokain Öncesi-180. Dk Zaman Aralığında 15 Dk' da Bir Ölçülen SpO₂ Değerleri

Denek No	SpO₂ (%) P. Ö.	SpO₂ (%) 15. dk	SpO₂ (%) 30. dk	SpO₂ (%) 45. dk	SpO₂ (%) 60. dk	SpO₂ (%) 75. dk	SpO₂ (%) 90. Dk	SpO₂ (%) 105. dk	SpO₂ (%) 120. dk	SpO₂ (%) 135. Dk	SpO₂ (%) 150. dk	SpO₂ (%) 165. dk	SpO₂ (%) 180. dk	Ek Anesteziik Sayısı
Oda 1	81	92	91	95	92	95	95	93	97	93	91	90	92	n=2
Oda 2	89	85	85	84	89	92	93	89	93	95	93	88	92	n=3
Oda 3	84	79	77	77	81	81	88	81	82	80	87	88	89	n=2
Oda 4	82	85	90	91	90	89	90	83	88	91	88	83	80	n=2
Oda 5	74	76	78	89	86	87	89	89	90	90	85	88	91	n=3
Oda 6	83	84	83	81	80	82	81	82	84	90	92	87	81	n=4
O₂ 1	80	83	84	85	84	85	87	89	69	78	76	77	76	n=3
O₂ 2	90	95	98	100	99	97	96	95	95	99	99	98	99	n=4
O₂ 3	89	99	97	96	92	92	91	90	90	87	100	97	98	n=3
O₂ 4	90	100	97	98	99	99	97	93	96	99	99	99	98	n=2
O₂ 5	90	99	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	n=3
O₂ 6	82	99	100	95	90	100	97	97	98	100	95	97	98	n=3

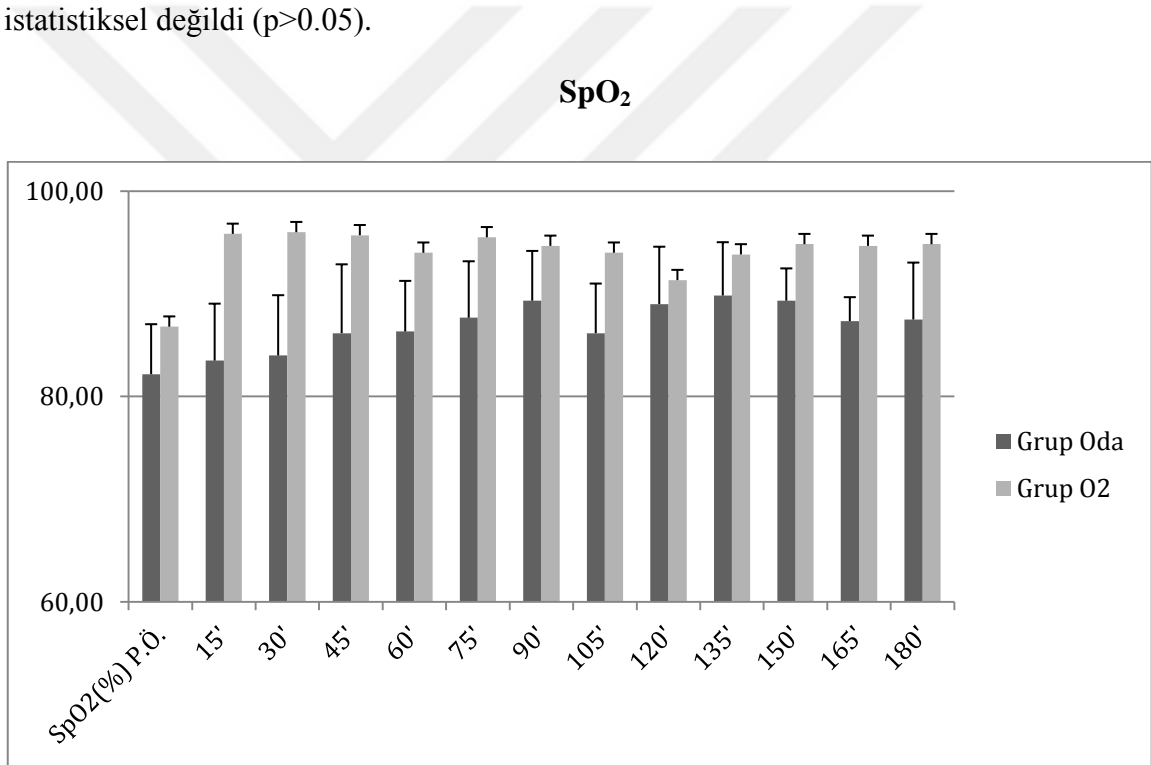
Grup Oda ve Grup O₂' de prilokain verilmeden önce-180. dk' lar arasında, her 15 dk'da bir ölçülen SpO₂ ortalama, standart sapma, medyan değerleri; gruplar arası ve grup içinde karşılaştırılma sonuçları **Tablo 7'** de sunulmuştur.

Tablo 7. Grup Oda ve Grup O₂, SpO₂ Değerleri, Ortalama, Standart Sapma, Grup İçi ve Gruplar Arası Karşılaştırma (p)

SpO ₂ Değerleri (%)	Grup Oda Ort±StdS Medyan	Grup O ₂ Ort±StdS Medyan	Gruplar Arası Karşılaştırma p
P. Ö.	82,1±4,8 82,5	86,8±4,6 89,5	<i>0, 11</i>
15. Dk	83,5±5,5 84,5	95,8±6,5 99	<i>0, 02</i>
30. Dk	84±5,8 84	96±6,0 97,5	<i>0, 01</i>
45. Dk	86,1±6,7 86,5	95,7±5,6 97	<i>0, 02</i>
60. Dk	86,3±4,9 87,5	94±6,4 95,5	<i>0, 05</i>
75. Dk	87,6±5,5 88	95,5±5,9 98	<i>0, 04</i>
90. Dk	89,3±4,8 89,5	94,6±4,7 96,5	<i>0, 07</i>
105. Dk	86,1±4,8 86	94±4,2 94	<i>0, 01</i>
120. Dk	89±5,5 89	91,3±11,4 95,5	<i>0, 22</i>
135. Dk	89,8±5,1 90,5	93,8±9,2 99	<i>0, 26</i>
150. Dk	89,3±3,1 89,5	94,8±9,4 99	<i>0, 05</i>
165. Dk	87,3±2,3 88	94,6±8,7 97,5	<i>0, 05</i>
180. Dk	87,5±5,5 90	94,8±9,2 98	<i>0, 05</i>
Grup İçi Karşılaştırma p	<i>0,08</i>	<i>0,75</i>	

P. Ö. değerlendirmede Grup Oda' da SpO₂ % 74- % 89 arasında, en düşük SpO₂ 5 nolu denekte (SpO₂: % 74) görüldü. Grup O₂' de ise P. Ö. değerlendirmede Grup O₂' de SpO₂ % 80-% 90 arasında, en düşük SpO₂ 1 nolu denekte (SpO₂: % 80) görüldü. Başlangıç değerleri arasında gruplar arasında anlamlı fark yoktu (p>0.05). Bu nedenle daha sonraki aşamalarda gruplar arası karşılaştırma sürdürüldü.

Prilokain verildikten sonra Grup Oda' da SpO₂ % 76-% 97 arasında değişti. En düşük değer, başlangıç SpO₂' si % 74 olan 5 nolu denekte görüldü. Herbir denekte SpO₂ değerlerinde progresif artış görüldü. Grup O₂' de ise en düşük SpO₂ 1 nolu denekte (SpO₂: % 69) 120. dk' da izlendi. O₂ desteğinin etkisiyle SpO₂' de ilk 15 dk' da yükseldi ve stabil seyretti. Ancak bu değişiklikler grup içinde zaman aralıklarında istatistiksel değildi (p>0.05).



Grafik 1. SpO₂ Değerleri, Gruplar Arası Ortalama ve Standart Sapma

4.2. KALP ATIM HIZI (KAH)

Grup Oda ve Grup O₂' de 12 denek monitorize edilerek prilokain verilmeden önce-180. dk arasında her 15 dk' da bir ölçülen KAH (atım/dk) değerleri **Tablo 8'** de sunulmuştur.

Tablo 8. Grup Oda ve Grup O₂'de Prilokain Öncesi-180. Dk Zaman Aralığında 15 Dk'da Bir Ölçülen KAH Değerleri

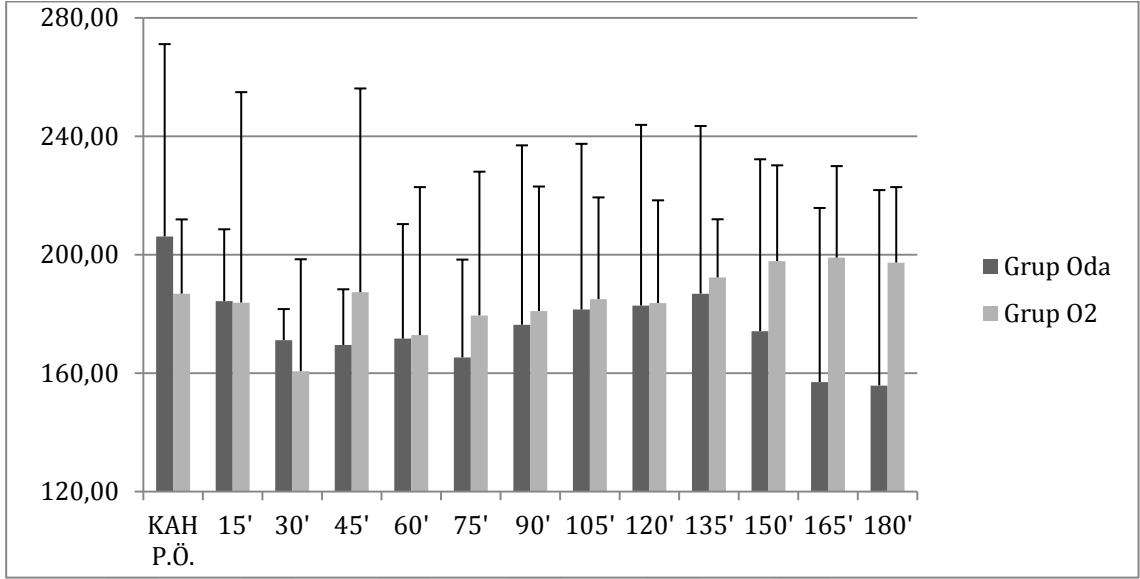
KAH (atım/dk)	KAH P. Ö.	KAH 15. dk	KAH 30. dk	KAH 45. dk	KAH 60. dk	KAH 75. dk	KAH 90. dk	KAH 105. dk	KAH 120. dk	KAH 135. dk	KAH 150. dk	KAH 165. dk	KAH 180. dk
Oda 1	108	155	162	173	212	169	274	260	274	272	276	268	273
Oda 2	172	158	169	190	210	195	180	176	203	171	171	121	144
Oda 3	231	213	169	158	113	108	103	140	125	132	117	127	107
Oda 4	222	180	162	153	165	167	172	178	158	201	165	138	125
Oda 5	303	205	190	193	185	199	204	228	221	222	194	176	189
Oda 6	201	195	175	150	145	154	125	107	116	123	122	112	97
O₂ 1	181	114	128	145	126	126	142	175	180	168	168	172	165
O₂ 2	204	213	215	221	212	221	211	204	211	213	216	209	217
O₂ 3	150	96	110	99	103	110	115	121	116	170	149	156	168
O₂ 4	179	214	183	172	225	197	196	194	194	200	202	211	198
O₂ 5	183	178	160	187	206	211	214	218	201	192	229	203	211
O₂ 6	224	288	168	300	165	212	208	198	200	211	223	243	225

Grup Oda ve Grup O₂' de prilocain öncesi-180. dakikalar arasında her 15 dk' da bir ölçülen KAH ortalama, standart sapma, medyan değerleri; gruplar arası ve grup içinde karşılaştırılma sonuçları **Tablo 9'** da sunulmuştur.

Tablo 9. KAH Değerleri; Grup Oda ve Grup O₂'de, Ortalama, Standart Sapma, Grup İçi ve Gruplar Arası Karşılaştırmada Anlamlı Fark Yoktur (p>0,05)

KAH Değerleri (atım/dk)	Grup Oda Ort±StdS Medyan	Grup O ₂ Ort±StdS Medyan	Gruplar Arası Karşılaştırma p
P. Ö.	206,1±64,9 211,5	186,8±25,07 182	0,52
15. Dk	184,3±24,2 187,5	183,8±71,0 195,5	0,81
30. Dk	171,1±10,4 169	160,6±37,7 164	0,42
45. Dk	169,5±18,8 165,5	187,3±68,7 179,5	0,87
60. Dk	171,6±38,6 175	172,8±49,9 185,5	0,87
75. Dk	165,3±33 168	179,5±48,5 204	0,26
90. Dk	176,3±60,5 176	181±42 202	0,52
105. Dk	181,5±55,9 177	185±34,3 196	0,87
120. Dk	182,8±61 180,5	183,6±34,6 197	0,81
135. Dk	186,8±56,6 186	192,3±19,6 196	1,00
150. Dk	174,1±58,0 168	197,8±32,3 209	0,26
165. Dk	157±58,7 132,5	199±30,9 206	0,10
180. Dk	155,8±65,9 134,5	197,3±25,4 204,5	0,10
Grup içi Karşılaştırma p	0,10	0,30	

KAH



Grafik 2. KAH değerleri, Gruplar Arası Ortalama ve Standart Sapma

Prilokain öncesi değerlendirmede en düşük KAH Grup Oda' da 2 nolu deneye (KAH=172/dk), Grup O₂' de ise 3 nolu denekte (KAH=150/dk) görüldü. Grup Oda' da P. Ö. KAH 172/dk-303/dk, Grup O₂' de ise 150/dk-224/dk arasında değişmekteydi. Başlangıç KAH ölçümlerinde gruplar arası anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). P. Ö. ölçümlerde fark olmadığından diğer aşamalarda da gruplar arasında karşılaştırma uygulandı ve diğer aşamalarda da gruplar arası anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

4.3. KAN GAZLARI (PaO₂ ve PaCO₂)

Grup Oda ve Grup O₂' de deneklerden prilokain verilmeden önce ve 180. dk' da intrakardiyak yolla alınan kan örnekleri, kan gazı cihazında bulunan değerler **Tablo 10'** da sunulmuştur.

Tablo 10. Grup Oda, Grup O₂'de, Prilokain Öncesi ve 180. Dk'da Ölçülen PaO₂, PaCO₂ Değerleri

Denek No	PaO ₂ (mmHg) P. Ö.	PaO ₂ (mmHg) 180. dk	PaCO ₂ (mmHg) P. Ö.	PaCO ₂ (mmHg) 180. dk	Mortalite Şekli
Oda 1	73,7	63,7	69,7	55,2	Ex
Oda 2	45,7	21,9	71,6	82,4	Dekapitasyon
Oda 3	35,6	67,8	64,3	58,5	Ex
Oda 4	62,9	21,3	49,2	63,1	Ex
Oda 5	26,1	62,8	65,3	52,8	Dekapitasyon
Oda 6	35,5	110,7	57,3	43,2	Dekapitasyon
O ₂ 1	55,9	50	67,6	70	Dekapitasyon
O ₂ 2	118,6	85,1	62,5	69,7	Dekapitasyon
O ₂ 3	40,1	22,5	64,6	51,8	Dekapitasyon
O ₂ 4	86	82,6	64	70,3	Dekapitasyon
O ₂ 5	40,3	30,3	61,7	65,4	Dekapitasyon
O ₂ 6	42	40,6	59,5	87,8	Dekapitasyon

Grup Oda' da 1, 3, 4 nolu denekler 180. dk sonra ex olmuştur. Aynı gruptaki 2, 5, 6 nolu denekler 180 dk sonunda dekapitasyon yöntemiyle kurban edilmiştir. Grup O₂' de ise deneklerin hepsi 180. dk sonrasında kurban edilmiştir. Gruplar karşılaştırıldığında sağkalım açısından anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05).

4.4. % MetHb DÜZEYLERİ

Grup Oda ve Grup O₂' de deneklerden prilokain verilmeden önce-180 dk arasında her 30 dk aralıkla intrakardiyak yolla ve kuyruk veninden heparinli tüp içerisine alınan kan örnekleri biyokimya laboratuvarında spektrofotometrik analizle ölçülerek bulunan değerler **Tablo 11'** de sunulmuştur.

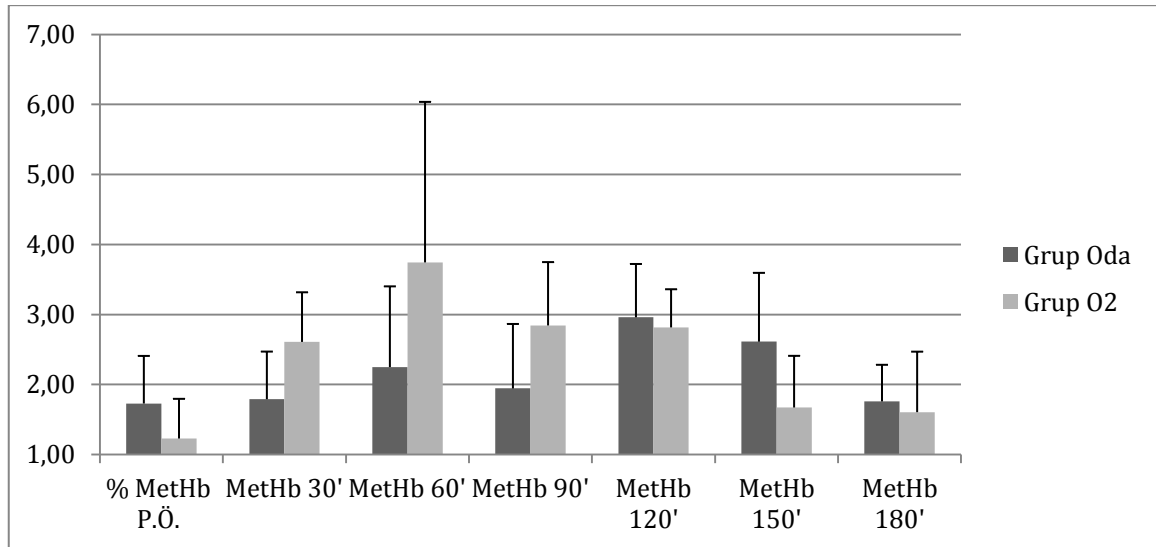
Tablo 11. Grup Oda ve Grup O₂' de, Prilokain Öncesi-180. Dk Zaman Aralığında 30 Dk' da Bir Ölçülen MetHb Değerleri

Denek No	% MetHb P. Ö.	% MetHb 30. dk	% MetHb 60. dk	% MetHb 90. dk	% MetHb 120. dk	%MetHb 150. dk	% MetHb 180. dk
Oda 1	1,81	2,31	3,94	3,20	3,17	2,24	1,24
Oda 2	2,33	2,48	2,79	2,71	3,36	3,63	1,62
Oda 3	0,98	2,29	0,64	0,69	2,58	3,07	1,89
Oda 4	2,67	0,87	2,74	1,29	3,85	1,48	1,54
Oda 5	1,05	1,11	1,53	1,70	3,16	1,59	1,53
Oda 6	1,54	1,69	1,86	2,08	1,65	3,67	2,74
O ₂ 1	1,60	3,88	7,89	1,91	3,33	2,63	2,38
O ₂ 2	0,75	2,25	4,82	2,11	2,42	2,41	1,80
O ₂ 3	1,28	2,06	3,11	3,25	3,56	1,58	1,09
O ₂ 4	1,30	2,19	1,65	2,12	2,50	1,65	2,53
O ₂ 5	0,44	3,02	2,67	3,91	2,91	0,81	1,64
O ₂ 6	2,01	2,26	2,33	3,77	2,18	0,96	0,20

Grup Oda ve Grup O₂' de prilokain verilmeden önce-180. dakikalar arasında 30 dk aralıklarla ölçülen MetHb ortalama, standart sapma, medyan değerleri; gruplar arası ve grup içinde karşılaştırılma sonuçları **Tablo 12'** de sunulmuştur.

Tablo 12. Grup Oda ve Grup O₂' de, MetHb Değerleri, Ortalama ve Standart Sapma Grup İçi Karşılaştırmada Grup O₂' de Anlamlı Farklılık (p<0,05), Gruplar Arası Karşılaştırmada Anlamlı Fark Bulunmamıştır (p>0,05)

MetHb Düzeyleri (%)	Grup Oda Ort±StdS Medyan	Grup O ₂ Ort±StdS Medyan	Gruplar Arası Karşılaştırma p
P. Ö.	1,7±0,6 1,6	1,2±0,5 1,2	0,26
30. Dk	1,7±0,6 1,99	2,6±0,7 2,2	0,33
60. Dk	2,2±1,1 2,3	3,7±2,2 2,89	0,26
90. Dk	1,9±0,9 1,8	2,8±0,9 2,6	0,07
120. Dk	2,9±0,76 3,1	2,8±0,5 2,7	0,52
150. Dk	2,6±0,9 2,6	1,6±0,7 1,6	0,15
180. Dk	1,7±0,5 1,5	1,6±0,8 1,7	1,00
Grup İçi Karşılaştırma p	0,087	0,006	



Grafik 3. MetHb düzeyleri, Gruplar Arası Ortalama ve Standart Sapma

P. Ö. Grup Oda' da en düşük MetHb düzeyi 3 nolu denekte (MetHb=% 0, 98), Grup O₂' de en düşük MetHb düzeyi 5 nolu denekte (MetHb=% 0, 44) tespit edildi. Grup Oda' da P. Ö. MetHb düzeyi % 0, 98-% 2, 67, Grup O₂' de ise % 0, 44-% 2, 01 arasında değişmekteydi. Grup Oda ve Grup O₂' de P. Ö. MetHb düzeylerinin benzer olması nedeniyle ve deneklere standart dozda prilokain verildiğinden diğer zamanlarda da gruplar arası karşılaştırma sürdürüldü, gruplar arasında anlamlı fark yoktu (p>0.05). Ancak Grup O₂' de grup içindeki MetHb düzey değişikliği anlamlılık gösterdi (p<0.05).



5. TARTIŞMA

Literatürde sıçan modeli ve methemoglobinemi oluşturacak doz bilgisine ulaşılamadığından, 600 mg/kg prilokain diğer anestezi ilaçlarının uygulama prensibine dayanılarak verilmiştir. Prilokain verilmesini takiben deneklerin hepsi 60 dk içinde kaybedilmiştir. Bu deneklerin ölümü prilokain' nin toksik dozuna bağlanmıştır. Diğer 6 deneye oda havasında anestezi ve analjezi sağlandıktan sonra prilokain dozu yarıya düşülerek 300 mg/kg dozdan ve diğer 4 deneye anestezi ve analjezi sonrası 200 mg/kg intraperitoneal yolla verilmiş, bu denekler çalışma süresini tamamlamadan kaybedilmiştir. Deneysel çalışmada Grup Oda' da deneklerin %50' si (n=3) 180 dk sonunda kendiliğinden ölmüş, diğer %50' si (n=3) kurban edilmiştir. Grup O₂' de ise deneklerin tamamı (n=6) 180 dk sonunda kurban edilmiştir.

Çalışma protokolünde 180 dk boyunca, 30 dk aralıkla kan örneklerinin alınması planlanmıştır. Ancak intrakardiyak tek girişimde alınan kan örnekleri, hem kaybedilen kan hacmi, hem de kalp kasındaki travma nedeniyle intraperikardial/intratorasik kanama ve pnömotoraks ile denegin kaybına neden olduğunu düşündürmüştür. Yüksek doz prilokain' in toksik etkisi, intrakardiyak yolun invazifliği ve kan kaybının fazlalığı ile ilişkili kayıplar model oluşturmayı güçleştirmiş ve çalışma protokolü değiştirilmiştir.

Oda havasında anestezi ve analjezi sağlandıktan sonra tüm deneklerden prilokain verilmeden önce, kan gazları için intrakardiyak yolla alınan kan örneği miktarı azaltılmıştır. Önceki ön çalışmada alınanın yaklaşık 1/3' ü oranında kan örneği alınmıştır. 100 mg/kg dozdan intraperitoneal yolla prilokain verilen deneklere her 30 dk' da bir kuyruk veninden yaklaşık 200 µlitre kan örneği alınarak bu işlemin 180 dk boyunca sürdürülmesi planlanmıştır. Kan gazları için çalışmanın sonunda da (180. dk' da) intrakardiyak yolla kan örneği alınması planlanmıştır. Prilokain verilmeden önce ve 180. dk hariç her 30 dk' da bir kuyruk veninden yaklaşık 200 µlitre kan örneği alınarak spektrofotometrik yöntemle MetHb ölçülmesi planlanmıştır. Bu prilokain dozu volüm olarak çok aşırı olmadığından anestezi pratiğinde kullanılan prilokain (Priloc®) kullanılmıştır.

Nabız oksimetre sadece indirgenmiş ve oksijenize Hb türlerini algılayacak şekilde tasarlanmıştır. Diğer Hb türlerinin varlığı periferik O₂ saturasyonunun yanlış okunmasına neden olur. MetHb ışığı hem kırmızı hem de kızılötesi ışıkları aynı oranda

absorbe ettiği için; absorpsiyon oranı 1:1' dir ve bu oran %85 saturasyona karşılık gelir. (SpO₂' nin hesaplanmasında kullanılan algoritmalar absorpsiyon oranının 1 olması durumunda O₂ saturasyonunu %85 olarak gösterirler). Yüksek MetHb seviyelerinde; SaO₂ %85' in altında olduğunda SpO₂ yanlış olarak yüksek okunur (18). Methemoglobinemide düşük SaO₂ seviyelerine rağmen SpO₂ nadiren %85'in altına düşer (19). Deneysel çalışmamızda sadece Grup Oda' da 0, 15 ve 30. dk' da ort. SpO₂ < %85 saptanmıştır. Benzer bir çalışmada, 15 mg/kg 4-dimetilaminofenol ile methemoglobinemi oluşturulmuş domuzlarda, hiperoksinin O₂ transportu, doku oksijenizasyonu ve sağkalım üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, (n=7) denek oda havasında, (n=7) denek ventilasyonla hiperoksi uygulanması sonrası, plazmada çözünmüş O₂' in artışına karşın SpO₂' de artış gösterilememiştir (20).

MetHb düzeyi yükseldikçe PaO₂ ve SaO₂ düzeyi düşmekte, nabız oksimetrede gözlenen SpO₂ düzeyi ile kolerasyon gösterilememektedir. Methemoglobinemi tanısında nabız oksimetrede gözlenen SpO₂ düzeyi yanıltıcı olup kan gazı ölçümleriyle oksijenizasyonun belirlenmesi daha önemlidir (8). Ancak ön çalışmamızda deneklerin arteriyel kan örneği alınmasının güçlüğü tespit edilmiştir ve perkütan intrakardiyak yöntemle kan alınması, karışık kan alımına neden olmuştur. Çalışmamızda bu modifikasyon çalışmanın zayıf yönünü oluşturmuştur. Çalışmamızda oda havası grubunda SpO₂' nin gözlemsel artışı, istatistiksel olarak gösterilememesi MetHb' den kaynaklanan hatalı okunmaya bağlı olabilir. Sıçan deneklerde bu mümkün olamamıştır.

Çalışmamızda prilokain verilmeden önce ve 180 dk arasında 15 dk' da bir KAH' ları değerleri kayıt edilen deneklerde grup içi ve gruplar arası karşılaştırmada anlamlı fark görülmemiştir (p>0.05). Denekler arasında çok farklı KAH ve standart sapmaların büyük olması, anestezi derinliğindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Ölümcül methemoglobinemide hiperoksijenizasyon uygulanan deneysel bir çalışmada da, hiperoksijenizasyonun KAH ve makrohemodinamik yanıtta anlamlı fark yaratmadığı gösterilmiştir (20).

Çalışma başlangıcında her iki grupta da prilokain öncesi MetHb düzeyleri benzerdi. Grup Oda' da MetHb artışı tepe düzeyine 120. dk' da, Grup O₂' de ise MetHb artışı tepe düzeyine 60. dk' da ulaşılmıştır. Bu fark deneklerin metabolik farklılıklarından ve intraperitoneal verilen ilacın emilim farklılıklarından kaynaklanabilir.

Methemoglobinemiye benzer bir durum olan CO intoksikasyonu ile ortaya çıkan hipoksinin, O₂ desteği ile tedavi süresini kısaltması ve etkinliği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Toksik methemoglobinemi tedavisinde birincil olarak metilen mavisi veya askorbik asit kullanılmaktadır. % 100 O₂ tedavisi ile hiperoksijenasyon, tedavi sürecine ilave edilerek doku oksijenasyonu sağlanmasına katkıda bulunur. Ancak methemoglobinemi ile oluşan hipoksinin tedavisinde %100 O₂ uygulanmasının tedavide etkinliği ve tedavi süresini kısalttığına ilişkin literatür bulunmamaktadır. Buna karşın hiperbarik O₂' nin methemoglobinemi tedavisindeki yeri tartışmalıdır (21, 22, 23). Yapılan deneysel çalışma modelinde methemoglobinemide oluşan hipoksemide, % 100 O₂ ile hiperoksijenasyonun tedavi süresine olumlu etkide bulunacağı öngörülmüştür.

Plazmada erimiş olarak taşınan O₂ miktarının artması, O₂ taşınması ve doku hipoksisinin önlenmesi açısından iki farklı soruna neden olabilmektedir. Bunlar; pulmoner O₂ toksisitesinin alveokapiller membranda inflamatuvar değişikliklere yol açması (24) ve hiperoksik arteriolar vazokonstriksiyondur (25, 26, 27). Yapılan bir çalışmada pulmoner O₂ toksisitesine, hiperoksijenizasyonun uzun dönem uygulanması sonucu (>17 saat) geliştiği saptanmıştır (24). Deney süresinin 180 dk olması nedeniyle daha uzun süren maruziyet ve takip olmadığından çalışmamızda, deneklerde pulmoner O₂ toksisitesine bağlı alveokapiller membranda inflamatuvar değişiklik geliştiği düşünülmemiştir. Buna karşın hiperoksik arteriolar vazokonstriksiyon, hiperoksik ventilasyon sonrası kısa süre içerisinde gelişebilmektedir (28). Bunun sonucunda kapillerlerdeki kan oranı azalarak kapiller kan perfüzyonu azalacaktır (25, 26, 27, 28, 29). Böylece doku hipoksisi riski artacaktır. Çalışmamızda methemoglobinemide O₂ tedavisinin etkinliği ve tedavi süresine etkisi araştırılmakta olduğundan arteriolar vazokonstriksiyon ile çalışmamız direkt olarak ilişkilendirilmemiştir.

Methemoglobinemi tedavisinde metilen mavisi ve askorbik asit kullanılmasına dair çok sayıda çalışma olmasına rağmen ilginç olarak % 100 O₂ uygulanmasının tedavideki yeri hakkında yapılmış çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (24). Domuzlarda ölümcül methemoglobinemi oluşturularak hiperoksijenizasyonun, O₂ taşınması, doku oksijenizasyonu ve sağkalım üzerindeki etkisinin araştırıldığı deneysel çalışmada, hiperoksijenizasyonun O₂ taşınması ve doku oksijenizasyonu üzerinde belirgin faydası olmadığı saptanmıştır. Oda havasındaki deneklerin yarısının (n=3)

deney süresi sonunda kendiliğinden ölmesi, O₂ grubunda deneklerin tamamının (n=6) deney süresinin sonuna kadar yaşaması, domuzlarda benzer bir çalışmada gösterildiği gibi O₂' nin sağkalım süresini uzattığı gösterilmiştir (20). Sağkalımı etkileyeceği düşünülen diğer faktörlerden birisi kan alınması sonucu oluşan anemi olabilir. Ancak oda havası grubunda ex olan 1, 3 ve 4 nolu deneklerin hct düzeyleri %30' un üzerindedir.

Yaptığımız çalışmada % 100 O₂ tedavisi uygulanan deneklerde, MetHb yıkım hızında anlamlı fark bulunmamıştır. Primer hedeflerimizden birisi yıkım eğrilerini hesaplayabilmektir ancak çalışma sonucunda MetHb düzeylerinin çok saçılmış olması nedeniyle farmakolojik ilaç yıkımı benzeri bir grafik oluşturulamamıştır.



6. SONUÇ

Hiçbir patoloji eklenmemiş sağlıklı deneklerde yapılan bu çalışmada amaç, sistemik hastalığı olmayan, prilokain gibi çeşitli ilaçlar veya ajanlarla toksik methemoglobinemi gelişmiş hastalarda, O₂ tedavisinin yararını ortaya koymaktır. Ancak deney hayvanının çalışma için uygun olmadığı, prilokain dozlarının yüksek methemoglobinemi oluşturmadan mortalite ile seyretmesi nedeniyle, amaca ve hedefe ulaşılammıştır. 100mg/kg prilokain uygulaması oda grubundaki deneklerin yarısında ölümle sonuçlanmıştır. Sağkalım açısından %100 O₂ daha olumlu olmasına karşın bu sonucu etkileyebilecek diğer faktörlerinde (CVP, hematokrit, arteryel SaO₂, PaCO₂, pH vb) daha hassas çalışılması gerekmektedir. Bu çalışma yöntem oluşturma ve benzer çalışma yapılacağına ancak olumsuz yönleri ortaya koymak açısından faydalı olmuştur.

7. ÖZET

MetHb, anormal Hb formlarından biri olup, ağır santral siyanozda düşünülmesi gereken nedenlerin başında yer alır. Methemoglobiemi konjenital olarak gözlenebildiği gibi, sıklıkla kimyasal ajan maruziyeti ve ilaç toksisitesine bağlı gelişir. Methemoglobinemi tedavisinde metilen mavisi ve askorbik asit kullanımı birincil planda tutulmakta, O₂' nin tedavideki etkinliği ve tedavi süresine etkisi hakkında yeterli deneyim bulunmamaktadır. Deneklerde yapılan bu çalışmada amaç, sistemik hastalığı olmayan, prilokain gibi çeşitli ilaçlar veya ajanlarla toksik methemoglobinemi gelişmiş hastalarda, O₂ tedavisinin yararını ortaya koymaktır.

Çalışmamızda oda havasında (n=6) ve 10 lt/dk %100 O₂ uygulanan (n=6) sıçanlara 100 mg/kg intraperitoneal prilokain verilerek 180 dk boyunca gözlemsel, kan gazı ve biyokimyasal analizleri yapılmıştır.

Oda havası grubu ve O₂ gruplarında grup içi gruplar arası KAH ve MetHb düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır. PaO₂ ve PaCO₂ ölçümleri arasında büyük farklılıklar saptanması uygun olmayan deney ortamında alınan venöz veya karışık veya arteriyel kardiyak kan örneklerinden kaynaklandığını düşündürdü. 15, 30, 45, 75, 90 ve 105. dk' larda gruplar arası SpO₂ düzeyleri arasında anlamlı fark (p<0.05) saptansa da oksijenizasyonun primer belirleyicisi olan PaO₂ düzeyinde artış gösterilememiştir.

Oda havasındaki deneklerin yarısının (n=3) deney süresi sonunda kendiliğinden ölmesi, O₂ grubunda deneklerin tamamının (n=6) deney süresinin sonuna kadar yaşaması sonucunda, gruplar arası karşılaştırmada sağkalım açısından anlamlı fark bulunmuştur (p<0,05). Domuzlarda benzer bir çalışmada gösterildiği gibi O₂' nin sağkalım süresi üzerinde olumlu etkisi olduğunu düşündürmüştür.

Çalışma gözlemlerine göre deney hayvanının çalışma için uygun olmadığı, prilokain dozlarının yüksek methemoglobinemi oluşturmadan mortalite ile seyretmesi nedeniyle, amaca ve hedefe ulaşılamamıştır. Bu çalışma, yöntem oluşturma ve benzer çalışma yapılacağına, ancak olumsuz yönleri ortaya koymak açısından faydalı olmuştur.

8. SUMMARY

An abnormal form of hemoglobin; methemoglobin is one of the reasons that should be considered in severe central cyanosis primarily. Methemoglobinemia can be congenital as well as due to exposure to chemical agents and drug toxicity. Methylene blue and ascorbic acid are used as the first line treatment in methemoglobinemia. The experience on the use of oxygen therapy is not enough to conclude the duration of treatment. The aim of this study is to find the effects of O₂ therapy on drug or toxic agent induced methemoglobinemia .

In our study, rats were given 100mg/kg prilocaine intraperitoneally and they are kept in room air (n=6) and the other group (n=6) received 10 liter/min 100 % O₂ therapy. All rats were observed 180 min and blood gas and biochemical analyzes were conducted.

There were no difference in MetHb levels and heart rate within intra-group and inter-group comparisons between room air and 100% O₂ groups. There was no change in between the levels of methemoglobin and heart rate with 100% O₂. The major differences between PaO₂ and PaCO₂ measurements were attributed to the mix drug samples taken by intracardiac puncture. Significant changes of SpO₂ at 15, 30, 45, 75, 90 and 105 min. (p<0.05), were inadequate to present the primary determinant of oxygenation (PaO₂).

Fifty percent of the rats in the Group Room Air (n=3) died spontaneously at the end of the trial period, all rats in the Group O₂ (n=6) had lived to the end of the trial period. There was a statistical difference in between groups in respect to survival (p<0.05). The positive impact on survival of oxygen therapy had been shown in a similar study performed on pigs.

According to the observations of study, rats are not suitable for the study, doses of prilocaine do not create to high levels methemoglobinemia due to mortality, that is why purpose and goal is not met. This study has been helpful in terms of the negative aspects of the method if someone would like to perform similar study.

9. KAYNAKLAR

1. Özgencil EG, Hasdoğan M, Can SÖ, Sezer G, Erdoğan P, Ökten F. Lokal anesteziye bağlı gelişen methemoglobineminin dört olguda tartışılması. Türk Anest Rean Der 2006; 34: 327-332
2. Öztürk E, Aktaş TB, Öztarhan K, Adalı E. Lokal anestezi uygulaması sonrası gelişen methemoglobinemi. JOPP Derg 2010; 2: 46-48
3. Nascimento SC, Pereira ROL, Mello HLD, Costa J. Methemoglobinemia: from diagnosis to treatment. Rev Bras Anesthesiol 2008; 58: 651-664
4. Guyton AC, Hall JE: Akciğer ventilasyonu, Guyton&Hall Tıbbi Fizyoloji, 9. Edisyon, 1996; 477-489
5. Çelebioğlu B, Şentürk M, Uyar M. Alveolokapiller gaz alışverişleri, ventilasyon/perfüzyon ilişkisi, anestezinin etkileri. TARD Eğitim Geliştirme Kursu 1; 2009; modül 1
6. Guyton AC, Hall JE: Gaz değişiminin fiziksel ilkeleri; solunum membranlarında oksijen ve karbondioksit difüzyonu, Guyton&Hall Tıbbi Fizyoloji, 9. Edisyon, 1996; 501-512
7. Erelel M, Arseven O: Solunum Fizyolojisi, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları 2002; 31-42
8. Haymond S, Cariappa R, Eby SC, Scott MG. Laboratory assesment of oxygenation in methemoglobinemia. Clinical Chemistry 2005; 51: 434-444
9. http://fenbilder.sdu.edu.tr/english/cilt6-1/Abstract/Abstract_40_54.pdf; Gungör AA, Demir Y, Demir Y. Anormal hemoglobinlerin farklı hemoglobin elektroforezleri ile belirlenmesi. SDU Journal of Science (E-Journal) 2011; 6: 40-54
10. Kelley's Textbook of Internal Medicine, 4th ed. (2000) © Lippincott Williams & Wilkins : 29-32
11. Barker SJ, Tremper KK. The effect of carbon monoxide inhalation on pulse oximetry and transcutaneous PO₂. Anesthesiology 1987; 66: 677-9

12. Barker SJ, Tremper KK, Hyatt J. Effects of methemoglobinemia on pulse oximetry and mixed venous oximetry. *Anesthesiology* 1989; 70: 112-7
13. Uysal Z, Önder S, Ezer Ü. Methemoglobinemi (Santral siyanozu ve nörolojik bulguları olan 7 aylık bir bebek nedeniyle). *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 1998; 51: 113-116
14. Rehman UR. Methemoglobinemia. *West J Med* 2001, 175: 193-196
15. Hamirani SY, Franklin W, Grifka GR, Stainback FR. Methemoglobinemia in a young man. *Tex Heart Inst J* 2008; 35: 76-7
16. Hamirani SY, Franklin W, Grifka GR, Stainback FR. Methemoglobinemia in a young man. *Tex Heart Inst J* 2008; 35: 76-7
17. Skold A, Cosco LD, Klein R. Methemoglobinemia: Pathogenesis, diagnosis and management. *Southern Medical Journal* 2011; 104: 757-761
18. Öncel UT. Puls Oksimetre. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2006; 4: 97
19. Barker SJ, Tremper KK, Hyatt J. Effects of methemoglobinemia on pulse oximetry and mixed venous oximetry, *Anesthesiology* 1989; 70: 112-117
20. Meier J, Pape A, Lauscher P, Zwissler B, Habler O. Hyperoxia in lethal methemoglobinemia effects on oxygen transport, tissue oxygenation, and survival in pigs. *Crit Care Med* 2005; 33: 1582-8
21. Goldstein G, Doull J: Treatment of nitrite-induced methemoglobinemia with hyperbaric oxygen. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 138: 137-139
22. Goldstein G, Doull J: The use of hyperbaric oxygen in the treatment of p-aminopropio-phenone-induced methemoglobinemia. *Toxicol Appl Pharmacol* 1973; 26: 247-252
23. Hampson N, Zmaeff J: Outcome of patients experiencing cardiac arrest with carbon monoxide poisoning treated with hyperbaric oxygen. *Ann Emerg Med* 2001; 38: 36-41
24. Davis W, Rennard S, Bitterman P, et al: Pulmonary oxygen toxicity. Early reversible changes in human alveolar structures induced by hyperoxia. *N Engl J Med* 1983; 309: 878-883

25. Lindbom L, Tuma R, Arfors K: Influence of oxygen on perfused capillary density and capillary red cell velocity in rabbit skeletal muscle. *Microvasc Res* 1980; 19: 197-208
26. Lund N, Jorfeldt L, Lewis D, et al: Skeletal muscle oxygen pressure fields in artificially ventilated, critically patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 1980; 24: 347-353
27. Tsai A, Cabrales P, Winslow R, et al: Microvasculer oxygen distribution in awake hamster window chamber model during hyperoxia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 1537-1545
28. Duling B: Microvasculer responses to alterations in oxygen tension. *Circ Res* 1972; 31: 481-489
29. Baron J, Vicaud E, Hou X, et al: Independent role of arterial O₂ tension in local of coronary blood flow. *Am J Physiol* 2001; 258: 1388-1394