

## KÜÇÜK LABORATUVAR HAYVANLARININ DENEY İÇİN HAZIRLANMASI VE PREMEDİKASYON, ANALJEZİ, ANESTEZİ

Dr.Ferhat Kolbakır\*

Dr.M.Kâmuran Erk\*\*

1987 yılı başında faaliyete geçen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezinde mütevazı imkanlara rağmen, geçen kısa süre içerisinde yirmiyi aşkın araştırma projesi uygulamaya konmuştur. Merkezde özellikle küçük laboratuvar hayvanlarının bakımı ve deneye hazırlanması konularında eğitilmiş ve tecrübeli eleman bulunmadığından bazen basit fakat, bilinçsiz girişimler hayvan telefataına sebep olmaktadır.

Küçük laboratuvar hayvanlarının deneye hazırlanması, parenteral sıvı verilmesi, tetkikler için kan alınması, preanestezi, anestezi, analjezi, gavaj ve besleme yöntemleri konusunda araştırmacıya yardımcı olmak amacıyla -ihtisas alanımızın dışında olmakla beraber bu derleme kaleme alınmıştır.

Laboratuvar hayvanlarının deney için hazırlanmasında klinik uygulamadaki kadar titiz davranılması şarttır. İnsanlık için yeni bilgi ve tecrübenin edinilmesi gibi ulvi bir amaç uğruna, deney sonunda sağlıklı yaşamayı mümkün değilse denet feda "sacrifice" edilebilir. Bunun dışında, araştırmacının bilgisizliği, tedbirsizliği nedeniyle hayvanların ölümüne sebep olması affedilemez.<sup>1</sup>

### Deneye Hazırlık

Araştırmacı projeyi hazırlarken literatürden benzeri çalışmalarını bulup iyice incelemesi gerekir. Böylece araştırmasında uygulayacağı ilaçların dozajı, toksisitesi, yan etkileri ve cerrahi girişim sırasında dikkat edeceği hususlar hakkında bilgi sahibi olur.

Deneyden önce hayvanın canlı, hareketli, tüylerinin parlak olması su ve gıda alımında istekli oluşu sağlıklı olduğu konusunda fikir

\* Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. Göğüs ve Kalp Damar Cerrahisi Araştırma Görevlisi.

\*\* Ondokuz Mayıs Üni. Tıp Fak. Cerrahi Araştırma Merkezi Başkanı.

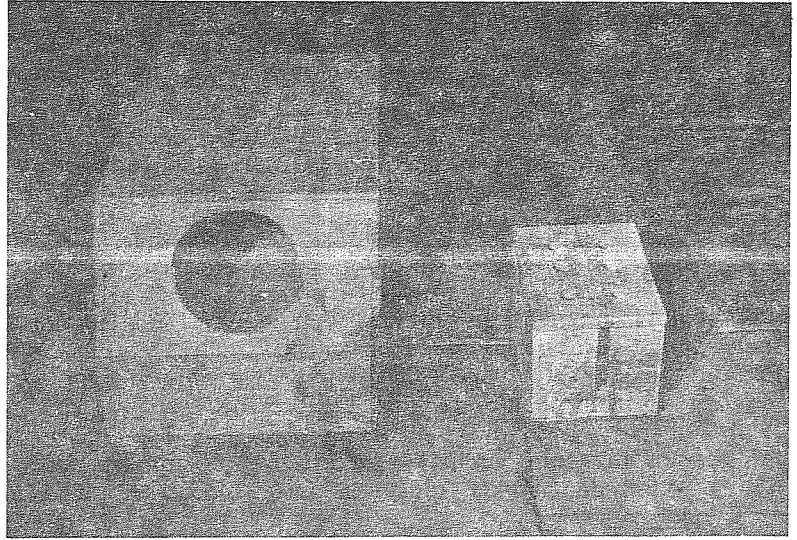
verir<sup>2,3</sup>. Sağlıklı denet hem girişimi rahat tolere eder hem de postop gidişin deneyle direkt ilgisi konusunda bilgi verir. Deney sonu ölen hayvana dikkatli otopsi yapılarak ölüm sebebinin araştırılması deneyin sonraki aşamaları konusunda aydınlatıcı olacaktır.

**PERORAL MEDİKASYON:** Oral yoldan hayvana ilaç, alışkın olmadığı gıdayı vermek için ucu küntleştirilmiş kalınca ve hafifçe bükülmüş enjeksiyon veya Mark (ucu topuzlu) iğnesi kullanılır. Hayvan bir elle tutulurken diğeriyle iğne yönlendirilerek özefagusa sokulur ve ilaç mideye enjeksiyonla boşaltılır.

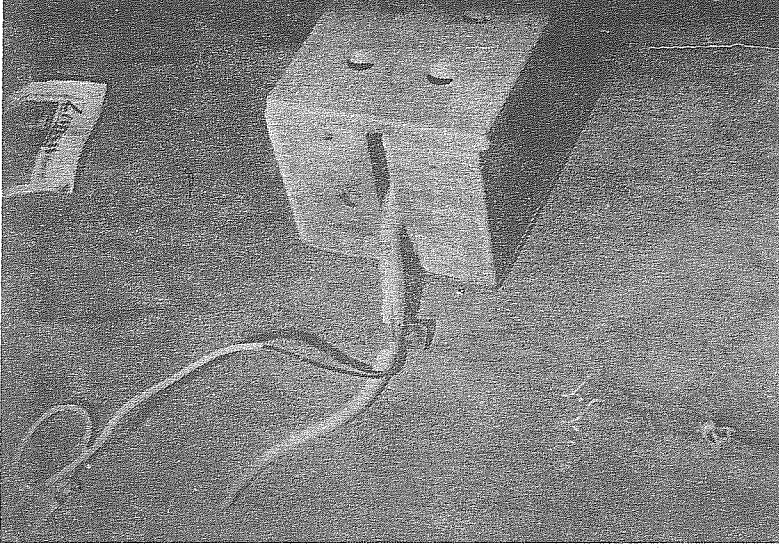
**PARENTERAL MEDİKASYON:** Hayvan hareket edemeyeceği özel kutuya konur (Resim: 1), tüyler traş edilip uygun antiseptik ajanla saha temizliği yapıldıktan sonra steril ince bir iğneyle vene girilir. Bu amaçla tavşanlarda kulak, fare ve ratlarda ise kuyruk yeni kullanılır (Resim: 2a, b).

Intraperitoneal enjeksiyon ise, hayvan sırtından kavranıp karına ince bir iğneyle girilip periton ucu 3 mm kadar sokulup yapılır (Resim: 4).

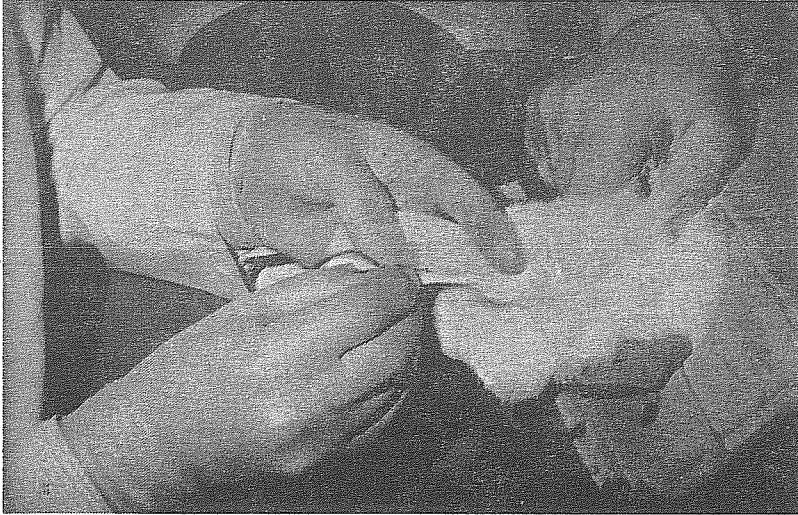
Ratlarda kan alım işlemi: Yardımcı kişi hayvanı bir eliyle boynundan, diğer eliyle kuyruğundan tutarak boyu doğrultusunda gerdirir. Böylece hareketler tamamen tahdit edildikten sonra intrakardiak olarak girilen bir iğne yardımı ile kolaylıkla sağlanabilmektedir (Resim: 5).



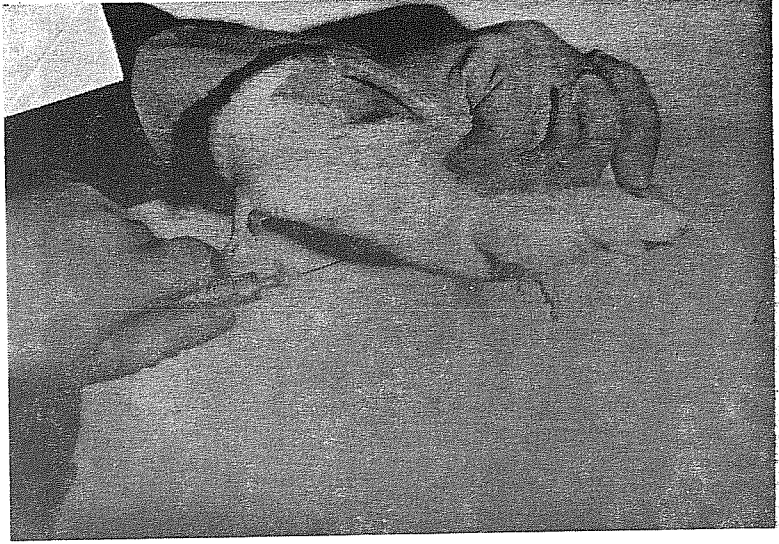
Resim 1. Rat ve tavşanlar için immobilizasyon sağlayıcı özel kutular.



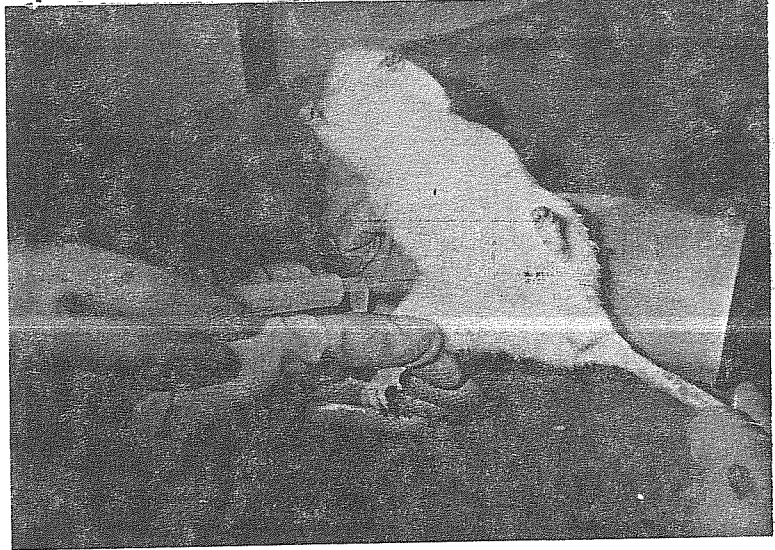
Resim 2a. Rat kuyruk veninin kanülasyonu.



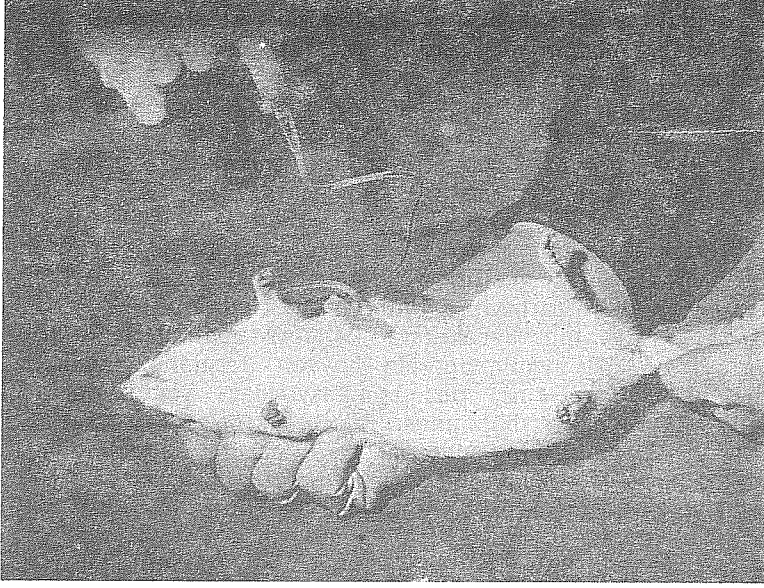
Resim 2b. Tavşanda kulak arkası veninin kanülasyonu.



Resim 3. İntraperitoneal enjeksiyon tekniđi.



Resim 4. İntramusküler enjeksiyon tekniđi.



Resim 5. İntrakardiak kan alma tekniđi.

ANESTEZİ, ANALJEZİ: Küçük hayvan anestezisi için çeşitli yöntemler uygulanabilir. Yapılacak deney için bu yöntemlerden uygun olan biri seçilir. Örneđin; anestetik ajan olarak karaciğer ameliyatlarında bu organa ve sezeryanda fütüse toksik etkilerinden ötürü barbitüratların kullanılmaları gerekir<sup>4,5</sup>. Diğer taraftan, hayvanlarda postoperatif ağrı ve rahatsızlık konusunda karar verebilmenin zorluğu, postoperatif hayvanın hareket etmesinin arzu edilmesi ve birçok sedatif trankilizan ve analjezik ajanın solunum ve kardiovasküler sisteme olumsuz etkilerinden ötürü bu ilaçların uygulanması zorluk arzetedir<sup>6</sup>.

#### RATLARDA PREMEDİKASYON, ANALJEZİ VE ANESTEZİ AJANLARI UYGULAMA YOLLARI :

##### 1. Parenteral Metotlar :

a. İntravenöz veya intraperitoneal yol: Bu amaçla  $\alpha$ -Chloralose, Chloral Hydrate (Noctec), Chlorobutonol, Paraldehyde (Paral), Tribromochanol veya Ethyl Carbamate (Urethane).

$\alpha$ -Chloralose hariç, bu ajanlar muhtemelen sodyum pentobarbitalden daha fazla bir ajantaja sahip değildir. Chloral hydrate'nin intraperitoneal injeksiyonu adinamik ileus ve peritonitise neden olur ve ratlarda genel anestezisi için bu yolla chloral hydrate'nin yüksek konsantrasyonları yalnız başına uygulanmaz<sup>7,8</sup>. Ratlar bu komplikasyonun

gelişmesine özellikle duyarlıdır. Urethane'nin barbitüratlardan daha az kardiyak ve respiratuvar inhibisyon etkisi vardır ve 1000-1250 mg/kg dozu abdominal cerrahi için uygundur. Assiste solunum için trakea kanüle edilmelidir.<sup>8</sup>

b. İntravenöz yol: Hexobarbital sodyum pentobarbital sodyum (Nembutal), secobarbital sodyum (Seconal), sodyum tiamylal (Surital sodyum) veya sodyum thiopental (pentotal).

Kuyruk, safen, rekürrent tarsal ve metatarsal venler pentobarbital ve diğer barbitüratların verilmesi için uygundur. İlık suya batırma, xylazine aseton, v.s tatbikiyle ven dilate edilebilir<sup>8</sup>. Özel kutu (Resim 1) ile hayvanın hareketsiz kalması sağlanır. Pentobarbital (30-40 mg/kg) olarak uygulandığında hayvan arzulanan anestezi planına getirilebilir. Yaş, cins, tür, popülasyondaki yoğunluk, beslenme ve ortamda amonyak'ın bulunması gibi faktörler anestezi dozunu etkilerler<sup>6,8,9</sup>. Dişi ratlar pentobarbitali erkeklerinden daha yavaş metabolize ederler<sup>6</sup>. Tiamylal (20 mg/kg, i.v) veya thiopental (20 mg/kg, i.v) ratlarda sıklıkla kullanılan ajanlardır.

c. İntraperitoneal yol: Bu yolla anestezi için hexobarbital sodyum, methonexital sodyum, pentobarbital sodyum, veya secobarbital sodyum (seconal), thiotetrabarbital (thionarcex).

Pentobarbital, sekobarbital methonexital, hexobarbital ve diğer barbitüratlar ratlarda intraperitoneal olarak kolaylıkla verilebilir. Pentobarbital (35-45 mg/kg) intravenöz yol ile verildiğinde 4-5 kat daha yoğun, % 6'lık solusyonundan verilir. Ancak tesbit edilmiş dozlara karşı yanıtlar değişebilir. Pentobarbital enjeksiyonunu takiben 5 ile 15 en fazla 30-45 dakika anestezi sağlanır. Başlangıç dozu yetersiz veya hayvan uyanmaya başlamışsa anestezinin devamı için, barbitüratın başlangıç dozunun % 20-25 kadar ek miktar verilebilir<sup>6,8,9</sup>. Thionarcex dozu 20-30 mg/kg'dır. Thiopental 120 mg/kg olarak uygulanır<sup>10</sup>.

d. İntraperitoneal veya intramusküler yol: Tiamylal sodyum (Surital sodyum) veya Thiopental sodyum (pentotal sodyum).

Ratlarda intraperitoneal yolla tiamylal (20-25 mg/kg) veya thiopental (20-25 mg/kg) ile anestezi sağlanır. Thiopentalın intramusküler yolla dozu 40 mg/kg'dır.

e. İntramusküler veya subkütan yol: Droperidol, fentanyl citrate, meperidine hydrochloride, morphine sulfate veya xylazine hydrochloride.

Droperidol ve fentanyl sitrat (0.01 - 0.05 ml/100 gr) sakinleştirmek, anestezi veya analjezi için uygulanır. Solunumsal durma ve baskılanma artifisyal solunum uygulanarak veya levallorphan (0.4 ml/100 gr)

ile tedavi edilir. Morfin (5 mg/kg S.C) neperidin (25-50 mg i.m veya S.C) ağrılı uygulamaları takiben kullanılırlar. Xylazin, acetylpromazine (0.75 mg/kg ve ketamin (22-44 mg/kg ile bir arada kullanılır<sup>11</sup>.

f. İntramusküler, subkutan veya intraperitoneal yol: Ketamine hydrochloride (ketalar), atropine sulfate.

Ketamin (20-40 mg/kg i.m) ratlarda 20 ile 40 dk için genel anestezi benzeri bir durum oluşturur. Önceden (0.04 mg/kg S.C) atropin verilmesi salivasyonun enaza indirmesi yönünden faydalıdır. Ketaminin (60 mg/kg i.m) pentobarbitalle (21 mg/kg i.v) verilmesi 1 saat süreli anestezi sağlar. Ketamin uzun süreli ağrılı uygulamalar için analjezikler kombine edilebilir. Ratlar atropini hızlı olarak hidrolize eder<sup>6,8,9</sup>.

## 2. İnhalasyon metotları:

Anestezi odası, huni, maske veya endotrakeal entübasyon-oksijenli veya oksijensiz karbondioksit, ether, halothaene, methoxyflurane.

Karbondioksit yalnız başına veya oksijenle karışmış olarak halotan v.b ile sağlanan anestezi öncesi induksiyon, kardiak ponksiyon, retroorbital kanamanın durdurulması gibi kısa periodlarda oldukça etkilidir. Buharlaşan anestezikler sklera ve kornea irritasyonuna neden olduklarından gözler oftalmik merhemle korunmalıdır. Metoksifluran ratlarda herhangi bir yan etki göstermeksizin uzun süre analjezi ve relaksasyon sağlar. Bu ajanla yüzlerce ratta anestezi sağlanmış, ölüm görülmemiştir<sup>6</sup>.

## TAVŞANLARDA PREMEDİKASYON, ANALJEZİ VE ANESTEZİ UYGULAMA YOLLARI VE AJANLAR :

1. Fiziksel metot (Hipnoz): Tavşanlar ön-arka pozisyonda karınlarına ritmik olarak vurularak ve düşük monoton sesle konuşularak hipnoz benzeri uyur pozisyona sokulabilir<sup>6,12</sup>. Yüksek ses hayvanı bu hipnotik durumdan çıkarır. Klorpromazin (10 mg/kg i.v), meprobat (100 mg/kg. po) gibi ilaçlar daha uzun ve derin trans oluştururlar, pentobarbital (20 mg/kg iv) ise trans halinin uzamasında etkili olmasına rağmen derinliğine etkili olmamaktadır.

## 2. Parenteral metotlar:

a. İntravenöz yol: Pentobarbital sodium veya equi-thesin<sup>37</sup>, thiopental sodium, thiamylal sodium veya methoxyflurane sodium, ethyl urethane, chloralose.

Pentobarbital (20-45 mg/kg), tavşanda anestezi için marjinal aural,

sefalik veya femoral ven yoluyla verilir (Resim 2a, b). Pentobarbitali takiben cerrahi anestezi süresi kısadır, 45 dk'ya kadar uzayabildiği rapor edilmesine rağmen<sup>12</sup>, genellikle 20 dk'dan daha az sürede sonlanır. Respiratuvar hızın dikkatli takibi önemlidir. Normal hızı 50-60 solunum/dk olan respirasyon hızı 15 solunum/dk altına indiğinde respiratuvar arrest olabilir.

Pentobarbitalin tekrarlayan dozları tavşanlar için tehlikelidir. Pentobarbitalle bağlı mortaliteyi düşürmek için klorpromazin (1-2 mg/kg) ve meperidin (5-10 mg/kg) kullanılabilir, ancak başarısı sınırlıdır<sup>6,8</sup>. Barbiturat aşırı dozajına bağlı olarak tavşanlarda oluşan respiratuvar arresti geri döndürmek kedi ve köpeklerden çok daha zordur<sup>6,12</sup>. Yağ dokusunun varlığında anestetik mortalite daha da artabilir<sup>6</sup>.

Tavşanlarda cerrahi olarak anestezi oluşturması gerektiren thiobarbituratların dozu belirgin olarak değişebilir ve pekçok hayvanda genelde thiamylal ve thiopental için % 1'lik solusyonundan, yaklaşık olarak, 15-25 mg/kg dozu kullanılır. Tavşanlarda ortalama doz 30-40 mg/kg veya kedi ve köpek için kullanılan dozun iki katı olarak kullanılması uygundur<sup>6</sup>. Thiamylal anestezi öncesi ya meperidin (25 mg/kg) ve atropin (0.3 mg/kg) ya da morfin (20 mg/kg) ve atropin (0.48 mg/kg) kullanılır. Tavşanların yüksek oranda dolaşımda atropinaza sahip olması atropinin etkisini azaltmaktadır<sup>6,8,9</sup>. Urethane % 20'lik solusyonundan 1 gr/kg veya 5 ml/kg olarak enjekte edilir. Anestezi süresini uzatmak gerektiğinde 0.2-0.6 gr/kg dozunda ilave enjeksiyon yapılabilir.

b. İntraperitoneal veya intramusküler yol :Pentobarbital sodium, phenobarbital veya diğer barbituratlar.

Pentobarbitalin peritonun caudal kadranına (30-45 mg/kg) verildiğinde etkili olması için 20 dakika gerekir. Fakat tavşanda ajanın güvenlik sınırının darlığı ve gerekli dozun değişiklik göstermesi gibi sakıncaları vardır<sup>6</sup>.

c. İntramusküler yol: Acetylpromazine maleat, chlorpromazine hydrochloride, diazepam, paraldehyde, probantine, propriopromazine hydrochloride.

Asetilpromazin (1.0-10.0 mg/kg'in probantin (0.6 mg/kg), meperidin (5-10 mg/kg) veya paraldehit (0.3 mg/kg) gibi ilaçlarla veya yalnız başına alınması; pentobarbitalin anestetik dozunu azaltmak, daha güvenli sınırlarda kullanımını sağlamak, entübasyonu kolaylaştırmak ve anestezi süresini azaltmak için kullanılır<sup>6</sup>.

e. İntramusküler yol: Droperidol ve fentanyl (Innovar-Vet), veya meperidine.



Fentanyl tavşanlarda uygun bir analjeziktir, ancak droperidol ve fluanisone ile kombine edildiğinde preanestetik olarak daha da etkilidir. Meperidin'in intramusküler dozu 5 mg/kg'dır.

f. İntramusküler veya intravenöz yol: Ketamine hydrochloride yalnız veya Acetylpromazine Maleat, choloral hydrate, diazepam, xylazine hydrochloride.

Ketamin 10-60 mg/kg dozda respirasyonu stimule ettiği gözlenmiştir. Ketamine tavşanlarda kan basıncını arttırmaktadır, fakat bu konvulsiyonları önlemek amacıyla verilen asetilpromazin (0.8-1.0 mg/kg, i.m) veya diazepam ile nötralize edilir<sup>11</sup>. Xylazine tek başına verildiğinde yeterli bir immobilizasyon sağlamamaktadır<sup>6,11</sup>.

**3. İnhalasyon Metodu:** Anestezi odası, huni, maske veya endotrakeal yol: Ether, halothane veya methoxyfluarane, nitrous oxide.

Eter, atropin enjeksiyonu ve göz pomadının kullanılmasını takiben maske ile yerildiği zaman kısa süreli anestezi için tatminkardır. Eter tavşanın ayaklarını çekme gücünü kaybetmeden önce korneal refleksinin kaybına neden olmaktadır<sup>6</sup>.

**4. Rektal Anestezi Metodu :** Avertin

Avertin % 3'lük solusyonlarından 0.3 ml/kg olarak uygulanır<sup>13</sup>. Oldukça uzun ve rahat bir anestezi sağlar.

#### KAYNAKLAR

1. Short DJ, and Woodnott DP. Humane killing. In **ATA Mannel of Laboratory Animal Practice and Techniques**" (W Thomas, ed) Springfield, Illinois, 1963, pp 231-243.
2. Valerio DA, Bulloek BC, Hall AS, Keeling ME, Manning PJ and Nolan MA. Nonhuman Primates, In **Standarts and Guidelines for the Breeding, Care, and Management of Laboratory Animals**. 2nd ed. Natl Aead Sci, Washington DC, 1973, pp 1-6.
3. Wetsbroth SH, Flatt RE, and Kraus AL, eds. **The Biology at the Laboratory Rabbit**. Academic Press, New York, 1974, pp 1-496.
4. Lopukhin Yu Med. Anaesthesia in Experimental Animals in **Experimental Surgery**. Mir Publishers, Moscow 1976, pp 24-38.
5. Clifford DH and Soma LR: Anesthesiology. In **Feline Medicine and Surgery**. A text and Reference Work (EJ Catcott, ed) Am Vet Publ Inc, Santa Barbara, California, 1964, pp 392-460.

6. Clifford DH. Preanaesthesia, Anesthesia, Analgesia and Euthanasia. In **Laboratory Animal Medicine**, Fox JG, Cohen BJ, Loew FM (eds) Orlando, Academic Press, 1984 pp 527-562.
7. Fleischman RW, McCracken D, and Forbes W. Adynamic Ileus in the Rat Induced by Chloral Hydrate. **Lab Anim Sci** 1977, 27: pp 238-243.
8. Frost WW. Analgesics, Hypnotics, Sedatives and Anesthetics Used in **Laboratory Animals**. Am Coll Lab Anim Med. Washington State University, Pulman, 1977, pp 1-16.
9. Hughes HC. **Anesthesia of Laboratory Animals**. Lab Anim. 1981, 10: pp 40-56.
10. Akio W, Mihranian M, Guilmette JE, Ho Y, and Connoly JE. Functional Evaluation of Normothermic Intermittent Coronary Perfusion. Experimental Study. **J Thorac Cardiovasc Surg** 1978, 75: pp 414-418.
11. Green CJ, Knight J, Precious S, and Simpkin S. Ketamine Alone and Combined with Diazepam or Xylazine in Laboratory Animals: A 10 Year Experience, **Lab Anim** 1981, 15: pp 163-170.
12. Miller EV, Ben M, and Cases JS. Comparative Anesthesia in Laboratory Animals, **Fed Proc Fed Am Soc Exp Biol** 1969, 28: pp 1369-1586.
13. Aslanbey D. ed Hayvanat Bahçesi Hayvanları, Laboratuvar Hayvanları ve Diğer Hayvanlarda Genel Anestezi. In **Veteriner Operasyon Bilgisi**. Ank Univ Basımevi, Ankara, 1981, pp 119-132.