DENEYSEL ÇALIŞMA / EXPERIMENTAL RESEARCH

RATLARDA OLUŞTURULAN SİYATİK SİNİR BLOĞU MODELİNDE RASEMİK KETAMİNİN ETKİNLİK VE NÖROTOKSİSİTE AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF EFFECTIVENESS AND NEUROTOXICITY OF RASEMIC KETAMINE IN RAT SCIATIC NERVE BLOCK MODEL

Abdulvahap ASLAN, Gülay ERDOĞAN KAYHAN, Taylan ŞAHİN, Mehmet GÜL

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

İnönü University Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Malatya, Turkey

ÖZET

Amaç: *Bu çalışmanın amacı, ratlarda oluşturulan siyatik sinir bloğu modelinde farklı dozlarda uygulanan rasemik ketaminin blok başlama ve sonlanma sürelerine etkilerini incelemek ve sinir hasarına yol açıp açmadığını tespit etmektir.*

Yöntem: *Çalışmada Sprague-Dawley türü, 64 dişi rat kullanıldı. Eter anestezisi sonrası, siyatik sinir posterior yaklaşım ve lateral insizyon ile eksplore edildi ve test dozları siniri çevreleyen fasya altına enjekte edildi. Deneyin 1.aşaması için Sham ve Salin grubu (0.2 mL salin) dahil toplam 7 grup oluşturuldu. Test dozlarına göre diğer gruplar: Grup B (0.1 mL % 0.5 bupivakain+0.1 mL salin), Grup K1 (0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1}+0.1 mL salin), Grup K2 (0.1 mL ketamin 1 mg kg^{-1}+0.1 mL salin), Grup BK1 (0.1 mL %0.5 bupivakain+0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1}), Grup BK2 (0.1 mL %0.5 bupivakain+0.1 mL ketamin 1 mg kg^{-1}). Blok sonrası gruplardan habersiz araştırmacı tarafından proprioseptif, motor ve duyusal blok süreleri değerlendirildi. Perinöral inflamasyon veya sinir hasarı açısından, 8. günde eksize edilen siyatik sinirler incelendi.*

Bulgular: *Bupivakaine eklenen 0.5 mg kg^{-1} ketamin proprioseptif, motor ve duyusal blok sonlanma sürelerinde sırasıyla %41, %23, %33 oranlarında uzamaya neden olurken, bupivakaine eklenen 1 mg kg^{-1} ketamin blok sonlanma sürelerinde sırasıyla %45, %37, %31 oranında uzamaya neden oldu. Sadece ketamin enjeksiyonu motor blok oluşturmazken, diğer gruplardan daha kısa süreli proprioseptif ve benzer sürelerde duyusal blok sağladığı gözlendi. Analjezi süresindeki uzama dozdan bağımsızdı. Nörotoksisite açısından gruplar arasında fark yoktu.*

Sonuç: *Rasemik ketaminin siyatik sinir blokları açısından iyi bir adjuvan olabileceği, fakat çalışmamızdaki olumlu sonuçlara rağmen insanlardaki güvenilirliği ve sistemik yan etkiler açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu kanısındayız.*

ANAHTAR KELİMELER: *Siyatik sinir bloğu, Rasemik ketamin, Bupivakain, Nörotoksisiste*

SUMMARY

Objective: *The aim of this study is to investigate the effects of two different doses of racemic ketamine on block times in the rat sciatic nerve block model and to determine whether ketamine leads to nerve damage.*

Method: *Sixty-four, Sprague-Dawley female rats were included into the study. Rats were anesthetized with ether and then the sciatic nerves were exposed by lateral incision on posterior approach. A total of 7 groups were formed, including Sham and Saline (0.2 mL saline) for the first step of the study. The other groups according to the test doses were: Group B (0.1 mL 0.5% bupivacaine+ 0.1 mL saline); Group K1 (0.1 mL ketamine 0.5 mg kg^{-1}+0.1 mL saline); Group K2 (0.1 mL ketamine 1 mg kg^{-1}+0.1 mL saline); Group BK1 (0.1 mL 0.5% bupivacaine+0.1 mL ketamine 0.5 mg kg^{-1}); Group BK2 (0.1 mL 0.5% bupivacaine+0.1 mL ketamine 1 mg kg^{-1}). An investigator blinded to the groups evaluated the durations of proprioceptive, motor, and sensorial block. After neurobehavioral examinations, the sciatic nerves were removed on 8th days, and were analysed for perineural inflammation, or nerve damage.*

Results: *Ketamine (0,5mg kg^{-1}) combination with bupivacaine prolonged the durations of proprioceptive, motor and sensorial block about %41, %23, %33 rates, respectively. Ketamine (1mg kg^{-1}) combination with bupivacaine prolonged the durations of proprioceptive, motor and sensorial block about %45, %37, %31 rates, respectively. While sole injection of ketamine to the sciatic nerve did not develop motor block, it provided a shorter proprioceptive block than other groups, and a similar duration for sensorial block. It was seen that the changes in durations of block were not dose-dependent. There were no statistical difference between groups according to neurotoxicity.*

Conclusion: *We believe that rasemic ketamine may be a good adjuvant in terms of sciatic nerve block, however further studies are needed in terms of safety and systemic side effects in humans, in spite of the positive results of our study.*

KEY WORDS: *Sciatic nerve block, Rasemic ketamine, Neurotoxicity*

Çıkar çatışması/*Conflict of Interest*: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir./ *Authors do not report any conflict of interest.*

Geliş tarihi/*Received*: 22/05/2017 Kabul tarihi/*Accepted*: 24/06/2017

Yazışma Adresi (Correspondence):

Dr. Gülay ERDOĞAN KAYHAN, Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

E-posta (E-mail): drgulayer@yahoo.com

GİRİŞ

Rejyonel anestezi uygulamalarında blok başlangıç süresini kısaltmak, kullanılan lokal anestezik (LA) dozunu azaltmak, anestezi derinliğini ve analjezi süresini artırmak, postoperatif tüketilen opioid miktarını ve doza bağlı görülebilecek yan etki insidansını azaltmak gibi birçok amaçla adjuvan ilaçlar kullanılmaktadır (1-4).

Periferik sinir blokları tüm dünyada genel anesteziye alternatif olarak ve postoperatif analjezi için yaygın bir şekilde uygulanır. Ticari olarak ulaşılan lokal anesteziklerin sınırlı analjezi süresi olması nedeniyle tek doz periferik bloğun etkisi sıklıkla, hastaların en hassas ve savunmasız oldukları birinci postoperatif gecede sona ermektedir (5,6). Gece saatlerinde oluşabilecek ağrılarla baş edebilmek için sıklıkla opioid ya da diğer analjezikler kullanılmaktadır. Fakat bu uygulamalar da opioidlere bağlı solunum depresyonu, uyku bozukluğu ve diğer ciddi yan etkilere neden olabilmektedir. Dolayısıyla, özellikle günübirlik cerrahide uzun etkili lokal anesteziklere adjuvan ilaçlar eklenerek periferik sinir blok süreleri uzatılmaya çalışılmaktadır (7). En sık kullanılan adjuvanlar vazokonstriktörler, tampon ajanlar ve opioidlerdir. Bununla birlikte, farklı adjuvanların periferik ve nöroaksiyal bloklarda kullanımı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bu ajanlardan bazıları adrenerjik agonistler, N-methyl-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleri, kolinesteraz inhibitörleri ve nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlardır (1).

Ketamin, diğer intravenöz anestezi indüksiyon ajanlarından anlamlı analjezik etkisi nedeniyle ayrılır. NMDA reseptör antagonizması, inhibitör monoaminerjik reseptörlerin aktivasyonu, spinal opioid reseptörler, α-2 adrenoreseptörler ve voltaj sensitif kalsiyum kanalları ile etkileşim gibi birçok farklı mekanizma ile antinosisepsiyon sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca hayvan çalışmalarında lokal anestezik özelliği tespit edilmiştir (8). Bu özellikleri nedeniyle postoperatif ağrı, kronik kanser ağrısı ve nöropatik ağrıda kullanılmaktadır (9). Bununla birlikte, ketaminin periferik sinir bloklarında kullanımı ile ilgili az sayıda veri mevcuttur.

Ketamin S-(+) ve R-(-) olmak üzere iki steroizomerden meydana gelir. Rasemik preparatta her iki enantiomer [S-(4) ve R-(-)] eşit miktarda bulunur ve koruyucu olarak benzetonyum klorür içerir (1,10-12). Geniş klinik tecrübeye rağmen, rasemik ve S-(+) ketaminin ya da içerdikleri koruyucuların epidural ve intratekal kullanımının güvenilirliği tartışmalıdır. Yine, periferik nöronal yapıların yakınına uygulandığında olası toksisitesi hakkında belirsizlik vardır (9,13).

Ratlarda gerçekleştirilen bu deneysel çalışmanın amacı, rasemik ketaminin siyatik sinir bloğunda blok başlama ve sonlanma süreleri üzerine etkisini ve güvenilirliğini test etmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Deney Hayvanları Etik Kurul onayı (Etik Kurul No: 2011/A-83) alındıktan sonra ve Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nin uygulama kurallarına uyularak gerçekleştirildi. Çalışmada normal motor aktiviteye sahip, 175-235 g arası, 64 adet, Sprague-Dawley türü, dişi rat kullanıldı. Ratlar, nörolojik ve davranışsal muayeneyi yapacak araştırmacıya, deney ortamına ve deney yöntemlerine alıştırmak için 15 gün süresince yakından takip edildi. Bu alıştırma süreci ile deney sırasındaki stres kontaminasyonunun minimalize edilmesi ve deney performansının artırılması hedeflendi. Deneyden 24 saat öncesinde ratlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda bırakıldı. Beslenmelerinde bu süreçte herhangi bir değişiklik yapılmadı.

Çalışma ilaçlarının hazırlanması

Çalışmada bupivakain (bupivakain hidroklorür, Marcaine® %0.5, Astra Zeneca) ve rasemik ketamin (ketamin hidroklorür, Ketalar®, 1mL=50mg, Pfizer) kullanıldı. Ketamin belirlenen dozlara ulaşabilmek için, % 0,1-0.05 konsantrasyonda olacak şekilde normal salin ile seyreltildi. Deneye başlanmadan hemen önce her rat için uygulanacak test dozu toplam volüm 0.2 mL olacak şekilde 30 gauge insülin enjektörüne hazırlanıp etiketlendi.

Deneysel Model Oluşturulması ve Deney Gruplarının Belirlenmesi

Eter anestezisi uygulanan ratlar yüzüstü pozisyonda tespit edildi. Posterior yaklaşım ile bacakta trokanter majör ve iskial tuberositas işaretlendi. İşaretli noktalar arasından lateral insizyon yapılarak, cilt-cilt altı açıldıktan sonra yüzeyel fasya ve kaslar ekarte edildi. Siyatik sinir bifurkasyon noktasının proksimalinde, epinöryum ve perinöryum bütünlüğüne zarar vermeden, siniri çevreleyen fasya bulundu.

Deneyin 1. aşamasında deney hayvanları, her grupta 8 rat olacak şekilde, rasgele 7 gruba ayrıldı. Her gün bir grup çalışmaya alındı. İlk gruba sadece siyatik sinir diseksiyonu yapıldı (Sham grubu, n=8). Diğer gruplara daha önceden hazırlanan test dozları siyatik siniri çevreleyen fasya altına enjekte edildi. Uygulanan test dozlarına göre diğer gruplar şöyle idi; Salin grubu, 0.2 mL sa-

lin; Grup B (0.1 mL % 0.5 bupivakain + 0.1 mL salin), Grup K1 (0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1} + 0,1 mL salin), Grup K2 (0.1 mL ketamin 1 mg kg^{-1} + 0.1 mL salin), Grup BK1 (0.1 mL % 0.5 bupivakain + 0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1}), Grup BK2 (0.1 mL % 0.5 bupivakain ve 0.1 mL ketamin 1 mg kg^{-1}). Daha sonra yüzeyel kas planları yaklaştırılarak 4-0 ipek ile sütüre edildi. Cilt metal klipslerle kapatıldı. Cerrahi işlemin bitiminden sonra eter anestezisi sonlandırıldı. Ratların uyanmasını takiben proprioseptif, duyusal ve motor blok süreleri değerlendirildi.

Nörolojik ve davranışsal değerlendirme

Çalışmaya alınan ratlara önce proprioseptif testler, sonra motor değerlendirme ve son olarak da duyusal testler yapıldı. Değerlendirmeler, ilk 30 dk 2 dakikada bir, sonraki 30 dk 10 dakikada bir, birinci saatten sonra motor ve duysal blok dönünceye kadar 15 dakikada bir gerçekleştirildi. Değerlendirmeler siyatik sinir bloğunda kullanılan test dozları açısından kör, tek bir araştırmacı tarafından yapıldı.

Proprioseptif duyu değerlendirmesi; dinlenme postürü ile postüral reaksiyonlardaki cevaba göre ('Taktil yerine koyma cevabı' ve 'sıçrama cevabı') yapıldı. Rat normal dinlenme pozisyonundayken, ayak parmaklarının dorsal yüzeyleri zemine temas edecek şekilde fleksiyona getirilip tekrar eski pozisyonuna getirebilmesi 'taktil yerine koyma cevabı' olarak değerlendirildi. Sıçrama cevabını değerlendirmek için ise; ratın ön yarısı zeminden havaya kaldırıldı. Aynı zamanda arka ayaklarından biri kaldırılarak rat laterale doğru hareket ettirildi. Düşmekten kaçınmak amacıyla üzerinde durulan ekstremitede hareket yönünde bir sıçrama normal süreç olarak değerlendirildi. Eğer motor blok predominant ise, lateral hareketin başlangıcından hemen sonra ani fakat normalden daha zayıf bir sıçrama cevabı; tersine, eğer proprioseptif blok predominant ise sıçrama cevabı gecikmiş ve sıçrama oluşturmak için daha geniş pasif lateral hareket varlığı araştırıldı (14,15). Bu test ile elde edilen sonuçlar var (+) ya da yok (-) olarak kaydedildi.

Motor fonksiyon; ratların arka ayağına ağırlık verebilmesi, sıçrama yetisi, kuyruğundan asıldığında pençesi ile kavrayabilmesi ve yürüyebilme yetisine göre değerlendirilerek 4'lü skala ile yapıldı: 0-normal motor fonksiyon, 1-normal dorsifleksiyon, rat kıvrılmış ayak parmakları ile yürüyor, 2-orta düzeyde dorsifleksiyon, rat kıvrılmış ayak parmakları ile yürüyor, 3-dorsifleksiyon yok, rat kıvrılmış ayak parmakları ile yürüyor (15,16).

Duysal yanıt mekanik (çekinme refleksi) ve termal (hot plate testi) olmak üzere iki farklı test ile değerlendirildi. Çalışmada yüzeyel ağrı duyusu için lateral metatars üzerindeki cilt katlantısına, derin ağrı duyusu için beşinci ayak parmağının distal falanksına dişli penset vasıtası ile basınç uygulandı. Her seferinde tanımlanan bölgelere tek bir ağrılı uyaran aynı araştırmacı tarafından aynı şiddette ve aynı sürede (1 sn) verildi. Sonuçlar var (+) ya da yok (-) olarak kaydedildi. Ayrıca, ratlar hot plate cihazına (Columbus Instruments, Columbus, USA) yerleştirilerek blok uygulanan ayağın çekinme süresi değerlendirildi. Cerrahi işlem öncesi cihazın yüzey ısısı 52.5º olarak ayarlandı ve tüm ratların hot plate testine karşı tepki süreleri (bazal değer) belirlendi. Bazal değer için ölçüm iki defa yapıldı ve ortalaması alındı. Ölçümler esnasında dokularda ısıya bağlı hasar oluşumunu önlemek için ratlar hot plate üzerinde en fazla 60 sn tutuldu (cut-off time: kesilme zamanı) (17,18).

Histopatolojik değerlendirme

Deneyin 2.aşamasında, histopatolojik değerlendirme için siyatik sinir eksizyonu yapıldı. Gruplarda yeterli sayıda deney hayvanı oluşturabilmek için, nörolojik ve davranışsal değerlendirme sonrası, Sham ve Salin grubundaki ratların diğer bacaktaki siyatik sinirlerine aynı işlemler tekrar edildi. Ayrıca Grup B'ye 8 deney hayvanı daha eklendi. Böylece her grupta 16 siyatik sinir parçası olacak şekilde 5 grup oluşturuldu: Sham grubu, Salin grubu, Bupivakain grubu, Ketamin grubu (Ket0.5+Ket1), Bupivakain+Ketamin grubu (BupKet0.5+BupKet1). Siyatik sinirlerin eksizyonu 8.günde, eter anestezisi altında ve enjeksiyon bölgesinden 1.5 cm olacak şekilde yapıldı.

Alınan sinir dokusu örnekleri ışık mikroskobik inceleme için % 10'luk formaldehit ile 24 saat tespit edildi. Tespit işlemi sonrasında sinir dokusu örnekleri, rutin histolojik doku takip işleminden geçirildikten sonra, longitudinal ve transvers düzlemlerde kesit alınacak pozisyonlarda parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom yardımıyla 6 µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Lamlar üzerine alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyandıktan sonra Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Plus V3 Görüntü Analiz Sistemi (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) ile incelenerek fotoğraflar çekildi.

Işık mikroskobik olarak incelenen transvers ve longitudinal sinir kesitlerinde perinöral inflamasyon ve ödem (0 = infiltrasyon ve ödem yok, 1 = dar fokal alanlarda minimal infiltrasyon ve ödem, 2 = lokal alanlarda orta derecede infiltrasyon ve ödem, 3 = yaygın-şiddetli infiltrasyon ve ödem), intranöral infiltrasyon ve ödem (0 = infiltrasyon ve ödem yok, 1 = minimal infiltrasyon ve ödem, 2 = orta derecede infiltrasyon ve ödem, 3 = yaygın-şiddetli infiltrasyon ve ödem) ve aksonal dejeneras-

yon (0 = dejenerasyon yok, 1 = aksonal dejenerasyon alanı < sinir çapının % 10'u, 2 = aksonal dejenerasyon alanı > sinir çapının % 10'u < sinir çapının % 25'i, 3 = aksonal dejenerasyon alanı > sinir çapının % 25'i < sinir çapının % 50'si, 4 = aksonal dejenerasyon alanı > sinir çapının % 50'si) skorlandı. Çalışma sonrasında ratlara dekapitasyon işlemi uygulandı ve sakrifiye edildi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows version 13.0 yazılım programı kullanıldı. Değişkenlere ilişkin veriler ortalama ± standart sapma veya ortanca (en küçük-en büyük) olarak verildi. Tüm grupların değişkenler yönünden karşılaştırmasında Kruskal-Wallis varyans analizi ve grupların ikili karşılaştırmalarında ise Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kruskal- Wallis varyans analizinde $p<0.05$ ve Bonferroni Düzetmeli Mann-Whitney U testinde $p<0.005$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Ratların ağırlık ortalaması 203.96 ± 10.31 idi. Grup B, Grup K1 ve Grup BK2'de birer rat eter anestezisi nedeniyle ex oldu ve çalışma dışı bırakıldı. Salin ve Sham grubundaki ratlarda arka ektremitelerde herhangi bir proprioseptif, motor veya duysal blok gözlenmedi.

Gruplardaki proprioseptif, motor ve duysal blok başlama süreleri Tablo I'de görülmektedir. Grup B, Grup BK1 ve Grup BK2'de ortalama sürelere göre blok başlama sırası proprioseptif, duysal ve motor blok şeklinde idi. Grup K1 ve Grup K2'de motor blok meydana gelmezken proprioseptif blok ardından duysal blok geliştiği gözlendi. Proprioseptif blok başlama süreleri açısından grup sıralaması Grup B > Grup K1 > Grup K2 > Grup BK1 > Grup BK2 şeklinde olmakla birlikte, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu. Motor blok başlama süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamadı. Motor blok başlama sürelerine göre grup sıralaması şöyle idi: Grup B > Grup BK2 > Grup BK1. Benzer şekilde, duyusal blok (çekinme refleksi) başlama süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunamadı. Bununla birlikte, Grup BK1 ve Grup BK2'de Grup B'ye göre daha erken, Grup K1 ve Grup K2'de ise diğer gruplardan daha geç duyusal blok oluştuğu gözlendi (Grup K1 > Grup K2 > Grup B > Grup BK1 > Grup BK2).

Proprioseptif, motor ve duysal blok sonlanma süreleri Tablo II'de görülmektedir. Blok sonlanma sıralaması tüm gruplarda motor, proprioseptif ve duysal blok şeklinde idi. Proprioseptif blok sonlanma süresi, Grup BK1 ve Grup BK2'de Grup B'den istatistiksel olarak daha uzun idi ($p<0.05$). Grup K1 ve Grup K2'de ise Grup B, Grup BK1 ve Grup BK2'den anlamlı olarak daha kısa idi ($p<0.05$). Grup K1 ile Grup K2 arasında ve Grup BK1 ile Grup BK2 arasında blok sonlanma süreleri açısından istatistiksel fark yoktu. Motor blok sonlanma süresi, Grup BK 1 ve Grup BK 2'de Grup B'den daha uzundu ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$). Grup BK1 ile Grup BK2 arasında fark yoktu. Duysal blok (çekinme refleksi) sonlanma süresi açısından; Grup B, Grup K1 ve Grup K2'deki duyusal blok süreleri grup BK1 ve Grup BK2'den daha kısa

Tablo I. Proprioseptif, motor ve duysal blok başlama süreleri (ortalama ± standart sapma)

	Grup B (n=7)	Grup K1 (n=7)	Grup K2 (n=8)	Grup BK1 (n=8)	Grup BK2 (n=7)
Proprioseptif blok (dk)	3.96 ± 1.37	3.6 ± 0.92	3.6 ± 0.53	3.3 ± 0.77	3.1 ± 0.71
Duysal blok (çekinme refleksi) (dk)	4.09 ± 1.65	4.82 ± 0.97	4.52 ± 0.53	3.57 ± 0.79	3.52 ± 0.76
Motor blok (dk)	5.36 ± 0.93	0	0	4.56 ± 1.06	5.1 ± 0.71

Tablo II. Proprioseptif, motor ve duysal blok sonlanma süreleri (ortalama ± standart sapma)

	Grup B (n=7)	Grup K1 (n=7)	Grup K2 (n=8)	Grup BK1 (n=8)	Grup BK2 (n=7)
Proprioseptif blok (dk)*	71 ± 10.13	43.85 ± 7.71	52 ± 6.07	100.37 ± 8.91	103.42 ± 11.04
Motor blok (dk) #	59.14 ± 8.83	0	0	72.87 ± 10.65	81.14 ± 10.17
Duysal blok (çekinme refleksi) (dk)±	88.42 ± 5.76	77.14 ± 7.73	83.25 ± 6.6	118.12 ± 9.61	116.14 ± 13.87
Duysal blok (hot-plate) (dk)§	81.14 ± 7.26	78.28 ± 7.84	85 ± 11	114.12 ± 12.49	119.85 ± 16.55

* Proprioseptif blok; Grup K1, ve Grup K2 < Grup B < Grup BK1 ve Grup BK2, $p<0.05$

\# Motor blok; Grup B < Grup BK2 ve Grup BK1 , $p<0.05$

± Duysal blok (çekinme refleksi); Grup B, Grup K1 ve Grup K2 < Grup BK1 ve Grup BK2; Grup K1 < Grup B, $p<0.05$

§ Duysal blok (hot-plate testi); Grup B, Grup K1 ve Grup K2 < Grup BK1 ve Grup BK2; $p<0.05$

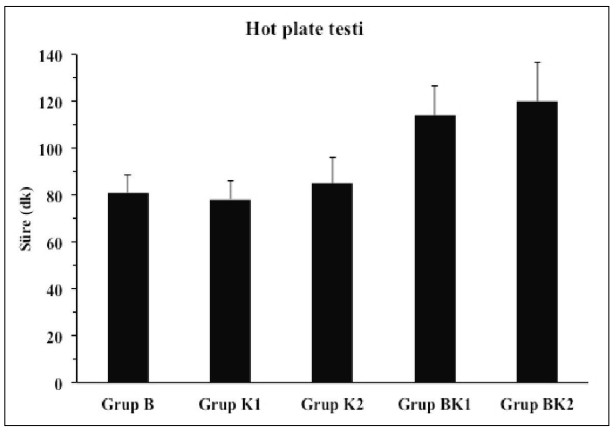
idi (p<0.05). Grup B ile Grup K2 arasında ve Grup K1 ile Grup K2 arasında benzer duysal blok süresi oluşurken, Grup B'de Grup K1'den anlamlı olarak daha uzun blok süresi gözlendi (p<0.05). Grup BK1 ile Grup BK2 arasındaki blok sonlanma süreleri benzerdi.

Hot plate testi ile siyatik sinir bloğu öncesi ölçülen bazal değerler açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (Sham grubu 15.12 ± 2.79; Salin grubu 15.25 ± 3.28; Grup B 17.28 ± 4.23; Grup K1 16 ± 2.58; Grup K2 15.12 ± 2.41; Grup BK1 14.62 ± 2.82; Grup BK2 16.28 ± 2.42). Tüm gruplarda 15. dakikada yapılan hot plate testinde bazal değere göre belirgin uzama gözlendi (Şekil 1). Bazal değere dönmek için geçen süreler Grup BK1 ve Grup BK2'de Grup B, Grup K1 ve Grup K2'den daha uzundu (p<0.005). Grup K1 ve Grup K2 ile Grup B arasında, Grup K1 ile Grup K2 arasında ve Grup BK1 ile Grup BK2 arasında istatistiksel fark yoktu (Şekil 2).

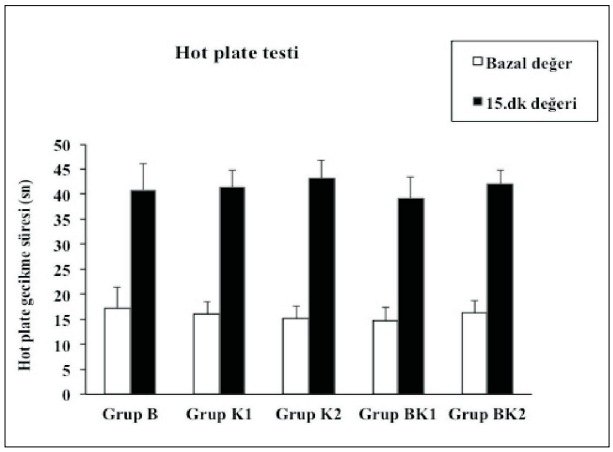
Grup B ile Grup BK1 karşılaştırıldığında, Grup BK1'de proprioseptif, motor ve duysal (çekinme refleksi) blok sürelerindeki uzama dakika (oran) olarak sırasıyla; 1.41 (% 41), 1.23 (% 23), 1.33 (% 33) idi. Grup B ile Grup BK2 karşılaştırıldığında, Grup BK2'de proprioseptif, motor, duyusal (çekinme refleksi) blok sürelerindeki uzama dakika (oran) olarak sırasıyla; 1.45 (% 45), 1.37 (% 37), 1.31 (% 31) idi. Çalışmaya alınan tüm ratlarda, blok sonrası klinik olarak saptanabilen herhangi bir nörolojik defisit olmadı.

Histopatolojik değerlendirme

Sham grubunda, H-E ile boyanmış sinir kesitleri en dışta epinörium ile çevriliydi. Epinörium kılıf içerisinde, fasiküller şeklinde bir araya gelmiş akson demetleri etrafında, perinörium bağ dokusu tabakası ve kan damarları izleniyordu. Miyelinli aksonlar etrafında nörokeratin kılıf mevcuttu. Periaksonal bölgede endönörium bağ dokusu hücre nukleusları ve Schwann hücre nukleusları olarak değerlendirilen heterokromatik nukleuslar izlendi (Resim 1A, Resim 1B). Salin grubunda sham grubuna benzer şekilde sinir doku kesitleri genel olarak normal histolojik yapıda değerlendirildi (Resim 1D, Resim 1E). Bir kesitte perinöral infiltrasyon ve diğer bir kesitte intranöral alanda minimal düzeyde infiltrasyon (Resim 1D) saptandı. Bupivakain grubunda sham ve salin grubuna benzer şekilde sinir doku kesitleri genel olarak normal histolojik yapıda değerlendirildi (Resim 1E, Resim 3F). Ancak nadir olarak, perinöral ve intranöral alanda minimal düzeyde infiltrasyon ve aksonal dejenerasyon (Resim 3F) saptandı. Ketamin grubunda yer yer perinöral bağ dokusu içinde genellikle minimal düzeyde inflamatuar hücre infiltrasyonu ve ödem saptandı. Ayrıca bazı kesitlerde intranöral alanda infiltrasyon, ödem ve aksonal dejenerasyon mevcuttu (Resim 3G, Resim 3H). Ketamin+bupivakain grubunda, ketamin grubuna benzer şekilde yer yer perinöral bağ dokusu içinde genellikle minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödem saptandı. Ayrıca bazı kesitlerde intranöral alanda infiltrasyon, ödem ve aksonal dejenerasyon bulguları dikkati çekti (Resim 3I, Resim l 3J). Histopatolojik skorlama sonuçlarına göre, perinöral inflamasyon-ödem, intranöral inflamasyon-ödem ve aksonal dejenerasyon ve toplam skorları açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo III).



Şekil 1 Hot plate testi gecikme süreleri (sn)
Grup B (0.1 mL %0.5 bupivakain + 0.1 mL salin), Grup K1 (0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1} + 0.1 mL salin), Grup K2 (0.1 mL ketamin 1 mg kg^{-1} + 0.1 mL salin), Grup BK1 (0.1 mL %0.5 bupivakain + 0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1}), Grup BK2 (0.1 mL %0.5 bupivakain ve 0.1 mL ketamin 1 mg kg^{-1}).



Şekil 2. Hot plate testi, bazal değere dönmek için geçen süreler (dk)
Grup B (0,1 mL % 0,5 bupivakain + 0,1 mL salin), Grup K1 (0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1} + 0.1 mL salin), Grup K2 (0,1 mL ketamin 1 mg kg^{-1} + 0.1 mL salin), Grup BK1 (0.1 mL % 0.5 bupivakain + 0.1 mL ketamin 0.5 mg kg^{-1}), Grup BK2 (0.1 mL % 0.5 bupivakain ve 0,1 mL ketamin 1 mg kg^{-1}). Grup BK1 ve Grup BK2 > Grup B, Grup K1, Grup K2 (p<0.005).

Tablo III. Histopatolojik skorlama [Ortanca (en küçük-en büyük)]

Grup	Perinöral inflamasyon ve ödem	İntranöral inflamasyon ve ödem	Aksonal dejenerasyon	Toplam
Sham (n=16)	0	0	0	0
Salin (n=16)	0 (0-1)	0	0	0 (0-1)
Bupivakain (n=15)	0 (0-2)	0	0	0 (0-2)
Ketamin (n=15)	1 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-1)	1.5 (0-4)
Ketamin+Bupivakain (n=15)	0.5 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-1)	0.5 (0-3)

TARTIŞMA

Ratlarda oluşturulan siyatik sinir bloğu modelinde yapılan bu deneysel, randomize, kontrollü ve çift kör çalışmada, bupivakaine eklenen rasemik ketamin proprioseptif, motor ve duyusal blok sürelerinde anlamlı uzama sağlamıştır. Tek başına bupivakaine göre, bupivakain + 0.5 mg kg^{-1} ketamin kombinasyonu proprioseptif, motor ve duysal blok sürelerinde sırasıyla % 41, % 23, % 33 oranlarında uzama sağlamıştır. Tek başına bupivakaine göre, bupivakain + 1 mg kg^{-1} ketamin kombinasyonu proprioseptif, motor ve nosiseptif blok sürelerinde sırasıyla % 45, % 37, % 31 oranlarında uzamaya neden olmuştur. Dolayısıyla, ketamin dozunun artırılması analjezi süresinde istatistiksel bir değişiklik sağlamamıştır. Tek başına ketamin enjeksiyonu motor blok oluşturmazken, diğer gruplardan daha kısa süreli proporioseptif blok ve benzer sürelerde duysal blok meydana getirmiştir. Nörotoksisite açısından da gruplar arasında fark bulunmamıştır.

Ratlarda daha önceden yapılan bazı çalışmalarda siyatik sinir bloğunda enjeksiyon için perkütanöz yaklaşım kullanılmıştır (19,20). Estebe ve ark. (16), siyatik siniri cerrahi olarak ortaya çıkarıp enjeksiyon uygulamışlardır. Bu yöntemle sinir görülerek enjeksiyon perinöriyumun dışına yapılır. Buradaki amaç, sinire verilebilecek doğrudan iğne hasarından kaçınmak ve sinire komşu doğru test dozunun uygulanmasını sağlamaktır. Çalışmamızda siyatik sinir bloğu için Estebe ve ark'nın kullandığı yöntem tercih edilmiştir.

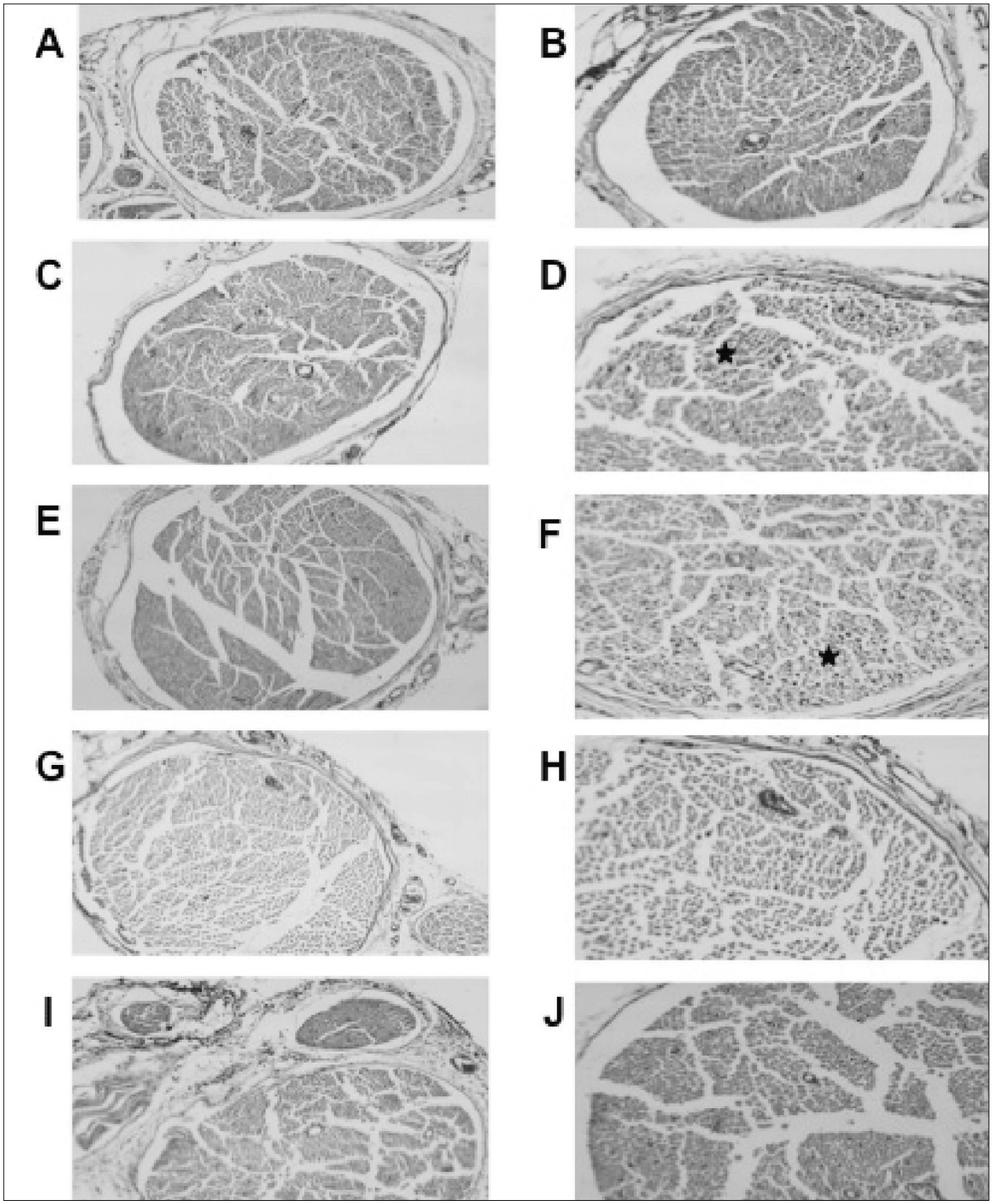
Adjuvan ketamin postoperatif ağrı yönetimi için epidural, kaudal, intratekal, intra-artiküler veya intravenöz rejyonal anestezi de test edilmiştir (21-25). Farklı doz ve ketamin izomerinin (S-(+) veya rasemik) kullanıldığı bu çalışmalarda, genel olarak ketaminin analjezi kalitesini artırdığı ve analjezi süresini uzattığı bildirilmiştir. Tverskoy ve ark. (26), unilateral herniografi operasyonlarında yara infiltrasyonu için bupivakaine ekledikleri ketaminin, periferik mekanizmalarla lokal anesteziklerin analjezik ve anestezik etkilerini artırdığını ileri sürmüşlerdir. Pedersen ve ark. da (27), lokal infiltrasyon şeklinde tek başına uygulanan ketaminin kısa süreli analjezik etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Semple ve ark. (28), postoperatif ağrı tedavisi için % 0.25'lik kaudal bupivakaine farklı dozlarda ketamin (0.25 mg kg^{-1}, 0.5 mg kg^{-1} ve 1 mg kg^{-1}) ilave etmişler ve analjezi süresini sırasıyla 7.9 saat, 11 saat ve 16.5 saat olarak bildirmişlerdir. Etki süreleri ve yan etkiler göz önüne alındığında 0.5 mg kg^{-1} ketamin dozunu efektif doz olarak belirlemişlerdir. Benzer şekilde, Findlow ve ark. (21), kaudal blok için % 0.25'lik bupivakain ile 0.5 mg kg^{-1} koruyucusuz ketamin uyguladıkları çalışmalarında analjezi süresinin ortalama 10 saat olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bu çalışmalara benzer dozlar tercih edilmiştir, fakat seçilen konsantrasyon daha düşüktür. Seçtiğimiz dozlarda tek başına verilen ketaminin motor blok etkisi gözlenmemiştir.

Periferik veya nöroaksiyel yoldan uygulanan ketaminin sistemik dolaşıma hızlı geçtiği, dolayısıyla etkilerinin sadece uygulama alanına değil, sistemik emilime de bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (10,12). Çalışmamızda sistemik emilime bağlı etki açısından bir değerlendirme yapılmamıştır fakat özellikle sistemik emilimin daha az olduğu siyatik sinir bloğu modeli seçilmiştir.

Ketaminin periferik sinir bloklarında adjuvan olarak kullanılması ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. Lee ve ark (29), az sayıda hastada (her grupta 20 hasta) gerçekleştirdikleri klinik çalışmada, interskalen brakiyal pleksus bloğunda ropivakaine ketamin ilave edilmesinin blok oluşma hızı ve blok süresi üzerine etkisi olmadığını, aksine yan etkilerin arttığını bildirmişlerdir. Ketamin dozunu 30 mg (% 0.1) uyguladıkları bu çalışmada elde ettikleri sonucun diğer çalışmalardan farklı ketamin konsantrasyonu ya da farklı enjeksiyon alanına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamıza benzer doz ve konsantrasyonda ketamin verilse de bu çalışma ile enjeksiyon bölgelerimizin farklı olması, farklı sonuçlar elde etmemizi açıklayabilir. İnterskalen pleksus bloğunda ketaminin artmış sistemik emilimi lokal etkinliği azalttığı gibi, yan etki sıklığını artırmış olabilir.

Yine, aksiller blokta lidokaine ilave edilen 10 mg ketaminin kullanıldığı başka bir klinik çalışmada, ketaminin motor ve duysal blok başlama zamanı, blok süresi ve postoperatif ağrı skorları üzerine bir etkisi olmadığı



Resim 1. Sekizinci günde eksize edilmiş ve hematoksilen-eosin ile boyanmış siyatik sinir kesitlerinin ışık mikroskopisi altındaki görüntüleri
A: Sham grubu, H-E, X10. **B:** Sham grubu, H-E, X20. **C:** Salin grubu, H-E, X10. **D:** Salin grubu, H-E, X20, (* bir kesitte perinöral infiltrasyon ve diğer bir kesitte intranöral alanda minimal düzeyde infiltrasyon). **E:** Bupivakain grubu, H-E, X10. **F:** Bupivakain grubu, H-E, X20 (*nadir olarak perinöral ve intranöral alanda minimal düzeyde infiltrasyon ve aksonal dejenerasyon). **G:** Ketamin grubu, H-E, X10. **H:** Ketamin grubu, H-E, X20 (yer yer perinöral bağ dokusu içinde genellikle minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödem, bazı kesitlerde intranöral alanda infiltrasyon, ödem ve aksonal dejenerasyon). **I:** Ketamin+Bupivakain grubu, H-E, X10. **J:** Ketamin+Bupivakain grubu, H-E, X20 (yer yer perinöral bağ dokusu içinde genellikle minimal düzeyde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödem, bazı kesitlerde intranöral alanda infiltrasyon, ödem ve aksonal dejenerasyon)

bildirilmiştir (30). Az sayıda hasta (her grupta 15 hasta) ile yapılan bu çalışmada kullanılan ketamin dozu çalışmamızdan oldukça düşüktür. Bunun dışında, nöropatik ağrı tedavisinde giderek daha fazla tercih edilen ketamin, sempatik bloklarda adjuvan olarak kullanılmıştır. Bu yayınlarda, ketaminin ağrı, iskemi ve dolaşım idamesini rahatlatarak sempatik blok etkisini artırdığı ve güvenli olduğu ileri sürülmüştür (31,32).

Çalışmamızda ülkemizde ulaşılabilen tek ketamin preparatı olan ve benzetonyum klorür içeren rasemik ketamin kullanılmıştır. Tek doz ve düşük konsantrasyonda sinir çevresine enjeksiyon ile ışık mikroskopisi altında yapılan histopatolojik ve klinik değerlendirmede nörotoksisite bulguları tespit edilmemiştir. Geçmişte ketaminin lokal nörotoksik etkisinin içerdiği koruyuculara bağlı olabileceği ileri sürülmüştür. Malinovsky ve ark. (33), tavşanlarda klorbutanol içeren intratekal ketamin ile spinal kord lezyonları tespit etmişlerdir, fakat saf ketamin uyguladıklarında herhangi bir nörolojik hasarla karşılaşmamışlardır. Benzetonyum klorür içeren ketaminin minimal, tek başına benzotonyum klorürün ise orta derecede nörotoksik etkiye neden olduğu gösterilmiştir (34). Domuzlarda yapılan başka bir çalışmada, intratekal verilen saf ketaminin güvenli ve etkili olduğu ileri sürülmüştür (35). Buna karşı, koruyucusuz ketamin ile ilgili veriler de çelişkilidir. Gomez ve ark. koruyucusuz S-(+) ketamin ile köpeklerde nörotoksisite tespit etmişlerdir (36). Bu çalışmaların çoğunda çalışmamızdan farklı olarak tekrarlayan dozlarda nöraksiyel uygulama yapılmıştır. Malinovsky ve ark, başka bir çalışmada, tavşanlarda tek doz intra-sisternal rasemik ketamin ile ışık mikroskobunda salin ve lidokain grubuna göre belirgin farklılık gözlemez iken, kan-beyin bariyeri çalışmasında nörotoksisite tespit etmişlerdir (37). Dolayısıyla, çalışmamızda kullanılan ışık mikroskobu ile değerlendirme kesin sonuçlar için yeterli olmayabilir.

Bununla birlikte, bu histopatolojik veriler klinik çalışmalarla çelişmektedir. Epiduralden benzetonyum içeren ketaminin verildiği klinik çalışmada nörolojik sekel görülmemiştir (38). Yine, 1991-2008 yılları arasında yapılmış, kaudal adjuvan ketamin [S-(+) veya rasemik (koruyucusuz veya benzetonyum klörür içeren)] uygulanan 584 çocuğun incelendiği meta-analizde, herhangi bir nörolojik yan etki ile karşılaşılmamıştır (39).

Sonuç olarak, siyatik sinir bloğunda rasemik ketamin analjezi süresini uzatmıştır ve iyi bir adjuvan olabilir. Çalışmamızdaki olumlu sonuçlara rağmen insanlardaki güvenilirliği ve sistemik yan etkiler açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Thannikary LJ, Enneking FK. Non-Opioid Additives to Local Anesthetics. Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management 2004; 8: 129-140.
2. Memiş D, Turan A, Karamanlıoğlu B, Canbaz S, Akalın E, Günday I. Brakiyal pleksus bloğunda bupivakaine eklenen sufentanilin etkinliği. Türkiye Klinikleri J Anest Reanim 2004; 1: 17-21.
3. Güneş Y, Özbek H, Alıç V, Özalevli M, Özcengiz D, Işık G. Brakiyal pleksus bloğu uygulanan olgularda tek başına bupivakain ile bupivakain-tramadol kombinasyonunun postoperatif analjezi üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Ağrı 2003; 15: 59-63.
4. Murphy DB, McCartney CJ, Chan VW. Novel analgesic adjuncts for brachial plexus block: a sistemic review. Anesth Analg 2000; 90: 1112-1128.
5. Axelsson K, Gupta A. Local anaesthetic adjuvants: neuraxial versus peripheral nerve block. Curr Opin Anaesthesiol 2009; 22: 649-654.
6. Brummett CM, Williams BA. Additives to local anesthetics for peripheral nerve blockade. Int Anesthesiol Clin 2011; 49: 104-116.
7. Brummett CM, Amodeo FS, Janda AM, Padda AK, Lydic R. Perineural dexmedetomidine provides an increased duration of analgesia to a thermal stimulus when compared with a systemic control in a rat sciatic nerve block. Reg Anesth Pain Med 2010; 35: 427-431.
8. Weber WV, Jawalekar KS, Jawalekar SR. The effect of ketamine on the nerve conduction in isolated sciatic nerves of the toad. Neurosci Lett 1975; 1: 115-120.
9. Braun S, Werdehausen R, Gaza N, et al. Benzethonium increases the cytotoxicity of S(+)-ketamine in lymphoma, neuronal, and glial cells. Anesth Analg 2010; 111: 1389-1393.
10. Hirota K, Lambert DG. Ketamine: its mechanism(s) of action and unusual clinical uses. Br J Anaesth 1996; 77: 441-444.
11. Frenkel C, Urban BW. Molecular actions of rasemic ketamine on human CNS sodium channels. Br J Anaesth 1992; 69: 292-297.
12. Himmelseher S, Durieux ME. Ketamine for perioperative pain management. Anesthesiology 2005; 102: 211-220.
13. Rojas AC, Alves JG, Moreira E Lima R, et al. The effects of subarachnoid administration of preservative-free S(+)-ketamine on spinal cord and meninges in dogs. Anesth Analg 2012; 114: 450-455.
14. Sudoh Y, Desai SP, Haderer AE, et al. Neurologic and histopathologic evaluation after high-volume intrathecal amitriptyline. Reg Anesth Pain Med 2004; 29: 434-440.
15. Thalhammer JG, Vladimirova M, Bershadsky B, Strichartz GR. Neurologic evaluation of the rat during sciatic nerve block with lidocaine. Anesthesiology 1995; 82: 1013-1025.
16. Estebe JP, Myers RR. Amitriptyline neurotoxicity: dose-related pathology after topical application to rat sciatic nevre. Anesthesiology 2004; 100: 1519-1525.
17. Wang YX, Bowersox SS, Pettus M, Gao D. Antinociceptive Properties of Fenfluramine, a Serotonin Reuptake Inhibitor, in a Rat Model of Neuropathy. The J Pharmacol Exp Ther 1999; 291: 1008-1016.
18. Apan A. "Cyclohexyladenosine"in, Mononöropatik Sıçanlarda Morfin Bağımlılığı Üzerine Etkileri. Türk Anest Rean Cem Mecmuası 2001; 29: 196-201.
19. Gerner P, Mujtaba M, Sinnott CJ, Wang GK. Amitriptyline versus bupivacaine in rat sciatic nerve blockade. Anesthesiology 2001; 94: 661-667.

20. Gerner P, Mujtaba M, Khan M, et al. N-phenylethyl amitriptyline in rat sciatic nerve blockade. Anesthesiology 2002; 96: 1435-1442.
21. Findlow D, Aldridge LM, Doyle E. Comprasion of Caudal Block using Bupivacaine and Ketamine İlioinguinal Nevre Block for Orchidopexy in Children. Anaesthesia 1997; 52: 1110-1113.
22. Abdel-Ghaffar ME, Abdullatif MA, al-Ghamdi A, Mowafi H, Anwar A. Epidural ketamine reduces post-operative epidural PCA consumption of fentanyl/bupivacaine. Can J Anaesth 1998; 45: 103-109.
23. Zhang GH, Min SS, Lee KS, et al. Intraarticular pretreatment with ketamine and memantine could prevent arthritic pain: Relevance to the decrease of spinal c-fos expression in rats. Anesth Analg 2004; 99: 152-158.
24. Ayoglu H, Altunkaya H, Bayar A, Turan IO, Ozer Y, Ege A. The effect of intraarticular combinations of tramadol and ropivacaine with ketamine on postoperative pain after arthroscopic meniscectomy. Arch Orthop Trauma Surg 2010; 130: 307-312.
25. Viscomi CM, Friend A, Parker C, Murphy T, Yarnell M. Ketamine as an adjuvant in lidocaine intravenous regional anesthesia: a randomized, double-blind, systemic control trial. Reg Anesth Pain Med 2009; 34: 130-133.
26. Tverskoy M, Oren M, Vaskovich M, Dashkovsky I, Kissin I. Ketamine enhances local anestetic and analgesic effects of bupivacaine by peripheral mechanism: a study in postoperative patients. Neurosci Lett 1996; 215: 5-8.
27. Pedersen JL, Galle TS, Kehlet H. Peripheral analgesic effects ketamine in acute inflammatory pain. Anesthesiology 1998; 89: 58-66.
28. Semple D, Findlow D, Aldridge LM, Doyle E. The Optimal dose of ketamine for caudal epidural blockade in children. Anaesthesia 1996; 51: 1170-1172.
29. Lee IO, Kim WK, Kong MH, et al. No enhancement of sensory and motor blokade by ketamine added to ropivacaine interscalene brachial plexus blokade. Acta Anaesthesiol Scand. 2002; 46: 821-826.
30. Gürsoy S, Kaygusuz K, Aldemir B, Öztürk H, Kafalı H, Mimaroğlu C. Aksiller Brakiyal Pleksus Bloğunda Lidokaine İlave Edilen Ketaminin İntraoperatif ve Postoperatif Etkileri. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 27: 147-152.
31. Kulkarni KR, Kadam Al, Namazi IJ. Efficacy of stellate ganglion block with an adjuvant ketamine for peripheral vascular disease of the upper limbs. Indian J Anaesth 2010; 54: 546-551.
32. Sunder RA, Toshniwal G, Dureja GP. Ketamine as an adjuvant in sympathetic blocks for management of central sensitization following peripheral nerve injury. J Brachial Plex Peripher Nerve Inj 2008; 3: 22.
33. Malinovsky JM, Lepage JY, Cozian A, Mussini JM, Pinaudt M, Souron R. Is ketamine or its preservative responsible for neurotoxicity in the rabbit? Anesthesiology 1993; 78: 109-115.
34. Vranken JH, Troost D, de Haan P, et al. Severe toxic damage to the rabbit spinal cord after intrathecal administration of preservative-free S(-)-ketamine. Anesthesiology 2006; 105: 813-818.
35. Errando CL, Sifre C, Moliner S, et al. Subarachnoid ketamine in swine–pathological findings after repeated doses: acute toxicity study. Reg Anesth Pain Med 1999; 24: 146-152.
36. Gomes LM, Garcia JB, Ribamar JS, Nascimento AG. Neurotoxicity of subarachnoid preservative-free S(+)-ketamine in dogs. Pain Physician. 2011; 14: 83-90.
37. Malinovsky JM, Cozian A, Lepage JY, Mussini JM, Pinaud M, Souron R. Ketamine and midazolam neurotoxicity in the rabbit. Anesthesiology. 1991; 75: 91-97.
38. Tan PH, Kuo MC, Kao PF, Chia YY, Liu K. Patient-controlled epidural analgesia with morphine or morphine plus ketamine for post-operative pain relief. Eur J Anaesthesiol 1999; 16: 820-825.
39. Schnabel A, Poepping DM, Kranke P, Zahn PK, Pogatzki-Zahn EM. Efficacy and adverse effects of ketamine as an additive for paediatric caudal anaesthesia: a quantitative systematic review of randomized controlled trials. Br J Anaesth 2011; 107: 601-611.