



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON KLİNİĞİ

RATLARDA BUPİVAKAİN VE DEKSMEDETOMİDİN
İLE KOMBİNE EDİLMİŞ BUPİVAKAİNİN LOKAL
MİYOTOKSİSİTE VE İNFLAMASYON ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Gülay Yalçın Yılmaz

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA / 2023



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON KLİNİĞİ

RATLARDA BUPİVAKAİN VE DEKSMEDETOMİDİN
İLE KOMBİNE EDİLMİŞ BUPİVAKAİNİN LOKAL
MİYOTOKSİSİTE VE İNFLAMASYON ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Gülay Yalçın Yılmaz

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Erkan Yavuz Akçaboy
Uzm. Dr. Miyase Serap Diker

Tıpta Uzmanlık Tezi

ANKARA / 2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgisi ve tecrübesiyle benim için hep bir yol gösterici olan, eğitimimizi meslek hayatımızın en önüne koymamız gerektiğini öğreten, bizlerin yanında olan eğitim sorumlumuz hocam Prof. Dr. Nermin Göğüş'e,

Uzmanlık eğitim sürecimde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, birlikte çalışma şansı bulduğum tez sürecinde her türlü desteği sağlayan tez danışmanım Prof. Dr. Erkan Yavuz Akçaboy'a,

Eğitimimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bu tezi yazmamda beni destekleyen ve cesaretlendiren, tez çalışmamın tüm basamaklarında ilgi ve desteğini esirgemeyen çok değerli Uzm. Dr. Miyase Serap Diker'e,

Uzmanlık eğitimim süresince engin bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, birlikte çalışma şansı bulduğum tez sürecinde desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Zeynep Nur Akçaboy'a

Uzmanlık eğitimim süresince bana yol gösteren, her zaman yanımda olan Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Ankara Şehir Hastanesindeki hocalarımdan başta Prof. Dr. Levent Öztürk olmak üzere birbirinden değerli hocalarıma ve beraber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük emeği olan, destekleri ile her zaman yanımda olan aileme,

Hayatıma girdiği günden beri her konuda beni destekleyen, varlığıyla beni güçlü ve şanslı hissettiren eşim Mustafa Cem Yılmaz'a

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
KISALTMALAR.....	iv
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
TABLO DİZİNİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. LOKAL ANESTEZİ.....	2
2.2. LOKAL ANESTEZİKLER.....	2
2.2.1.Lokal Anesteziklerin Tanımı ve Etki Mekanizmaları.....	2
2.2.2.Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapıları ve Farmakolojik Özellikleri.....	3
2.2.3. Lokal Anesteziklerin Farmakokinetik Özellikleri.....	4
2.2.4. Lokal Anestezide Kullanılan Adjuvan Ajanlar.....	5
2.3. ARAŞTIRMADA KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR.....	6
2.3.1. Bupivakain (Bupivacaine).....	6
2.3.2. Deksmetomidin (Dekstomid).....	7
2.4. LOKAL ANESTEZİKLERİN MİYOTOKSİK ETKİLERİ.....	10
2.4.1. Miyotoksisitenin Histopatolojisi.....	11
2.4.2. Miyotoksisitenin Moleküler Patomekanizması.....	12
2.5. MİYOTOKSİSİTENİN KLİNİK ÖNEMİ.....	14
2.6. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER.....	14
2.6.1. C-Reaktif Protein (CRP).....	14
2.6.2. Kreatin Fosfokinaz (CPK).....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Deney Hayvanları.....	16
3.2. Çalışma Planı.....	16
3.3. İstatistiksel Yöntemler.....	21

4. BULGULAR.....	22
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	22
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	30
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ.....	43
7. KAYNAKLAR.....	44
8. EKLER.....	50
8.1. Etik Kurul Onay Formu.....	50
8.2. Tez Konusu Onayı.....	51
8.3. Tez Konusu Onay Formu.....	53
8.4. Özgeçmiş.....	56

KISALTMALAR

ATP: Adenozin Trifosfat
Ca⁺⁺: Kalsiyum
cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP: Siklik Guanozin Monofosfat
CPK: Kreatin Fosfokinaz
CRP: C reaktif Protein
EMG: Elektromiyografi
HE: Hemotoksilen Eozin
IM: İntramusküler
MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme
Na⁺: Sodyum
NMDA: N-metil-D-aspartat
PTP: Permeability Transition Pore
rhEPO: Rekombinant Eritropoetin
RyR: Ryanodin Reseptörleri
SR: Sarkoplazmik Retikulum
TNF: Tümör Nekrozis Faktör
VGCS: Voltaj Kapılı Sodyum Kanalı

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapısı.....	3
Şekil 2. Bupivakain Kimyasal Formülü.....	6
Şekil 3. Deksmetomidin Kimyasal Formülü.....	8
Şekil 4. Miyotoksisitenin Erken Fazında Histopatolojik Değişiklikler.....	12
Şekil 5. Deney Planı.....	18
Şekil 6. Ratlara İntramuskül İlaç Enjeksiyonu.....	19
Şekil 7. Gastrokinemius Kas Örneklemeşi.....	20
Şekil 8. Serum Fizyolojik Enjeksiyonundan Sonra Histopatolojik Skoru 0 Olan Kas Örneği (HE x100).....	23
Şekil 9. Bupivakain Enjeksiyonu Sonrası Histopatolojik Skoru 3 Olan İskelet Kasının Görünümü (HE x 200).....	24
Şekil 10. Deksmetomidin Enjeksiyonu Yapılan Bir Örnekte Histopatolojik Skoru 1 olan Kas Liflerinin Görünümü (HE x200).....	25
Şekil 11. Bupivakain ve Deksmetomidin Enjeksiyonu Yapılan Bir Örnekte Histopatolojik Skoru 1 Olan Kas Liflerinin Görünümü (HE x200).....	26
Şekil 12. Bupivakain ve Deksmetomidin Enjekte Edilen Bir Örnekte Histopatolojik Skoru 2 olan Bir İskelet Kasının Görünümü (HE x200).....	27
Şekil 13. Modifiye Benoit Skor Kutu Grafiği.....	29
Şekil 14. Modifiye Benoit Skorun Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	29
Şekil 15. CPK Kutu Grafiği.....	31
Şekil 16. CPK'nın Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	31
Şekil 17. CRP Kutu Grafiği.....	33
Şekil 18. CRP'nin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	33
Şekil 19. Modifiye Benoit Skor – CPK – CRP Arasındaki İlişkiler.....	36

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Hayvan Grupları ve Kullanılacak İlaçlar.....	16
Tablo 2. <i>Benoit, Yagiela ve Ferrell</i> Hasar Skorum Sistemi.....	21
Tablo 3. Ratların Özellikleri.....	22
Tablo 4. Modifiye Benoit Skorum Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	28
Tablo 5. CPK'nın Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	30
Tablo 6. CRP'nin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	32
Tablo 7. Modifiye Benoit Skorum – CPK – CRP Arasındaki İlişkiler.....	34

ÖZET

Ratlarda Bupivakain ve Deksmetomidin ile Kombine Edilmiş Bupivakainin Lokal Miyotoksisite ve İnflamasyon Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması

GİRİŞ VE AMAÇ: Rejyonel anestezi tekniklerinin artan popülaritesi lokal anestezi ile indüklenen doku hasarına olan ilgiyi artırmıştır. Miyotoksisite periferik sinir bloklarının bir komplikasyonudur. Bupivakain uzun süreli etkisi ve yüksek analjezik gücü nedeniyle intraoperatif rejyonel anestezi ve postoperatif ağrı yönetiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bupivakainin lokal anestezikler içerisinde en yüksek miyotoksik potansiyele sahip olduğu bilinmektedir. Rejyonel anestezi sırasında lokal anesteziklerin etki süresi ve blok kalitesini artırmak amacıyla adjuvan ilaçlar eklenebilmektedir. Deksmetomidin yüksek oranda selektif alfa 2 adrenoreseptör agonisti olup sıklıkla intravenöz sedatif ve koanaljezik ajan olarak kullanılır. Literatürde deksmedetomidinin lokal anesteziklere adjuvan olarak eklenmesinin sinir bloğunun süresinin uzatırken lokal inflamasyonu azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur.

Bu çalışma periferik blok sırasında bupivakaine adjuvan ajan olarak deksmedetomidin eklenmesinin, bupivakainin neden olduğu miyotoksisite ve inflamasyonu nasıl etkileyeceğini gözlemlemeyi hedeflemektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Çalışmaya 4 grupta toplam 28 adet, ortalama ağırlığı 250 gram Wistar Albino cinsi rat dahil edildi. Ratlara, A grubu 0,2 ml %0.9'luk normal salin, B grubu 0,1 ml %0.5'lik bupivakain 0,1ml %0.9 salin ile seyreltilerek %0.25'lik konsantrasyonda, D grubu 0,1 ml %0.01'lik deksmedetomidin 0,1 ml %0.9 salin ile seyreltilerek %0.005'lik konsantrasyonda, BD grubu 0,1 ml %0.5'lik bupivakain 0,1 ml %0.01'lik deksmedetomidin ile seyreltilerek toplamda 0,2 ml, konsantrasyonlar tüm gruplarda aynı olacak şekilde intramusküler (IM) yoldan enjekte edildi. Enjeksiyonlar sağ gastrokinemius kasına yapıldı. Enjeksiyondan sonraki 48. saatte ketamin anestezisi altında ratların enjeksiyon yapılan ekstremiteleri cilt dokusu

diseksiyonundan sonra çıkarılarak histopatolojik inceleme için hazırlandı. Biyokimyasal analiz için vena cana inferiordan kan alımı gerçekleştirildikten hemen sonra ratlar sakrifiye edildi.

BULGULAR: Yapılan histopatolojik incelemede kas lif hasarı, nekroz, mononükleer hücre birikimi değerlendirildi. Miyosit hasar sınıflaması için Modifiye Benoit Skorlaması kullanıldı. Histopatolojik açıdan gruplar arası karşılaştırmada Grup B (Bupivakain) ile diğer gruplar arasında anlamlı fark olduğu ($p<0.001$), Grup B değerlerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğu, ayrıca Grup BD (Deksmedetomidin + Bupivakain) ile diğer gruplar arasında fark olduğu, Grup BD değerlerinin Grup A (%0,9 Serum Fizyolojik) ve D (Deksmedetomidin) değerlerinden daha yüksek, Grup B (Bupivakain) değerlerinden daha düşük olduğu bulunmuştur. Biyokimyasal analiz için kreatin fosfokinaz (CPK) ve C-reaktif protein (CRP) değerleri kullanılmıştır. Gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; CPK değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p<0,05$) bulunmuştur. Grup B ile Grup A ve D arasında fark olduğu, Grup B değerlerinin en yüksek olduğu bulunmuştur. CRP değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

SONUÇ: Çalışmamızda ratlarda bupivakaine eklenen deksmedetomidinin histopatolojik ve biyokimyasal olarak miyotoksisiteyi azalttığını gözlemledik. Deksmedetomidinin lokal anesteziyelere adjuvan olarak kullanımı ve miyotoksisite üzerindeki etkileri ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Bupivakain, Deksmedetomidin, Miyotoksisite

ABSTRACT

Comparison of the Effects of Bupivacaine and Dexmedetomidine Combined with Bupivacaine on Local Myotoxicity and Inflammation in Rats

INTRODUCTION AND AIM: The increasing popularity of regional anesthesia techniques has increased the interest in tissue damage induced by local anesthetics. Myotoxicity is a complication of peripheral nerve blocks. Bupivacaine is widely used in intraoperative regional anesthesia and postoperative pain management due to its long-lasting effect and high analgesic effect. Bupivacaine is known to have the highest myotoxic potential among local anesthetics. During regional anesthesia, adjuvant drugs can be added to extend the duration of action of local anesthetics and increase the block quality. Dexmedetomidine is a highly selective alpha 2 adrenoreceptor agonist and is often used as an intravenous sedative and co-analgesic agent. There are studies in the literature showing that the addition of dexmedetomidine to local anesthetics as an adjuvant prolongs the duration of nerve block and reduces local inflammation. The aim of this study is to observe how the addition of dexmedetomidine as an adjuvant agent to bupivacaine during peripheral block will effect myotoxicity and inflammation caused by bupivacaine.

MATERIALS AND METHODS: A total of 28 Wistar Albino rats with an average weight of 250 grams were included in the study in 4 groups. Group A 0.2 ml 0.9% normal saline, Group B 0.1 ml 0.5% bupivacaine diluted with 0.1 ml 0.9% saline to a concentration of 0.25%, D group 0.1 ml 0.01% dexmedetomidine diluted with 0.1 ml 0.9% saline to 0.005% concentration, BD group 0.1 ml 0.5% bupivacaine diluted with 0.1 ml 0.01% dexmedetomidine total 0.2 ml was injected intramuscularly (IM) at the same concentrations in all groups. Injections were made into the right gastrocnemius muscle. At 48 hours after the injection, the injected extremities of the rats under ketamine anesthesia were removed after skin tissue dissection and prepared for

histopathological examination. The rats were sacrificed immediately after blood collection from the inferior vena cava for biochemical analysis.

RESULTS: Muscle fiber damage, necrosis, and mononuclear cell accumulation were evaluated in the histopathological examination. Modified Benoit Score was used for myocyte injury classification. In the histopathological comparison between groups, there was a statistically significant difference between Group B (Bupivacaine) and other groups ($p < 0.001$), Group B values were higher than other groups, there was a difference between Group BD (Dexmedetomidine + Bupivacaine) and other groups, Group BD values were higher than Group A (0.9% Serum Physiological) and D (Dexmedetomidine) values, it was found to be lower than Group B (Bupivacaine) values. CPK and CRP values were used for biochemical analysis. In the comparisons between the groups; It was found that there was a statistically significant difference between the groups in terms of CPK values ($p < 0.05$). It was found that there was a difference between Group B versus Group A and D; and Group B values were the highest. It was found that there was no statistically significant difference between the groups in terms of CRP values.

CONCLUSION: In our study, we observed that dexmedetomidine added to bupivacaine decreased myotoxicity histopathologically and biochemically in rats. We think that more studies are needed on the use of dexmedetomidine as an adjuvant to local anesthetics and its effects on myotoxicity.

Keywords: Bupivacaine, Dexmedetomidine, Myotoxicity

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Periferik sinir blokları ve alan blokları, postoperatif hastanede kalış sürelerini ve derlenme süresini kısaltmanın yanı sıra ek analjezik ve opioid kullanımını önemli derecede azaltır. Bu tekniklerin artan popülaritesi, lokal anestezi ile indüklenen doku hasarına olan ilgiyi de artırmıştır (1).

Günümüzde intraoperatif anestezi ve postoperatif ağrı kontrolü amacıyla tek enjeksiyon periferik sinir blokları, periferik sinir kateterleri, alan blokları uygulanmaktadır. Bu uygulamalarda sıklıkla uzun etkili lokal anestezi tercih edilmektedir. Bupivakain uzun etki süresi ve yüksek potensi nedeniyle en sık tercih edilen ancak yüksek lipofilitesi nedeni ile kardiyotoksitesi ve miyotoksitesi en fazla olan ajandır. Lokal anesteziye hem etki sürelerini uzatmak hem de toksik etkilerini azaltmak gibi amaçlarla adjuvan ajanlar eklenebilmektedir (2,3).

Deksmedetomidin selektif α -2 adrenerjik agonist bir ajan olarak yoğun bakımda ve ameliyathanelerde sedasyon amacıyla kullanılan bir simpatolitikdir. Literatürde deksmedetomidinin lokal anesteziye adjuvan olarak eklenmesinin sinir bloğunun süresinin uzatırken lokal inflamasyonu azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (4,5).

Lokal anesteziye bağlı miyotoksikite özellikle oftalmik cerrahi anesteziinde retrobulbar ve peribulbar bloklar, addüktör kanal bloğu, interskalen blok gibi periferik bloklardan sonra görülebilen bir komplikasyondur (3,6). Bupivakain miyonekroz ve apopitoza sebep olması nedeniyle diğer lokal anesteziye göre daha yüksek miyotoksik potansiyele sahiptir (6–8). Miyotoksikite tanısında Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), Elektromiyografi (EMG) gibi yöntemler kullanılabilir, ayrıca sistemik dolaşımda kreatin fosfokinaz (CPK) enzim seviyelerinin ölçümü ile miyosit hasarı tespit edilebilir (3,9,10).

Biz bu çalışmamızda miyotoksik hasar yapıcı etkisi bilinen bupivakaine, bir adjuvan olarak eklenen ve literatürde blok süresini uzatıp ve nörotoksik etkileri azalttığı gösterilmiş olan deksmedetomidinin miyotoksik hasarı da azaltacağı tezimizi deneysel bir şekilde göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LOKAL ANESTEZİ

Lokal anestezi vücudun belli bir bölgesine farmakolojik ajanlar uygulanarak sinir iletiminin geçici olarak engellenmesi anlamına gelmektedir. Santral sinir sisteminde bilinç fonksiyonlarını etkilemeden, uygulandığı sinirlerde analjezi ve motor nöron aktivitesini geçici olarak engellemesi lokal anestezinin önemli bir avantajıdır (11). Lokal anestezinin klinik uygulamaları perioperatif tıpta köklü değişikliklere neden olmuştur (12).

2.2. LOKAL ANESTEZİKLER

2.2.1. Lokal Anesteziklerin Tanımı ve Etki Mekanizmaları

Lokal anestezikler vücuttaki tüm sinir liflerinde ve diğer uyarılabilir dokularda depolarizasyon dalgasının oluşumunu ve yayılımını geçici olarak engelleyerek bu yapılarda duyu, motor ve otonomik fonksiyon kaybına yol açan farmakolojik ajanlardır (13).

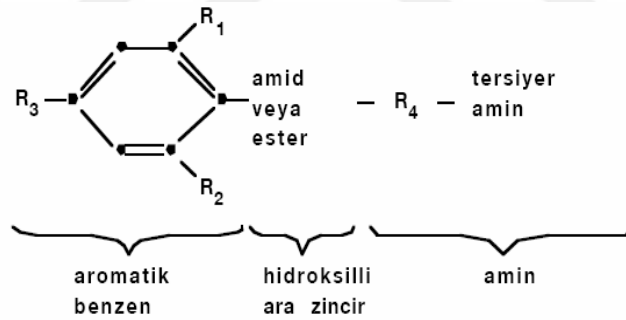
Lokal anestezikler zayıf bazlardır. Tersiyer formlarındaki terminal amin grup lipid çözümlü yapıdadır. Ancak bu yapı bir hidrojen yakalayarak konjuge asit formu oluşturup suda çözümlü hale gelebilir. Bu nedenle enjeksiyon formlarında lokal anestezikler suda çözümlü formlardır, ancak vücutta, fizyolojik pH'da lipid çözümlü ve suda çözümlü formların bir dengesi söz konusudur (14).

Lokal anestezinin amacı belirli bir vücut bölgesindeki ağrı duyusunun geçici olarak yok edilmesidir. Lokal anestezikler bunu voltaj kapılı sodyum (Na^+) kanallarına bağlanıp hücre içine Na^+ akışını inhibe ederek yaparlar. İyonize olmayan lokal anestezi molekülü akson membranını diffüzyon ile geçer ve daha asidik olan intraselüler ortamda protonlanıp iyonize forma dönüşür. İyonize form voltaj kapılı sodyum kanalının (VGSC) intraselüler kısmına bağlanır ve iletimi bloke eder. Lokal anestezikler istirahat membran potansiyelini etkilemezler ancak VGSC'nin bloklanması ve sodyum içeri geçişinin inhibe edilmesi aksiyon potansiyeline ulaşmayı dolayısıyla sinir iletimini engeller. VGSC depolarizasyon ve repolarizasyon siklusları sırasında 3 farklı konfigürasyonda bulunabilir; dinlenme (resting), açık ve inaktif formlar. Lokal anestezikler kanalın inaktif ve açık formlarına dinlenme halinden daha

yüksek afinite ile bağlanırlar. Bu durum lokal anesteziyelere nöronal sensitivitenin frekans bağımlı olmasını açıklar. Nöronal sensitivite ayrıca sinir lifinin çapı ile ilişkilidir. Ağrı transmisyonunda görevli A δ ve C sinir lifleri küçük çapları ve yüksek frekanslı iletimleri nedeniyle kolayca bloklanabilirler. Motor iletimden sorumlu büyük çaplı A α lifleri lokal anesteziyelere çok daha dirençlidirler (15,16).

2.2.2. Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapıları ve Farmakolojik Özellikleri

Tüm lokal anestezikler 3 bileşenden oluşur: aromatik benzen halkası, tersiyer amin ve bunları bağlayan hidrokarbon bağ. Kimyasal bağa göre 2 gruba ayrılırlar; esterler ve amidler. Sıklıkla kullanılan esterler; benzokain, kokain, prokain, tetrakaindir. Ester bağlar kolaylıkla yıkıldıklarından bu ilaçlar solüsyonda görece olarak anstabil dirler. Sıklıkla kullanılan amid lokal anestezikler; bupivakain, levobupivakain, mepivakain, lidokain, prilokain ve ropivakaindir. Amid solüsyonlar çok stabildir ve sterilizasyon ya da pH değışikliklerinden etkilenmezler (14–16).



Şekil 1. Lokal Anesteziklerin Kimyasal Yapısı

Lokal anesteziklerin amino grupları pK_a'yı ve dolayısıyla suda çözünürlüğü belirler. Bu lokal anesteziklerin sodyum kanallarına bağlanmasında önemlidir. pK_a ilacın %50'sinin iyonize (katyon) ve %50'sinin aniyonize (baz) yapıda olduğu pH değeridir. pK_a Henderson-Hasselbach eşitliğinden elde edilir : $pH = pK_a + \log \left(\frac{[anionize]}{[iyonize]} \right)$. Bu eşitlikten anlaşıldığı gibi daha düşük pK_a lokal anestezinin aniyonize formunun miktarını artırır. Bu form sinir membranını geçen

formdur. Dolayısıyla daha düşük pK_a 'lı lokal anesteziik daha hızlı etki başlangıcına sahiptir. Ayrıca bu eşitlikten doku pH'sının lokal anesteziiklerin etki başlangıç süresine etkisi olduğu anlaşılmaktadır. İskemik ya da enfekte dokulardaki düşük pH lokal anesteziiklerin etki başlangıcının gecikmesinin nedenidir.

Aromatik halka lipid çözünürlüğü (hidrofobisite) belirler. Daha yüksek lipid çözünürlük lipid membrana daha yüksek afinite ve dolayısıyla etki bölgesinde daha uzun süre varlık ile sonuçlanır. Böylece lipid çözünürlük artışı ile potens ve etki süresi artar. Fakat yüksek lipid çözünürlüğü aynı zamanda toksisiteyi de artırır ve teröpatik indeksi daraltır.

Genel olarak moleküler ağırlığı yüksek olan lokal anesteziiklerin daha lipofilik olduğu, daha fazla proteine bağlandığı ve etki süresinin daha uzun olduğu, dolayısıyla daha toksik olduğunu söylenebilir. Ancak etki başlangıcı daha yavaştır(17).

Lokal anesteziiklerin etki süresi genellikle proteine bağlanma tarafından belirlenir. Proteine yüksek afinite ile bağlanan lokal anesteziikler sodyum kanallarına daha uzun süre bağlı kalırlar. Etki süresi aynı zamanda lokal anesteziğin enjekte edildiği bölgedeki vasküler alım hızına da bağlıdır (14).

2.2.3. Lokal Anesteziiklerin Farmakokinetik Özellikleri

Lokal anesteziikler sistemik verilen ilaçlarla karşılaştırıldıklarında klasik farmakokinetiği takip etmezler. Çünkü lokal anesteziikler direkt olarak hedef bölgeye uygulanırlar; subkütan, intradermal, epidural boşluk gibi. Emilim, dağılım ve eliminasyon lokal anesteziiklerin klinik etkilerini azaltır.

Lokal anesteziikler bir sinir veya bir pleksus etrafına uygulandıktan sonra ilacın bir kısmı sistemik dolaşıma absorbe edilir. Sistemik absorpsiyon birçok faktörden etkilenir. Bunlar ilacın dozu, enjeksiyon bölgesi (vaskülarite), vazokonstriktör adjuvan kullanımı ve ilacın kendi fizyokimyasal özellikleridir. Vasküler alımın lipofilitesi ve protein bağlanması yüksek olan lokal anesteziikler için daha yavaştır. Sistemik emilimi belirleyen ve potansiyel toksik kan düzeylerinden sorumlu önemli faktör ilacın enjekte edildiği bölgedir. Yoğun vasküler yapılı dokular, örneğin trakeal mukoza, perfüzyonu zayıf alanlardan çok daha yüksek emilim gösterir.

Pik plazma ilaç düzeyi enjeksiyon bölgesine bağlıdır. Yüksekten düşük absorpsiyona doğru sırayla enjeksiyon alanları; intravenöz, trakea, interkostal, paraservikal, kadudal, epidural, brakial pleksus, siyatik ve subkütan dokudur.

Lokal anesteziğin dağılımı sinir dokuya ve plazma proteinlerine bağlanma oranı tarafından belirlenir. Proteinlere yüksek afinite ile bağlanma uzun etki süresi anlamına gelir. Dağılımda ayrıca ilacın lokal vasküler etkileri de önemlidir. Artmış sistemik emilim sinir dokuda azalmış dağılımla ilişkilidir.

Amidler karaciğer p450 mikrozomal enzim sistemi tarafından metabolize edilir, bu nedenle daha uzun yarı ömre sahiptirler ve tekrarlayan dozlarda birikme ihtimali vardır. Hepatik kan akımının azaldığı durumlarda amid lokal anesteziğin eliminasyonu azalır. Esterler plazmadaki psödokolinesterazlar tarafından para-amino benzoik aside metabolize olurlar; bu eliminasyon hızlı olduğu için yarı ömürleri kısadır. Atipik plazma psödokolinesterazı olan kişilerde ester yapıları lokal anesteziğe bağlı toksisite riski artmıştır (14,16).

2.2.4. Lokal Anestezide Kullanılan Adjuvan Ajanlar

Vazokonstriktörlerin lokal anestezide eklenmeleri ilacın vasküler emilimini geciktirir ve lokal anestezinin sinir dokusu ile etkileşim süresini uzatır. Net etkileri bloğun %50'ye kadar uzaması ve lokal anestezinin azalmış absorpsiyonudur. En çok kullanılan ajan epinefrin olup genellikle 1:200.000 konsantrasyonda kullanılır. Epinefrin sinir dokuya olan perfüzyonu azalttığı için özellikle diyabeti olan hastalarda nörotoksisite riskini artırır. Epinefrinin sistemik emilimi hipertansiyona ve aritmilere sebep olabilir.

Opioidler: Nöroaksiyel blokta lokal anesteziyle beraber kullanılır. Spinal korddaki opioid reseptörlerine bağlanarak nöroaksiyel bloğun etkinliğini artırır ve analjezi süresini uzatırlar. Ancak opioidler periferik sinirlerde etkili değildir. Lokal anesteziğin farmakokinetik ve farmakodinamiklerine etkisi yoktur.

Ketamin periferik sinir bloklarında lokal anesteziyle uygulandığında postoperatif analjeziyi uzatabilir. Analjezik etki primer olarak N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonizmasından kaynaklanmaktadır.

Deksametazon blok süresini uzatmak için üzerinde en çok çalışılan, en etkili, en çok kullanılan adjuvandır. Tam mekanizma açıklanamamıştır. Ancak deksametazon eklenmesi ile blok süresi 4 saate kadar uzamaktadır.

Klonidin alfa-2 adrenerjik agonist olup blok süresini uzatarak lokal anestezi gereksinimini azaltır. Epidural veya subaraknoid boşluğa uygulandığında supraspinal ve spinal adrenerjik reseptörler üzerinden doz bağımlı bir analjeziye neden olur. Opioidlerin aksine solunum depresyonu, kaşıntı, bulantı, kusma yapmaz. Ayrıca periferik sinir iletiminde (A ve C sinir lifleri) direkt inhibitör etkileri vardır. Duyusal ve motor blok süresini 1.5-2 saate kadar uzatabilir. Yan etkileri hipotansiyon, bradikardi ve sedasyondur.

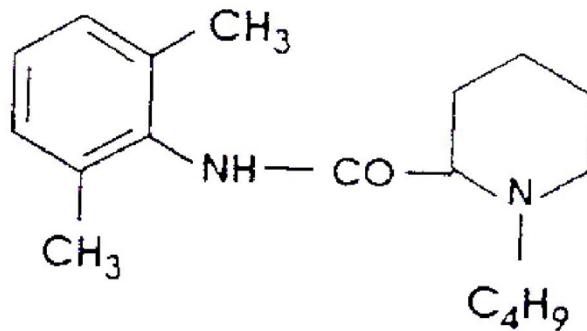
Deksmedetomidin klonidine göre daha etkili ve spesifik bir alfa-2 adrenerjik agonisttir. Motor ve duyusal bloğu 4 saate kadar uzatır. Sık görülen yan etkiler bradikardi, hipotansiyon ve sedasyon olup bunlar geçicidir ve girişim gerektirmezler.

Lokal anesteziğe bikarbonat eklenmesi solüsyonun pH değerini yükseltir. Lokal anesteziğin anyonize formunun oranı artar ve etki başlangıç süresi kısalmıştır (14,15,17).

2.3. ARAŞTIRMADA KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR

2.3.1. Bupivakain (Bupivacaine)

Bupivakain amid yapılı bir lokal anesteziiktir. Piperidin halkası üzerinde butil grubu vardır. pKa değeri 8.1 olup ticari preparatın pH değeri 4.5-5.5 aralığındadır. Kimyasal adı "*L-n-Butyl-DL-Piperidin 2-Carbonsaure 2-6 dimethylanilid*" dir.



Şekil 2. Bupivakain kimyasal formülü

Yavaş etki başlangıçlı, uzun etki süreli (5-16 saat kadar), ancak yüksek toksik potansiyele sahip bir ajandır. Toksik dozu 2.5-3 mg/kg'dır. Bupivakainin plazma klirensi 0.58 lt/dk, eliminasyon yarılanma ömrü 2.7 saattir ancak yenidoğanlarda bu süre 8.1 saate kadar uzayabilir. Plazma proteinlerine, en başta α -1-asit glikoproteine %95 oranında bağlanır. Plasentayı kolaylıkla geçebilen bu ajanın plazma proteinlerine bağlanma oranı fetüste anneye göre düşüktür. Karaciğerde glukronid konjugasyonu ile metabolize olup, idrarla atılır. Bupivakain lidokain ve mepivakainden 3-4 kat, prokainden ise 8 kat daha potenttir.

Bupivakain %0.25, %0.5, %0.75 konsantrasyonlarda kullanılır. Konsantrasyon azaldıkça analjezi sağlanabilirken motor fonksiyonlar korunabilir. Özellikle %0.1'in altındaki konsantrasyonlarda motor blok görülmez. Bupivakaine blok sırasında özellikle etki başlangıç hızını arttırmak amacıyla diğer lokal anestezipler eklenebilmektedir. Bu ajanlar genellikle etki süresini değiştirmezler. Epinefrin bupivakain ile olan bloğun süresini uzatmaz ancak ilacın plazmaya emilimini azaltır böylelikle olası yanlış intravasküler enjeksiyon durumu için uyarıcı bir ajan olabilir. Deksmetomidin ve klonidin gibi α -2 adrenerjik reseptör agonistlerinin eklenmesinin bloğun süresini uzatabileceğine dair çalışmalar mevcuttur.

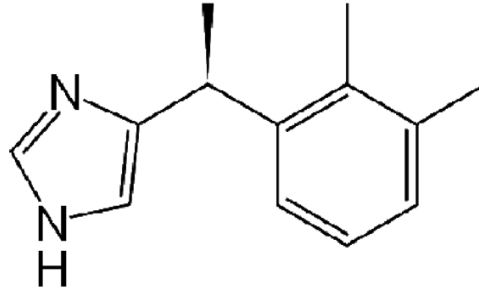
Yüksek lipofilik özelliği nedeniyle miyelinli motor liflere daha fazla penetre olur bu yönüyle güçlü bir anestezi oluşturur ancak daha fazla santral sinir sistemi toksisitesine sebep olabilir. Miyokard Na^+ kanallarına karşı yüksek afinitesi kardiyotoksik etkisinden sorumludur. Ventriküler aritmiler, taşikardi ve ventriküler fibrilasyon dahil tedaviye çok dirençlidir.

Bupivakain, miyotoksik etkisi en yüksek lokal anestezi olup bu etkisini sarkoplazmik retikulumdan (SR) Ca^{++} salınmasının yanı sıra sarkoplazmik retikuluma Ca^{++} geri alınımını inhibe ederek gösterir. Miyoplazma içinde hızla birikerek kas liflerinde Ca^{++} 'un hücre içi konsantrasyonu artırır böylece akut miyosit hasarı ile apoptozis meydana gelir.

2.3.2. Deksmetomidin

İyonizasyon sabiti (pKa) 7.1 ve pH'sı 4.5-7 aralığında olan deksmedetomidin HCl berrak, renksiz, izotonik bir solüsyondur ve her bir mililitresi 118 μg deksmedetomidin HCl (100 μg deksmedetomidin baza eşdeğer) ve 9 mg NaCl

içermektedir. Solüsyonda koruyucu, aditif veya kimyasal stabilizatör yoktur. İntravenöz infüzyonu mümkün olan nonpirojenik bir solüsyondur. Moleküler ağırlığı 236.7 daltondur ve kimyasal olarak (+)-4-(S)-[1- (2,3-dimetilfenil)etil]-1H-imidazol monoklorid şeklinde düzenlenmiştir. Ampirik formülü C₁₃H₁₆N₂•HCL şeklindedir ve yapısal formülü aşağıda gösterilmiştir (18,19).



Şekil 3. Deksmetomidin kimyasal formülü

Deksmetomidin sempatolitik, sedatif, amnestik, analjezik özellikleri olan potent ve yüksek selektiviteye sahip bir α -2 adrenoreseptör agonistidir. Oldukça lipofilik olup medetomidinin S-enantiyomeridir. Hastalarda bilinçli sedasyon sağlar. Analjezik özellikleri vardır, tüm bunları yaparken solunum depresyonuna sebep olmaz. Doz bağımlı olarak santral sinir sisteminin sempatik çıkışını baskılar (19).

Alfa-2 adrenerjik reseptörleri uyarılabilir transmembran G proteinleridir. Etkilerini hücre içinde cGMP'yi baskılayarak gösterirler ve A, B ve C olmak üzere 3 alt grupları vardır. Bu alt gruplar deksmetomidinin farklı farmakodinamik etkilerinden sorumludur. Örneğin, α -2a reseptörleri sedasyon, hipnoz, analjezi, sempatoliz ve insülin sekresyonun inhibisyonundan sorumlu iken α -2b reseptörleri santral titremeyi baskılar, spinal kord seviyesinde analjeziyi uyarır ve periferik arterlerde vazokonstriksiyona sebep olur. α -2c reseptörleri ise adrenal medulladan epinefrin salınımını düzenler (19–21).

Hücre içerisindeki cAMP seviyesinin düşmesi deksmetomidinin anabolik etkilerinden sorumludur. Sinir sonlarında hücre içine kalsiyum girişi inhibe edilir ve hücre dışına potasyum kaçışına neden olur. Sonuçta membranda olan hiperpolarizasyon lokus seruleusta sinir iletimini baskılar. Lokus seruleus aynı zamanda nosiseptif nörotransmisyonun düzenlendiği önemli merkezlerden biridir. Bu bölge uyarıldığında A ve C lifleri tarafından uyarılan nosiseptif nöronların aktivasyonu

engellenir. Antinosisepsiyonun spinal korddaki α -2a reseptörlerin aktivasyonu sonucu, sedasyonun ise aktive olan spinal reseptörlerin başlıca lokus seruleus olmak üzere supraspinal bölgeleri inhibe etmesi sonucu gerçekleştiği öne sürülmektedir.

Klonidin α 2-reseptörler üzerinde parsiyel agonistik etki gösterirken, deksmedetomidin tam agonisttir ve deksmedetomidinin daha yüksek intrinsek aktivitesi vardır. Klinik kullanımda selektivitesi en yüksek α 2-reseptör agonisti deksmedetomidindir. Klonidine göre 8 kat daha spesifik olarak bağlanır (20,22–24) .

Deksmedetomidin infüzyon sonrası hızlı bir dağılım fazı gösterir. Dağılım yarı ömrü 6 dakika olup dağılım hacmi yaklaşık olarak 118 litredir. Yaklaşık %94'ü albumin ve α -1 glikoproteine bağlanır. Karaciğerde metilasyon ve glukoronidasyon işlemlerinden sonra primer olarak böbrekler yoluyla atılır. Karaciğer yetmezlikli olgularda deksmedetomidinin klirensi, yetmezliğin derecesine göre azalma göstermektedir. Terminal eliminasyon yarı ömrü 2 saattir. Deksmedetomidin bilinen aktif metaboliti yoktur (19).

Deksmedetomidin uygulanmasını takiben doz bağımlı bifazik kardiyovasküler yanıt görülür. Bolus doz (1 μ cg/kg) kan basıncında bir artış ve refleks bradikardi ile sonuçlanır. Bu başlangıç yanıtı 5-10 dakika kadar sürer ve santral sempatik yanıtın inhibisyonu ile kan basınca hafif bir düşüşle sonuçlanır. Presinaptik α -2 reseptörlerin uyarılmasıyla nörepinefrin salınımı azalır, kan basıncı ve nabızda düşüşle sonuçlanır. Deksmedetomidinin doz bağımlı bradikardik etkisinden asıl olarak sempatik tonusun azalması sorumludur. Ancak baroreseptör refleksi ve artmış vagal aktivite de bir miktar artış sağlar. Sonuç olarak deksmedetomidin kardiyovasküler etkileri öngörülebilir düzeydedir. İlk etkiler bolus dozun yavaş yapılması veya atlanması ile engellenebilir (19,22,23).

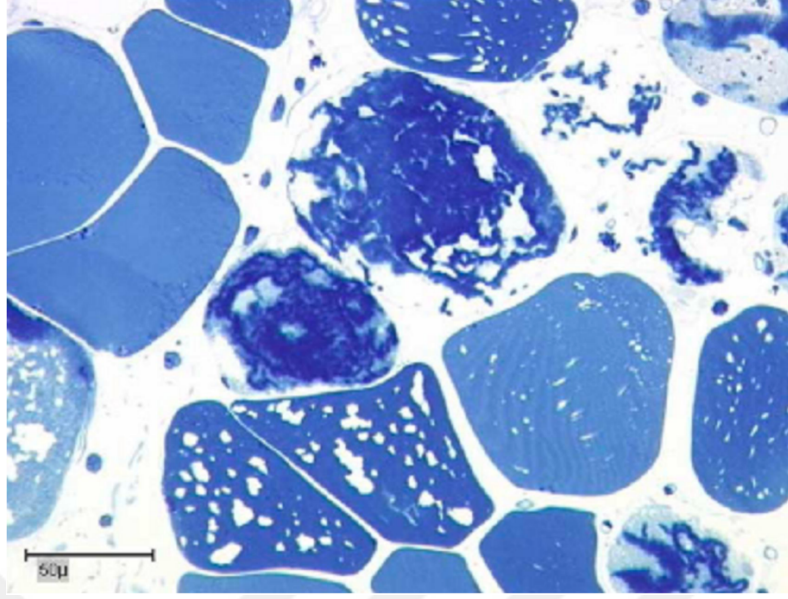
Diğer α -2 adrenerjik reseptör agonistleri gibi sedasyon, hipnoz, anksiyoliz, amnezi ve analjezi sağlar. Dekmedetomidinin amnestik etkisi benzodiazepinlere göre çok daha düşük olup, retrograd amnezi sağlamaz (25,26) .

Sedatif özelliklerine rağmen respiratuar sistemdeki etkileri çok sınırlıdır. Solunum sistem üzerindeki etkileri tedavi dozundaki plazma düzeylerinin 15 katına kadar güvenlidir.

Beyindeki hipotalamik termoregülatuar merkezi etkileyerek titremeyi baskılar. Postoperatif titreme tedavisinde meperidine ek olarak kullanılabilir (20,22,27,28).

2.4.1. Miyotoksisitenin Histopatolojisi

Lokal anestezi uygulamasını takiben iskelet kas hücrendeki hasar genellikle nonspesifik histopatolojik değişiklikler şeklindedir. Bu tür hasar çok farklı tipte yaralanmalar sonrasında meydana gelebilir. Deneysel çalışmalara göre lokal anestezi uygulamasını takiben enjeksiyon bölgesinde geniş intersitisyel ve miyoseptal ödem gözlenir. Birkaç dakika sonra hiperkontrakte fibril kas demetleri ve miyofibriller oluşur. Bu yapı miyotoksisite için değişimin ilk bulgusudur. Takip eden saatlerde etkilenmiş kas dejeneratif faza girer, miyoflamanlar kondanse olur ve parçalanırlar. Sarkoplazmik retikulum ve mitokondrinin litik dejenerasyonu gerçekleşir. Kas nükleusunda piknotik değişiklikler görülür. Bu dönemde nekrobiyotik değişikliklerin tüm yapıları gözlenebilir. Bunlar fibril vakuolize lifler ve miyosit ödeminden hücre içi yapıların tamamen bozulması ve miyonekroza kadar izlenen değişikliklerdir. İlginç şekilde miyoblastlar (satellit hücreler) lokal anestezi etkilenmez. Bu daha sonraki doku rejenerasyonun önemli olaylarından biridir. Kas dokusunda yaklaşık 24-48 saat sonra fagosit hücreleri gelene kadar destrüksiyon bu şekilde devam eder. Fagositler 2-10 gün süresince nekrotik debris çevredeki bazal laminaya zarar vermeden yok ederler. Dejeneratif değişiklikler 14 güne kadar sürebilir. Satellit hücre aktivasyonu kas hasarı sonrası 24 saatten 96 saate kadar sürebilir. Yaklaşık ikinci günün başlangıcında, satellit hücreler aktive olur ve rejenerasyon sonucunda kas enjeksiyon öncesi büyüklüğüne ulaşmaya başlar. Böylece çizgili kas dokusu rejenerasyonu takip eden 4-6 hafta içinde tamamlanır (3,6,10,37) . Tüm lokal anestezi klinik konsantrasyonlarda miyotoksiktir. Bu açıdan prokain ve tetrakain en az, klorprokain ve bupivakain de en fazla kas hasarına neden olan ajanlardır. Bu miyotoksik etki ajanının dozu ve volümü ile doğru orantılı, devamlı infüzyonla ve tekrar eden uygulamalarla artan karakterdedir (3,10).



Şekil 4. Miyotoksisitenin erken fazında (bupivakaine maruziyetten 6 saat sonra, toluidin boyama) görülen histopatolojik değişiklikler. Nekrobiyotik değişikliklerin bütün spektrumu (hafif hasara uğramış vakuolize lifler, kondense olmuş miyofibrillerle tamamı bozulmuş lifler ve nekrotik hücreler) görülmektedir (3).

2.4.2. Miyotoksisitenin Moleküler Patomekanizması

Lokal anesteziklerin miyotoksisite temel patomekanizması açıklığa kavuşmamıştır. İlk olarak düşünülen mekanizmalar sıvı volümü ve mekanik travma ilişkili olsa da yapılan deneysel çalışmalarda benzer volümde salin infüzyonun kas hasarına neden olmadığı, enjeksiyona bağlı travmanın ise sadece fokal ve minör lezyonlara sebep olduğu gösterilmiştir. Miyotoksisiteye neden olduğu düşünülen bir başka mekanizma da denervasyon atrofisidir ancak miyosit hücre kültürlerine enjekte edilen lokal anestezik bu hücrelerde geri döndürülemez hasara ve nekroza sebep olmuştur. Tüm bunlar hasarın lokal anestezik ajan kaynaklı olduğunu göstermektedir.

Tüm membran aktif ajanlar gibi lokal anestezikler çizgili miyositlerin internal ve eksternal membran sistemlerinin ikisinde de bozulmaya neden olarak Ca^{+2} homeostazisinde ve geçirgenliğinde değişiklik yaratırlar. Ca^{+2} 'un hücrenin yapısal bütünlüğü ve canlılığının devamı üzerine olan büyük etkisi nedeni ile Benoit ve ark. lokal anesteziğin indüklediği kas nekrozunun hücre içi serbest Ca^{+2} 'un yükselmesi neticesinde olabileceğini ilk düşünenlerdendir. Benoit ve ark. lokal anestezik ve miyoplazmik Ca^{+2} seviyelerini artırabilen nonanestezik ajanların (kinidin, kafein, 2,4-

dinitrofenol, A23187) benzer şekilde miyonekroz oluşturdıklarını göstermişlerdir. Ancak lokal anestetik özellikleri olup seçici olarak hızlı sodyum kanallarını bağlarken hücre içi kalsiyuma etki etmeyen tetrodotoksin çizgili kasta neredeyse hiç hasara neden olmaz. Ayrıca quersetin veya kalsiyum antagonistlerinin birlikte uygulanması miyotoksisitenin erken bulgularından olan hiperkontrakte miyofibrillerin ortaya çıkışını engeller. Tüm bunlar lokal anestetik ilişkili miyotoksisitenin hücre içi kalsiyum homeostazının bozulmasıyla yakından ilişkili olduğunu gösterir.

Miyoplazmik Ca^{+2} seviyelerinin yükselmesi, Ca^{+2} geçirgenliğindeki nonspesifik artıştan ziyade lokal anestetiklerin SR membranındaki Ca^{+2} serbestleştirici ryanodin reseptörleri (RyR) ile direkt etkileşiminin sonucudur. İskelet kası hasarının boyutu SR'a ulaşan serbest non iyonize lokal anestetik moleküllerin miktarı ile doğru orantılıdır ve bu nedenle miyotoksisite yüksek intraselüler pH seviyelerinde daha olasıdır.

Bupivakain klinik konsantrasyonlarda RyR aktivasyonu ve sarkoplazmik Ca^{+2} ATPaz'ın eş zamanlı inhibisyonu ile hücre içi Ca^{+2} seviyelerinde büyük artışlara neden olur ve bu durum yüksek miyotoksisite oranından sorumludur. Ayrıca doz bağımlı olarak oksidatif fosforilasyonu bozduğuna, intraselüler kalsiyum disregülasyonuna katkıda bulunduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Bir başka etyolojik yolak da iskelet kası mitokondrisinde ve izole kas liflerinde Permeability Transition Pore (PTP)'lerin açılmasına neden olarak konsantrasyon bağımlı mitokondriyal depolarizasyona ve piridin nükleotid oksidasyonuna neden olabileceğidir. Sonuç olarak ATP seviyesi düşer, kalsiyum seviyeleri yükselir ve apoptotik faktörlerin salınması (sitokrom c, apoptosis-inducing factor, Smac-Diablo ve endonükleaz G) gerçekleşir. Bütün bu nekrobiyotik değişikliklerin spektrumundan başka bupivakain ek olarak in vitro ve in vivo olarak çizgili kas hücrelerinde apoptozisi indükler. Apoptozisin santral komponenti kaspazlar olarak adlandırılan proteolitik enzim kaskadıdır ve bütün kaspazların bupivakain tarafından aynı konsantrasyonda açıkça aktive olduğu bulunmuştur. Mitokondriyal bütünlüğün korunmasında önemli bir gen olan HSPA12A (Heat Shock Protein Family A (Hsp70) Member 12A), bupivakain ilişkili miyotoksisitede downregüle olmaktadır. Özet olarak, deneysel bulguların çeşitliliği lokal anestetik miyotoksisitesinin kompleks olduğuna işaret etmektedir.

2.5. MIYOTOKSİSİTENİN KLİNİK ÖNEMİ

İn vivo, in vitro, ex vivo çalışmalarda klinik anlamlı bulgular olmasına rağmen lokal anestezik uygulanmasının önemli bir komplikasyonu olan miyotoksisitenin günümüz rejyonel anestezi pratiğine nasıl yansıtılacağı hala tartışmalıdır.

Hussain ve ark.'nın sistematik derlemelerine göre oftalmik bloklardan sonra %0.53 ve addüktör kanal bloğundan sonra da %0.11 oranında miyotoksisite görülmektedir. Miyotoksik hasarın göz ardı edilmesinin bir sebebi de fleksör ve ekstansör kasların bir senkron halinde çalışıp birbirlerinin yetersizliklerini gölgeleyebilmeleridir. Ayrıca akut olarak görülen cerrahi inflamatuvar yanıt miyotoksisiteye bağlı güçsüzlükle sıklıkla karışmaktadır. Bu gibi sebeplerden dolayı lokal anesteziye bağlı miyotoksisite aslında olandan daha az raporlanmaktadır.

Klinik olarak kas güçsüzlüğü, hassasiyet, ağrı ve oftalmik prosedür sonrası diplopi semptomları ortaya çıkabilmekte ve miyotoksisitenin tanısı serumda kreatinin kinaz enzim yüksekliği, EMG değerlendirmesi (örneğin, inflamatuvar veya nekrotik miyopati belirtileri), MRG (T1 ağırlıklı görüntülerde yükselmiş protein, kan akımı ve ödem) ve kas dokusu örneklerinin histolojisiyle desteklenmelidir.

Miyotoksik hasarı azaltmak amacıyla bupivakain kullanımını sınırlandırılması, konsantrasyon düşürülmesi önerilmektedir. Sürekli infüzyon sinir blokları yerine alternatif bloklar kullanılabilir.

Bu yüzden bu ajanlarla meşgul olan anesteziist ve algologlar lokal anestezik miyotoksisitesinin farkında olmalıdır ve postoperatif iskelet kası disfonksiyonunun teşhis ve tedavisinde bu komplikasyonu da göz önüne almalıdır.

2.6. ARAŞTIRMADA KULLANILAN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER

2.6.1. C-Reaktif Protein (CRP)

C- reaktif protein ilk defa 1930 yılında keşfedilmiş, sonrasında inflamasyon veya enfeksiyöz bir durumun erken indikatörü, bir akut faz proteini olarak tanımlanmıştır. Diğer tüm akut faz proteinleri gibi normalde serumda eser miktarda bulunsa da, bir inflamasyon ya da enfeksiyon durumunda hızla dramatik olarak yükselir (1,4,6). C reaktif protein karaciğerde sentezlenen, pentamerik bir proteindir. CRP üretimi interlökin-6, interlökin-1 ve tümör nekrozis faktör (TNF) gibi inflamatuvar

sitokinler tarafından uyarılır (4,10). CRP kompleman sistemini klasik yoldan aktive eder ayrıca fagosit hücreleri nekrotik hücelere yönlendirir (5). İnflamasyon ya da doku hasarının sonlanması ile CRP seviyeleri hızla düşer, eliminasyon yarı ömrü 4-9 saattir. CRP seviyeleri anemi, protein miktarı, yaş, cinsiyet gibi birçok faktörden bağımsızdır. Tüm bu özellikler CRP'yi akut inflamasyon ve doku hasarını belirlemede önemli bir test haline getirmiştir (12-14).

2.6.2. Kreatin Fosfokinaz

Kreatin fosfokinaz (CPK) kas hastalığını teşhis etmek ve takibi için en yaygın kullanılan enzimdir. Kas yaralanmasının en hasas göstergesi olup yaralanma seyrinin en iyi göstergesidir (38). CPK mitokondri iç zarında, miyofibrillerde ve kas sitoplazmasında bulunur (39). CPK dimer bir molekül olup MM, MB, BB olarak adlandırılan üç farklı izoenzim formunda bulunur. CPK kalp, kas ve beyindeki önemli metabolizma kaynağıdır. İskelet kası en yüksek CPK konsantrasyonuna sahip dokudur. İskelet kası CPK, %99 MM izoformuna sahiptir (38). Serum CPK değeri kas hasarını takiben 2-12. saatte yükselmeye başlar; 24- 72. saatte zirve yapar ve en az 5 gün yüksek kalır. CPK değeri ısrarla yüksek kalırsa kas nekrozunun devam ettiği düşünülür (40).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Etik kurul onayı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 31.01.2023 tarih ve 0719 sayı ile alındı. Planlanan çalışma Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel ve Klinik Araştırmalar Laboratuvarlarında tamamlandıktan sonra kan örnekleri Özel ENA Laboratuvarında, doku örnekleri ise Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında değerlendirildi.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışma ortalama ağırlıkları yaklaşık 250 gram olan erkek Wistar-Albino türü 28 adet rat kullanılarak Avrupa Konseyi'nin önerdiği standartlara (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes) (ETS123) uyularak gerçekleştirildi. Oda ısısı 22-25 °C ve 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık siklusları içeren ortam deney öncesinde sağlandı. Deney hayvanları ad libitum (%23 protein, %5 yağ, %15 lif, %50 karbonhidrat) standart sıçan yemi ile beslendi ve musluk suyu içtiler. Deney hayvanları, randomize şekilde her biri 7 rattan oluşan dört gruba ayrıldı.

3.2. ÇALIŞMA PLANI

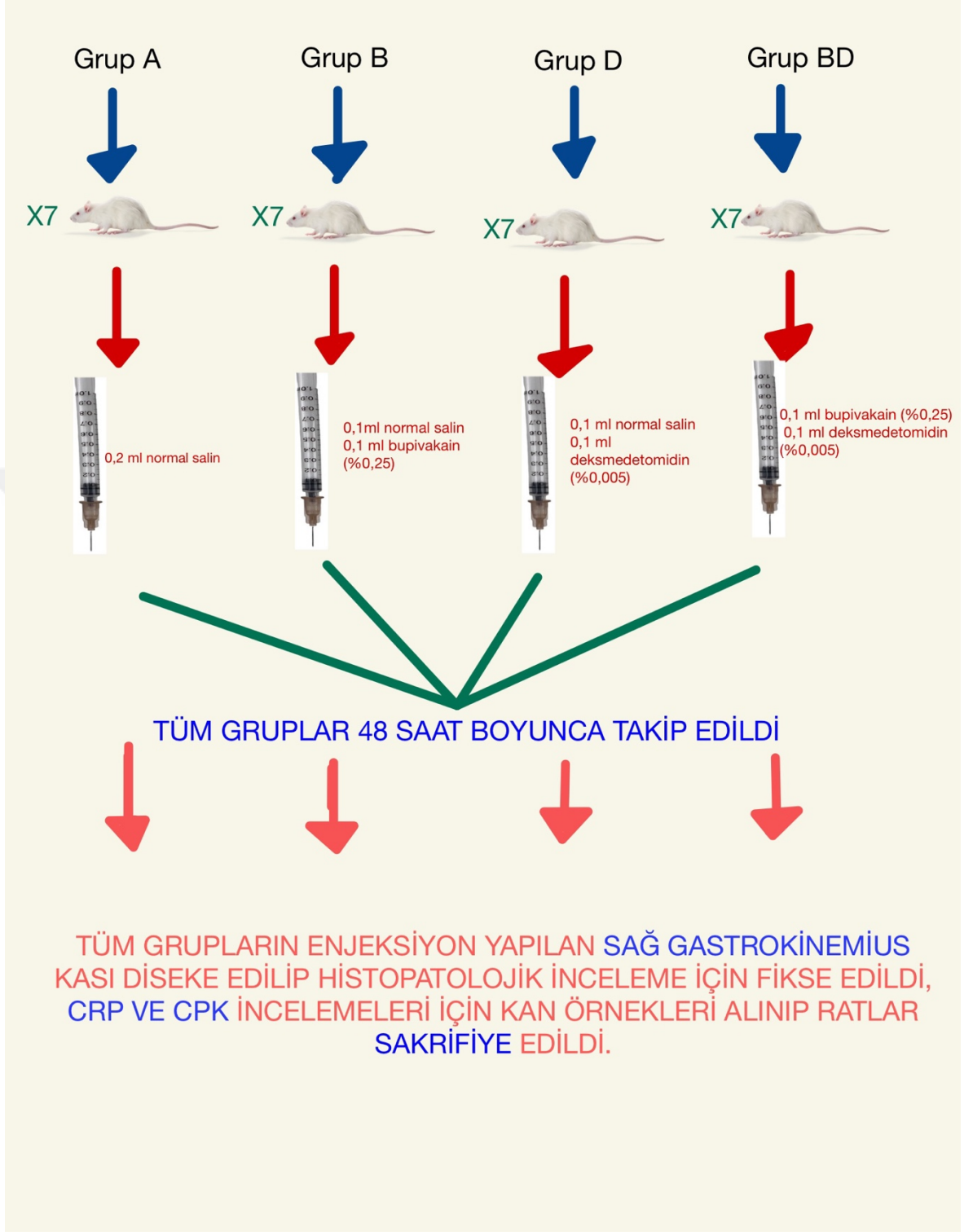
Çalışma başlangıcında ratlar randomize bir şekilde 4 gruba ayrıldı. Her bir gruptaki ratların sağ bacakları işaretlenerek gastrokinemius kaslarına enjeksiyon uygulandı.

Tablo 1. Hayvan grupları ve Kullanılacak İlaçlar

Grup	n	Verilecek ilaç	Hacim	Yöntem
A	7	Serum fizyolojik	0.2 ml	IM
B	7	Bupivakain	0.2 ml	IM
D	7	Deksmedetomidin	0.2 ml	IM
BD	7	Bupivakain+Deksmedetomidin	0.2 ml	IM

1. *Grup (Grup A)*: Sham grubu: 0.2 ml %0.9'luk normal salin
2. *Grup (Grup B)*: Bupivakain grubu: 0.1 ml %0.5'lik bupivakain, 0.1 ml %0.9 salin ile seyreltilerek %0.25'lik konsantrasyonda
3. *Grup (Grup D)*: Deksmetomidin grubu: 0.1 ml %0.01'lik deksmetomidin, 0.1 ml %0.9 salin ile seyreltilerek %0.005'lik konsantrasyonda
4. *Grup (Grup BD)*: Bupivakain+Deksmetomidin grubu: 0.1 ml %0.5'lik bupivakain, 0,1 ml %0.01'lik deksmetomidin ile seyreltilerek bupivakainin konsantrasyonu %0.25, deksmetomidin ise konsantrasyon %0.005 olacak şekilde intramusküler yoldan enjekte edildi.

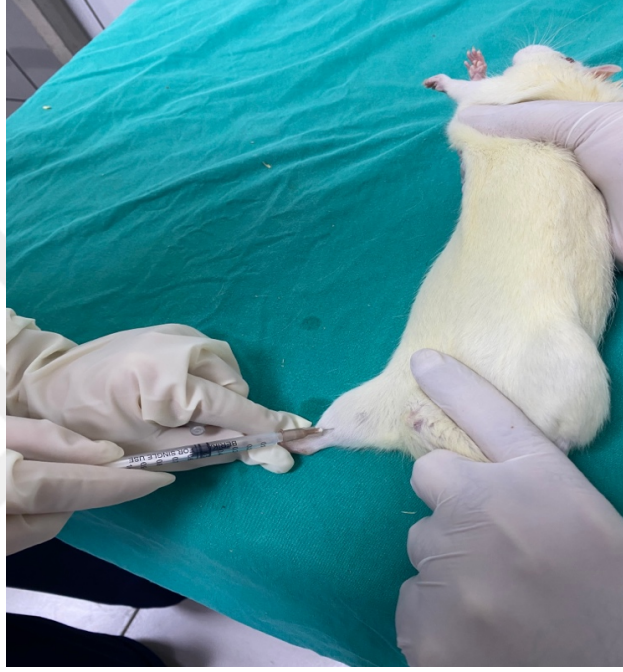




Şekil 5. Deney planı

Enjeksiyon için ratların sağ gastrokinemius kası kullanıldı (Şekil 6). Gruplarda hazırlanan medikasyonların enjeksiyonu, 30 G tüberkulin iğnesi ile, negatif

aspirasyondan sonra uygulandı. B ve BD gruplarına enjekte edilen lokal anestezi için ticari preparat olarak Buvicaine %0.5 20 ml flakon, Polifarma, konsantrasyonu %0.25 olacak şekilde 1:1 oranında seyreltilerek kullanıldı. D ve BD gruplarına enjekte edilen deksmedetomidin için ticari preparat olarak Dekstomid 200µg/2 ml, Polifarma, konsantrasyonu %0.005 olacak şekilde 1:1 oranında seyreltilerek kullanıldı.



Şekil 6. Ratlara intramusküler ilaç enjeksiyonu

Enjeksiyonları yapıldıktan sonra ratlar, her bir grup için ayrılmış kafeslere yerleştirildi. Enjeksiyondan sonraki 48. saatte ketamin anestezisi altında ratların enjeksiyon yapılan ekstremiteyi cilt dokusu diseksiyonundan sonra çıkarılarak daha önce etiketlenmiş %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Bu işlemden sonra bütün olarak tespit edilen ekstremitelerden gastrokinemius kası ayrıldı ve tekrar %10'luk formalin solüsyonuna konuldu. Ratlardan biyokimyasal inceleme için vena cava inferiorundan kan örnekleri alındı. İşlem sonlandırıldığında ratlar intrakardiyak kan alınma yöntemi ile sakrifiye edildi.



Şekil 7. Gastrokinemius kas örneklemeesi

SBÜ Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji bölümünde dokular 24 saat %10 formalin içerisinde tespit edildikten sonra %50, %70, %80, %96 ve %100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Daha sonra ksilenden geçirilerek şeffaflaştırılan dokular parafin içinde bir gece bekletilerek parafin bloklara yerleştirildi.

Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2155) ile 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak *hemotoksilen-eozin* ile boyandı ve ışık mikroskobu (Olimpus BX51) altında incelendi. Doku kesitlerinden mikro fotoğraflar (Zeiss Axio Imager M2) alındı, “*Benoit, Yagiela ve Ferrell*” skorum sistemi kullanılarak hasara dayalı skorum yapıldı ve değerlendirildi (41).

Tablo 2. *Benoit, Yagiela ve Ferrell* Hasar Skorlama Sistemi (41)

Skor	Hasar Durumu
0	Lif hasarı yok
1	Lokalize ve/veya seyrek lif yıkımı ve lokalize inflamatuvar hücre birikimi
2	Birkaç adet kas lifinde nekroz
3	Kas kitlesinin çoğunda (5'ten fazla lifte) destrüksiyon ve nekroz

3.3. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Verilerin analizi IBM SPSS 25.0 (Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (frekans, yüzde, ortalama, standart sapma, medyan, min-max) kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi, basıklık-çarpıklık (skewness- kurtosis) ve grafiksel yöntemler (histogram, Q-Q Plot, Stem and Leaf, Boxplot) ile değerlendirildi. Araştırmada, normal dağılım göstermeyen niceliksel verilerin gruplar arası karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Fark bulunan durumlarda farklılığın kaynağını bulmak için post-hoc Bofferroni düzeltmesi uygulandı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman's Rho Correlation testi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Ratlarda yaptığımız bu çalışmada biyokimyasal olarak CPK ve CRP değerleri, histopatolojik olarak daha önce benzer çalışmalarda kullanılan Benoit Skorlamasına göre kas dokusu hasarı incelendi. Çalışma sırasında rat kaybı yaşanmadı.

4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Enjeksiyondan sonra 2. günde yapılan diseksiyonda makroskopik olarak tüm hayvanlarda enjeksiyon alanı hafif ödemli görünümdeydi.

Tablo 3. Ratların Özellikleri

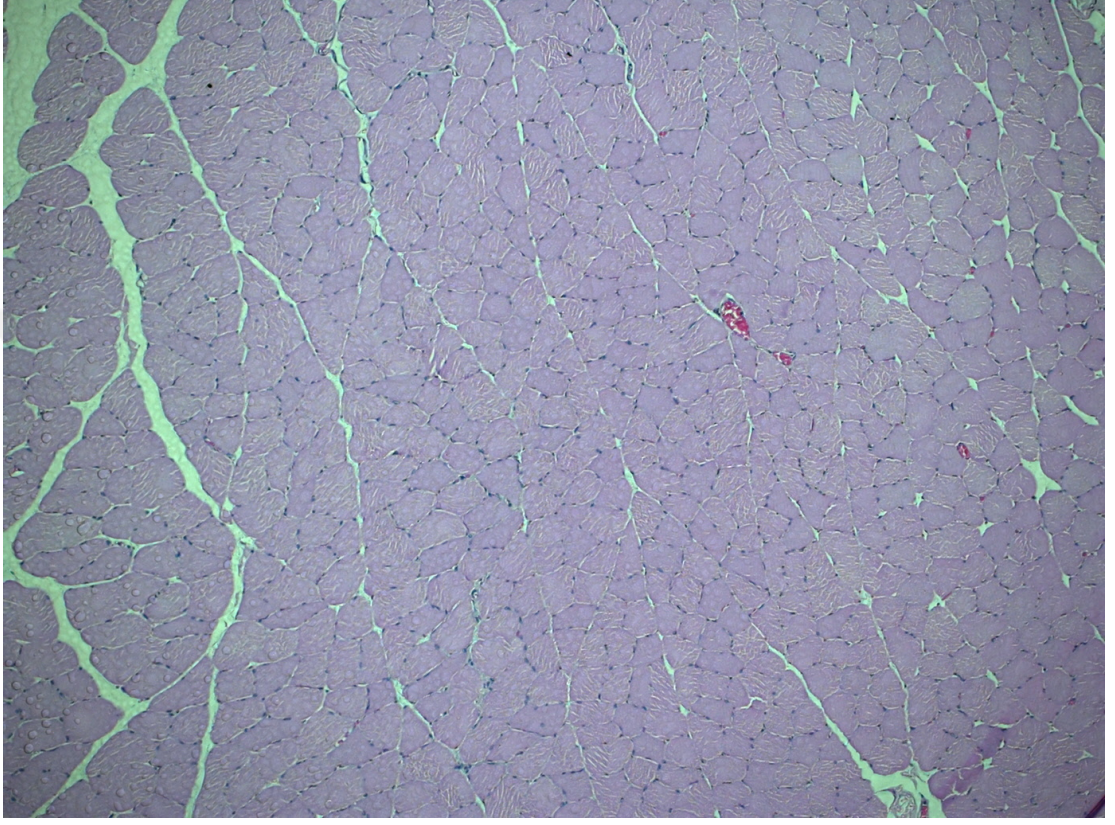
		n=28	%
Grup	Grup A	7	25,0
	Grup B	7	25,0
	Grup D	7	25,0
	Grup BD	7	25,0
Modifiye Benoit Skor*		1,1 ± 1,1	1,0 (0,0 – 3,0)
	0	11	39,3
	1	7	25,0
	2	5	17,9
	3	5	17,9
CPK*		1.193,1 ± 523,4	1.146,0 (514,0 – 2.562,0)
CRP*		0,2 ± 0,1	0,2 (0,1 – 0,3)
	0,1	13	46,4
	0,2	10	35,7
	0,3	5	17,9

Grup A: Kontrol, Grup B: Bupivakain, Grup D: Deksmetomidin, Grup BD: Bupivakain + Deksmetomidin

*: Ortalama ± Standart Sapma / Medyan (Min-Max)

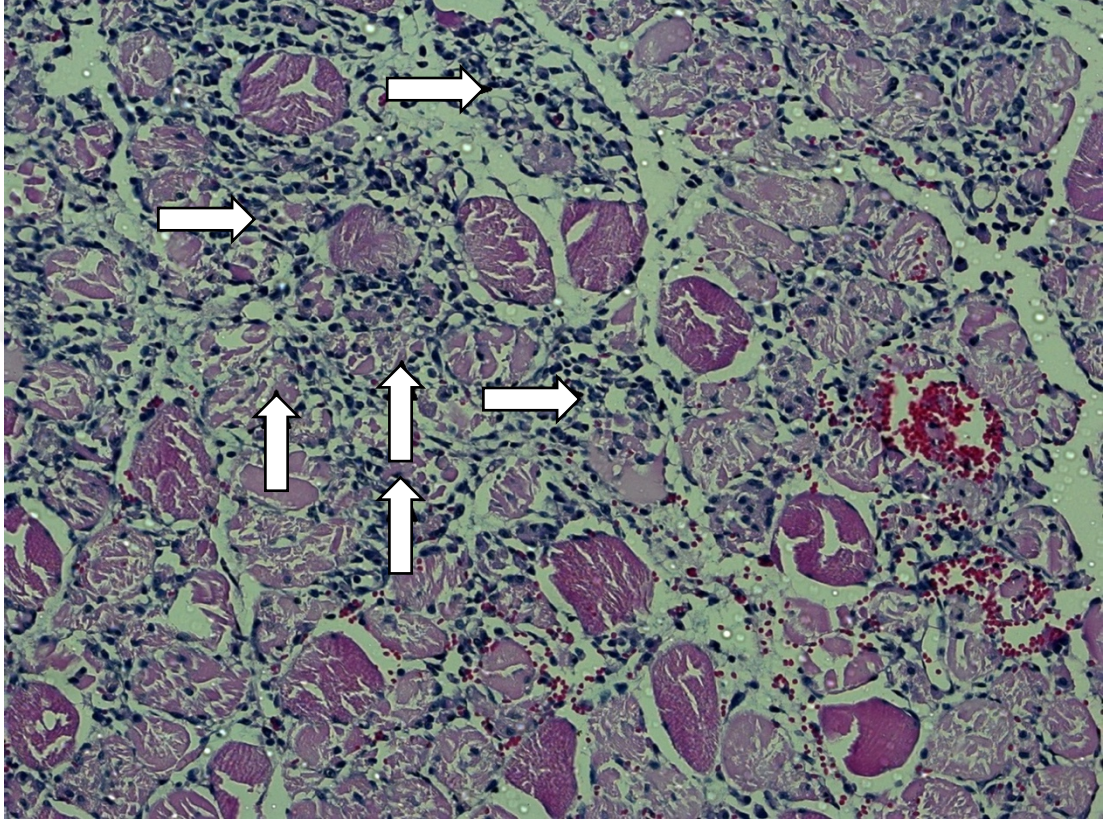
Alınan kas örneklerinin ışık mikroskopunda histopatolojik değerlendirilmesi esnasında çekilen fotoğraflar ve skorlar şekilde gösterilmektedir.

Mikroskopik değerlendirmede %0.9 serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan grupta (Grup A), örneklerin hiçbirinde kas liflerinde hasar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmedi (Şekil 8).



Şekil 8. Serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan bir rattan 2 gün sonra alınan ve histopatolojik skoru 0 olan kas örneği (HE x100). Kas dokusunda inflamasyon ve nekroz bulguları izlenmemektedir.

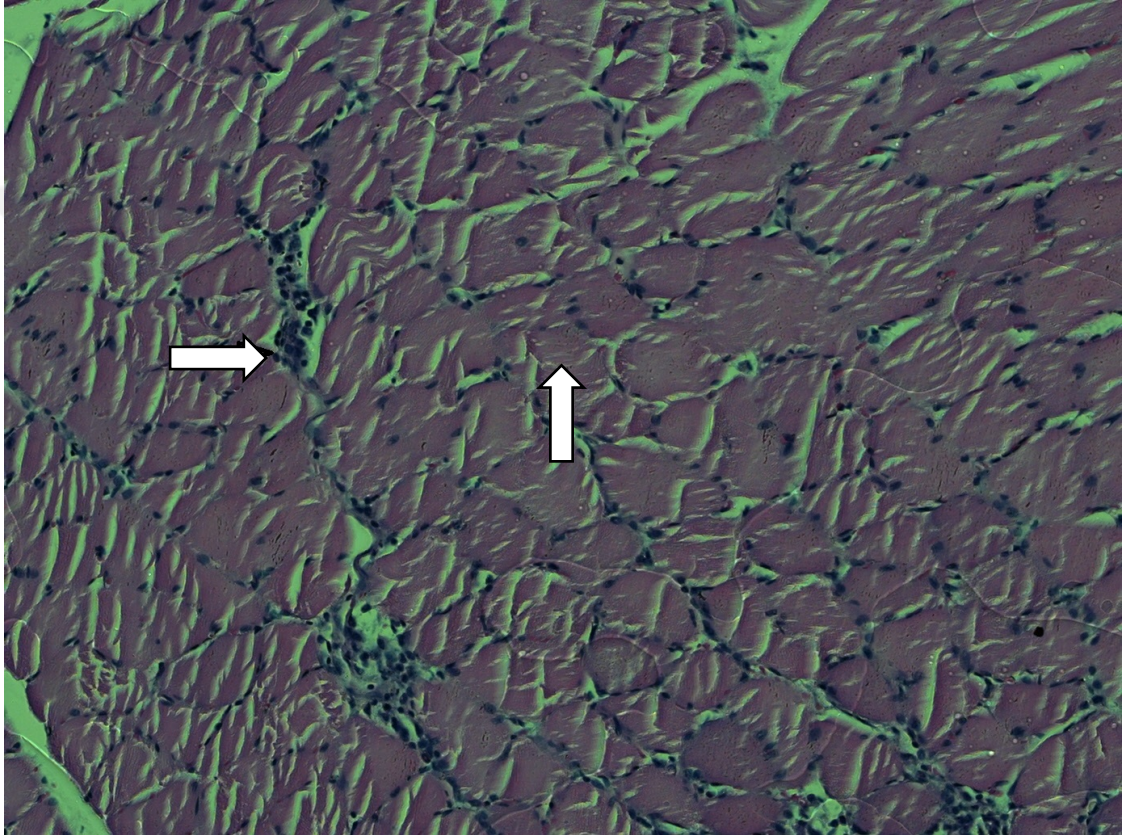
Bupivakain enjeksiyonu yapılan grupta (Grup B) örneklerin çoğunda miyofibriller arası yaygın mononükleer lökosit infiltrasyonu, yaygın nekrobiyotik değişiklik ve dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 9).



Şekil 9. Bupivakain enjeksiyonu sonrası, histopatolojik skoru 3 olan bir iskelet kasının görünümü (HEx 200). Kas lifleri arasında yoğun inflamatuvar hücre birikimi, kas liflerinde nekroz ve dejenerasyon.

(↑ : Nekrotik kas lifleri ⇨ : İnflamatuvar hücreler)

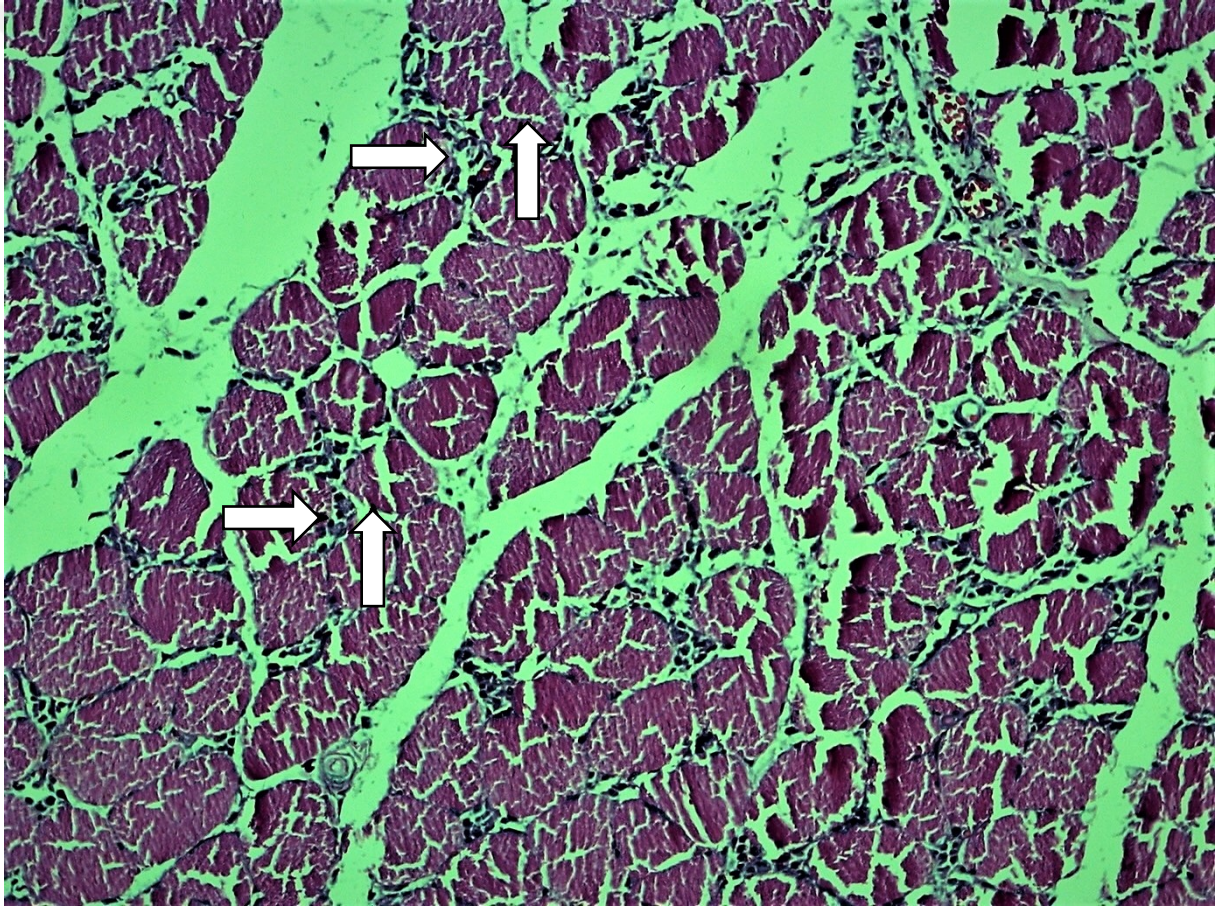
Deksmetomidin enjeksiyonu yapılan grupta (Grup D), görünüm genellikle serum fizyolojik grubu ile benzer özellikteydi. Bazı örneklerde kas lifleri arasında yalnızca fokal ve hafif yoğunlukta mononükleer hücre birikimi izlendi (Şekil 10).



Şekil 10. Deksmetomidin enjeksiyonu yapılan bir örnekte histopatolojik skoru 1 olan kas liflerinin görünümü (HE x200). Kas lifleri arasında hafif yoğunlukta mononükleer hücre birikimi.

(↑ : Normal görümlü kas lifi ⇒ : İnflamatuar hücreler)

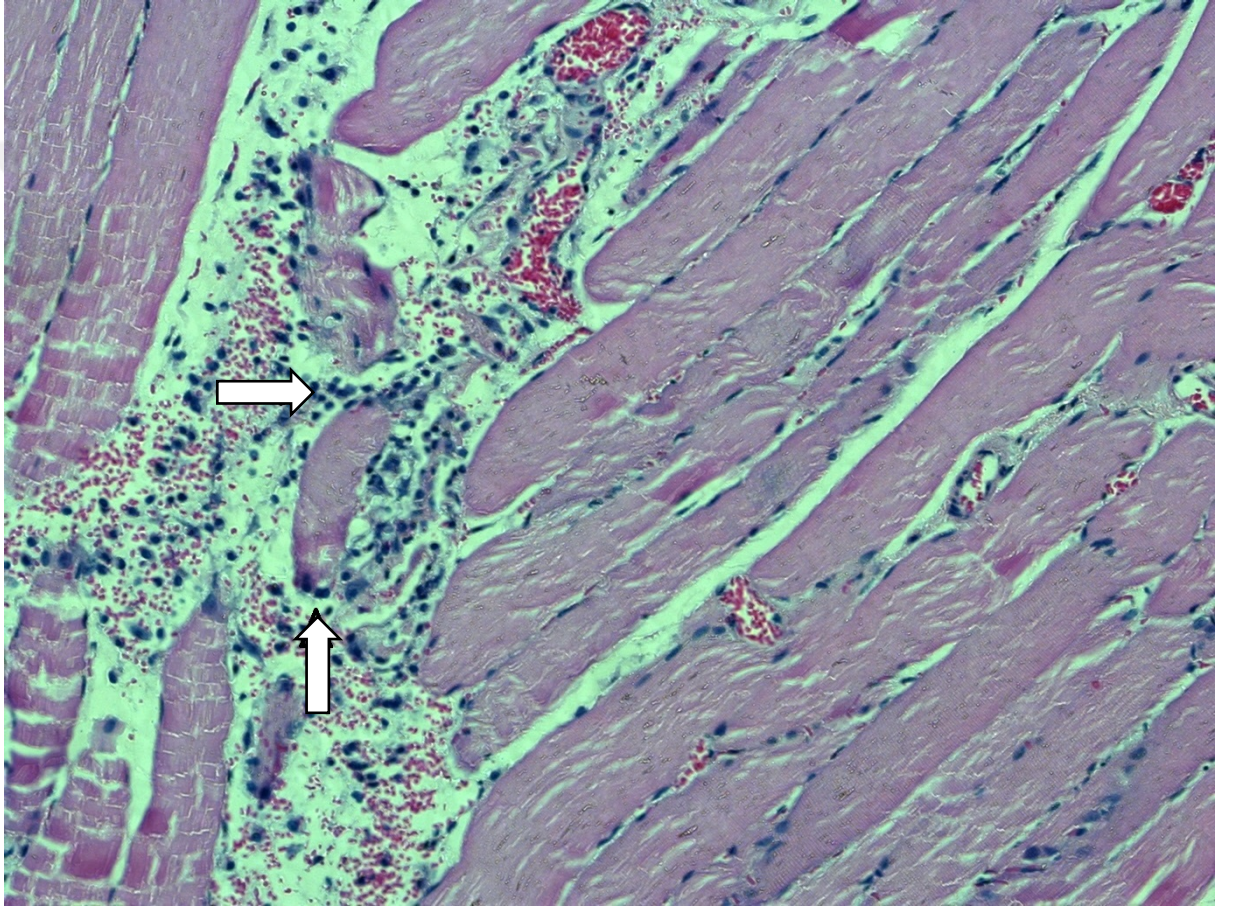
Bupivakain ve deksmedetomidinin birlikte enjekte edildiği grupta (Grup BD) ise yalnızca üç örnekte kas lifleri arasında hafif inflamasyon (skor 1) görüldü (Şekil 11).



Şekil 11. Bupivakain ve deksmedetomidin enjeksiyonu yapılan bir örnekte histopatolojik skoru 1 olan kas liflerinin görünümü (HE x200). Kas lifleri arasında mononükleer hücre birikimi.

(↑ : Normal görümlü kas lifleri ⇒ : İnflamatuar hücreler)

Bupivakain ve deksmedetomidinin birlikte verildiği grupta bazı örneklerde fokal inflamasyon ve bazı kas liflerinde hasar gözlemlendi (Skor 2). İnflamatuar hücreler baskın olarak lenfositlerden oluşmaktaydı. Bazı olgularda infiltratın içinde eozinofil lökositler de görüldü.



Şekil 12. Bupivakain ve deksmedetomidin enjekte edilen bir örnekte histopatolojik skoru 2 olan bir iskelet kasının görünümü (HE x200). Kas lifleri arasında hafif yoğunlukta inflammatuar hücre birikimi ile birkaç adet kas lifinde dejenerasyon.

(↑ : Nekrotik kas lifi ⇒ : İnflamatuar hücreler)

Tablo 4. Modifiye Benoit Skorun Gruplar Arası Karşılaştırılması

	Grup A (n=7)	Grup B (n=7)	Grup D (n=7)	Grup BD (n=7)	P*	Fark
Modifiye Benoit Skor*	0,00 ± 0,00,0 (0,0 -0,0)	2,57 ± 0,79 3,0 (1,0 -3,0)	0,43 ± 0,53 0,0 (0,0 -1,0)	1,57 ± 0,53 2,0 (1,0 -2,0)	<0,001 ^a	B ile A-D-BD BD ile A-B-D
0**	7 (%100,0)	--	4 (%57,1)	--		
1**	--	1 (%14,3)	3 (%42,9)	3 (%42,9)	--	--
2**	--	1 (%14,3)	--	4 (%57,1)		
3**	--	5 (%71,4)	--	--		

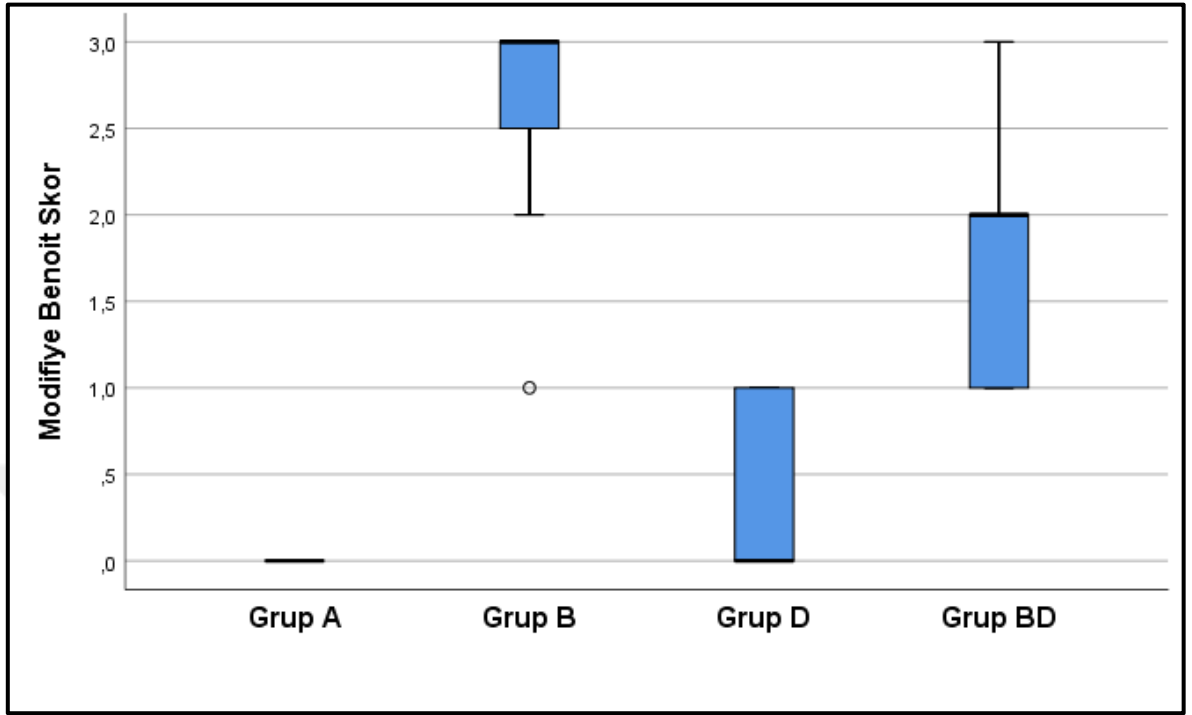
Grup A: Kontrol, Grup B: Bupivakain, Grup D: Deksmetomidin, Grup BD: Bupivakain + Deksmetomidin

a: Kruskal-Wallis Test, *: Mean ± SD / Median (Min-Max), **: n (%)

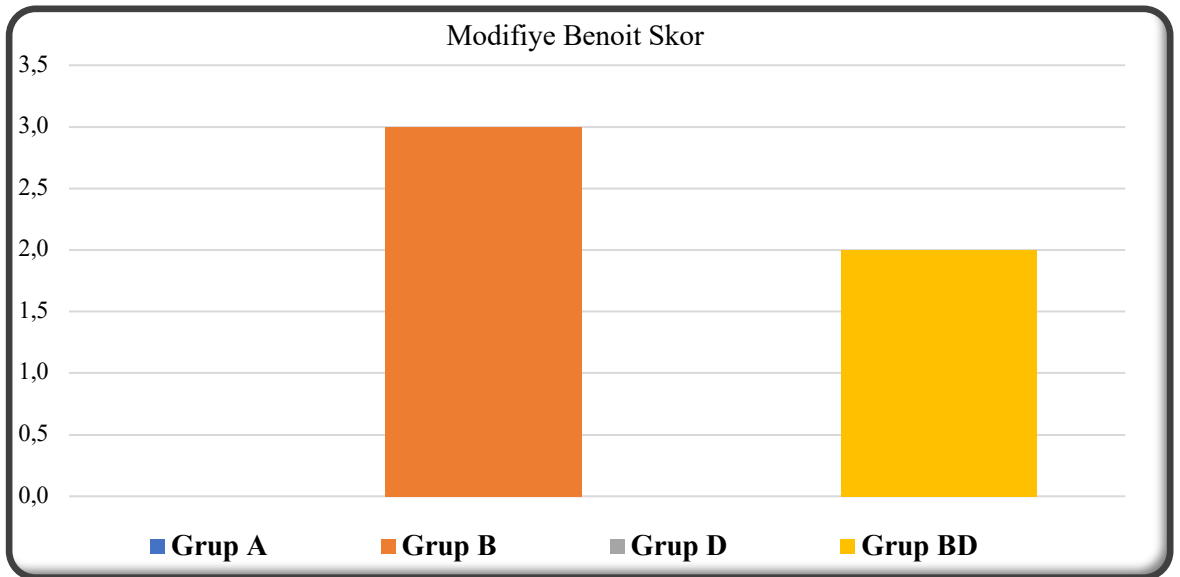
Gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda Modifiye Benoit Skor değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p < 0,05$) bulunmuştur. Farklılığın hangi grup/gruplardan kaynaklandığını bulmak için çoklu karşılaştırma (post-hoc) testler uygulanmış, Grup B ile diğer gruplar arasında fark olduğu, Grup B değerlerinin diğer gruplardan daha yüksek olduğu, ayrıca Grup BD ile diğer gruplar arasında fark olduğu, Grup BD değerlerinin Grup A-D değerlerinden daha yüksek, Grup B değerlerinden daha düşük olduğu bulunmuştur.

Kontrol grubundaki tüm ratların (Grup A) Modifiye Benoit skorları 0 idi. Bupivakain grubundaki ratların 5 tanesi en üst düzeyde etkilenmişti sadece bir rat skor 1 olarak saptandı. Deksmetomidin grubundaki ratların histopatolojik skorları 4 ratta

kontrol grubu ile aynı olarak saptanırken diğerleri 1 skorunu aldı. Deksmetomidin ve bupivakainin birlikte verildiği D grubunda ise 3 rat skor 1 aldı.



Şekil 13. Modifiye Benoit Skor Kutu Grafiği



Şekil 14. Modifiye Benoit Skorun Gruplar Arası Karşılaştırılması

4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Gruplar arasında alınan kan örneklerinin biyokimyasal analizi ile oluşturulan veriler Tablo 4.3'te gösterilmektedir.

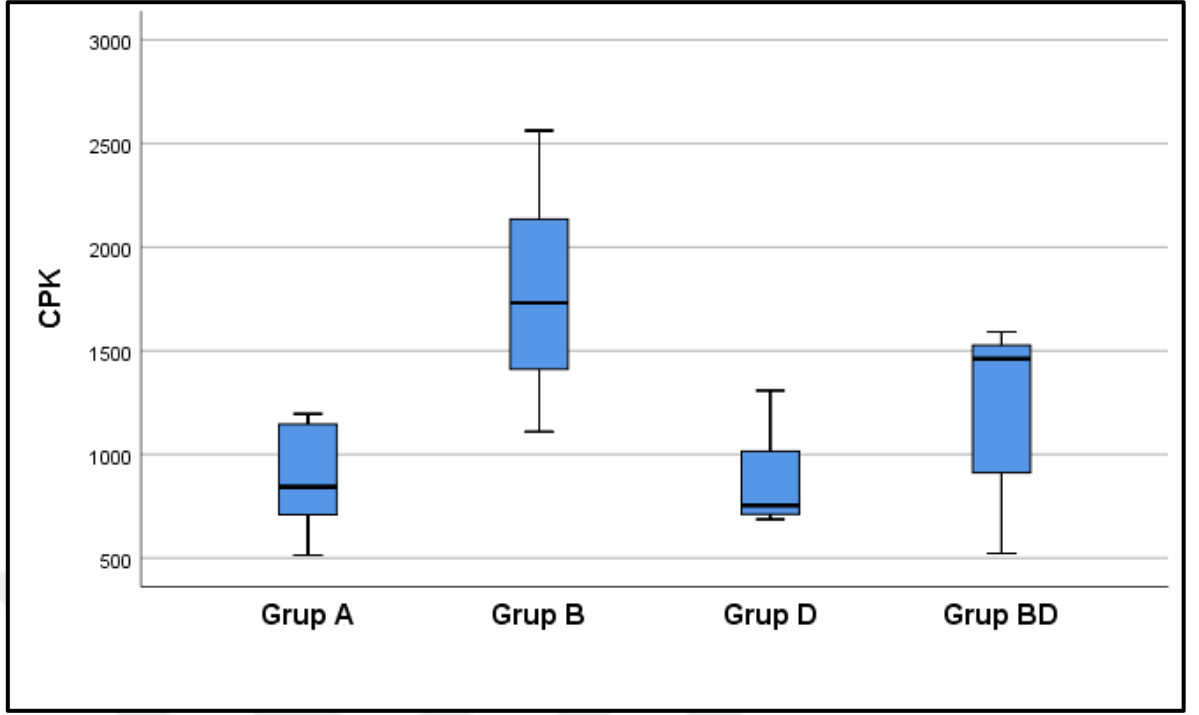
Tablo 5. CPK'nın Gruplar Arası Karşılaştırılması

	Grup A (n=7)	Grup B (n=7)	Grup D (n=7)	Grup BD (n=7)	P	Fark
	894,7 ± 270,6	1.784,9 ± 535,5	885,9 ± 258,3	1.207,0 ± 428,2		B
CPK*	844,0 (514,0–1.196,0)	1.731,0 (1.110,0–2.562,0)	753,0 (687,0–1.308,0)	1.462,0 (522,0–1.591,0)	0,007^a	ile A-D

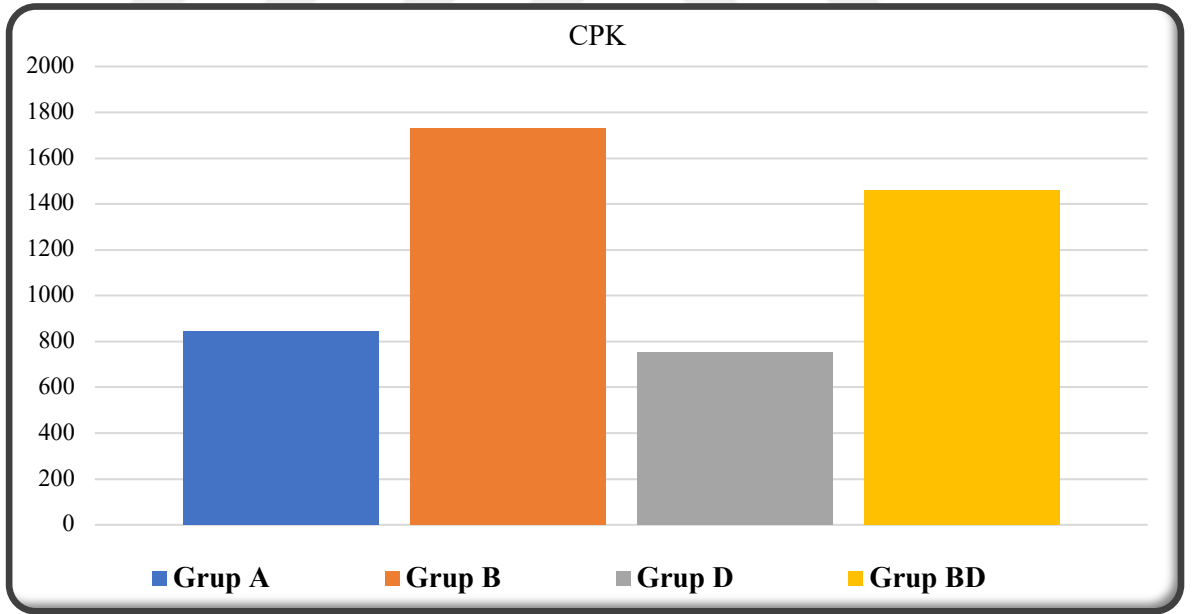
Grup A: Kontrol, Grup B: Bupivakain, Grup D: Deksmetomidin, Grup BD: Bupivakain + Deksmetomidin

a: Kruskal-Wallis Test, *: Mean ± SD / Median (Min-Max),

Gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda CPK değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p < 0,05$) bulunmuştur. Farklılığın hangi grup/gruplardan kaynaklandığını bulmak için çoklu karşılaştırma (post-hoc) testler uygulanmış, Grup B ile Grup A ve D arasında fark olduğu, Grup B değerlerinin en yüksek olduğu bulunmuştur.



Şekil 15. CPK Kutu Grafiği



Şekil 16. CPK'nın Gruplar Arası Karşılaştırılması

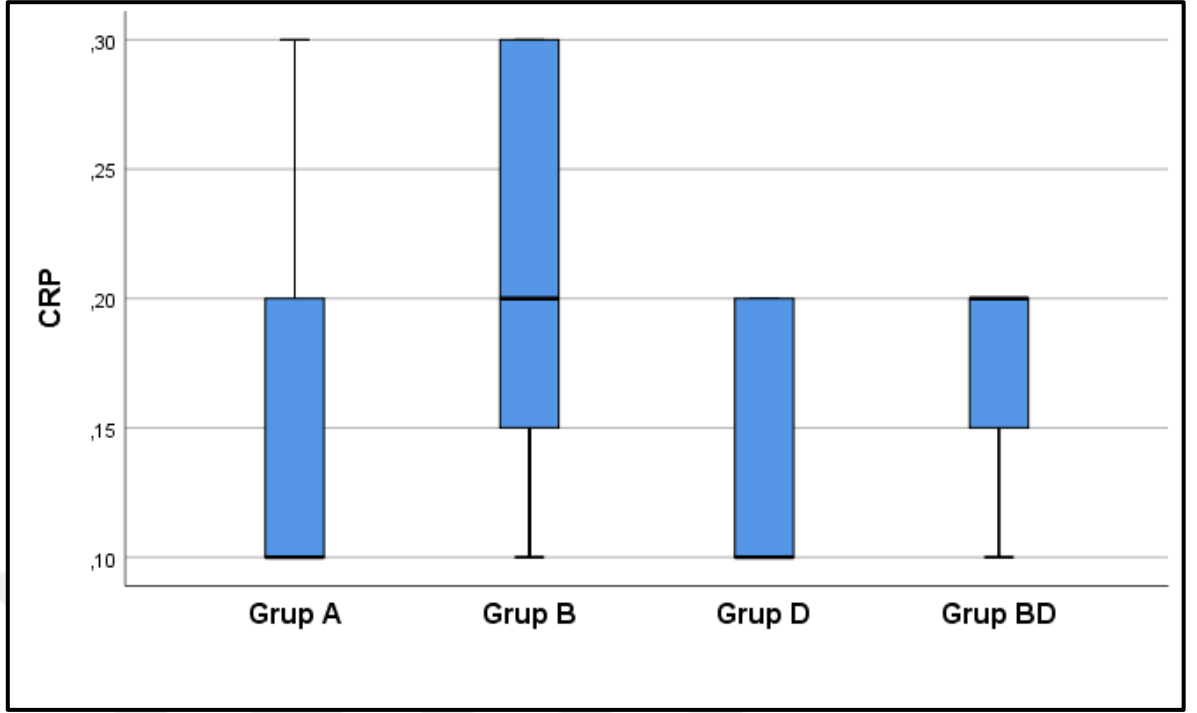
Tablo 6. CRP'nin Gruplar Arası Karşılaştırılması

	Grup A (n=7)	Grup B (n=7)	Grup D (n=7)	Grup BD (n=7)	P
CRP*	0,16 ± 0,10 0,10 (0,10 – 0,30)	0,21 ± 0,09 0,20 (0,10 – 0,30)	0,14 ± 0,05 0,10 (0,10 – 0,20)	0,17 ± 0,05 0,20 (0,10 – 0,20)	0,343 ^a
0,1* *	5 (%71,4)	2 (%28,6)	4 (%57,1)	2 (%28,6)	
0,2* *	--	2 (%28,6)	3 (%42,9)	5 (%71,4)	--
0,3* *	2 (%28,6)	3 (%42,9)	--	--	

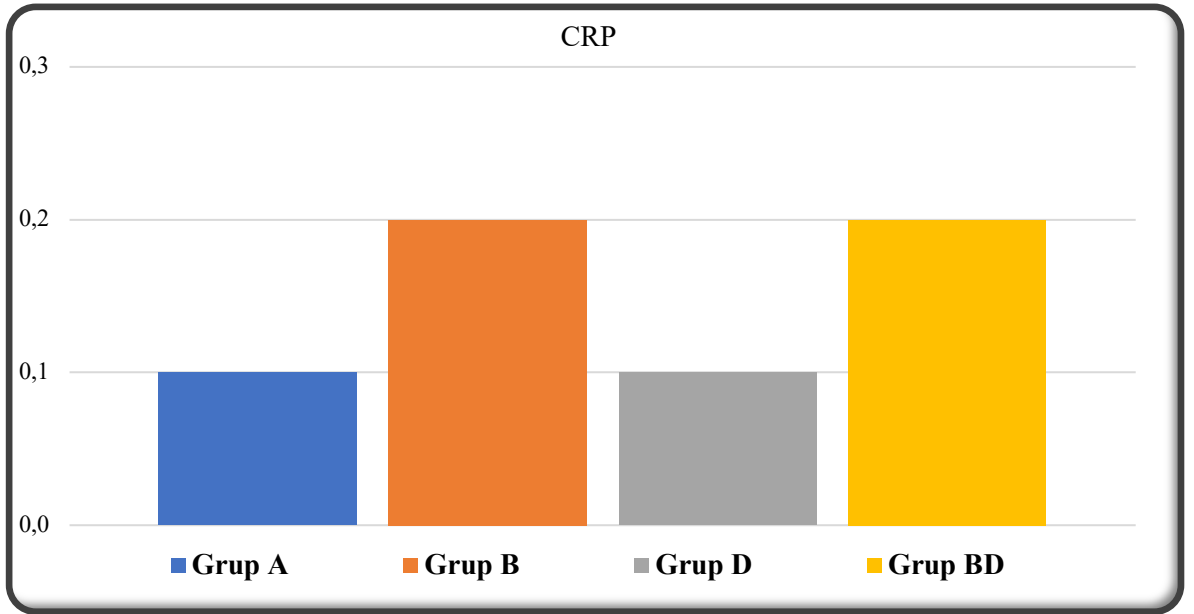
Grup A: Kontrol, Grup B: Bupivakain, Grup D: Deksmetomidin, Grup BD: Bupivakain + Deksmetomidin

a: Kruskal-Wallis Test, *: Mean ± SD / Median (Min-Max), **: n (%)

Gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda; CRP değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı (p>0,05) bulunmuştur.



Şekil 17. CRP Kutu Grafiği



Şekil 18. CRP'nin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Tablo 7. Modifiye Benoit Skor – CPK – CRP Arasındaki İlişkiler

	Modifiye Benoit Skor		CPK		CRP	
	r	P*	r	P*	r	P*
Modifiye Benoit Skor	1,000	--	0,827	<0,001	0,471	0,011
CPK	0,827	<0,001	1,000	--	0,669	<0,001
CRP	0,471	0,011	0,669	<0,001	1,000	--

*: Spearman's Rho Correlation Test,

Modifiye Benoit Skor – CPK – CRP arasındaki ilişkiler incelendiğinde:

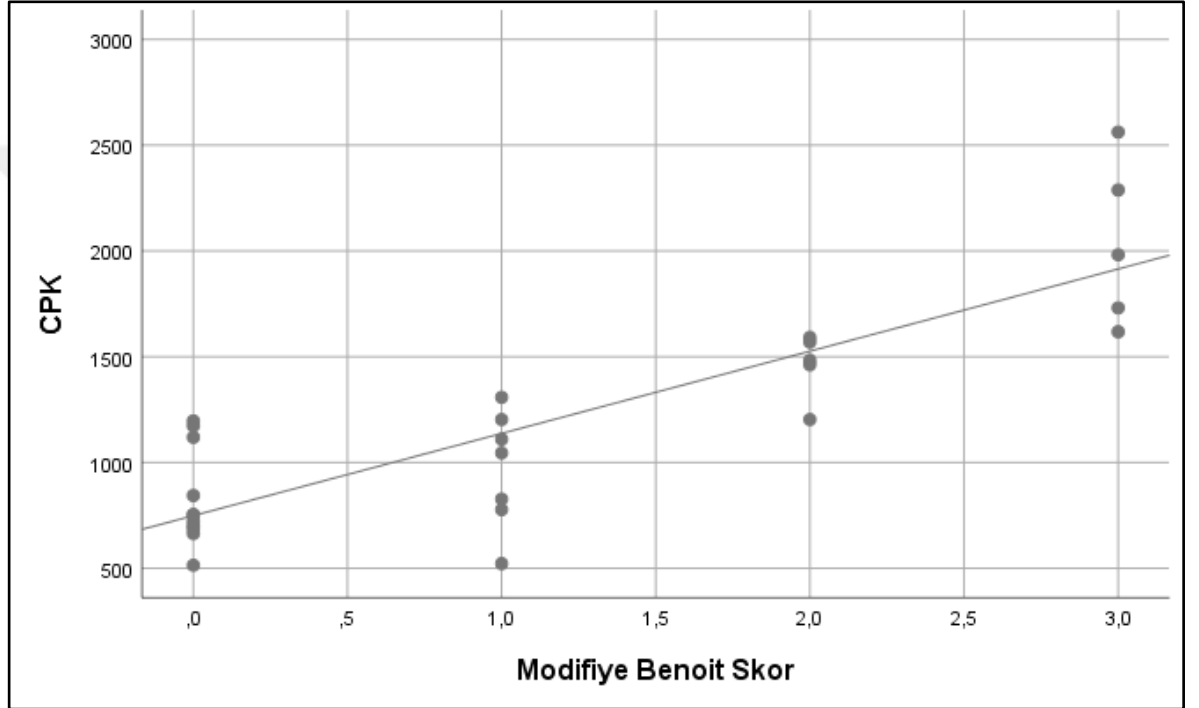
Modifiye Benoit Skor ile;

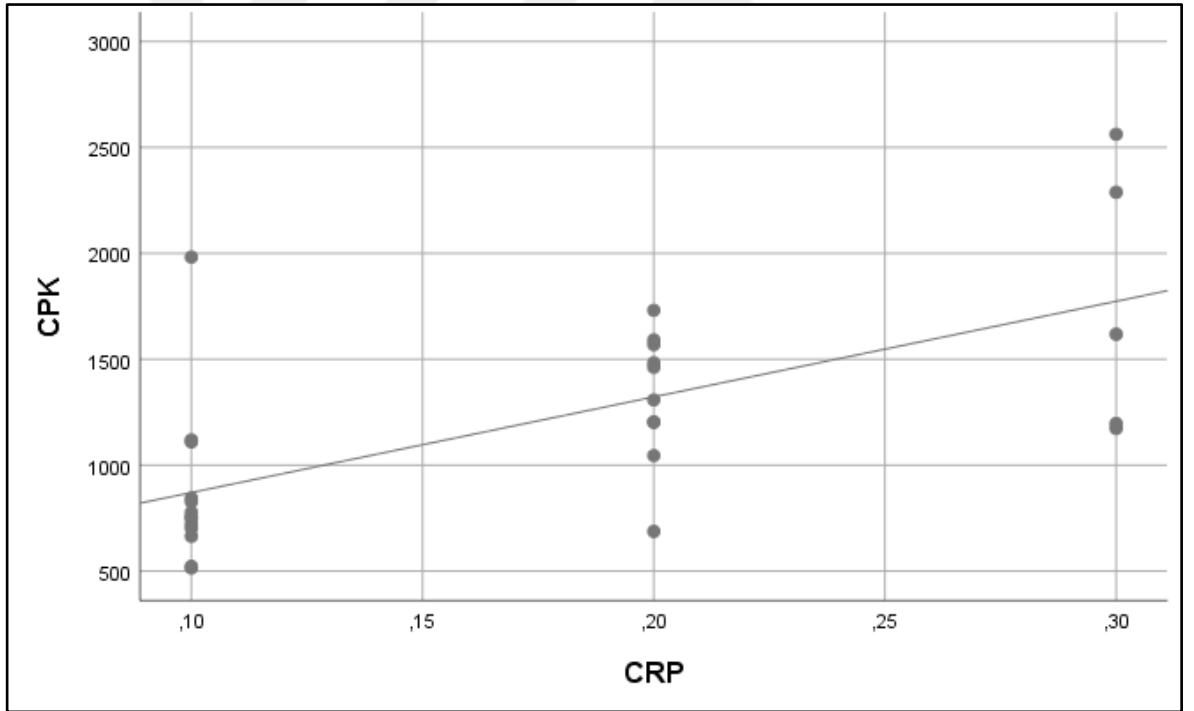
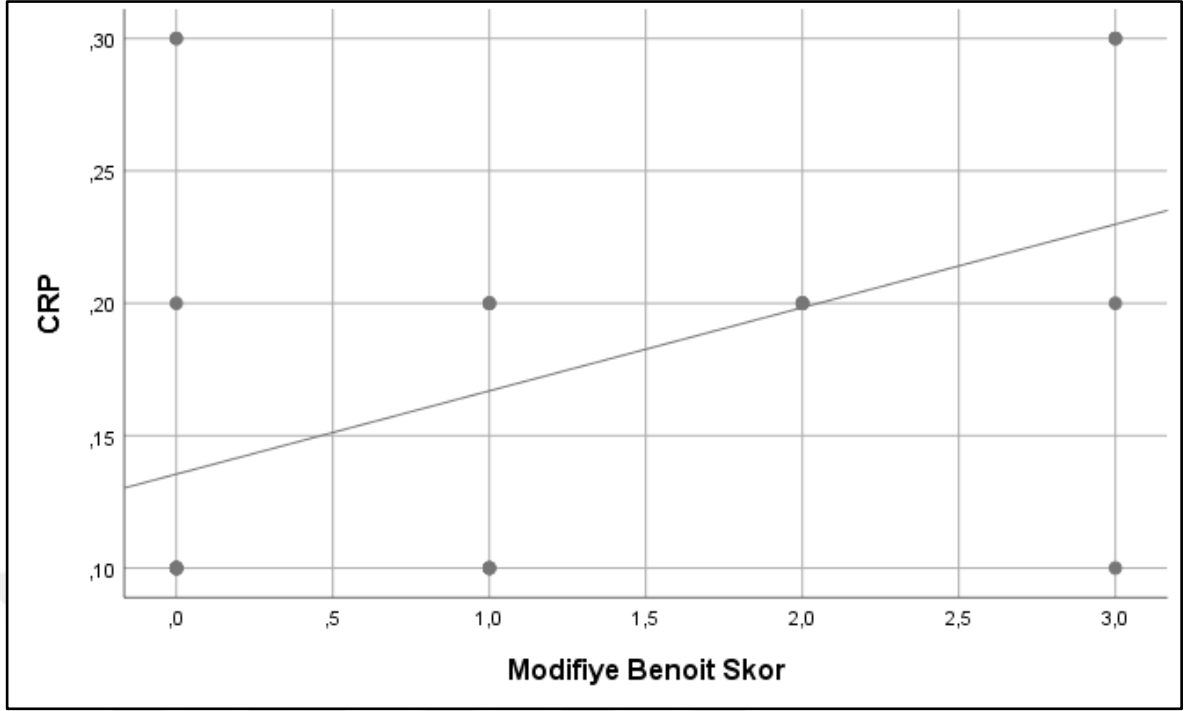
- CPK arasında, $r = 0,827$ düzeyinde, pozitif yönde (MBS'deki varyasyonun yaklaşık %68'ini açıklayabilmekte ($R^2=0,684$)),
- CRP arasında, $r = 0,471$ düzeyinde, pozitif yönde (MBS'deki varyasyonun yaklaşık %22'sini açıklayabilmekte ($R^2=0,222$)),

CPK ile;

- CRP arasında, $r = 0,669$ düzeyinde, pozitif yönde (CPK'daki varyasyonun yaklaşık %45'ini açıklayabilmekte ($R^2=0,448$)),

İlişkiler olduğu ve bu ilişkilerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p<0,05$) bulunmuştur.





Şekil 19. Modifiye Benoit Skor – CPK – CRP Arasındaki İlişkiler

5. TARTIŞMA

Etki süresi ve potensinin yüksek olması nedeniyle periferik bloklarda sıklıkla tercih edilen lokal anestezi bupivakaindir (42). Aynı zamanda bupivakain bilinen en yüksek miyotoksik etki potansiyeline sahiptir(3,6). Periferik blokların avantajları ve konforu sebebi ile kullanım sıklığının artması sonucu lokal anesteziğin toksik etki profili daha sık görülmeye başlanmıştır. Literatürde lokal anesteziğe bağlı miyotoksitenin nadir ve geri dönüşümlü olması nedeniyle klinik olarak önemsiz olduğu savunulmuş ancak kullanım sıklığının artmasıyla raporlanan miyonekroz ve ciddi kas fonksiyon bozukluğu giderek artmıştır (10). Bupivakainin miyotoksik etkilerini ve bunu nasıl azaltabileceğimizi araştırdık. Çalışmamızda miyotoksik etkisi yüksek olduğu bilinen bupivakaine eklenen deksmedetomidinin, bupivakaine bağlı miyotoksitenin histopatolojik ve biyokimyasal olarak nasıl etkilendiğini araştırdık.

Bupivakaine bağlı miyotoksitenin öyle dikkat çekmiştir ki; Metterline ve ark. bupivakaini rabdomiyosarkom hücre kültüründe bir antikanser ilacı olarak denemişlerdir. Bu çalışmalarında bupivakainin en çok farklılaşmış kas hücreleri üzerinde etkin olduğunu ve sırasıyla bu etkinin rabdomiyosarkom ve immortal farklılaşmamış kanser hücreleri üzerinde giderek azaldığını gözlemlemişlerdir (43). Literatürde bupivakainin ryanodin reseptörleri üzerinden hücre içi kalsiyum salınımına neden olarak hasar verdiği gösterilmiştir. Aynı zamanda bupivakainin sarkoplazmik retikulum kalsiyum emilimini de inhibe ettiği bilinmektedir. Sonuç olarak hücre içi kalsiyum konsantrasyonu toksik miktarlara ulaşmaktadır (44,45). Bupivakaine bağlı miyotoksitenin mitokondriyal fonksiyon bozulması ile yakından ilişkilendirilmiştir (46). Mitokondriyal fonksiyonları bozarak enerji metabolizmasını etkilemekte ve daha önce bahsettiğimiz kalsiyum üzerindeki etkilerini artırmaktadır (44). Nouette-Gaulain ve ark. insan rekombinant eritropoetin (rhEPO) uygulanmış ratlarda rhEPO etkisi ile mitokondriyal fonksiyonların korunmasının bupivakaine bağlı miyotoksik etkileri azaltabileceğini göstermişlerdir (47,48).

Öz Gergin ve ark. 40 rat üzerinde bupivakain, ropivakain ve levobupivakainin miyotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında bupivakainin diğer ajanlara göre daha fazla miyotoksik hasara neden olduğunu gösterdiler. Histopatolojide

miyonekrotik debris ve inflamatuvar hücreler tespit ettiler. Elektron mikroskopunda sarkoplazmik retikulumda vakuolizasyon ve mitokondriyal şişme gözlemlenildi. Bu bulgular literatürdeki patofizyoloji açıklayan çalışmalarla uyumluydu (49). Histopatolojide miyonekrozun en yüksek seviyesi ve nekrobiyotik değişikliklerin tüm göstergeleri bupivakain enjeksiyonundan 48 saat sonra en iyi gözlemlenmektedir (50,51). Foster ve ark. ratlarda yaptıkları çalışmada lokal anestezi ile im enjeksiyonla 200 µl volüm içinde vermişler ve bu volümün basınç hasarına neden olmadığını bildirmişlerdir (52) Nouette- Gaulain ve ark. ratlar üzerinde femoral sinir kateteri kullanılarak yaptıkları çalışmada bupivakainin miyotoksik etkisini incelediklerinde; maruziyet süresi ile toksik hasarın doğru orantılı şekilde arttığını gösterdiler (48). Ayrıca literatürde bupivakaine bağlı miyotoksitenin doz ile ilişkisi gösterilmiştir. Konsantrasyon arttıkça daha uzun süreli miyotoksitenin hatta kalıcı hasara neden olabileceği gösterilmiştir (53).

Biz de çalışmamızda literatürdeki bilgilere dayanarak B grubundaki ratların gastrokinemius kasına 200 µl volümde %0.25 konsantrasyonda bupivakain enjekte ederek miyositler üzerindeki 48.saatteki histopatolojik değişikliklerini inceledik. Sadece bupivakain uygulanan grupta histopatolojik olarak diğer tüm gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek ($p<0,001$) miyonekrotik değişiklikler izledik. Bu değişiklikler miyonekrotik kas fibrilleri, mononükleer inflamatuvar hücre birikimi üzerinden skorlandığında en yüksek skor olan 3, bupivakain grubundaki ratların %71,4'ünde gördük. Diğer gruplardaki ratlarda histopatolojik skor 3 izlenmedi.

Lokal anestezi etkilerini azaltmak ve etki sürelerini uzatmak amacıyla adjuvan ajanlar eklenmektedir. Literatürde buna örnek olarak pek çok çalışma bulunmaktadır. Lokal anesteziye eklenen steroid ve epinefrinin miyotoksitenin artırdığı bildirilmektedir (54,55). Guttu ve ark. lokal anesteziye steroid eklenmesinin miyotoksiten üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada bupivakaine steroid eklenmesinin miyotoksiteni belirgin şekilde artırdığını gösterdiler (54). Padera ve ark. ratlar üzerinde yaptığı çalışmada bupivakaine bir Na kanal blokörü olarak eklenen tetradotoksinin blok süresini anlamlı şekilde uzattığı ancak miyotoksiten üzerinde azaltıcı bir etkisi olmadığını gösterdiler (56). Plank ve ark. fare kas hücre kültüründe yaptıkları bir çalışmada bupivakaine dantrolen ve kafein

ekleyerek miyotoksik hasara etkilerini incelediler ve dantrolenin kalsiyum metabolizması üzerindeki etkisine bağılı olarak hasarı azalttığını, kafeinin ise arttırdığını buldular (57). Bir α -2 adrenoepsptör agonisti olan klonidin intratekal olarak eklendiğinde deksmedetomidin gibi bupivakaine bağılı bloğun süresini uzatmasına rağmen periferik bloklarda bupivakain gibi uzun etkili lokal anesteziyelerin etki süresine üzerine etkili olmadığı görüldü (58–60). Erdivanlı ve ark. ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada intratekal bupivakaine eklenen deksmedetomidinin analjezi kalitesini ve süresini doz bağımlı olarak arttırdığını ve deksmedetomidinin herhangi bir nörotoksisite ve inflamasyona neden olmadığını gösterdiler. Brummet ve ark. bupivakain ile kombine edilmiş deksmedetomidinin perinöral uygulamasının nörotoksisiteye sebep olmadan siyatik sinir bloğunda duysal ve motor blokaj süresinin arttırdığını, tek başına deksmedetomidinin ise anlamlı motor ve duysal bloğa neden olmadığını gösterdiler (4). Deksmetomidin bu etkilerini presinaptik olarak nosiseptif iletiyi engelleyerek ve postsinaptik α -2a reseptörleri ile postsinaptik iletimi hiperpolarize ederek gösterdiği sonucuna vardılar (61). Supraklavikuler blok, abdominal fasiyal alan bloklarında ve toraks duvarı fasiyal alan bloklarında bupivakaine deksmedetomidin eklenmesinin postoperatif ağrı skorlarını azalttığı ve bloğun süresini belirgin şekilde uzattığı gösterildi (62–65). Zhoushang Jin ve ark. yaptığı çalışmada bupivakaine eklenen deksmedetomidinin bupivakain ile indüklenen vazopermeabilite ilişkili protein üretimini azaltarak kardiyak toksisiteyi azalttığını bildirdiler (66). Yapılan bir çalışmada lipozomal bupivakaine eklenen deksmedetomidin ve deksametazonun etkileri karşılaştırılmış blok sürelerinin uzadığı ancak deksmedetomidin eklenen örneklerde daha az inflamasyon olduğu görüldü (67). Literatürde lokal anesteziyelerin miyotoksik etkileri ile ilgili yakın zamanda yapılan bir derlemede lokal anesteziyelere eklenen deksmedetomidin veya deksametazonun miyotoksisite üzerine etkilerini konu edinen bir çalışma olmadığından bahsedilmiş ve bu konuda yapılacak deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Literatürde deksmedetomidinin miyotoksisitesini konu alan herhangi bir deneysel çalışma bulunmamaktadır (68).

Biz de daha önceki çalışmalarla blok süresini uzattığı ve doku inflamasyonunu azalttığı gösterilen deksmedetomidinin miyotoksik hasar üzerine etkisinin olup olmadığını göstermeyi hedefledik. Dekmedetomidin dozu ratlar için literatürdeki

yayınlarına göre hesaplanarak %0.005 konsantrasyonda 200 µl volümde enjekte edildi (69) . Deksmetomidinin tek başına uygulandığı D grubunda histopatolojik olarak kontrol grubuna yakın skorlar bulduk. D grubundaki ratların kas örneklerinin %57.1'inde kontrol grubu ile aynı bulgulara rastlarken %42.9'unda lokalize miyofibril hasarı ve lokalize inflamatuvar hücre birikimi gözlemlendi. Deksmetomidin ve bupivakainin beraber uygulandığı BD grubunda skorların grup A ve D den daha yüksek ancak B grubundan daha düşük olduğu görüldü. Histopatolojik değerlendirmelerimizin sonucunda deksmedetomidinin tek başına miyotoksisiteye neden olmadığı ve bupivakaine bağlı miyotoksisiteyi istatistik olarak anlamlı düzeyde azalttığı görüldü ($p<0.001$).

Deksmetomidinin tek başına gösterdiği analjezik özelliği ile bupivakainin kullanılması gereken konsantrasyonlarını azaltabileceğinden bupivakain kaynaklı miyotoksisiteyi de azalatacağını düşünüyoruz.

Yapılan randomize kontrollü bir çalışmada düşük doz intramusküler deksmedetomidin (1 µg.kg-1) premedikasyonunun, klinik olarak anlamlı bradikardi veya hipotansiyon olmaksızın preoperatif sedasyona neden olduğu gösterilmiştir (70). Biz de çalışmamızda benzer şekilde deksmedetomidin uyguladığımız D ve BD grubu ratlarda sedasyon etkisini gözlemledik.

Nosaka ve ark. insan biceps kasına bupivakain enjeksiyonu sonrası plazma kreatin fosfokinaz (CPK) seviyelerinin yükseldiğini ve bu artışın verilen bupivakainin dozu ve dolayısıyla kas hasarı miktarı ile doğru orantılı olduğunu gösterdiler (71). Bizim çalışmamızda literatürdeki benzer çalışmalara paralel şekilde CPK değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($p<0,05$) bulunmuştur. Grup B ile Grup A ve D arasında fark olduğu, Grup B değerlerinin en yüksek olduğu bulunmuştur. Deksmetomidin eklediğimiz BD grubunda ise CPK değeri B grubu kadar yüksek bulunmamıştır.

Yapılan birçok çalışmada intraoperatif uygulanan deksmedetomidinin perioperatif stres ve inflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir. İntraoperatif ve postoperatif interlökin-6, tümör nekrozis faktör- α gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığı, CRP seviyelerini düşürdüğü, epinefrin, nörepinefrin, kortizol salınımını azalttığı raporlanmıştır. He ve ark. doxorubusin ile hasar indüklenmiş miyokard hücre

kültürlerinden deksmedetomidin eklenmiş grupta oksidatif stresin ve apoptozisin daha az olduğunu gözlemlediler (72). Çalışmamızda inflamatuvar yanıtı değerlendirmek için biyokimyasal olarak CRP değerlerini inceledik. Gruplar arası yapılan karşılaştırmalarda, CRP değerleri yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur. Bu sonuç literatürde bupivakainin miyotoksik etkisinin lokal olduğu ve sistemik inflamasyona neden olmadığını gösteren çalışmalarla uyumludur. Literatürde deksmedetomidinin inflamatuvar yanıtı azaltıcı etkileri bir cerrahi ya da kanser gibi stres faktörünün olduğu vakalarda gözlemlenmiştir. Çalışmamızda herhangi bir stres faktörü bulunmadığından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Modifiye Benoit Skor – CPK – CRP arasındaki ilişkiler incelendiğinde Modifiye Benoit Skor ile; CPK arasında güçlü düzeyde ilişki bulunurken, CRP arasında zayıf düzeyde ilişki bulunmuştur. Bu durum bize yüksek CPK değerlerinin yüksek histopatolojik hasarla yakından ilişkili olduğunu ve miyosit hasarını tahmin etmede kullanabileceğimizi düşündürdü.

Çalışmamızın kısıtlılıklarından bahsedecek olursak CRP değerlendirirken sistemik inflamasyona neden olacak insizyon, cerrahi stres maruziyeti gibi bir faktörümüz bulunmamaktadır. Bu nedenle CRP değerlerinde anlamlı bir değişikliğe rastlamadığımızı düşünüyoruz. Ayrıca ratların intramusküler ilaç enjeksiyon öncesine ait CRP ve CPK değerleri bulunmamaktadır bu nedenle karşılaştırma yapma imkanımız olmamıştır.

Her ne kadar lokal anesteziye bağlı miyotoksisite, bu ilaçların nadir ve geri dönüşümlü bir yan etkisi olarak görülse de özellikle oküler kaslar gibi düşük hacimli kaslarda, daha önce hasar bulunan kaslarda ve mevcut kas hastalığı olanlarda ciddi klinik sorunlara neden olabilmektedir. Lokal anesteziğin sürekli infüzyonları ve tekrarlayan enjeksiyonları da ciddi klinik hasarlara sebep olabilir.

Geriatrik yaş grubunda eşlik eden hastalıklar sebebi ile genel anestezi risklerinden kaçınmak için bölgesel alan blokları tercih edilmektedir. Özellikle oftalmik cerrahilerde peribulber ve retrobulber bloklar tercih edilmektedir. Bu bloklarda kullanılan lokal anesteziye bağlı ekstraoküler kaslarda gelişen miyotoksik

hasar diplopi ve şaşılık olarak karşımıza çıkmaktadır (73,74). Parris ve ark. miyofasiyal ağrı sendromu tedavisi amacıyla bupivakain kullanarak yaptıkları tetik nokta enjeksiyonları sonucunda perikapsüler bölgede ağrı ile karakterize, trapezius kasında atrofi geliştiğini raporladılar (75).

Bu nedenle klinisyenler miyotoksisite gerçeğini unutmadan tek doz enjeksiyonlarla daha uzun süreli anestezi ve analjeziyi hedeflemeli ve miyotoksisiteyi azalttığı düşünülen adjuvanlardan faydalanmalıdır.



6. SONUÇ

Günümüzde inraoperatif anestezi ve postoperatif analjezi amacı ile kullanılan alan blokları ve periferik sinir bloklarına, postoperatif derlenme sürelerinde azalma, opioid kullanımının azalması ve hastaneden kalış süresini kısaltması gibi olumlu etkileri nedeni ile ilgi artmıştır.

Bu uygulamalarda sıklıkla uzun etki süresi ve yüksek potensi nedeniyle en çok tercih edilen ajan bupivakaindir ancak yüksek lipofilitesi nedeniyle miyotoksitesini en fazla olan ajandır. Periferik sinir ve alan bloklarının artan popülaritesi beraberinde toksik etki görülme riskini artırmıştır. Lokal anesteziyelere hem etki sürelerinin uzatmak hem de toksik etkilerini azaltmak gibi amaçlarla adjuvan ajanlar eklenebilmektedir.

Çalışmamızda Wistar albino cinsi ratlar üzerinde lokal inflamasyonu azalttığı bilinen deksmedetomidini kullanarak miyotoksitesini azaltmayı hedefledik. Deksmetomidinin tek başına miyotoksik etkisini gözlemlemezken bupivakaine bağlı miyotoksitesini önemli ölçüde azalttığımızı gördük. Ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Shams D, Sachse K, Statzer N, Gupta RK. Regional Anesthesia Complications and Contraindications. *Clin Sports Med.* 2022 Apr;41(2):329–43.
2. Brummett CM, Norat MA, Palmisano JM, Lydic R. Perineural administration of dexmedetomidine in combination with bupivacaine enhances sensory and motor blockade in sciatic nerve block without inducing neurotoxicity in rat. *Anesthesiology.* 2008 Sep;109(3):502–11.
3. Zink W, Graf BM. Local anesthetic myotoxicity. Vol. 29, *Regional Anesthesia and Pain Medicine.* 2004. p. 333–40.
4. Brummett CM, Norat MA, Palmisano JM, Lydic R. Perineural Administration of Dexmedetomidine in Combination with Bupivacaine Enhances Sensory and Motor Blockade in Sciatic Nerve Block without Inducing Neurotoxicity in Rat. *Anesthesiology.* 2008 Sep 1;109(3):502–11.
5. Rwei AY, Sherburne RT, Zurakowski D, Wang B, Kohane DS. Prolonged Duration Local Anesthesia Using Liposomal Bupivacaine Combined With Liposomal Dexamethasone and Dexmedetomidine. *Anesth Analg.* 2018 Apr;126(4):1170–5.
6. Zink W, Seif C, Bohl JRE, Hacke N, Braun PM, Sinner B, et al. The Acute Myotoxic Effects of Bupivacaine and Ropivacaine After Continuous Peripheral Nerve Blockades. *Anesth Analg.* 2003 Oct;1173–9.
7. Irwin W, Fontaine E, Agnolucci L, Penzo D, Betto R, Bortolotto S, et al. Bupivacaine myotoxicity is mediated by mitochondria. *Journal of Biological Chemistry.* 2002 Apr 5;277(14):12221–7.
8. Mao Q, Yu W, Liu S, Cao X, Dai Y, Zhang X, et al. Downregulation of HSPA12A underlies myotoxicity of local anesthetic agent bupivacaine through inhibiting PGC1 α -mediated mitochondrial integrity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2022 Jan 1;434.
9. Neal JM, Salinas F v., Choi DS. Local Anesthetic-Induced Myotoxicity After Continuous Adductor Canal Block. *Reg Anesth Pain Med.* 2016;41(6):723–7.
10. Hussain N, McCartney CJL, Neal JM, Chippor J, Banfield L, Abdallah FW. Local anaesthetic-induced myotoxicity in regional anaesthesia: a systematic review and empirical analysis. Vol. 121, *British Journal of Anaesthesia.* Elsevier Ltd; 2018. p. 822–41.
11. Tobe M, Suto T, Saito S. The history and progress of local anesthesia: multiple approaches to elongate the action. Vol. 32, *Journal of Anesthesia.* Springer Tokyo; 2018. p. 632–6.
12. Lirk P, Hollmann MW, Strichartz G. The science of local anesthesia: Basic research, clinical application, and future directions. Vol. 126, *Anesthesia and Analgesia.* Lippincott Williams and Wilkins; 2017. p. 1381–92.

13. Kayhan Z. Lokal Anestezikler. In: Klinik Anestezi. 3. Baskı. İstanbul: Logos Yayıncılık; 2004. p. 503–23.
14. Freeman BS. Anesthesiology Core Review: Part One Basic Exam □ Chapter 57: Local Anesthetics.
15. Perrin SL, Bull C, Rowe R, Black S. Local anaesthetic drugs Learning objectives.
16. Wallace A. Clinical Pharmacology for Anesthesiology □ Chapter 12: Local Anesthetics.
17. Garip L, Lapre R, Soetens F, van Herrevege I. Local Anesthetics: Clinical Pharmacology and Selection. In: Hadzic A, Lopez A, editors. Hadzic's Peripheral Nerve Blocks and Anatomy for Ultrasound Guided Regional Anesthesia. 3rd ed. McGraw-Hill Education ; 2021. p. 32–42.
18. Fda, Cder. Precedex (dexmedetomidine hydrochloride) injection label [Internet]. Available from: www.fda.gov/medwatch.
19. Afonso J, Reis F. Dexmedetomidine: Current Role in Anesthesia and Intensive Care. Vol. 62, Revista Brasileira de Anestesiologia.
20. Panzer O, Moitra V, Sladen RN. Pharmacology of Sedative-Analgesic Agents: Dexmedetomidine, Remifentanyl, Ketamine, Volatile Anesthetics, and the Role of Peripheral Mu Antagonists. Vol. 25, Critical Care Clinics. 2009. p. 451–69.
21. Coursin DB, Coursin DB, Maccioli GA. Dexmedetomidine. 2001.
22. Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. Alpha-2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role. Vol. 54, Anaesthesia. 1999. p. 146–65.
23. Weiskopf RB. CLINICAL CONCEPTS AND COMMENTARY [Internet]. 2000. Available from: <http://pubs.asahq.org/anesthesiology/article-pdf/93/5/1345/401463/0000542-200011000-00030.pdf>
24. Chrysostomou C, Schmitt CG. Drug Evaluation Dexmedetomidine: sedation, analgesia and beyond. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2008;4(5):619–27.
25. Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colincio MD. The Effects of Increasing Plasma Concentrations of Dexmedetomidine in Humans [Internet]. Vol. 93, Anesthesiology. 2000. Available from: <http://pubs.asahq.org/anesthesiology/article-pdf/93/2/382/408504/0000542-200008000-00016.pdf>
26. Nelson LE, Lu J, Guo T, Saper CB, Franks NP, Maze M, et al. The 2-Adrenoceptor Agonist Dexmedetomidine Converges on an Endogenous Sleep-promoting Pathway to Exert Its Sedative Effects [Internet]. Vol. 98, Anesthesiology. 2003. Available from: www.anesthesiology.org.
27. BLAINE EASLEY R, BRADY KM, TOBIAS JD. Dexmedetomidine for the treatment of postanesthesia shivering in children. Pediatric Anesthesia. 2007 Apr;17(4):341–6.
28. Venn RM, Hell J, Michael Grounds R. Respiratory effects of dexmedetomidine in the surgical patient requiring intensive care. Crit Care. 2000;4(5):302.
29. Andersen JH, Jaeger P, Grevstad U, Estrup S, Geisler A, Vilhelmsen F, et al. Systemic dexmedetomidine is not as efficient as perineural dexmedetomidine in prolonging an ulnar nerve block. Reg Anesth Pain Med. 2019 Mar;44(3):333–40.

30. El-Boghdady K, Brull R, Sehmbi H, Abdallah FW. Perineural Dexmedetomidine Is More Effective Than Clonidine When Added to Local Anesthetic for Supraclavicular Brachial Plexus Block. *Anesth Analg*. 2017 Jun;124(6):2008–20.
31. Liu L, Qian J, Shen B, Xiao F, Shen H. Intrathecal dexmedetomidine can decrease the 95% effective dose of bupivacaine in spinal anesthesia for cesarean section. *Medicine*. 2019 Mar;98(9):e14666.
32. Hogan Q, Dotson R, Erickson S, Kettler R, Hogan K. Local Anesthetic Myotoxicity: A Case and Review. *Anesthesiology*. 1994 Apr 1;80(4):942–6.
33. Han SK, Kim JH, Hwang JM. Persistent diplopia after retrobulbar anesthesia. *J Cataract Refract Surg*. 2004 Jun;30(6):1248–53.
34. Gómez-Arnau JJ, Yangüela J, González A, Andrés Y, García del Valle S, Gili P, et al. Anaesthesia-related diplopia after cataract surgery. *Br J Anaesth*. 2003 Feb;90(2):189–93.
35. Brun A. EFFECT OF PROCAINE, CARBOCAIN AND XYLOCAINE ON CUTANEOUS MUSCLE IN RABBITS AND MICE. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1959 Jun;3(2):59–73.
36. Plank C, Hofmann P, Gruber M, Bollwein G, Graf BM, Zink W, et al. Modification of Bupivacaine-Induced Myotoxicity with Dantrolene and Caffeine In Vitro. *Anesth Analg*. 2016 Feb;122(2):418–23.
37. Carlson BM, Emerick S, Komorowski TE, Rainin EA, Shepard BM. Extraocular Muscle Regeneration in Primates. *Ophthalmology*. 1992 Apr;99(4):582–9.
38. Bohlmeier TJ, Wu AH, Perryman MB. Evaluation of laboratory tests as a guide to diagnosis and therapy of myositis. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994 Nov;20(4):845–56.
39. Bessman SP, Carpenter CL. The creatine-creatine phosphate energy shuttle. *Annu Rev Biochem*. 1985;54:831–62.
40. Stanley M, Chippa V, Aeddula NR, Quintanilla Rodriguez BS, Adigun R. Rhabdomyolysis. 2022.
41. Benoit PW, Yagiela JA, Ferrell Fort N, Benoit PW, Fort JA. Pharmacologic Correlation between Local Anesthetic-Induced Myotoxicity and Disturbances of Intracellular Calcium Distribution I Pharmacologic Correlation between Local Anesthetic-Induced Myotoxicity and Disturbances of Intracellular Calcium Distribution. Vol. 52, TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY. 1980.
42. Finneran JJ, Ilfeld BM. Chapter 46: Peripheral Nerve Blocks. In: Morgan & Mikhail's Clinical Anesthesiology. 2022. p. 975–1107.
43. Metterlein T, Hoffmann P, Späth R, Gruber M, Graf BM, Zink W. In vitro myotoxic effects of bupivacaine on rhabdomyosarcoma cells, immortalized and primary muscle cells. *Cancer Cell Int*. 2015 Jul 29;15(1).
44. Zink W, Graf BM, Sinner B, Martin E, Fink RHA, Kunst G. Differential Effects of Bupivacaine on Intracellular Ca²⁺ Regulation Potential Mechanisms of Its Myotoxicity [Internet]. Vol. 97, *Anesthesiology*. 2002. Available from: <http://pubs.asahq.org/anesthesiology/article-pdf/97/3/710/335403/0000542-200209000-00026.pdf>


45. Shoshan-Barmatz V, Zchut S. The interaction of local anesthetics with the ryanodine receptor of the sarcoplasmic reticulum. *J Membr Biol.* 1993 Apr;133(2):171–81.
46. Irwin W, Fontaine E, Agnolucci L, Penzo D, Betto R, Bortolotto S, et al. Bupivacaine myotoxicity is mediated by mitochondria. *Journal of Biological Chemistry.* 2002 Apr 5;277(14):12221–7.
47. Nouette-Gaulain K, Ge Bellance N, Pré B, Passerieux E, Pertuiset C, Galbes O, et al. Erythropoietin Protects against Local Anesthetic Myotoxicity during Continuous Regional Analgesia [Internet]. Vol. 110, *Anesthesiology.* 2009. Available from: <http://pubs.asahq.org/anesthesiology/article-pdf/110/3/648/368426/0000542-200903000-00033.pdf>
48. Nouette-Gaulain K, Bringuier S, Canal-Raffin M, Bernard N, Lopez S, Dadure C, et al. Time course of mitochondrial metabolism alterations to repeated injections of bupivacaine in rat muscle. *Canadian Journal of Anesthesia.* 2010;57(9):836–42.
49. Öz Gergin Ö, Yildiz K, Bayram A, Sencar L, Coşkun G, Yay A, et al. Comparison of the myotoxic effects of levobupivacaine, bupivacaine, and ropivacaine: An electron microscopic study. *Ultrastruct Pathol.* 2015 May 1;39(3):169–76.
50. Yildiz K, Efesoy SN, Ozdamar S, Yay A, Bicer C, Aksu R, et al. Myotoxic effects of levobupivacaine, bupivacaine and ropivacaine in a rat model. *Clin Invest Med.* 2011 Oct 1;34(5):E273.
51. Horiguchi T, Shibata MA, Ito Y, Eid NAS, Abe M, Otsuki Y. Macrophage apoptosis in rat skeletal muscle treated with bupivacaine hydrochloride: Possible role of MCP-1. *Muscle Nerve.* 2002 Jul;26(1):79–86.
52. Foster AH, Carlson BM, Myotoxicity . M : Myotoxicity of Local Anesthetics and Regeneration of the Damaged Muscle Fibers [Internet]. Available from: <http://journals.lww.com/anesthesia-analgesia>
53. Zhang C, Phamonvaechavan P, Rajan A, Poon DY, Topcu-Yilmaz P, Guyton DL. Concentration-dependent bupivacaine myotoxicity in rabbit extraocular muscle. *Journal of AAPOS.* 2010 Aug;14(4):323–7.
54. Guttu RL, Page DG, Laskin DM. Delayed healing of muscle after injection of bupivacaine and steroid. *Ann Dent.* 1990;49(1):5–8.
55. Benoit PW. Reversible skeletal muscle damage after administration of local anesthetics with and without epinephrine. *J Oral Surg.* 1978 Mar;36(3):198–201.
56. Padera RF, Tse JY, Bellas E, Kohane DS. Tetrodotoxin for prolonged local anesthesia with minimal myotoxicity. *Muscle Nerve.* 2006 Dec;34(6):747–53.
57. Plank C, Hofmann P, Gruber M, Bollwein G, Graf BM, Zink W, et al. Modification of Bupivacaine-Induced Myotoxicity with Dantrolene and Caffeine In Vitro. *Anesth Analg.* 2016 Feb;122(2):418–23.

58. Culebras X, Van Gessel E, Hoffmeyer P, Gamulin Z. Clonidine combined with a long acting local anesthetic does not prolong postoperative analgesia after brachial plexus block but does induce hemodynamic changes. *Anesth Analg*. 2001 Jan;92(1):199–204.
59. Kanazi GE, Aouad MT, Jabbour-Khoury SI, Al Jazzar MD, Alameddine MM, Al-Yaman R, et al. Effect of low-dose dexmedetomidine or clonidine on the characteristics of bupivacaine spinal block. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2006 Feb;50(2):222–7.
60. Duma A, Urbanek B, Sitzwohl C, Kreiger A, Zimpfer M, Kapral S. Clonidine as an adjuvant to local anaesthetic axillary brachial plexus block: a randomized, controlled study. *Br J Anaesth*. 2005 Jan;94(1):112–6.
61. Erdivanli B, Altun M, Sezen ÖK, Çolakoğlu SA. REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA Anti-Nociceptive, Analgesic and Pathohistological Effects of Intrathecal Dexmedetomidine and Bupivacaine in Rats [Internet]. Vol. 63, *Rev Bras Anesthesiol*. 2013. Available from: www.sba.com.br
62. Manzoor S, Taneja R, Sood N, Puri A, Kadayaprath G. Comparative study to assess the quality of analgesia of bupivacaine and bupivacaine with dexmedetomidine in ultrasound-guided pectoral nerve block type I and II in breast surgeries. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2018 Apr 1;34(2):227–31.
63. Campoy L, Martin-Flores M, Boesch JM, Moyal MN, Gleed RD, Radhakrishnan S, et al. Transverse abdominis plane injection of bupivacaine with dexmedetomidine or a bupivacaine liposomal suspension yielded lower pain scores and requirement for rescue analgesia in a controlled, randomized trial in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. *Am J Vet Res*. 2022 Sep 1;83(9).
64. El Sherif FA, Abdel-Ghaffar H, Othman A, Mohamed S, Omran M, Shouman S, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine Administered as an Adjunct to Bupivacaine for Transversus Abdominis Plane Block in Patients Undergoing Lower Abdominal Cancer Surgery. *J Pain Res*. 2022;15:1–12.
65. Aksu R, Patmano G, Biçer C, Emek E, Çoruh AE. Efficiency of bupivacaine and association with dexmedetomidine in transversus abdominis plane block ultrasound guided in postoperative pain of abdominal surgery. *Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)*. 2018 Jan;68(1):49–56.
66. Jin Z, Xia F, Lin T, Cai Y, Chen H, Wang Y. Dexmedetomidine may decrease the bupivacaine toxicity to heart. *Open Medicine (Poland)*. 2021 Jan 1;16(1):1070–5.
67. Rwei AY, Sherburne RT, Zurakowski D, Wang B, Kohane DS. Prolonged duration local anesthesia using liposomal bupivacaine combined with liposomal dexamethasone and dexmedetomidine. *Anesth Analg*. 2018 Apr 1;126(4):1170–5.
68. Hussain N, McCartney CJL, Neal JM, Chippor J, Banfield L, Abdallah FW. Local anaesthetic-induced myotoxicity in regional anaesthesia: a systematic review and empirical analysis. Vol. 121, *British Journal of Anaesthesia*. Elsevier Ltd; 2018. p. 822–41.

69. Miller DL, Dou C, Dong Z, Raghavendran K. The Influence of Dexmedetomidine on Ultrasound-induced Pulmonary Capillary Hemorrhage in Rats. *Ultrasound Med Biol*. 2016 Apr;42(4):964–70.
70. Sun Y, Liu C, Zhang Y, Luo B, She S, Xu L, et al. Low-dose intramuscular dexmedetomidine as premedication: a randomized controlled trial. *Med Sci Monit*. 2014 Dec 18;20:2714–9.
71. Nosaka K, Sakamoto K. Changes in plasma enzyme activity after intramuscular injection of bupivacaine into the human biceps brachii. *Acta Physiol Scand*. 1999 Nov;167(3):259–65.
72. He Y, Yang Z, Li J, Li E. Dexmedetomidine reduces the inflammation and apoptosis of doxorubicin-induced myocardial cells. *Exp Mol Pathol*. 2020 Apr 1;113.
73. Wong MB aS FRCPC DH, Wong DH. Review Article Regional anaesthesia for intraocular surgery.
74. Gómez-Arnau JI, Yangüela J, González A, Andrés Y, García del Valle S, Gili P, et al. Anaesthesia-related diplopia after cataract surgery. *Br J Anaesth*. 2003 Feb;90(2):189–93.
75. Parris WC, Dettbarn WD. Muscle atrophy following nerve block therapy. *Anesthesiology*. 1988 Aug;69(2):289.

8. EKLER

8.1. EK: ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.S.B.
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi
"Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Karar Defteri"

Toplantı No: 0074 31.01.2023

PROJENİN ADI (Varsa Kodu): Ratlarda Bupivakain ve Deksmetomidin ile kombine edilmiş Bupivakain'nin lokak miyotoksisite ve inflamasyon üzerine etkilerinin karşılaştırılması.

SORUMLU ARAŞTIRMACI : Prof.Dr.Erkan Yavuz AKÇABOY, Tıpta Uzmanlık Tezi
Ankara Şehir Hastanesi **Anestezi ve Reanimasyon Kliniği**
(Ast.Dr.Gülay Yalçın, Prof.Dr.Erkan Yavuz Akçaboy, Uzm.Dr.Miyase Serap Diker, Uzm.Dr.Ülker Kargece Yalçın, Prof.Dr.Zeynep Nur Akçaboy, Uzm.Dr.Mustafa Cem Yılmaz)

ARAŞTIRMAYI DESTEKLEYEN KURULUŞ(LAR):

KARAR:
719.Çalışmanın Protokol, usul, yaklaşım ve yöntem yönünden "ETİK" değerlendirmesinde "UYGUN" "OLDUĞUNA"/"OLMADIĞINA" "OYBİRLİĞİ" / "OYÇOKLUĞU" ile karar verilmiş ve araştırma için belirlenen tüm hayvan, uygulama, tetkik ve girişimlerin bedellerinin araştırma grubunca karşılanması kaydı ile çalışmanın yapılmasına ve Hastanemiz arşiv bilgi ve belgelerinin ve Hayvan Deneyleri Laboratuvarı'nın kullanılmasına "İZİN" "VERİLMİŞTİR" / "VERİLMEMİŞTİR".

20.	Dr. Merve KART	Ankara SUAM	Sağlık	18-49 yaş grubu kadınların Human Papilloma virüs bilgi düzeylerinin servikal kanser tarama yöntemlerini kullanma ve aşılama durumu ile ilişkisi	Kabul Edildi.
21.	Dr. Merve KAYIKÇI KIŞOĞLU	Ankara SUAM	Sağlık	Covid-19 pandemisinin astım hastalığının kontrolü ne yönetimi üzerindeki etkisinin incelenmesi	Kabul Edildi.
22.	Dr. Merve ALPTEKİN	Ankara SUAM	Şehir	Akut lenfoblastik lösemi tanılı hastalarda transfüzyonel demir yüklenmesinin oksidatif stres ve hepatotoksiste ile ilişkisi	Kabul Edildi.
23.	Dr. Gülay YALÇIN	Ankara SUAM	Şehir	Ratlarda Bupivakain ve Deksmetomidin ile Kombine Edilmiş Bupivakainin Lokal Miyotoksiste ve İnflamasyon Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması	Kabul Edildi.
24.	Dr. Felat AKINCI	Ankara SUAM	Şehir	Dev guatr nedeniyle bilateral total tiroidektomi yapılan hastalarla U-flep yöntemi ile standart orta hat yaklaşımının retrospektif olarak karşılaştırılması	Kabul Edildi.: Retrospektif çalışma olarak belirtilmiş. Hastaların ses analizleri ve yutmaları değerlendirileceği belirtilmiş. Retrospektif bir çalışmada bu verilerin nasıl değerlendirileceği konusunda revizyon yapılması şartıyla.
25.	Dr. Burcu TAMTÜRK	Ankara SUAM	Sağlık	Bipolar bozukluk veya şizofreni ve ilişkili bozukluk tanıları olan psikiyatri hastalarında birinci basamak başvuru sıklığı ve bu hasta grubunun takibinde aile hekimliğinin rolü	Kabul Edildi: Çalışma prospektif anket çalışması olarak tanımlanmış. 2 ayda başvuran 6250 hasta üzerinden örneklem büyüklüğü oluşturulmuş. Hangi 2 ay (eski başvuru sahiplerini çağıracaklarsa belirtilmeli) uygulanacak anketin tez onay formuna eklenmesi gerekmektedir. Belirtilen değişikliklerin yapılması koşuluyla kabul edilmiştir.
26.	Dr. Özge Utku AYDEMİR	Ankara SUAM	Şehir	Fleksör Tendon Onarımı Cerrahisinde Amniyotik Membran Kullanımının Sonuçları	Kabul Edilmedi: Tez Onay Formu "Çalışma Süreçleri" kısmında herhangi bir açıklama bulunmadığından çalışmanın dizaynı ve detayına ilişkin değerlendirme yapılamamıştır.
27.	Dr. Damla ÇARKÇI YILDIZ	Ankara SUAM	Şehir	Sezaryen doğumlarda neonatal advers sonuçların Robson klasifikasyonu ile değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
28.	Dr. Yeliz KOÇ	Ankara SUAM	Şehir	Geriatrik popülasyonda Supraglotik havayolu araçlarının doğru yerleşiminin klinik ve ultrasonografik yöntemlerle değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
29.	Dr. Yağmur ÇİMAN	Ankara SUAM	Sağlık	Baş boyun bölgesindeki sokuamöz hücreli karsinomlarda IL-1 ile p-16 ekspresyonlarının immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesi aralarındaki ilişkinin saptanması ve prognostik parametreler ile ilişkisinin değerlendirilmesi	Kabul Edildi.
30.	Dr. Ayşenur ŞİMŞEK YAĞLIOĞLU	GTF Fiziksel Tıp ve Reh.AD.Bşk.İığı		Spinal kord yaralanmalı hastalarda transauricular vagal sinir stimülasyonunun (taVNS) Kardiyak otomatik fonksiyonlar üzerine etkisi	Kabul Edildi.
31.	Dr. Onur KANLIOĞLU	GTF Fiziksel Tıp ve Reh.AD.Bşk.İığı		Karpal tünel sendromlu hastalarda ultrason eşliğinde %5 dekstroz ile betametazon enjeksiyonlarının etkinliğinin karşılaştırılması	Kabul Edildi.

8.3. EK: TEZ KONUSU ONAY FORMU

TEZ KONUSU ONAY FORMU (V.3)

Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı:	GÜLAY YALÇIN YILMAZ
Telefon:	-----
E-Posta:	-----
Uzmanlık Dalı:	Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Eğitim Kurumu:	T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Şehir Hastanesi
Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:	11/07/2016
Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:	03/06/2023
Program Yöneticisinin Adı Soyadı:	Prof.Dr.Nermin Göğüş
Tez Danışmanının Adı Soyadı:	Prof. Dr. Erkan Yavuz Akçabov
Telefon:	-----
E-Posta:	-----

*Araştırma/Tez Konusu (Study Title):

Ratlarda Bupivakain ve Deksmetomidin ile Kombine Edilmiş Bupivakainin Lokal Miyotoksisite ve İnflamasyon Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması

1-Araştırma Sorusu (Research problem):

Alfa adrenerjik agonist bir ilaç olan deksmedetomidinin, periferik bloklarda sıklıkla kullanılan bir lokal anestetik olan bupivakaine adjuvan olarak eklenmesinin, bupivakainin bilinen miyotoksisitesine ve inflamasyona nasıl etkileri vardır?

2-Arka Plan ve Gerekçe (Background/rationale):

Rejyonel anestezi tekniklerinin artan popülaritesi lokal anestezi ile indüklenen doku hasarına olan ilgiyi artırmıştır. Miyotoksisite periferik sinir bloklarının bir komplikasyonudur. Bupivakain uzun süreli etkisi ve yüksek analjezik gücü nedeniyle intraoperatif rejyonel anestezi ve postoperatif ağrı yönetiminde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Literatürdeki çalışmalarda lokal anesteziklerin miyotoksik özellikleri tanımlanmış ve bupivakainin lokal anestezikler içerisinde en yüksek miyotoksik potansiyele sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Rejyonel anestezi sırasında lokal anesteziklerin etki süresi ve blok kalitesini artırma amacıyla adjuvan ilaçlar eklenebilmektedir. Deksmetomidin yüksek oranda selektif alfa 2 adrenoreseptör agonisti olup sıklıkla intravenöz sedatif ve koanaljezik ajan olarak kullanılır. Literatürde deksmedetomidinin lokal anesteziklere adjuvan olarak eklenmesinin sinir bloğunun süresinin uzatırken lokal inflamasyonu azalttığı gösteren çalışmalar mevcuttur. Aynı şekilde lokal anesteziklere adjuvan olarak eklenen deksmedetomidinin nörotoksik etkiyi azalttığına dair hayvan çalışmaları raporlanmıştır. Ancak literatürde lokal anesteziklere adjuvan olarak deksmedetomidin eklenmesinin miyotoksisiteye olan etkisi üzerine herhangi bir çalışma görülmemiştir.

<p>3-Araştırma amacı (Objectives)</p> <p>Bu çalışma; periferik blok sırasında bupivakaine adjuvan ajan olarak deksmedetomidin eklenmesinin, bupivakainin tek olarak kullanılmasına göre miyotoksisite ve inflamasyonu nasıl etkileyeceğini gözlemlemek amacıyla yapılmaktadır.</p>
<p>4-Hipotez (Hypothesis)</p> <p>Periferik bloklar sırasında kullanılan bupivakaine adjuvan olarak deksmedetomidin eklenmesi, miyotoksik etkiyi ve inflamasyonu azaltır.</p>
<p>5-Araştırma türü/tasarım (Study Design)</p> <p>Prospektif tek merkezli hayvan deneyi çalışması</p>
<p>6- Araştırma yeri (Study Setting/ Location)</p> <p>Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Klinik Araştırma Laboratuvarı, Laboratuvar tabanlı, Tek merkez</p>
<p>7- Araştırmaya katılanlar/denekler (Study Population)</p> <p>28 adet Wistar albino cinsi rat</p>
<p>8- Araştırmanın birincil ve ikincil sonuç değişkenleri (Primary and Secondary Outcome)</p> <p>Araştırmanın birincil sonuç değişkeni bupivakain ve deksmedetomidin ile kombine edilmiş bupivakain ile yapılmış bloklar sonrasında miyotoksik hasarın histopatolojik olarak karşılaştırılarak gösterilmesidir.</p> <p>Araştırmanın ikincil sonuç değişkeni miyotoksisite ile de ilişkili olabilecek inflamatuvar bulguların histopatolojik olarak saptanmasıdır.</p>
<p>9- Araştırma Süreçleri (Study procedures)</p> <p>250 gram ağırlığında 28 adet Wistar albino cinsi sıçan kullanılacaktır.12 saatlik gündüz-gece döngüsünde kafeslerde yaklaşık 24C de barındırılacaktır.</p> <p>SHAM GRUBU (GRUP 1): Kontrol grubu olacak, ratların gastrokinemius kasına intramusküler olarak 0.2 ml %0.9 serum fizyolojik enjekte edilecektir.</p> <p>GRUP 2: Ratların gastrokinemius kasına 0,1 ml %0,5 bupivakain 0,1ml %0,9 salin ile seyreltilerek intramusküler olarak uygulanacaktır.</p> <p>GRUP 3: Ratların gastrokinemius kasına 0,1 ml %0,005 deksmedetomidin 0,1 ml %0,9 salin ile seyreltilerek intramusküler olarak uygulanacaktır.</p> <p>GRUP 4: Ratların gastrokinemius kasına 0,1 ml %0,5 bupivakain 0,1ml %0,005 deksmedetomidin ile kombine edilerek intramusküler olarak uygulanacaktır.</p> <p>48.saatte miyotoksisitenin histopatolojik değerlendirilmesi amacı ile ratların gastrokinemius kası çıkarılacak ve lokal miyotoksisitenin sistemik bir bulgusu olan Kreatinin Fosfokinaz (CK) ve sistemik inflamasyonun bir bulgusu olan C-Reaktif Protein (CRP) 'nin biyokimyasal tahlili için inferior vena kavadan kan örnekleri alınıp çalışma sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilecektir</p>

Histopatoloji: Alınan kas örnekleri %10 formalin solüsyonunda fikse edilecektir. Miyotoksisite incelemek amacıyla alınan kas doku kesitleri H&E ile boyanacaktır. Miyosit hasarının kantitatif değerlendirilmesi amacı ile miyofibriller hasara ve miyonekroza bakılacak, nekrotik ve apoptotik hücre sayımı yapılacaktır.
10-Örnek büyüklüğü ve istatistiksel güç (Sample size and statistical power) G*Power 3.1.9.4(Franz Faul,Universitat Kiel,Germany) istatistik paket programı ile yapılmış %80 güç %95 güven düzeyi için 4 grupta 7'şer olarak 28 rat hesaplanmıştır.
11- İstatistiksel yöntemler Verilerin analizi IBM SPSS 25.0 (Copyright IBM Corporation and its licensors 1989, 2017) istatistik paket programı kullanılarak yapılacaktır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (frekans, yüzde, ortalama, standart sapma, medyan, min-max) yanı sıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında; Pearson, Fisher's veya Yates Ki-Kare testleri kullanılacaktır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov – Smirnow ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilecektir. Normal dağılım gösteren niceliksel verilerin değerlendirilmesinde; Independent Samples t testi (bağımsız gruplarda t testi) veya One Way Anova (Tek Yönlü Varyans Analizi), tekrarlayan ölçümlerin karşılaştırılmasında Paired t testi (tekrarlı ölçümlü t testi) veya Repeated Measures Anova (tekrarlı ölçümlü varyans analizi) normal dağılım göstermeyen verilerin değerlendirmesinde Mann–Whitney U testi veya Kruskal Wallis testi, tekrarlayan ölçümlerin karşılaştırılmasında Wilcoxon t testi veya Friedman testi kullanılacaktır. Değişkenler arasındaki ilişki Pearson Korelasyon veya Spearman Korelasyon testleri ile değerlendirilecektir. İhtimali (P) $\alpha=0.05$ 'ten küçük olan değerler önemli ve gruplar arasında fark vardır, büyük olan değerler önemsiz ve gruplar arasında fark yoktur, şeklinde kabul edilecektir.
12-Etik Öngörü (Ethical Considerations) Etik kurul onayı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alınmıştır.Denek araştırma etik kuralları ile çalışılmaktadır. Avrupa Konseyi'nin önerdiği standartlara (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes) (ETS 123) uyulacaktır.
13- Anahtar kelimeler (Key words) Bupivakain, Deksmetomidin, Miyotoksisite

8.4. EK: ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı- Soyadı: Gülay YALÇIN YILMAZ

Doğum yeri ve tarihi:

Uyruđu: T.C.

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu:

E-posta:

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

2019-2023 Ankara Şehir Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği
Asistanı

2016-2019 Ankara Numune SUAM Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği
Asistanı

2009-2015 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

2005-2009 Osman Ötken Anadolu Lisesi

1997-2005 Beyhan Gençay İlköğretim Okulu

III- Ünvanları

Pratisyen Hekim (2015-2015)

Asistan Doktor (2016- halen)

IV- Mesleki Deneyimi

2015-2015 Hatay Antakya Merkez Toplum Sağlığı Merkezi

2016-2019 SBÜ Ankara Numune SUAM Anesteziyoloji ve Reanimasyon
Kliniği

2019-2023 Ankara Şehir Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneđi (TARD)

VI- Bilimsel İlgi Alanları

VII- Bilimsel Etkinlikleri

VIII-Diğer Bilgiler

- 54. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kongresi -E-Kongre 2020
- ERAS Sempozyumu- E-Sempozyum 2020
- TÜYUD 19. Ulusal Kongresi ve 11. Avrasya Yoğun Bakım Toplantısı

