

Lokal Anestezi Uygulanmış Sıçanların Siyatik Sinirlerinde Oluşan Morfolojik Değişikliklerin Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi

Altuğ Yavaşoğlu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalı, İZMİR

ÖZET

Bu çalışmamızda lokal anesteziğin, erişkin sıçanların siyatik sinirlerine, klinik konsantrasyonlarda uygulanmalarıyla oluşan histopatolojik değişikliklerin ultrastrüktürel düzeyde araştırılması ve meydana gelen değişikliklerin klinikteki kullanımlara olası yararları hedeflenmiştir.

Araştırmada sıçan (n:50, 200-250 gr.) siyatik sinirlerin epinöryumları içine 1ml (%2) novocaine, jetocaine, citanest ve (%1) pantocaine ile (%0,9) serum fizyolojik enjekte edildi. Postoperatif 48 saat sonunda hayvanların sinirleri çıkartıldı ve elektron mikroskopi için takibi yapıp, preparatlar hazırlandı. Fotoğraflar çekilerek değerlendirmeye alındı. Myelin tabakasında değişik derecede bozulma, lamellöz ayrışma, protrüzyon ve vakuolizasyon görüldü. Aksoplazmada rölatif nörotubulus ve nörofilament akümülyasyonu, şişmiş krista yıkımlı mitokondri, genişlemiş aksoplazmik retikulum vesikülleri saptandı. Az derecede endonöral ödem ve Shwann hücrelerinde lipid damlacıkları birikimi bulundu.

Değişik etkenlerin enjeksiyonu ile sinir hasarı görülen patolojik değişiklikler hasarın direkt toksik etki ile oluştuğunu göstermiştir. Etkenlerin farklı etkileri kimyasal özelliklerine (pH, osmolarite v.s.) bağlı olabilir. Bu nedenle, toksik etkinin derecesi klinik uygulamalarda dikkate alınmalıdır. Nörotoksik etki için yapılacak daha ileri araştırmalar, patolojik yan etkilerin tedavisinde bir zemin oluşturmaya yardım edecektir.

Anahtar Sözcükler: Siyatik, Sinir, Lokal anestezi, Myelin, Ultrastrüktür.

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF THE MORPHOLOGICAL CHANGES ON THE RAT SCIATIC NERVES APPLIED TO LOCAL ANESTHETICS BY ELECTRON MICROSCOPY

The aim of this study was to determine the histopathologic changes on the sciatic nerves of adult rats after local anesthetic injection in the clinical concentration.

Novocaine, Jetocaine, Citanest (2%) and 1% Pantocaine and 0,9% Bacteriostatic saline (Isotonic NaCl solution) were applied to the epineurium of the sciatic nerves. The sciatic nerves were taken out after operation and it is processed for Electron microscopy and the preparations were done and the photos were taken. Different degree of disruption, separation of lamella, protrusion and vacuolisation of myelin sheaths was evident in nerves. Increase of accumulation of neurotubulus and neurofilament, disrupted mitochondria with edema in crista and enlarged vesicul in axoplasmic reticulum were found in axoplasm. Minimal degree of endoneural edema, axonal degeneration and accumulation of lipid droplets in Schwann cells were observed.

Pathological changes with a constant finding in nerve damage by injection of the various agents appeared to be a direct toxic effects. The different effect of agents may depend on the chemical properties (pH, osmolarity, etc.) of the local anesthetics. Further analysis of the mechanism for the neurotoxicity will help to provide a basis for treatment of pathological side effects of local anesthetics.

Key Words: Sciatic, Nerve, Local anesthetic, Myelin, Ultrastructure

GİRİŞ VE AMAÇ

Lokal anesteziğin, ağrının dindirilmesi için kullanımına rağmen, yan etki yapmaları açısından da dikkate alınması gerekmektedir. Deney hayvanlarının siyatik si-

nirleri lokal anesteziğe maruz bırakıldığında, endonöral içerikleri ve perinöral tabakayı kapsayan özel ve tek-rarlayabilen patolojik değişiklikler meydana getirirler (1).

Lokal anesteziğin nörotoksik etkilerini efektif ola-

rak incelemek için, ilacın perinöryum içine penetre olmamasına ve sinirde mekanik zarar oluşmamasına dikkat edilerek, sıçan siyatik sinirlerine klinik dozlarda lokal anestezi uygulanmıştır (6, 8).

Klinikte kullanılan çeşitli lokal anesteziklerin ekstra-nöral uygulanmasının patolojik sonuçlarını daha geniş değerlendirmek için mevcut çalışmalar dizayn edilmiştir. Bu çalışmada, sıçan siyatik sinirine değişik lokal anesteziklerin uygulanmasından sonra meydana gelen sinir lif lezyonlarının morfolojilerini tanımladık (11).

Bu çalışmada klinikte yaygın olarak kullanılmakta olan lokal anesteziklerin, sıçanların siyatik sinirlerine, klinik konsantrasyonlarda uygulanmalarıyla oluşan histopatolojik değişikliklerin elektron mikroskopik düzeyde karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu eksperimental çalışmada 200-250 gr. arasında değişen ağırlığa sahip 50 adet (n= 50) Sıçana Novokain (n= 10), Jetokain (n= 10), Citanest (n= 10)(% 2'lik), Pantokain (n= 10)(% 1'lik) ve İzotonik NaCl solüsyonu (n= 10)(%0,9'luk) kullanılmıştır.

Deneklerin genel anestezisi için deneklere 0,15ml/100gr ketalar + 0,02ml/100gr rompun intraperitoneal uygulandı. Hayvanların her iki siyatik siniri operasyon tekniğine uygun olarak çıkarıldı. Epinöryum içine lokal anestezi solüsyon, kontrol grubuna serum fizyolojik uygulandı. Her hayvanın siyatik sinirlerinin epinöryumlarına 0,5 ml. dozda olmak üzere toplam 1 ml. dozda solüsyon diseksiyon mikroskobu aracılığı ile enjekte edildi. Enjekte edilen katlar tek tek 4/0 chromic katgüt ile, deri ise USP 2/0 ipek iplik ile dikildi. Daha sonra hayvanlara 48 saat steril ortam sağlanarak bakıma alındı.

İki günün sonunda deneklerin tespit edilmesi için intrakardiyak perfüzyon ile %2,5'lük fosfat tamponlu glütaldehid solüsyonu tespit solüsyonu için kullanıldı ve siyatik sinirin injeksiyon yapılan bölgesinden alınan yaklaşık 1cm. uzunluğundaki sinir parçası diseksiyon mikroskobu altında dissekte edilerek çıkarıldı. Tespit edilen parçalar fosfat tamponuna alındı ve postfiksasyon için 1:1 oranında osmium tetroksit (OsO₄) + Milloning tamponu eklendi. Parçalar temiz bir tüpe aktarıldı. Üzerine Milloning tamponu ilave edilip 15 dk. bekletildi. Parçaların dehidrasyonu için düşükten yüksek seviyelere doğru alkol serilerinden geçirildikten sonra, 1:1 oranında % 100 Alkol-propilenoksit ve iki kez de saf propilenoksit'te parçalar bekletildi ve temiz tüplere alındı. Üzerine 2:1 oranında propilenoksit + epon karışımı konduktan sonra, 1:2 oranında propilenoksit + epon karışı-

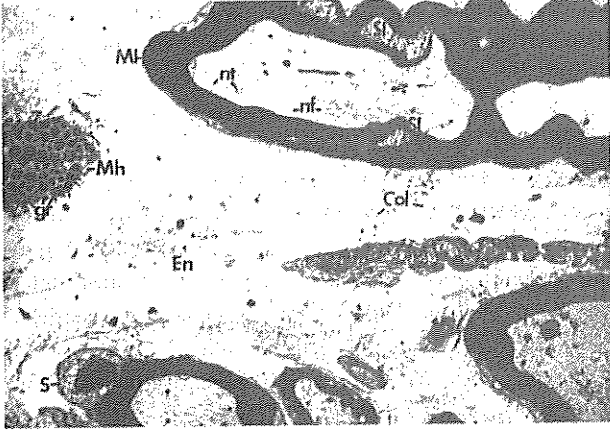
mında bekletildi. Sonrasında parçalar, Epon karışımına (DMP-30'suz) alınarak 1 gece (parçalar çökene kadar) buzdolabında +4 Co de bekletildi. Ertesi gün parçalar %1.5-2 oranında DMP-30 ihtiva eden epon içerisinde BEEM 036 pyramidal kapsüllere gömüldü ve 37 Co etüvde 24 saat tutuldu. Etüv ısı 45 ve daha sonra 60 Cye yükseltildi. Üç günün sonunda etüvden alınan parçaların tamamen sertleşmesi için yaklaşık 10 gün oda ısısında labosıçanuvarda beklemesi sağlandı. Reichert, Austria Nr.313864 ultra mikrotom aracılığıyla elektron mikroskobu için ince kesitler alındı. Kesitler 3,05 mm. çaplı Gilder grids G 200 bakır gridler üzerine yerleştirildi. Gridler Uranyl Acetate ile boyama sonra borulu polietilen yıkama şişesinde saf su ile yıkama yapıldı. Gridler kuruduktan sonra ikinci boyama olan Kurşun Sitsiçan boyamasına geçildi. Bütün bu işlemlerden sonra gridler elektron mikroskobunda incelenip değerlendirildi ve gerekli resimler değişik büyütme oranlarında çekildi.

BULGULAR

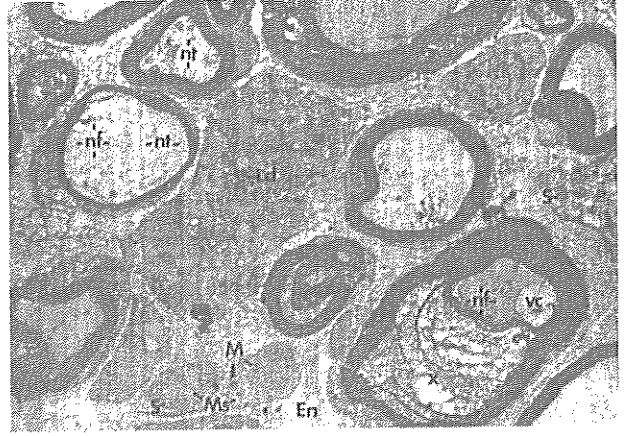
Değişikliklerin ince yapıda araştırılması ve hücre organelleri, hücre ve hücreler arası doku iskeleti düzeyinde bu değişikliklerin tanımlanması için yapılan elektron mikroskopik taramalarda lokal anesteziklerin hücre organellerinde ve iskeletinde hasar meydana getirdiği bulunmuştur.

Oblik ve transvers akson kesitlerinde büyük myelinli liflerin düzgün bir şekilde yer aldığı, aksoplazmik retikulum tubul ve veziküllerin homojen bir şekilde dağıldığı ve Schmidt-Lanterman'dan geçen kesitlerde düzenlilik izlendiği şekli normal morfolojik yapı hakkında fikir verdi (Şekil 1-A). Genel olarak kontrol grubunda çoğu yapısal karakterler korunmakta iken myelin protrüzyonu ve basal lamina yapısal değişikliklere de raslandı (Şekil 1- B).

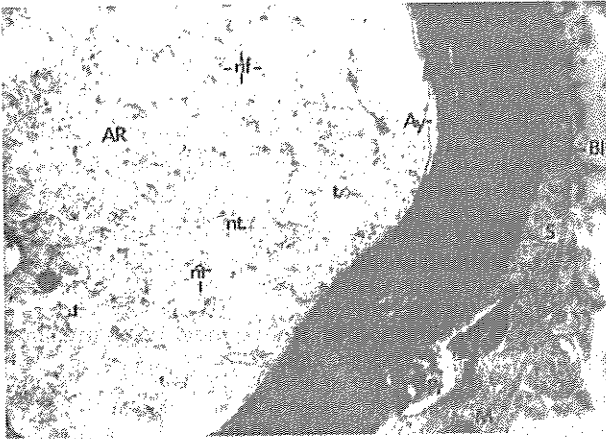
Pantokain grubunda orta ve büyük myelinli aksonlarda relatif nörofilament ve nörotubulus akümülyasyonu görüldü. Kontrol grubundan farklı olarak myelinlerde lamellöz ayrışma ve lizis, intraaksonal vakuoller gözlemlendi. Schwann hücresinin sitoplazmasında dejenerasyon, intrastoplazmik lipid birikimi ve aynı hücrelere bağlı olan aksonlarda dejenerasyon ile endonöral ödem gözlemlendi (Şekil 2-A). Büyük büyütmede büyük myelinli liflerde protrüzyon, myelin ayrışması ve lizisi, aksonlarda büzülme ve yırtılmaya bağlı vakuoller, şekil değişikliği ve aksollemma ile myelin kılıf arasında ayrılmalar, yer yer izlenen relatif nörofilament ve nörotubulus akümülyasyonu daha büyük büyütmede detaylı olarak gözlemlendi (Şekil 2-B).



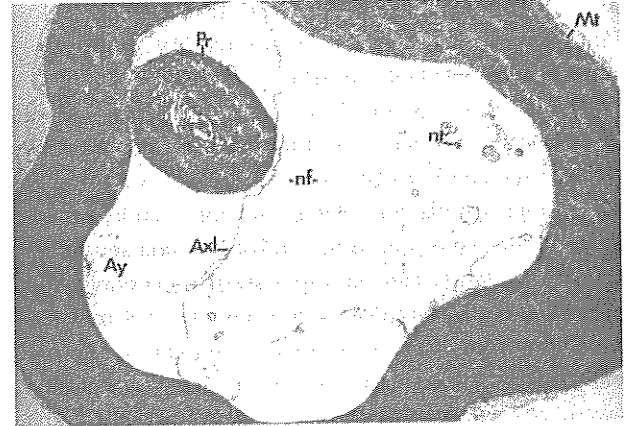
Resim 1A. Kontrol grubu siyatik sinir longitudinal kesiti EM görüntüsü. Normal yapılardan Schmidt-Lanterman (Sl) ve içerdiği düzenlilik, longitudinal büyük myelinli liflerde (MI) bütünlük ve düzgünlük, mast hücresi (Mh) ve normal yapıdaki granülleri (gr) ile endonöryum (En) ve kolagen lifler (Col) izlenmektedir.



Resim 2A. Pantokain grubu siyatik sinir transvers kesiti EM görüntüsü. Normal yapılardan myelinsiz aksonlar (Ms) ve mitokondriler (M) dışında, Schwann sitoplazmasında (S) lipid damlacıkları akümüasyonu (Ld) ile endonöryum (En) gözlenmektedir. Orta ve büyük myelinli aksonlarda relatif nörofilament (nf) ve nörotubulus (nt) akümüasyonu, lamellöz ayrışma ve lysis (X) ile intraaksomal vakuol (vc) izlenmektedir.



Resim 1B. Kontrol grubu siyatik sinir transvers kesiti EM görüntüsü. Normal yapılardan mitokondri (M), aksoplazmik retikulum (AR), nörotubulus (nt) ve nörofilamentler (nf), granüllü endoplazmik retikuluma ait tubul (t) ve Schwann hücresi (S), myelinli lifler (MI), basal lamina (Bl) ve protrüzyon (Pr) izlenmektedir. Büyütme: x 500, x 7200



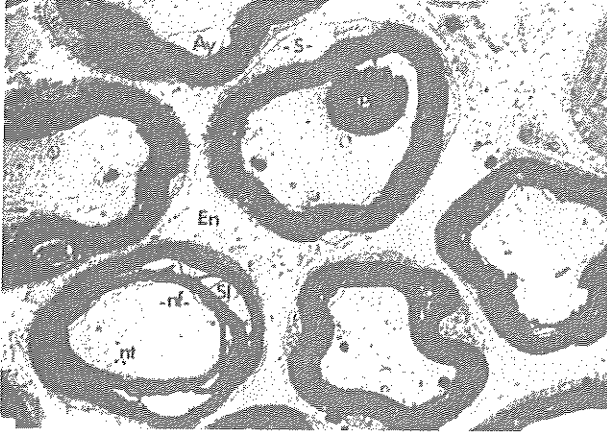
Resim 2B. Pantokain grubu siyatik sinir transvers kesiti EM görüntüsü. Normal yapılardan aksonda büzülme ve ayrışmalar (Ay), aksolemma (Axl), myelinli liflerde (Mt) protrüzyon (Pr) ve aksoplazmada relatif nörofilament ve nörotubulus akümüasyonu (nt) gözlenmektedir. Büyütme: x 500, x 7200

Citanest grubu da, tetrakain HCl (pantokain) grubu gibi, kontrol grubundan farklı olarak lamellöz ayrışma ve Schwann sitoplazmasındaki aksonlarda relatif nörofilament ve nörotubulus akümüasyonu ve büyük myelinlerde protrüzyon saptandı (Şekil 3-A). Büyük büyütmede büyük myelinli liflerde myelin lamellerinde litik değişimler ve lamellöz ayrışmalar belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 3-B).

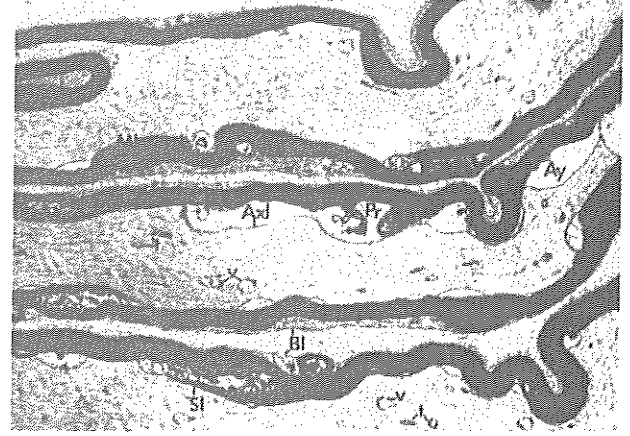
Jetokain grubunda da lokal anestetik etkisine bağlı olarak gözlenen değişiklikler diğerleri ile paralellik gösterdi. Aksonal büzülme, aksolemma ve myelin arasında ayrışma, myelinde dejenerasyon, Schmidt-Lanterman'da myelin lamellerinde ve basal laminada bozul-

malar gözlemlendi (Şekil 4-A). Büyük büyütmede myelin içindeki lizis ve aksoplazmik retikulum vezikülleri daha büyük büyütmede belirgin bir biçimde görüldü (Şekil 4-B).

Novokain uygulanmış sıçan siyatik sinirlerinde de lokal anestetik etkiye bağlı olarak endonöryumda ödem ve kollagen liflerde akümüasyon, aksoplazmada relatif nörofilament ve nörotubulus akümüasyonu, aksolemma ile myelin tabakaları arasında ayrışmalar ve intraaksomal vakuoller, myelin tabakasında lizis ve lamellöz ayrışmalar ve myelin kollateralleri ve konfigürasyonları bulgu olarak saptandı (Şekil 5-A). Büyük büyütmede Schwann hücre sitoplazmasındaki mikrofilyament yoğunluğu, Schmidt-Lanterman aralığı, bazal laminada meydana



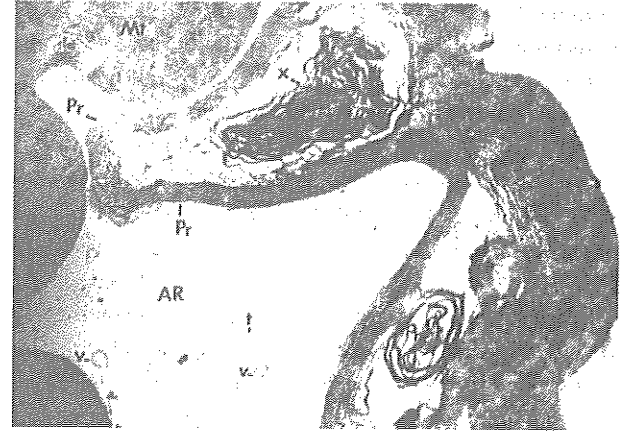
Resim 3A. Citanest grubu siyatik sinir transvers kesiti EM görüntüsü. Normal yapılardan endonöryum (En) ve Schwann sitoplazması (S), myelinde protrüzyon (Pr) gözlenmektedir. Aksoplazmada relatif nörofilament (nf) ve nörotubulus (nt) akümülayonu, Schmidt-Lanterman'da (Sl) bozulma, myelin tabakası ve myelin-aksoslemma arasında ayrışma (Ay) izlenmektedir.



Resim 4A. Jetokain grubu siyatik sinir longitudinal kesiti EM görüntüsü. Normal yapılardan aksoplazmik retikulum vezikül (v) ve tubülleri (t), Schmidt-Lanterman (Sl) ve aksoslemma (Axl) dışında endonöryumda kollegen lif akümülayonu (Col), bazal laminada bozulma (Bl), aksonal ayrışma (Ay), myelinde dejenerasyon (Ml) ve protrüzyon (Pr) gözlenmektedir.



Resim 3B. Citanest grubu siyatik sinir transvers kesiti EM görüntüsü. Büyük myelinli sinir lifinde (Mt) myelin lamellerinde lizis ve lamellöz ayrışmalar (X) ve protrüzyonlar (Pr) detaylı olarak gözlenmektedir. Büyütme: x 500, x 7200



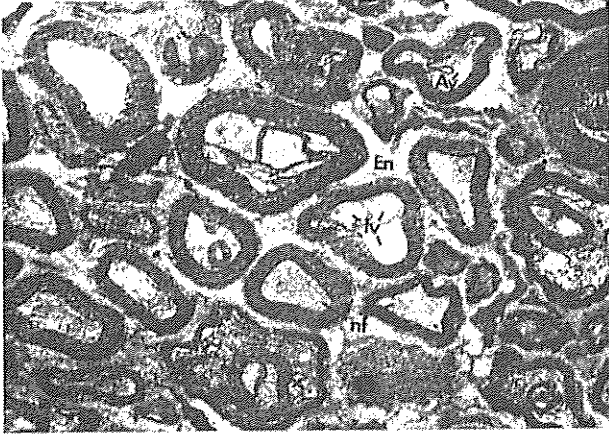
Resim 4B. Jetokain grubu siyatik sinir transvers kesiti EM görüntüsü. Normal yapılardan aksoplazmik retikulum (AR), vezikül (v) ve tubülleri (t) dışında, myelin tabakasında (Mt) kalınlaşma, myelin lamellerinde bozulma ve lizis (X) ile protrüzyon (Pr) görülmektedir. Büyütme: x 500, x 7200

gelen bozulma, aksoslemma ve myelin arasında oluşan ayrışma daha detaylı gözlemlendi (Şekil 5-B).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Elektron mikroskopik araştırmalara göre; lokal anesteziklerden kaynaklanan hasarlar perinöral bariyerlerin dağılması, endonöral ödem formasyonu, sitoplazmik lipid damlacıkları, aksonal dejenerasyon ve demyelinasyonu kapsayan spesifik morfolojik değişimlerle karakterize edilmiş olup, bu bulguların çoğunluğu bu araştırmada da görülmüştür (2, 5, 6, 7, 14). Lokal anesteziklerin myelinsiz lif tabakasında, myelinli liflere oranla daha selektif lizis oluşturduğu görülmüştür (3, 4, 14). Ka-

lichman, Powell ve Myers'in yaptıkları çalışmada Schwann hücre hasarının kantitatif elektron mikroskopik bulguları değerlendirilmiş ve buna göre, lokal anesteziye maruz bırakılmış myelinsiz liflerin büyük bir olasılıkla eriyip yok olduklarını, buna karşın myelinli liflerde ise sitoplazmik lipid damlacıkları birikimi olacağını göstermişlerdir (4, 5, 6, 7, 14). Bu araştırmada böyle bir yaygın lizis görülmemiş olup myelinli liflerin bazılarında hafif derecede lizis bulunmuştur. Bunun nedeni lokal anesteziklerin yüksek konsantrasyon yerine klinik konsantrasyonlarda kullanılmış olmasından kaynaklanabilir. Yapılan çalışmaların sonuçları çoğunlukla birçok açıdan farklılık göstermesine rağmen, lokal anesteziklerin klinik konsantrasyonlarının normalde sinir dokusuna uzun sü-

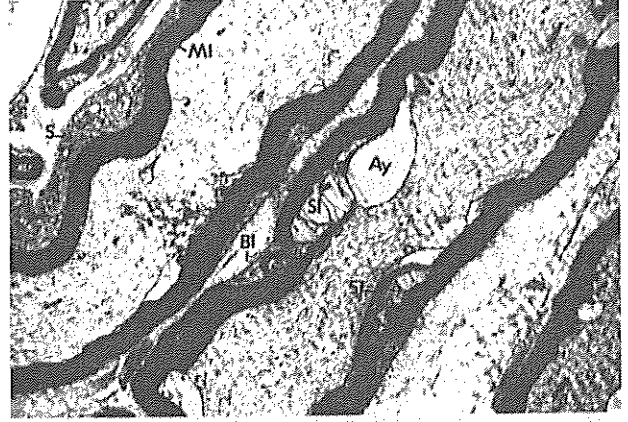


Resim 5A. Novokain grubu sıyatik sinir transvers kesiti EM görüntüsü. Aksolemma ile myelin lamelleri arasında ayrışma (Ay), intraaxonal vakuoller (lv), endonöryumda (En) kollegen lif artışı, relatif nörolament (nf) ve nörotubulus (nt) akümülyasyonu, myelinde lamellöz ayrılmalar ve lizis (X) görülmektedir.

reli yapısal zarar vermeyeceği düşünölmüştür. Bununla beraber, yüksek konsantrasyonlar hatta, bazen klinik konsantrasyondaki lokal anesteziklerin periferik sinir üzerine doza bağılı hasar oluşturduğu görölmüştür (4, 15, 18). Bu çalışmada bu çelişkili duruma bir açıklık getirmiş ve klinik konsantrasyolarda kontrol grubunda bile hasar oluştuğıu saptanmıştır. Kontrol grubunda mekanik travmaya bağılı olarak bir hasar oluşması da lokal anesteziklerle hasar oluşmadığı düşünöncesini yadsımtadır.

Diğer çalışmalarda görölen çok sayıda dejenerasyona uğramış aksonlar (2, 5, 6, 7, 8, 9) bizim çalışmamızda daha az sayıda ve özellikle büyük çaplı myelinli liflerde bulunmuştur. Akut aksonal dejenerasyonla ilişkili difüze aksonal bazı hücrelerde ve Schwann hücrelerindeki sitoplazmik değışmelerle birlikte görölmüştür. Bu spheroid içerikler perinöral hücrelerde ve siniri çevreleyen epinöral bölgede oldukça sık gözlenmiştir. Bizim bulgularımızda yoğun Granulalı endoplazmik retikulum ve bazı hücrelerde ise intrastoplazmik ödem ve mitokondriyal vakuolizasyon ve kristal yıkım bulunmuştur. Bu farklar konsantrasyon farkına bağılı hafif hasardan kaynaklanmış ve hasar şiddetli olmadığından perinöral hücrelerde ve siniri çevreleyen epinöral bölgede bu spheroid içerikler gözlenmemiştir. Yine çalışmalarda, kontrol sinirlerindeki perinöral ve endonöral hücrelerde normalde görölmeyen spheroid damlacıklar (2, 5, 6, 7, 9) bizim çalışmamızda da saptanmamıştır.

Araştırmalarda, lokal anesteziikten etkilenmiş bölgelerde sinir hasarı mast hücre degranülyasyonu ve reaktif fibroblastlarda ortaya konmuştur. Bu hücrelerde ince sitoplazmik uzantılar, yükselmiş endoplazmik retikulum ve anormal hücre konfigürasyonları gözlenmiştir (5, 6,



Resim 5B. Novokain grubu sıyatik sinir longitudinal kesiti EM görüntüsü. Schmidt-Lanterman aralığı (SI) dışında, Schwann hücre stoplazmasında (S) nörolament yoğunluğu, myelin (MI) ile aksoplazma arasında ayrışma (Ay) ve bazal laminada bozulma (BI) görölmektedir. Büyütme: x 500

7, 8). Bizim çalışmamızda, mast hücre degranülyasyonunun olmaması ve reaktif fibroblastlara rastlanılmaması lokal anesteziklerin klinik konsantrasyonlarda kullanımından kaynaklanabilir.

Araştırmalarda, demyelinizasyonlar ve aksonal distrofik değışiklikler elektron mikroskopuyla görölmüştür (2, 10, 13, 14, 17). Aksonal dejenerasyon filamentler, veziküller ve kuru boyanmış organel yığınlarının akümülyasyonu ve şişmesiyle ispatlanmıştır. Artmış miktarda endoplazmik retikulum içeren Schwann hücrelerinde de reaktif değışmeler görölmüştür. Ayrışan hücreler şişmiş dejenere organeller, membranöz yıkıntılar ve lipid damlacıkları içermiştir. Schwann hücreleri çoğunlukla lipid birikintileri veya Elzholz bodies'lere benzeyen soluk renkli intrastoplazmik inklüzyonlar içermiştir. Hem normal görünömlü Schwann hücreleri, hem de ayrışmış Schwann hücrelerinde görölen lipid içerikler, aynı zamanda, endonöral makrofajlar, fibroblastlar ve perinöral hücre içersinde de gözlemlenmiştir. Bunlar, aksonlarda görölmemiştir. Perinöryumda ayrışma ve perinöral hücreler arasındaki sıkı hücre bağlantıları etkilenmiş bölgelerde görölmemiştir (2, 10, 13, 14, 17). Bu çalışmada Schwann hücre sitoplazmalarında lipid damlacıkları ve aksonal distrofik değışiklikler hafif düzeyde görölmüştür. Bu da kullandığımız lokal anesteziklerin klinik konsantrasyonlarından kaynaklanabilir.

Endonöral ödemın lokal anesteziik dozuna bağılılığı üzerine yapılan çalışmalarda kullanılan dört anesteziğin elektrofizyolojik olarak ölçölen göreceli tesirine bakılarak, lokal anesteziklerden kaynaklanan sinir hasarlarının bu ajanlardan herhangi birine spesifik olmadığı ihtimali ortaya konulmuştur (2, 4, 5, 6, 8, 12). Sinir lif hasarı, endonöral ödem ve lipid damlacık formasyonunun tamamının sadece doza bağılı olarak oluştuğıu gösterilmiştir

(2, 4, 5, 6, 12). Bizim çalışmamızda doz farkı olmamasına rağmen hasar düzeyinde farklılık bulunmuştur. Lokal anesteziğin etkinin birçok faktör tarafından (pH, osmolarite veya eklenmiş diğer kimyasallar gibi) etkilendiğini gösteren araştırmalar (8, 19) çalışmamızda oluşan farkı desteklemektedir.

Kontrol grubunda gözlediğimiz sinir hasarı, sinire yapılan epinöral enjeksiyon sırasında oluşan mekanik ve travmatik etkiye bağlanmıştır. Sinirde oluşan hasar en çok büyük çaplı aksolara ait myelin tabakalarında konfigürasyonlar, protrüzyon, myelin lamellerinde lizis ve lamellöz ayrılmalar, Schwann hücrelerinde lipid damlacıkları ve endonöral ödem şeklindedir.

Sonuç olarak; değişik etkenlerin enjeksiyonu ile kesin sinir hasarının bulunduğu patolojik değişiklikler hasarın direkt toksik etki ile oluştuğunu göstermiştir.

Etkenlerin farklı etkileri kimyasal özelliklerine (pH, osmolarite v.s.) bağlı olabilir. Bu etki aynı zamanda kan-beyin bariyerinin bozulmasıyla da ilgili olabilir. Nörotoksik etki için yapılacak daha ileri araştırmalar lokal anesteziğe bağlı patolojik yan etkilerin tedavisinde bir zemin oluşturmaya yardım edecektir.

KAYNAKLAR

1. BARSAN J, BATRA M, FINK BR, SUMI SM. A comparative in vivo study of local neurotoxicity of lidocaine, bupivacaine, 2-chloroprocaine and a mixture of 2-chloroprocaine and bupivacaine. *Anesth Analg*; 61: 961-967, 1982.
2. CHOI RH, BIRKNES JK, POPITZ-BERGEZ FA, KISSIN I, STRICHARTZ GR. Pharmacokinetic nature of tachyphylaxis to lidocaine: peripheral nerve blocks and infiltration anesthesia in sheep. *Life Sci*; 61 (12): PL 177-84, 1997.
3. COLBURN RW, DeLEO JA, RICKMAN AJ, YEAGER MP, KWON P, HICKEY WF. Dissociation of microglial activation and neuropathic pain behaviors following peripheral nerve injury in the rat. *J Neuroimmunol*; 79 (2): 163-75, 1997.
4. COVINO BG. Local anesthesia. *N.Engl.J.Med.*; 286: 975-1035, 1972.
5. KALICHMAN MW, MOORHOUSE DF, POWELL HC, MYERS RR. Relative neural toxicity of local anesthetics. *J Neuropathol Exp Neurol*; 52 (3): 234-40, 1993.
6. KALICHMAN MW, POWELL HC, MYERS RR. Pathology of local anesthetic-induced nerve injury. *Acta Neuropathol (Berl)*; 75 (6): 583-9, 1988.
7. KALICHMAN MW, POWELL HC, MYERS RR. Quantitative histologic analysis of local anesthetic-induced injury to rat sciatic nerve. *J Pharmacol Exp Ther*; 250 (1): 406-13, 1989.
8. KALICHMAN MW, POWELL HC, REISNER LS, MYERS RR. The role of 2-chloroprocaine and sodium bisulfite in rat sciatic nerve edema. *J Neuropathol Exp Neurol*; 45 (5): 566-75, 1986.
9. KIID GJ, HEATH JW. Myelin sheath survival following axonal degeneration in double myelinated nerve fibers. *J Neurosci*; 11 (12): 4003-14, 1991.
10. MASON P, ATTEMA B, DeVRIES GH. In vitro use of Schwann cells to elucidate neurotoxic injury. *Neurotoxicology*; 12 (3): 459-71, 1991.
11. MYERS RR, KALICHMAN MW, REISNER LS, POWELL HC. Neurotoxicity of local anesthetics: altered perineurial permeability, edema, and nerve fiber injury. *Anesthesiology*; 64 (1): 29-35, 1986.
12. MYERS RR, MURAKAMI H, POWELL HC. Reduced nerve blood flow in edematous neuropathies: a biomechanical mechanism. *Microvasc Res*; 32 (2): 145-51, 1986.
13. ODENWALD WF, ASKANAS V. Ultrastructural and cytochemical characteristics of cultured rat Schwann cell. *Acta Neuropathol (Berl)*; 54 (2): 135-42, 1981.
14. POWELL HC, KALICHMAN MW, GARRET RS, MYERS RR. Selective vulnerability of unmyelinated fiber Schwann cells in nerves exposed to local anesthetics. *Lab Invest*; 59 (2): 271-80, 1988.
15. RAVINDRAN RS, BOND VK, TASCH MD, GUPTA CD, LUDERSEN TG. Prolonged neural blockade following regional anesthesia with 2-chloroprocaine. *Anesth Analg*; 59: 447-451, 1980.
16. ROBERTSON J D. Preliminary observations on the ultrastructure of Nodes of Ranvier. *Zellforschung* 50: 553-560, 1959.
17. ROMINE JS, BRAY GM, AGUAYO AJ. Schwann cell multiplication after crush injury of unmyelinated fibers. *Arch Neurol*; 33 (1): 49-54, 1976.
18. SMITH BE, SIGGINS D. Low volume, high concentration block of the sciatic nerve. *Anaesthesia*; 43 (1): 8-11, 1988.
19. STOLC S, STANCOVICOVA T. Effect of local anesthetics and pH: new aspects. *Drugs Exp Clin Res*; 12 (9-10): 753-60, 1986.