

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**BEBEK RATLARDA SEVOFLURAN VE
DEKSMEDETOMİDİNİN DAVRANIŞ,
NÖROİNFLAMASYON VE APOPTOZİS ÜZERİNE
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. SEMİN TURHAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. BERRİN IŞIK

ANKARA 2021

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**BEBEK RATLARDA SEVOFLURAN VE
DEKSMEDETOMİDİNİN DAVRANIŞ,
NÖROİNFLAMASYON VE APOPTOZİS ÜZERİNE
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. SEMİN TURHAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. BERRİN IŞIK

ANKARA 2021

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
TABLO LİSTESİ	iii
RESİM LİSTESİ	iv
GRAFİK LİSTESİ	v
KISALTMALAR.....	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Genel Anestezi.....	4
2.2 Genel Anestezikler	6
2.2.1 Sevofluran	8
2.2.2 Deksmetomidin	14
2.3 Genel Anestezi Ajanlarının Gelişen Beyinde İstenmeyen Etkileri: .	20
2.4 Apoptozis	21
2.4.1 Apoptozisi Uyaran Nedenler	23
2.4.1.1 Mitokondri/Sitokrom-C Aracılı Apoptozis Başlaması:	23
2.4.1.2 Dış Sinyallerle Apoptozisin Tetiklenmesi:	24
2.4.1.3 Endoplazmik Retikulum Aracılı Apoptozis Oluşturulması:	24
2.4.2 Apoptozis Kaskadının Genel Görünümü	25
2.4.3 Anesteziye Bağlı Apoptozis	25
2.4.4 Çocuklarda Anestezinin Etkileri ve Apoptozis	26
2.5 Apoptotik Hücrede Gözlenen Morfolojik Değişiklikler	29
2.5.1 Yüzey Organellerinin Kaybı	29
2.5.2 Hücre Büzülmesi	29

2.5.3	Kromatin Yoğunlaşması.....	30
2.5.4	Sitoplazmik Vakualizasyon ve Apoptotik Cisimlerin Oluşması.....	30
2.6	KOGNİTİF FONKSİYONLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	31
2.6.1	Kognitif Disfonksiyon Değerlendirme Metodları	31
2.6.1.1	İnsanlarda Kognitif Disfonksiyon Değerlendirme Metodları	31
2.6.1.2	Deney Hayvanlarında Kognitif Disfonksiyon Değerlendirme Metodları.....	32
2.7	Kuyruk Sıkıştırma (Tail Pinch/Tail Clip Test):.....	36
3.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1	Denek Seçimi	38
3.2	Kullanılan Yöntemler	38
3.3	RAM Testi Parametreleri	42
3.4	Patolojik Değerlendirme Parametreleri	43
3.5	İstatiksel Değerlendirme	44
4.	BULGULAR.....	46
4.1	Patolojik Bulgular.....	51
5.	TARTIŞMA	56
6.	SONUÇ.....	68
7.	KAYNAKLAR	69
8.	ÖZET:	78
9.	SUMMARY:	79
10.	ETİK KURUL ONAYI.....	80
11.	ÖZGEÇMİŞ.....	82

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Sevofluranın MAK değerleri.	10
Tablo 2: Grupların Referans Hafıza Hatası değerlendirmesi	47
Tablo 3: Anestezi öncesi ve sonrası total kollara giriş sayısı analizleri.	49
Tablo 4: Lokomotor aktivite açısından AÖ ve AS değerler.....	50
Tablo 5: Rearing sayıları	51
Tablo 6: CA3 bölgesinde gruplar arası apoptozis yüzdeleri karşılaştırılması.....	53
Tablo 7: Histopatolojik değerlendirme sonuçları	55

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Sevofluranın kimyasal yapısı.	9
Resim 2: Deksmetomidinin kimyasal yapısı.....	15
Resim 3: Çalışmamızda kullanılan 8 kollu RAM düzeneği	33
Resim 4: Tail-Pinch Test düzeneği.....	37
Resim 5: Şematik RAM Test Düzeneği.....	40
Resim 6: Hipokampal anatomi	44
Resim 7: Normal hipokampus histopatoloji görüntüleri	54
Resim 8: Grupların H&E boyama ile histopatolojik görüntüleri	54

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Referans Hafıza Hatasının Toplam Girişlere Göre Yüzdeleri.....	47
Grafik 2: Çalışan Hafıza Hatasının Toplam Girişlere Göre Yüzdeleri.....	48
Grafik 3: Anestezi Öncesi ve Sonrası Total Mesafe	50
Grafik 4: Bölgelere Göre Apoptozis Yüzdeleri Grafikselsel Görünümü	52



KISALTMALAR

µg/kg/s	: Mikrogram/kilogram/saat
µg/kg	: Mikrogram/kilogram
µmol	: Mikromol
Ach	: Asetilkolin
AÖ	: Anesteziden önce
APAF-1	: Apoptotik proteaz aktive edici faktör
AS	: Anesteziden sonra
ATP	: Adenozin Trifostfat
CA	: Cornu Ammonis
Ca	: Kalsiyum
Cl	: Klor
cm	: Santimetre
CO₂	: Karbondioksit
DEKS	: Deksmetomidin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ER	: Endoplazmik Retikulum
g	: Gram
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
GABAA	: Gama Amino Bütirik Asit Tip A
HFIP	: Heksafluoroisopropanol
IV	: İntravenöz
l/dk	: Litre/dakika
MAK	: Minimum Alveolar Konsantrasyon
N₂O	: Azot protoksit
NMDA	: N-metil D-aspartat
RAM	: Radial Arm Maze
RAS	: Retiküler Aktive Edici Sistem
SEVO	: Sevofluran
SSS	: Santral Sinir Sistemi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bilim ve teknolojide yaşanan gelişmeler, tanı ve tedavi metotlarının gelişmesi her yaş grubunda olduğu gibi intrauterin dönemden başlayarak, yeni doğan, erken çocukluk ve çocukluk döneminde de anestezi maruziyetini artırmaktadır. Yılda yaklaşık 1,5 milyon fetüs ve yeni doğana anestezi uygulandığı bildirilmektedir (1). Çocukluk döneminin özellikle sinir sistemi gelişimi açısından erişkinden farklı özellikler göstermesi çocuklarda bu sistemleri etkileyen ilaçların daha detaylı araştırılmasına neden olmaktadır.

Genel anestezi; çocuklarda cerrahi girişimler, rahatsızlık veren tıbbi uygulamalar veya tıbbi görüntülemelere olanak sağlayan, güvenli ve emsalsiz bir araç olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, genel anesteziye kullanılan ilaçların hedef organının nörolojik sistem olması ve bilinci etkilemesi çocuklarda nörotoksik etkilerin olabileceği yönünde endişelere yol açmaktadır (2). Klinikte kullanılan anestezi ilaçlarının önemli bir kısmının gelişmekte olan beyinde nöron hasarına neden olabileceğine dair yayınlar da bulunmaktadır (3). Bazı deneysel araştırmalar inhalasyon anesteziklerinin nörogelişimsel dönemlerde, nöronal hücre ölümünü (apoptozis) artırarak ve nörojenezi azaltarak uzun süreli ve kalıcı etkileri olabileceğini telkin etmektedir (4). Anestezi nörotoksitesini belirleyen faktörlerin; ilaca maruziyetin beynin hangi gelişim aşamasında olduğu, kullanım sıklığı, süresi ve maruz kalınan doz ile ilişkili olduğu yönünde görüşler bulunmaktadır.

İnsanlarda nörogelişimsel olarak beyin dokusu özellikle sinaptogenez (üçüncü trimester ile 2-3 yaş arası) (5) aşamasında nörotoksik etkilere duyarlıdır. Anestezi kaynaklı nörotoksisitenin araştırılmasında genel anestezinin olası toksik etkilerinin, anestezinin dolaylı etkilerinden (Ör. hipoksi, hiperoksi, hipotansiyon) ayırt edilememesi en önemli güçtür. Tıbbi görüntüleme, endoskopi vb. cerrahi dışı nedenlerle uygulanan anestezide cerrahiden kaynaklanan inflamasyon ve stres yanıtı ekarte edilmekle birlikte bu kategoride değerlendirilen çocuk hastalar (Ör. nöro-görüntüleme yapılan çocuklar) nörogelişimsel bozukluk gibi komorbiditelere sahip olabilirler.

Günümüzde küçük çocuklarda genel anestezi maruziyetinin etkilerinin detaylarıyla değerlendirilmesi toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır. Her ne kadar beyin plastisite özelliği gösteren bir doku olsa da sinaptogenez periyodunda nörotoksik ajanlara maruziyet ileri dönemlerde bilişsel, dil ve sosyal davranış üzerinde olumsuz etkilere yol açabilir. Yapılan klinik çalışmaların önemli bir kısmı retrospektif gözlemsel tasarımları kullandığı ve çoğu anestezi kaynaklı nörotoksisiteyi araştırmak için tasarlanmadığından, anestezi maruziyetine ilişkin veriler sınırlıdır. Bu nedenle farklı gelişim aşamalarında, farklı anestezi ajanlarına maruziyetin olası nörotoksik etkilerinin, anestezi kaynaklı nörotoksisiteyi artıran ve azaltan faktörlerin ve olası mekanizmaların açıklığa kavuşturulduğu deneysel araştırmalara gereksinim vardır. Deneysel araştırma metodunda bağımlı değişkenlerin standardize edilmesi de mümkündür.

Araştırmamızda, bu bilgiler ışığında bebek ratlarda anestezi ajanlarına maruziyetin erken dönemde kognitif fonksiyonlarda bozulma ve nöronal hasar yapıp yapmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Genel Anestezi

Genel anestezi bilinçsizlik, analjezi, amnezi ve kas gevşemesi ile karakterize bir durumdur (6). Bir terim olarak; dışarıdan uygulanan farmakolojik ajanlarla vital fonksiyonlarda majör bir değişiklik olmadan geçici bilinç kaybı, refleks aktivitede azalma ve değişen derecelerde kas gevşemesi ile seyreden, geri dönüşlü bir durum olarak tanımlanmaktadır. Bu durum genel anestezi ajanlarının sırasıyla santral sinir sistemi (SSS)'de kortikal merkezler, bazal gangliyonlar, serebellum ve medulla spinaliste oluşturduğu inici bir depresyonun sonucudur (7).

Genel anestezinin dört bileşeni vardır:

Analjezi: Anesteziye başladıktan sonra, bilinç kaybından önce analjezi meydana gelir. Omurilikte arka boynuzun birinci ağrı nöronunun akson uçları ve spinotalamik nöronlar arasındaki sinapsıyla ilgili nöronların inhibisyonuyla analjezi meydana gelmektedir.

Hipnoz: Sedasyondan bilinç kaybına kadar, artan derinlikte ve yaygın SSS depresyonu ile ifade edilir.

Çizgili kasların gevşemesi: Çizgili kasların gevşemiş olmasının, somatomotor reflekslere neden olmaksızın insizyon yapılabilmesi ve başta karın olmak üzere vücudun çeşitli kısımlarında yapılan cerrahi girişimler sırasında cerrahın çalışmasını kolaylaştırmak için kas tonusunu azaltması açısından önemi ortadadır. Genel anestezi sırasında nöromusküler bloke edici ilaçlar kullanılarak,

izgili kas gevşemesi için yüksek konsantrasyonda genel anestezi ilaç uygulanması zorunluluğu ortadan kalkmıştır.

Hiporefleksi, Arefleksi: Cerrahi girişim sırasında cilt ve derin dokuların kesilme, sıkılma ve diğer şekillerde zedelenmesi veya ellenmesi çizgili kaslarda somatik refleks hareketlere, kalp, solunum yolları ve damarlar gibi yapılarda otonomik reflekslerin uyarılmasına neden olur. Genel anestezikler, santral etkileri ile somatik reflekslerin yanında otonomik refleksleri de azaltır (hiporefleksi) veya ortadan kaldırır (arefleksi).

Derlenme; anesteziye son verildikten sonra, çeşitli yapılardaki değişikliklerin kaybolması ve normale dönüşü ile olur. Anesteziden ayılmada, rezidüel depresyon nedeni ile eksitasyon dönemi hafif geçirilir.

İyi bir genel anestezinin;

- Güven aralığı geniş olmalı,
- Hızlı ve olaysız indüksiyona olanak vermeli,
- İlaç kesildikten sonra hastanın uyanması da çabuk ve olaysız olmalıdır.

Bu zelliklerin tümüne sahip ideal anestezi bulunamadığı için birden fazla farmakolojik ajan kombine kullanılır. Genel anestezi, SSS'ye erişen ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak gelişen depresyonun yer ve derecesine göre ortaya çıkan belirtiler ışığında dönemlere ayrılabilir. Medulla oblongatada vazomotor ve solunum merkezlerindeki nöronlar, daha önce belirtildiği gibi genel anesteziklerle inhibisyona en duyarlı nöronlardır. Halojenli hidrokarbonlar ve intravenöz (IV)

anestezikler hızlı gelişen bir anestezi sağladıkları için dönemlerin ayırt edilmesi zordur (8).

Günümüzde, daha çok kirpik, kornea ve konjunktiva refleksleri, pupilin çapı ve ışığa reaksiyonu, göz yaşarması, göz küresinin hareketleri, kan basıncı, nabız, cilt insizyonuna alınan kardiyovasküler ve solunumsal yanıt; solunumun derinliği, hızı, terleme, özellikle çene kasları olmak üzere iskelet kasları tonusu, hastanın havayolu gereçlerini (Ör. airway) tolere edebilmesi, yutkunma, trakeal çekilme, diyafragmatik solunumun durumu, akciğerlerin esnekliği gibi klinik belirtilerle anestezi derinliğine karar verilmektedir.

2.2 Genel Anestezikler

Genel anestezikler iki ana gruba ayrılır.

- İnhalasyon anestezikleri
- IV anestezikler

Genel anesteziklerin etki mekanizmaları; N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin uyarılabilirliğinde azalma (ketamin, azot protoksit (N₂O), xenon, kloralhidrat) ve gama amino bütirik asit tip A (GABAA) reseptörleri ile inhibisyonda artış (benzodiyazepinler, barbitüratlar, propofol, etomidat, izofluran, enfluran, halotan ve desfluran) ile ilişkili olanlar şeklinde kabaca ikiye ayrılabilir.

İlk inhalasyon anestezisi Crawford W. Long (1815-1880) tarafından 3 Mart 1842 yılında eter ile gerçekleştirilmiştir. 16 Ekim 1846'da Wiliam T.G. Morton (1819-1868) ilk eter anestezisi uygulamasını göstermiştir. 1845 yılı Ocak ayında Horace Wells (1815-1845), inhalasyon anestezisi olarak azot protoksitin

kullanıldığı ilk klinik gösteriyi gerçekleştirmiştir. Yayınlanan ilk kloroform anestezisi James Y. Simpson (1811-1870) tarafından 5 Kasım 1847'de uygulanmıştır. 1868 yılında E. Andrews (1824-1904), güvenli anestezi için uzun süreli ameliyatlarda bile oksijen ve N₂O karışımının kullanılmasını önermiştir (9). 1956 yılında halotan, 1960'da metoksifluran, 1973'de enfluran, 1981'de izofluran sentezlenmiştir. 1988'de Sevofluran (SEVO) sentezlenmiş ve 1992'de klinikte uygulanmaya başlanılmıştır. Ülkemizde de 1996 yılında kullanıma girmiştir. Desfluranın 1992'de kullanımına izin verilmiş, ülkemizde ruhsatlandırılıp kullanıma girmesi ise 2001 yılında olmuştur.

İnhalasyon anesteziklerinin etki mekanizmaları açıkça anlaşılmamış olsa da etkilerinin SSS'de terapötik bir doku konsantrasyonuna ulaşmalarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Tüm inhalasyon anestezikleri tarafından paylaşılan makroskopik etki yerleri serebral korteks, retiküler aktive edici sistem (RAS), nükleus kuneatus, olfaktor korteks ve hipokampüstür (10).

İnhalasyon anestezikleri; oda ısısı ve basıncındaki fizik durumlarına göre gaz ve sıvı olarak ikiye ayrılabilir:

1. Gaz anestezikler: *siklopropan, etilen, N₂O*
2. Sıvı inhalasyon anestezikleri: *kloroform, eter, etil klorür, fluraksen, halotan, metoksifluran, enfluran, izofluran, SEVO, desflurandır* (4).

IV anestezide ilk denemeler kloralhidrat, kloroform ve eter ile morfin ve skolopaminin beraber kullanımını içerir. Günümüzde kullanılan IV ajanlar; barbitüratlar, opioidler, benzodiazepinler, ketamin, etomidat ve propofoldur (11).

IV anesteziplerle ilgili kabul edilen teori, bu ajanların gama amino bütirik asitin (GABA) inhibitör etkisi üzerinden olduğu yönündedir. SSS’de temel inhibitör nörotransmitterdir.

Benzodiyazepinler GABA-A reseptör kompleksinde spesifik yerlere bağlanırlar ve reseptöre bağlanma yüzdelere göre sedatif, amnestik, antikonvülzan etkileri açığa çıkar (12). Barbitüratlar GABA’nın klor (Cl) spesifik iyon kanallarının açılma süresini artırarak inhibitör etki ortaya çıkarır. Propofol GABA’nın GABA-A reseptör için bağlanma affinitesini artırır (13). Propofolün ek olarak serebral korteks ve nikotinik asetilkolin reseptörlerinde iyon kanal bloke edici etkisi de vardır. Etomidat GABA aracılı Cl kanallarının etkisini artırır (13). Ketamin disosiyatif anestezi olarak tanımlanan, talamokortikal ve limbik sistemin fonksiyonel ayrışmasına neden olur. Santral sinir sistemindeki etkisi NMDA reseptöründeki antagonizmasına bağlıdır. Deksmetomidin (DEKS) ve klonidin sedatif ve opioid analjezik etkileri olan santral alfa-2 adrenerjik agonist ajanlardır (11).

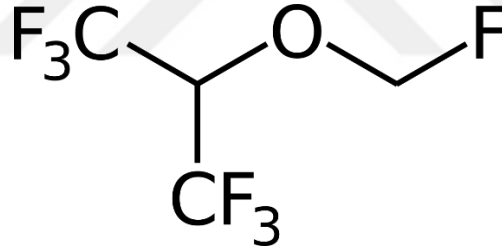
Anestezik ajanların ana hedef bölgelerinden biri olan hipokampus, afferent ve efferent yapılar, nörotransmitterler ve birçok katmandan meydana gelen (gyrus dentatus, hipokampus, fimbria hippocampi) limbik bir yapıdır (9).

2.2.1 Sevofluran

İnhalasyon anestezipleri, 1950’li yıllarda halotanın keşfi ile modern anestezi kavramına kavuşmuş, cerrahi alanda yeni bir çağın başlamasını sağlamıştır (11). Metil eter anestezipler ideal bir volatil anestezinin taşıması

gereken özelliklerin birçoğuna sahiptir. Bunlar arasında moleküler stabilite, alev almama, aritmi yapmama, nöronal eksitasyona yol açmama, kısmi kardiyovasküler stabilite, güven aralığının geniş olması, düşük konsantrasyonlarda serebral kan akımına ve son organa az etkili olması gibi özellikler vardır.

Sevofluran, en son kullanıma giren metil eter anesteziklerdendir. Metil izopropil eterin yüksek florürlü bir türevi olan SEVO (Resim 1) halotan ve izofluran karşısında güvenilirlik ve etkinlik yönünden avantaja sahip inhalasyon anesteziğini bulma çabalarının bir parçası olarak ilk kez 1960 yılında sentezlenmiştir. Ancak florür iyonu salınımı ve karbondioksit (CO₂) absorbanları ile etkileşimi nedeniyle başlangıçta hayal kırıklığı yaratmıştır.



Resim 1:Sevofluranın kimyasal yapısı.

1988 yılında Japonya’da SEVO ile ilgili araştırmalar yeniden başlamış ve 1992 yılından sonra da güvenilir olduğunun ortaya konulması ile dünyada yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (15).

Fiziksel ve Kimyasal Özellikler: Sevofluran metil izopropil eterin florlanmış bir türevidir. Renksiz, oda sıcaklığında sıvı halde, yanıcı olmayan, hoş kokulu bir volatil anesteziktir. Florometil-2.2.2-trifloro-1-(triflorometil) etileter yapısındadır. Geleneksel vaporizatörlerle kullanılabilir. Kan/gaz çözünürlüğü yaşla değişmez. Kaynama noktası halotan, izofluran ve enflurana eşit, desflurandan daha

yüksektir. Klinikte kullanılan konsantrasyonlarda patlayıcı değildir. Sevofluran kimyasal olarak stabildir, güçlü asitler ve ısı varlığında alt gruplarına indirgenmez, ancak güçlü alkali varlığında indirgenir. Karbondioksit absorbanları ile temasında Bileşik A (Compound A) olarak bilinen pentafloroizopropenilflorometil eter ve çok az miktarda Bileşik B (Compound B) olarak bilinen pentaflorometoksiizopropilflorometil eter meydana gelebilir. Bileşik A oluşumunun, SEVO konsantrasyonu, absorban tipi, anestezi gazlarının akım hızı ve anestezi süresinden de etkilendiği gösterilmiştir (16).

Minimum Alveoler Konsantrasyon (MAK): Diğer inhalasyon anesteziklerinde görüldüğü gibi N₂O hem yetişkinlerde hem de çocuklarda SEVO'nun MAK değerini azaltmaktadır (Tablo 1). Ayrıca barbitüratlar, opioidler, benzodiazepinler, alkol, ısı, santral ve periferik katekolamin seviyesini etkileyen rezerpin, alfametildopa gibi ilaçlar da SEVO'nun MAK değerini azaltırlar.

Tablo 1: Sevofluranın yaşa ve N₂O ile birlikte uygulanmasına göre değişen MAK değerleri.

Yaş	%100 O ₂ içinde	%50 N ₂ O/%50 O ₂ içinde
Yeni doğan	%3,30	
1-3 yaş	%2,60	%1,98
5-12 yaş	%2,40	%2
25 yaş	%2,50	%1,40
40 yaş	%2,50	%1,10
75 yaş ve üzeri	%1,40	%0,78

Farmakokinetik: Sevofluranın kan/gaz çözünürlük katsayısı 0,69'dur ve inhalasyon anesteziklerinden sadece desfluranın kan/gaz çözünürlüğü SEVO'dan büyüktür. Sevofluranın bazı dokularda, özellikle yağ dokusundaki erirliği desflurandan daha fazladır. Bu nedenle, teorik olarak uzun anestezi uygulamalarından sonra SEVO'dan derlenme desflurandan daha yavaş olacaktır (17).

Metabolizma: Sevofluran %5'ten daha az metabolize olur. Metabolizması p450 enzim sistemi üzerinden olur. İnorganik florür ve karbondioksit salınması sonucu heksafluoroisopropanol (HFIP) oluşur. HFIP glukronik asitle konjuge olur ve üriner bir metabolit olarak elimine edilir (18).

Solunum Sistemine Etkileri: Sevofluran, diğer güçlü volatil anesteziklerde de kanıtlandığı gibi, doza bağımlı olarak solunumu deprese eder. Hiperkarbiye solunum merkezinin yanıtı azalır, tidal volüm düşer. Nahoş olmayan kokusu, solunum yollarında iritan etki göstermemesi ve düşük çözünürlüğe sahip olması nedeniyle, özellikle pediatrik hastalarda, indüksiyonda avantaj sağlar. Buna ek olarak, SEVO hipoksik pulmoner vazokonstrüksiyonu korumaktadır (19).

Kardiyovasküler Sisteme Etkileri: Sevofluran kullanımı ile kalp hızı stabil seyretmektedir. Desfluranda gözlenen taşikardi beklenmez. Ancak diğer volatil anesteziklerde olduğu gibi SEVO da doz bağımlı olarak kardiyak debiyi, kalp atım hacmini ve sistemik vasküler rezistansı azaltarak kardiyak depresyona neden olmaktadır. Sistemik kan basıncında doz bağımlı, pulmoner arter basıncında ise doz bağımsız olarak azalma gözlenmiştir. Desfluran ve izofluranda gözlenen,

end-tidal konsantrasyonda hızlı bir artışla, sempatik sistemin uyarılması ve sonuçta kardiyovasküler sistemde hiperaktivite oluşması durumu SEVO ile gözlenmemiştir. Halotandan farklı olarak miyokardı epinefrine duyarsızlaştırır. Desflurandan daha az koroner vazodilatatördür, ama koroner çalma sendromu yapmaz (20).

Nöromuskuler Etkileri: İnhalasyon anestezikleri hem farmakolojik etki hem de etki süresi bakımından kas gevşeticilerin etkilerini potansiyalize eder. Sevofluranın veküronyum, panküronyum ve atraküryumun nöromuskuler etkilerini izofluranla eşit düzeyde artırdığına ilişkin çalışmalar mevcuttur (20).

Karaciğer Fonksiyonu Üzerine Etkileri: Halotanın neden olduğu hepatik nekroz insidansı düşük olmasına rağmen karaciğer hasarının potansiyel şiddeti hepatotoksisite açısından yeni inhalasyon ajanlarının ciddi şekilde değerlendirilmesini teşvik etmiştir. Sevofluran kullanıldığında, diğer inhalasyon anesteziklerinin karaciğer mikrozomal proteinlerine bağlanarak oluşturduğu toksik madde olan trifloroasetik asit ve ilişkili bileşikler oluşmamaktadır. Sevofluranın organik yıkım ürünü olan HFIP ise kimyasal olarak trifloroasetik asitten daha az reaktiftir. Bu nedenle SEVO ile immünolojik hepatotoksik cevap riski çok azdır. Hayvan çalışmalarında tüm volatil anesteziklerin karaciğer kan akımını doza bağlı biçimde azalttığını düşündürmesine karşın, SEVO 2 MAK altı konsantrasyonlarda önemli değişikliklere neden olmayabilir (21).

Böbrek Fonksiyonları Üzerine Etkileri: Sevofluranın eliminasyonu inorganik florid gibi yan ürünler oluşturarak gerçekleşir. Floridler ise nefrotoksiktir ve bu etki izofluran, desfluran ve halotandan daha yüksektir. Ancak SEVO sağlıklı

gönüllülerde, uzamış uygulamalarında bile idrar konsantrasyon yeteneğinde bir bozukluğa neden olmamaktadır. Klinik uygulamalarda 2 l/dk taze gaz akım hızında, kapalı devre anestezi sistemi kullanılarak anestezi uygulanan hastalarda, böbrek fonksiyonlarını gösteren parametrelerdeki postoperatif değişikliklerin sıklığı ve derecesi incelendiğinde SEVO ile diğer ajanlar arasında fark tespit edilmemiştir. Sevofluranla serum inorganik flor düzeyleri 50 µmol düzeyleri üstünde olduğunda bile herhangi bir renal yetersizlik olgusu bildirilmemiştir. Sevofluran, sodalime ve barolime ile temas edince Bileşik A ve B oluşur. Bu bileşiklerin hayvanlarda böbreklere toksik etkileri olduğu gösterilmesine rağmen insanlarda böyle bir bulgu elde edilmemiştir (18,19).

Santral Sinir Sistemine Etkileri: Sevofluran ve izofluranın doz bağımlı olarak EEG değişiklikleri oluşturmaları benzerdir. Sevofluran kullanımı ile epilepsi benzeri aktiviteler görüldüğüne ilişkin bazı raporlar vardır. Yine SEVO anestezisinden derlenme esnasında, hastalarda tonik-klonik nöbet benzeri hareketler olduğu da bildirilmiştir. Hayvan çalışmaları göstermiştir ki SEVO serebral kan akımı ve intrakranial basınçta minimal değişiklikler oluşturur, ama serebral metabolik hızı önemli ölçüde azaltır. Sevofluran anestezisi ile karbondioksit serebrovasküler cevap ve serebrovasküler otoregülasyonun da korunduğu tespit edilmiştir (20).

Son zamanda genel anesteziklerin beyin gelişimine zarar verdiği konusunda süre giden kaygılar mevcuttur. Anesteziklere erken maruziyetin daha sonraki yaşamda kognitif bozukluklara yol açabileceği düşünülmektedir. Kaygılar, anesteziklere maruz kalmanın infant beyinde gelişimi ve sinapsların oluşumunu

etkilemesinden doğmaktadır. Volatil anesteziklerin, hücrel kalsiyum (Ca^{++}) homeostatik mekanizmaları değiştirerek apoptozisi geliştirdiği gösterilmiştir (11).

İnhalasyon ajanlarının nörotoksisiteye katkısı olduğu düşünülse de bunların iskemi reperfüzyon hasarına karşı hem nörolojik hem de kardiyak koruyucu etkileri olduğu da gösterilmiştir (11).

Çocuklarda anestezi maruziyetinin nörotoksik olup olmadığını ortaya koymayı amaçlayan klinik, deneysel ve hücre kültürü çalışmaları artan bir ilgiyle sürdürülmektedir. Ancak bildirilen sonuçlar çelişkili olup henüz fikir birliğine varılmamıştır (11).

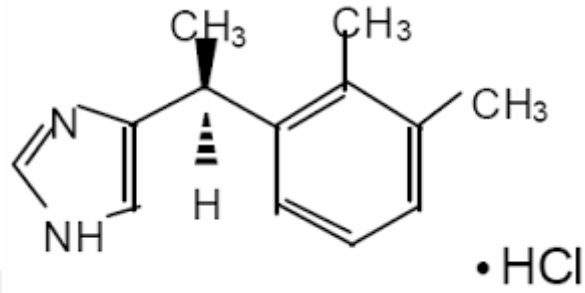
2.2.2 Deksmetomidin

Adrenerjik reseptörler, Ahlquist tarafından çeşitli aminlere verdikleri cevaba göre alfa (α) ve beta (β) olarak ayrılmıştır. Alfa-2 adrenerjik agonistler, analjezi ve sempatolizis oluşturdıkları ölçüde sedasyon, aksiyolitik ve hipnotik etki de sağlarlar.

İlk olarak anestezide alfa-2 agonistlerin kullanılabileceği, klonidin tedavisi alan hastalarda anestezi sırasındaki gözlemlerde ortaya çıkmıştır. Klonidin kullanımıyla halotanin MAK değerinde düşüş olduğu belirlenmiştir.

Deksmetomidin, alfa-2 reseptörler üzerinde, alfa-1'e göre 1600 kat daha fazla bir seçiciliğe sahiptir. Son zamanlarda özellikle 24 saatten kısa süreli sedasyonlarda kullanımı kabul görmüştür (22).

Fizikokimyasal Özellikleri: Medetomidin yüksek oranda selektif bir alfa-2 adrenerjik agonisttir. Deksmedetomidin, medetomidinin spesifik stereo izomeridir ve parenteral kullanıma uygun olarak formüle edilmiştir (Resim 2).



Resim 2:Deksmedetomidinin kimyasal yapısı

Metabolizma ve Farmakokinetik: Deksmedetomidin hızla elimine olur ve karaciğerde büyük oranda metabolize olarak hem idrar hem de feçesle atılır. %41 oranında konjugasyona, %21 oranında N-metilasyona veya konjugasyonu takiben hidroksilasyona uğrar.

Deksmedetomidin %94 oranında proteinlere bağlanırken tam kanla plazma arasındaki konsantrasyon oranı 0.66'dır.

Deksmedetomidin kardiyovasküler parametreler üzerinde belirgin etkilere sahiptir. Bu etkiler nedeniyle kendi farmakokinetik özelliklerini değiştirebilir.

Yüksek dozlarda muhtemelen ilacın dağılım volümünde azalmaya yol açan belirgin bir vazokonstrüksiyona neden olur. Böylece non-linear farmakokinetik gösteren bir doğası vardır. Bu nedenle yalnızca 0,5-1,0 ng/mL gibi dar bir terapötik aralıkta verilmesi uygundur. Farmakokinetik parametrelerinin bu doz aralığında

tarif edilmesi tercih edilir. Bu doz aralığında Dyck ve ark. (23), gönüllülerde DEKS'in farmakokinetiğini incelemiş, farmakokinetik özelliklerinin tarif edilmesi için üç kompartımanlı modelin en iyisi olduğunu göstermiştir. Bu farmakokinetik parametreler yaş, ağırlık ve böbrek yetmezliğiyle değişmemektedir.

Deksmedetomidinin eliminasyon yarı ömrü 2-3 saattir, fakat infüzyon süresine bağlı olarak, 4 dakikadan (10 dakikalık infüzyon), 250 dakikaya (8 saatlik infüzyon) kadar değişir. Deksmedetomidin ile postoperatif sedasyon uygulanan hastalar, gönüllülerde görülene benzer farmakokinetik gösterirler (22).

Santral Sinir Sistemine Etkileri: Alfa-2 agonistler, locus ceruleustaki alfa-2 reseptörlere etki ederek sedatif-hipnotik etkilerini gösterir. Analjezik etkileri ise locus ceruleus ve spinal korddaki alfa-2 reseptörler aracılığıyla ortaya çıkar. Deksmedetomidin ile oluşan sedasyonun kalitesinin, GABA sistemi veya diğer sedatifler aracılığıyla oluşandan farklı oluşu ilginç bir gözlemdir. Alfa-2 agonistlerin oluşturduğu sedatif etki, endojen uyku düzenleyici yollar üzerinde oynadığı rol aracılığıylaadır.

Locus ceruleusun ventrolateral preoptik nükleusa projeksiyon aktivitesinde azalma oluşturur. Bu etki; tüberomamiller nükleusta GABAerjik etkiyi ve galanin salınımını artırır. Ratlarda galanin locus coeruleus bölgesinde noradrenalinle birlikte ve dorsal kök gangliyonlarında seretonin ile birlikte bulunmaktadır. Locus coeruleusta nörepinefrinle birlikte bulunan galanin, yüksek aktivasyon koşullarında ve amperometrik deneylerde nörepinefrinle birlikte salınmaktadır. Stresin ve stres yaratan faktörlerin locus ceruleusta, amigdalada ve hipotalamusta preprogalanin

yapımını ve galanın reseptör yoğunluğunu artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (24). Bunun sonucu olarak da kortikal ve subkortikal projeksiyonlarda histamin salınımında azalmaya öncülük eder. Alfa-2 agonistler; L ve P tipi kalsiyum kanallarından iyon iletimini inhibe ederken, voltaj-kapılı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanallarında ise iletimi kolaylaştırıyor gözükmektedir. Alfa-2 agonistlerin sahip oldukları bir avantaj da alfa-2 adrenerjik antagonistlerle etkilerinin kolaylıkla geri çevrilebilir olmasıdır.

Uzun süreli uygulamayla alfa-2 agonistlere tolerans gelişebilir (22).

Hem düşük hem de yüksek konsantrasyonlarda DEKS global serebral kan akımını %30 oranında düşürmektedir. Bu düşüş infüzyonun kesilmesinden sonra da en azından 30 dk daha devam eder. Deksmetomidin ile konvülsiyon bildirilmemiştir. Doza bağımlı olarak diğer hipofizer hormonlarda olmasa da büyüme hormonu sekresyonunda artışa yol açar. Doza bağımlı olarak hafıza kaybına neden olabilir (22).

Solunum Sistemi Üzerine Etkileri: Gönüllüler üzerinde gerçekleştirilen çalışmada deksmedotimidinin, derin sedasyon oluşturan konsantrasyonlarda dakika ventilasyonunu azalttığı, ancak artan CO₂'e solunumsal cevabı değiştirmedeği görülmüştür. Ventilasyonda görülen değişiklikler, doğal uykuda gözlenen değişiklikler ile benzerlik göstermektedir.

Ebert ve ark (25), spontan soluyan gönüllülerde 15 ng/mL dozunda DEKS infüzyonu uyguladığında arteriyel oksijenasyon veya pH'da herhangi bir değişiklik olmadığını göstermiştir. Çok daha yüksek konsantrasyonlarda, PaCO₂ %20

oranında artmaktadır. Solunum hızının, artan konsantrasyonla birlikte dakikada 14'ten 25'e çıktığı görülmüştür.

Deksmedetomidin ve propofol eş sedasyon düzeyi oluşturacak şekilde (Bispektral indeks: 85) titre edilip verildiğinde, her ikisinde de solunum hızında bir değişiklik saptanmamıştır.

Deksmedetomidinin 1-2 µg/kg'lık dozunun PaCO₂'de hafif bir artışa yol açtığı (45 mmHg) ve karbondioksit cevap eğrisinde sağa kayma, depresyon oluşturduğu görülmüştür. Solunumdaki değişikliğin özellikle tidal volümün değişmesiyle ortaya çıktığı görülmüş, solunum frekansındaki değişiklik çok küçük bulunmuştur.

Deksmedetomidin, alfentanille kombine edildiğinde daha fazla solunum depresyonuna yol açmadan analjeziyi artırır (22).

Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri: Alfa-2 agonistlerin kardiyovasküler sisteme başlıca etkileri; kalp hızı ve sistemik vasküler dirençte ve dolaylı olarak miyokardiyal kontraktilite, kardiyak output ve sistemik kan basıncında azalmadır. Deksmedetomidinin bolus dozunun hemodinamik etkileri bifaziktir. 2 µg/kg IV enjeksiyonu takiben 5 dakika sonra, kan basıncında %22 artış meydana gelirken, kalp hızında %27'lik bir düşüş görülür.

Başlangıçta kan basıncında görülen artış muhtemelen periferik alfa-2 reseptörler üzerindeki etkisi nedeniyle. Kalp hızı 15 dakika içinde bazal değerlere dönerken kan basıncı 1 saat boyunca tedrici olarak bazal değer %15 altına iner. Deksmedetomidin ciddi bradikardiye (<40 atım/dk), nadiren de sinüs

arrestine yol açabilir. Bu epizod sıklıkla spontan olarak geri döner veya antikolinergiklerle tedavi edilir.

Deksmedetomidinin iskemik miyokard üzerinde yararlı etkileri olacağı düşünülmektedir. Ayrıca serum laktat düzeylerini azaltır (22).

Diğer Etkileri: Deksmedetomidinin sık görülen yan etkisi, tükürük üretiminde azalmaya bağlı olarak gelişen ağız kuruluğudur (22).

Kullanımı: Deksmedetomidin, anestezi indüksiyonunda endike değildir. Rolü büyük ölçüde, 24 saatten kısa süreli postoperatif sedasyonla sınırlandırılmıştır. Hipnotik ve opioid ihtiyacının azaltılmasında anesteziye yardımcı olabilir (22).

Bir premedikasyon ajanı olarak 0.33-0.67 µg/kg dozlarda IV olarak cerrahiden 15 dk önce verildiğinde kardiyovasküler yan etkilerin en aza indirilmesinde etkilidir. Bu doz aralığında tiyopental ihtiyacını %30, volatil anestezi ihtiyacını ise %25 oranında azaltır.

Deksmedetomidinin cerrahiden 45-90 dk önce fentanil ile birlikte veya tek başına 2,5 µg/kg dozda intramusküler olarak verildiğinde oluşan aksiyolitik etkisine ek olarak, entübasyona hemodinamik yanıtı, volatil anestezi ihtiyacını ve postoperatif titremeyi azaltmakta ancak bradikardi riskini artırmaktadır (22). Çocuklarda düşük doz deksmedetomidin premedikasyonunun derlenme ajitasyonu sıklığını azalttığı gösterilmiştir (26).

Postoperatif dönemde mekanik ventilasyon uygulanan hastalarda sedasyon için DEKS'in propofole göre daha avantajlı olduğu gösterilmiştir. Yoğun bakım hastalarında sedasyon amacıyla DEKS uygulandığında weaning sırasında daha

stabil bir hemodinami sağlanmaktadır. Deksmetomidin ile sedasyonun sürdürülmesinde 2,5-6 µg/kg/s'lik yükleme dozu sonrası, 0,1-1 µg/kg/s dozda infüzyona ihtiyaç duyulur.

Deksmetomidinin 10 dakika süreyle 10,2 µg/kg/s yükleme dozunu takiben 0,6 µg/kg/s infüzyon uygulandığında anestezi ve opioid ihtiyacının azaldığı bildirilmiştir (22).

2.3 Genel Anestezi Ajanlarının Gelişen Beyinde İstenmeyen Etkileri:

Genel anestezi ajanların SSS'ne etkileri, kolinerjik sistemin ve asetilkolin (ACh) salınımının depresyonu, sinaps sayılarında azalma ve sinaps disfonksiyonu, apoptotik dejenerasyon mekanizmaları ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Genel anestezi esnasında azalan ACh salınımı ve kolinerjik sistemin deprese olması genel anestezinin bilinçsizlik, ağrı blokajı, istemli hareketin engellenmesi ve hafıza kaybı gibi istenen etkilerini kolaylaştırır. Genel anestezi indüksiyon ve idamesinde kullanılan ilaçlar santral kolinerjik sistemle etkileşir. Dejeneratif hastalıklar beyinde kolinerjik sistem defisitleriyle birliktelik gösterir ve postoperatif kognitif disfonksiyon ve deliryum patogenezinde rol alır (26). Volatil anesteziiklerden desfluran, izofluran ve SEVO muskarinik ve nikotinik reseptörleri doz bağımlı olarak inhibe ederler. IV anesteziiklerden barbitüratlar muskarinik ACh (mACh) reseptörünün kompetitif antagonistidir. Yüksek doz propofol, morfin ve fentanil muskarinik ACh ve nikotinik ACh reseptörlerini inhibe eder. Opioidlerden remifentanil ise etkisizdir (27). NMDA reseptörlerinde görev yapan glutamat, gelişen beyinde trofik fonksiyonlara sahiptir. Ratlarda, geç fetal yaşamda başlayıp

doğumdan sonra yaklaşık 2 haftaya uzanan gelişimsel dönemde, NMDA reseptörlerinin saatlerce bloke edilmesi beyinde yaygın apoptotik nörodejenerasyonu tetikler (27). GABAA reseptörlerinde agonist olarak hareket eden ajanlarla çarpıcı bir apoptotik yanıt tespit edilen çalışmalar mevcuttur. Pediyatrik anestezide özellikle sinaptogenezin devam ettiği yıllarda NMDA antagonistleri (ketamin, N₂O) ve GABAA agonistleri (propofol, izofluran, benzodiazepinler, barbitüratlar) kombinasyonları uzun süreli olarak kullanılmaları gelişmekte olan insan beyni için önemli risk oluşturmaktadır (28).

İnhalasyon anesteziklerinin neden olduğu hücre hasarının mekanizması açık olmamakla beraber kalsiyum disregülasyonu suçlanan teoriler arasındadır. Sevofluran ve desfluranın, izoflurana oranla daha az olsa da intrasellüler kalsiyumu etkileyerek apoptoz oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir (29). İnhalasyon anesteziklerine kısa süreli maruziyet minimal strese önkoşullanma ile nöroproteksiyon sağlarken, uzamış maruziyetlerin direkt sitotoksik etki ile apoptozise bağlı hücre hasarını artırdığı düşünülmektedir (30).

2.4 Apoptozis

Organizma sürekli bir denge halindedir. Yeni hücreler sentez edilirken, var olan hücrelerin bir kısmı hücre ölümü ile ortadan kaldırılmakta ve böylece denge korunmaktadır. Hücre ölümünün iki tipi vardır, bunlar apoptozis ve nekrozdur (31,32). Her ikisinde de düzenli olarak birbirini izleyen biyokimyasal ve morfolojik olaylar sonucu hücre ölümü meydana gelir (33). Hücrelerde normal gelişim sırasında meydana gelen ölüm 1842 yılında Vogt tarafından tanımlanmıştır.

Programlanmış hücre ölümü terim olarak ilk kez 1965 yılında kullanılmıştır. Apoptozis terimi ise ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (34). Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır. Köken olarak "apoptosis"ten gelmektedir ve eski Yunanca'da "sonbaharda yaprak dökümü" anlamına gelmektedir (35).

Hücre proliferasyonu nasıl ki mitoz ile belirlenmekte ise belirli bir dokuda ölmesi gereken hücre sayısı da apoptozis ile belirlenir (35,36).

Apoptozis ve mitozis dokuda sürekli bir denge halindedir. Programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı, fizyolojik hücre ölümü apoptozis ile aynı anlamda kullanılan terimlerdir (37,38). Wyllie (39) 1980 yılında deneysel apoptozisi, glukokortikoidlere maruz bırakılan olgunlaşmamış timus hücrelerinde gerçekleştirmiş ve apoptotik hücre DNA'sının elektroforetik jel ayrımını yaparak hücrede DNA bütünlüğünün kalmadığını, apoptotik hücre için karakteristik olan merdiven tarzında DNA bantlarının oluştuğunu göstermiştir.

1993 yılında Cohen yüksek dozda kullanılan steroidlerin timus hücreleri üzerine etkilerini incelemiş ve timus hücrelerinin direkt olarak apoptozisi seçmediğini, hücre ölümüne neden olacak genleri oluşturarak hücreleri apoptozise yönlendirdiğini bildirmiştir (40). Böylece apoptozisin genler tarafından düzenlenen bir hücre ölümü olduğu ortaya çıkmıştır. Apoptozis genetik olarak kontrol edilen fizyolojik mekanizmalarla regüle edilir (41). Nekrozda hücre şişer, mitokondri

genişler, organeller çözünür, plazma membranı yırtılır. Sitoplazma materyali hücre dışına geçerek inflamasyona neden olur. Apoptozis sırasında ise plazma membranı yırtılmaz. Apoptozisin gerçekleşebilmesi için yüksek adenozintrifosfat (ATP) seviyelerine ihtiyaç vardır. Hücre içi ATP seviyesi hücrenin apoptozis veya nekroz ile öleceğine yön verir. Bu da mitokondrinin önemini apoptozisin erken fazında göstermektedir. Eğer hücre ciddi olarak yaralanırsa apoptotik yol için gerekli olan enerjiyi sağlayamayacak ve nekroz ile ölecektir. Apoptozis, hücre intihar şeklidir ve hücre kendi kendisini aktif olarak yok eder. Bu olay nükleer piknozis ve DNA fragmentasyonu ile karakterizedir.

2.4.1 Apoptozisi Uyarıcı Nedenler

Apoptozisin indüklenmesinde 3 prototip yol olduğu bilinmektedir;

- Mitokondri/Sitokrom-c aracılı apoptozis,
- Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ölüm aktivatörleri ile,
- Endoplazmik retikulum (ER) aracılı

2.4.1.1 Mitokondri/Sitokrom-C Aracılı Apoptozis Başlaması:

Mitokondri ATP oluşturmak üzere sitokrom-c içermektedir. Stres durumunda sitokrom-c serbestlenir ve kaspaz-3 aktivasyonuna neden olur (41-43).

Bu yolla apoptotik proteaz aktive edici faktör (APAF-1) ve kaspas-9 bulunmaktadır. Aktive olan sitokrom-c ve APAF-1 birleşerek prokaspas-9'u aktive eder. Aktive kaspas-9 da kaspas-3 ü aktive eder. Bu şekilde kaspas kaskadı tetiklenir (44,45).

Bu proteolitik aktivitenin kaskadı kan pıhtılaşması ve kompleman aktivasyonuna benzer. Terminal uç kaspaz-3'tür. Bu proteolitik aktivite ile sitoplâzmada yapısal proteinlerin sindirimi, kromozomal DNA'nın degradasyonu ve hücrenin fagositozu sağlanır (46).

2.4.1.2 Dış Sinyallerle Apoptozisin Tetiklenmesi:

Birbirini tamamlayan ölüm aktivatörlerinin (Fas-L ve TNF) hücre yüzeyindeki Fas ve TNF reseptörlerine bağlanmasıyla sitoplazmaya kaspaz-8'i aktive eden sinyaller yayılır. Kaspaz-8 (kaspaz-9 gibi) diğer kaspazları uyarır ve hücrenin fagositozuna yol açar. Fas reseptörünün, Fas ligand (Fas-L) ile karşılıklı etkileşimi FADD (Fas bağımlı ölüm domain proteini) aracılığı ile olur ve bunun sonucunda da kaspaz-8 aktive edilerek apoptotik döngü başlar (47,48).

2.4.1.3 Endoplazmik Retikulum Aracılı Apoptozis Oluşturulması:

Bu yol mitokondrial/sitokrom-c ve ölüm reseptör aracılı apoptozisten farklı bir yoldur. ER, hücre içi kalsiyum dengesi, sentezi ve membran proteinlerinin katlanmasını içeren birçok süreçte kritik öneme sahiptir. Kaspaz-12, ER membranında lokalize olan ve ER aracılı apoptozis için esas teşkil eden bir kaspazdır. Son çalışmalar göstermiştir ki Ca seviyelerinin yükselmesi ve kalpainin (kalpain, memelilerde ve diğer birçok organizmada her yerde bulunan, kalsiyum bağımlı, lizozomal olmayan sistein proteazları (proteolitik enzimler) ailesine ait bir proteindir) ER'yi etkilemesi ile prokaspaz-12 aktiflenir. Ayrıca kaspaz-7 salınımı ile de prokaspaz-12 salınımı arasında bir bağlantı bulunur (42). Aktiflenmiş kaspaz-12 sitoplâzmaya yönelir. Kaspaz-9 ile karşılıklı olarak etkileşerek sitozolik kaspaz

kaskadını aktive eder. Son alışmalar, in vivo ve in vitro olarak kaspaz-12'nin kaspaz-9'u aktive ettiğini göstermiştir (48).

2.4.2 Apoptozis Kaskadının Genel Görünümü

- Apoptozisin indüksiyonu
- Hücre yüzey ölüm reseptörlerinin uyarılması
- Sitokrom-C'nin salıverilmesi
- Apoptozom oluşumu
- Mitokondriyal transmembran potansiyelin değışmesi
- Kaspazların aktivasyonu
- Fosfatidilserinin hücre membranının iç yüzünden dış yüzüne transloke olması
- DNase'ın aktivasyonu sonucu deoksiribonükleik asit (DNA)'nın fragmentasyonu
- Yapısal proteinlerin yıkılmasına bağlı olarak apoptozise özgü morfolojik değışikliklerin meydana gelmesi

2.4.3 Anesteziye Bağlı Apoptozis

Geçen yüzyıldaki birçok data genel anesteziklerin postnatal gelişen beyinde nörotoksik etkilerinin olabileceğine işaret etmektedir. Anestezi kaynaklı apoptotik nörodejenerasyon yaş bağımlıdır ve sinaptogenez zamanlamasıyla ilişkilidir. Yani beyin sinaptogenez evresinde çok daha duyarlıdır (49).

Genel anesteziklerin toksik etkisi çok iyi anlaşılamamıştır. Anestezi kaynaklı nörodejenerasyonun hem mitokondrial (intrinsik) hem kaspas (ekstrinsik) apoptotik yollar aracılığı olduğu belirtilmektedir (49).

Lu ve ark. (2006) nörotrofinlerin rolüne işaret ederek, klinik bir uygulama ile genel anesteziklerin (Ör. Midazolam- N₂O -izofluran), olgunlaşmamış sıçanların beyinlerinde nöroapoptotik hasara yol açtığını öne sürmektedir (49).

Olgunlaşmamış memeli beyinde hızlı büyüme döneminde (sinaptogenez periyodu) nöronal apoptoz, glutamat NMDA reseptörlerinin geçici blokajı veya GABAA reseptörlerinin aşırı aktivasyonu ile tetiklenebilir. Apoptojenik ajanlar arasında anestezikler (ketamin, N₂O, izofluran, propofol, halotan), antikonvülsanlar (benzodiazepinler, barbitüratlar) ve kötüye kullanılan ilaçlar (fensiklidin, ketamin, etanol) yer alır.

Spesifik olarak, nörodejenerasyon veya bozulmuş nörolojik fonksiyon, midazolam, diazepam, klonazepam, ketamine maruz kalmanın ardından tespit edilmiştir. Bununla birlikte, midazolam, propofol, pentobarbital, kloral hidrat, N₂O, halotan, enfluran, izofluran, SEVO, xenon maruziyeti ardından zarar veren sekellerin oluştuğunu belgeleyen birkaç çalışma bulunmaktadır (50).

2.4.4 Çocuklarda Anestezinin Etkileri ve Apoptozis

Genel anestezik ajanların SSS'ne etkisi ile ilgili birçok çalışma mevcuttur (51-54). Bu çalışmalar etik nedenlerden dolayı genellikle hayvan deneyleri şeklindedir. 1951 yılında yayınlanan bir çalışmada, hayatının ilk 2 yılında cerrahi

geçiren ve genel anestezi alan çocuklarda postoperatif fizyolojik bozuklukların daha büyük çocuklara göre daha fazla olduğu belirtilmiştir. O zamanki bilgiler ışığında bu fizyolojik bozuklukların anestezi tekniklerinden ve anestezik ajanlardan ziyade ameliyatın fiziksel ve duygusal travmasından olduğu kabul edilmiştir (55).

Apoptozis yaşam boyunca beyinde her an var olan ama kontrol altında olan bir süreçtir. Glutamat ve GABA nörotransmitterleri memelilerdeki nöronal migrasyon, farklılaşma, maturasyon ve sinaptogenezisin tüm yönlerini kontrol etmektedirler (56). Beynin büyümesi sırasında aslında beyindeki majör inhibitör nörotransmitter olan GABA, eksitator bir nörotransmitter gibi davranır ve GABA reseptörü üzerinden oluşan membran depolarizasyonu, sinaptogenezin erken evrelerinde önemli rol oynamaktadır (57). Birçok anestezik ajanın birincil hedefinin GABA reseptörleri olduğunun anlaşılmasından sonra (58) GABA ve glutamati etkileyen anestezik ilaçların SSS'deki nöronlara potansiyel zararı olduğu görüşü öne çıkmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalar hücre zarında bulunan GABA reseptörlerinin ve endoplazmik retikulum üzerinde lokalize olan inositoltrifosfat ile ryanodin reseptörlerinin anestezikler ile uyarıldığı, bu uyarının hücre içine kalsiyum akışına ve mitokondriyal kalsiyum depolarından Ca^{2+} salınımına neden olduğu, bu durumun da kaspazların aktivasyonunu sağlayan sitokrom c'nin salınmasına yol açtığı ve artmış kaspaz aktivasyonunun da apoptoza neden olduğu anlaşılmıştır.

Anesteziye bağlı nöron hasarlanmasının bir olası mekanizmasının reaktif oksijen radikallerinin oluşumu olabileceği belirtilmektedir (58). Ayrıca yapılan

birçok hayvan deneyinde anestezi ve sedatif ajanlara maruziyetin nöroapoptozisi indüklediğini ve kognitif gelişimi kötü etkileyebileceği gösterilmiştir (59).

Doğumda yaklaşık 335 gr olan insan beyninin 6. ayda yaklaşık 2 kat, 12. ayda ise yaklaşık 3 kat ağırlığa ulaşması beynin doğumdan sonra da gelişiminin devam ettiğinin önemli bir göstergesidir. Bu dönem beynin büyümesinin veya sinaptogenezin en hızlı olduğu dönem olarak bilinir (60). İnsanlarda sinaptogenez en hızlı ve en fazla 3. trimesterde başlar, yaşamın ilk birkaç ayında daha yoğun olmak üzere postnatal ilk birkaç yılda gerçekleşir (61). Nöronal sinaptogenezin tüm yönlerini kontrol eden glutamat ve GABA nörotransmitterleri anestezi maddeler tarafından etkilendiğinden en fazla hasarın da bu hızlı sinaptogenez döneminde yani beynin en hızlı büyüdüğü bu dönemde olduğu belirtilmektedir.

Maymunlarda postnatal yaşamın ilk ayında SEVO'ya birçok kez maruziyetin, ilerleyen zamanlarda anksiyete ile ilgili davranışların daha sık yaşanmasına sebep olduğu belirtilmiştir (62).

Wilder ve ark.'nın (63), yaptığı geniş retrospektif kohort çalışmada iki ya da daha fazla genel anesteziye maruz kalan çocuklarda okuma, yazma ve matematik öğrenme güçlüğüne daha fazla olduğu ve bu riskin uzun maruziyetle de artış gösterdiği bildirilmiştir.

İnsanlarda beyin büyümesi hamileliğin altıncı ayında başlar ve doğumdan sonraki üçüncü yıla kadar uzanır. Pediatrik ve obstetrik tıpta sedasyon, anestezi ve

nöbet yönetimi amacıyla kullanılan ajanların, gelişmekte olan insan beyinde apoptotik nöronal hasara neden olabileceği endişesi mevcuttur (64).

İlk olarak Wells BA ve ark. (65) tarafından tanımlandığından bu yana anesteziğin nöroprotektif olduğu yönünde de araştırma sonuçları paylaşılmaktadır. Kraniyotomilerde yapılan çalışmalarda, desfluran kullanılmasının doku parsiyel oksijen basıncını koruduğu dolayısı ile doku oksijenizasyonunu, laktik asidozu ve pH azalmasını düzelttiği (66); beyin iskemisi sırasında uygulanan SEVO'nun 28 güne kadar nöroprotektif olduğu (67); intraserebral kanamadan sonra izofluran uygulanan sıçanlarda da beyin ödeminde, apoptotik hücre ölümünde ve davranışsal bozukluklarda azalma olduğu (68,69); subaraknoid hemoraji veya orta serebral arter oklüzyonlarında izofluranın nöroprotektif etkileri olduğu (70); tekrarlayan ketamin kullanımının zararlı uyaranların olmadığı durumlarda gelişmekte olan beyin için zararlı olduğu ancak güçlü ağrılı uyaran varlığında nöroprotektif olabileceği (71) ileri sürülmüştür.

2.5 Apoptotik Hücrede Gözlenen Morfolojik Değişiklikler

2.5.1 Yüzey Organellerinin Kaybı

Apoptozise uğrayan hücrenin komşu hücrelerle bağları kesilir. Hücre yüzeyindeki mikrovillüsler ve diğer hücrelerle yaptıkları özel bağlar ortadan kalkar, hücre düz yüzeyli hale gelir (72,73).

2.5.2 Hücre Büzülmesi

Apoptotik hücre komşu hücreye göre daha küçük ve sitoplâzması daha yoğundur. Endoplazmik retikulum dışında diğer hücre organelleri yapılarını korur (39). Sitoplâzma yoğunluğu arttığı için organeller kalabalık görünür. Hücre zarı sağlam olduğundan nekrozda olduğu gibi bir inflamatuvar reaksiyon gözlenmez (39,72).

2.5.3 Kromatin Yoğunlaşması

Önemli yapısal değişiklik çekirdekten başlayarak izlenir. Çekirdek apoptoziste odak noktasıdır. Hücreden hücreye değişmekle birlikte genellikle çekirdek piknozise uğrar (39,72). Kromatin çok yoğun bir hale gelir ve parçalar halinde bir araya toplanır. Çekirdek porları seçilemez. Çekirdek şekli düzensizleşir ve ileri evrede küçük çekirdek parçalarına bölünür. Çekirdekçik genişler ve granülleri kaba granüller halinde dağılır (39,73).

2.5.4 Sitoplazmik Vakualizasyon ve Apoptotik Cisimlerin Oluşması

Hücrede önce yüzeye doğru tomurcuklanmalar olur. Bunlardan bazıları sitoplâzma parçacıkları içeren ve sıkı biçimde paketlenmiş organellerden oluşan zarla sarılı apoptotik cisimlere dönüşür (74).

Apoptozis için morfolojik değişimler hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, hücre membran tomurcuklanması olurken fosfotidilserin açığa çıkar. Sağlıklı hücrelerde plazma membranının içinde bulunan fosfotidilserin apoptotik hücrelerde plazma membranının dış yüzünde bulunur ve fagositik hücreler için sinyal görevi görür (75).

2.6 KOGNİTİF FONKSİYONLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kognitif fonksiyon; hafıza, dikkat, lisan, görsel-uzamsal yetenek, psikomotor performans gibi çeşitli komponentler altında incelenebilen soyut bir kavramdır. Anesteziklerin kognitif fonksiyonlar üzerine zararlı etkileri son yıllarda fazlasıyla önem kazanmıştır (51). İdeal olanı, postoperatif kognitif disfonksiyonun varlığını saptamak için kullanılan testlerin, bu komponentlerin tümüne yönelik olması veya kognitif fonksiyonun en muhtemel etkilenme yerine odaklanmasıdır (76).

2.6.1 Kognitif Disfonksiyon Değerlendirme Metodları

2.6.1.1 İnsanlarda Kognitif Disfonksiyon Değerlendirme Metodları

Günümüzde anesteziden derlenme sırasında kognitif fonksiyonları ölçmek için sıklıkla tercih edilen ve pratik uygulamalarda kullanılan testler şunlardır:

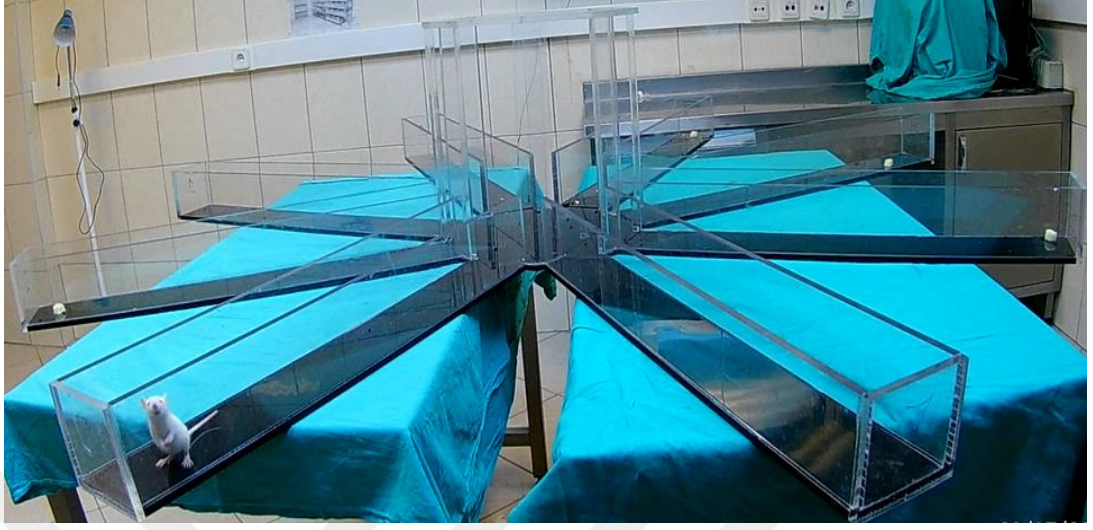
- “Triger Dot” Testi (TDT)
- “Digit Symbol Substitution” Testi (DSST)
- “Verbal Learning” Testi
- “Stroop Color and Word Interference” Testi
- “Four Boxes” Testi
- “Visual Verbal Learning” Testi
- Mini Mental Durum Testi (MMST)

2.6.1.2 Deney Hayvanlarında Kognitif Disfonksiyon Değerlendirme Metodları

Bellek bozukluğunu sınamak amacıyla en sık kullanılan yöntemler sekiz kollu labirent (Radial Arm Maze (RAM)) ve Morris Su Tankı uygulamalarıdır (77,78). Radial Arm Maze ve Morris Su Tankı haricinde pasif sakınma, şartlı zıtlama testi, dört levha testi, merdiven testi gibi testlerde bu amaçla kullanılabilir (79,80). Bunlar bellek bozukluğunun düzeyini saptamak amacıyla kullanılan davranışsal yöntemlerdir. Özellikle nöroproteksiyon çalışmalarında yapılan davranışsal çalışmaların morfolojik çalışmaları tamamladığı gösterilmiştir (77,78). Ek olarak kognitif fonksiyonların nörotransmitterlerle olan ilişkisinin saptanması amacıyla da bu düzenekler kullanılmaktadır (81-83).

2.6.1.2.1 Radial Arm Maze Düzeneği ve Testi

Radial Arm Maze düzeneği, 30 cm çapındaki merkezi bir platformdan ışınsal olarak yayılan sekiz koldan oluşmaktadır. Her kol koridor şeklinde olup, 50 cm uzunluğunda ve 10 cm genişliğinde yapılmıştır (Resim 1). Bu düzenek ilk kez 1976 yılında Olton ve Samuelson tarafından ratlarda spatial (uzaysal) hafızayı değerlendirmek amacıyla geliştirilmiştir. Günümüzde de ratlarda hafıza fonksiyonunun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (84). Explicit (uzak) ve implicit (yakın) bellek bu yöntemle sınanabilir (85).



Resim 3:Çalışmamızda kullanılan 8 kollu RAM düzeneği

2.6.1.2.2 Radial Arm Maze Performansının Değerlendirilmesi:

David Olton ve ark. (86) tarafından geliştirilen RAM testi, deklaratif belleğin bir bileşeni olarak uzaysal bellek performansının ölçümü amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Normal bir sıçan böyle bir RAM düzeneğine konulduğu zaman her bir kolun sonuna yerleştirilen yemleri buluncaya kadar aygıtta dolaşır. Yapılan denemelerle birlikte, sıçan tüm yemleri bulmayı öğrendiği zaman, RAM'ın her bir kolunu sadece bir kez ziyaret eder. Sıçan, kolların her birine yeniden girmemeyi yani girmek üzere olduğu kolun daha önce ziyaret ettiği kol olduğuna aygıt etrafındaki başta görsel olmak üzere birtakım ipuçları kullanarak karar verir. Normal bir sıçanın RAM performansı böyle iken deklaratif bellek oluşturmada bir kusuru bulunan örneğin hipokampusu zedelenmiş bir sıçan RAM düzeneğine konulduğu zaman farklı bir performans gösterir. Öyle ki, normal bir sıçanın aksine, girdiği kola birden fazla girer ve de girdiği kolda, ziyaret etmediği diğer kollar

varken anormal bir şekilde uzun zaman geçirir. Böyle bir davranış açıkça uzaysal bellekteki bir sorunun yansıması olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle RAM performansları, sıçanların girdiği kola tekrar girmesinin hata olarak değerlendirilmesiyle ölçülür (87,88).

RAM testinin birçok ilginç versiyonu geliştirilmiştir (85), ancak RAM halen büyük ölçüde orijinal dizaynında kullanılmaktadır (89). Her kola yem konulan yöntemde daha önce girdiği kola tekrar girmesi yakın bellek bozukluğunu gösterirken, her kola yem konulmayan yöntemde ise hayvan yem konulmamış kola girerse uzak bellek bozukluğunu gösterir (80). RAM ile hipokampal lezyonların sonucunda oluşan veya belirli bir gen ya da proteinin kalıtımı nedeni ile oluşan hafıza bozukluğunu (90,91) ya da cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik dalgalar nedeniyle oluşan hafıza bozukluklarını tespit etmekte kullanılır (92,93).

Culley ve Ark (94). yaptığı çalışmalarda RAM düzeneği ile genel anesteziklerin uzaysal bellek görevinde yaşlı sıçanlarda uzun süreli ancak geri döndürülebilir bozukluk oluşturduğu, oysa genç sıçanlarda labirent performansını artırdığı görülmektedir.

RAM, davranış düzenekleri içinde en karmaşık ve uygulama birliği olmayan deney düzeneğidir. Metodolojik olarak 2 yöntemle yapılır. Birçok kez yapılan uygulamalarda kollar bir engel ile kapatılmazken 2 kez yapılan ölçümlerde kollar bir engelle kapatılır (95).

Metodolojik olarak 8 kollu radial kaçmaya dayalı yüzmeli öğrenme deneyine benzemektedir. Çalışmada süre olarak 10 dakika boyunca kayıt yapıp girdiği kollar raporlanmıştır (96).

Referans hafıza hatası (RHH): Alıştırma ya da adaptasyonda hayvan 8 kollu deney düzeneğine konulduğunda 4 adet yem olan 4 adet yem olmayan kolları tek tek öğrenmesi gerekir. Hayvan tüm kolları öğrendikten sonra ikinci çekim dediğimiz test çekiminde yem olmayan kollara girme sayısı referans hafıza hatası olarak kabul edilir (97). Referans hafıza hatası artarsa öğrenme bozulmuş demektir.

Çalışan hafıza hatası (Working memory error (ÇHH)): Burada ise ikinci çekimde hayvan yem olan kolları öğrendi kabul edilir, yem olan kola birinci giriş dışında tekrar giriyor ise ÇHH olarak kayıt altına alınır (97). ÇHH sayısı arttıkça hafıza bozulması olarak kabul edilir.

Working memory correct: Eğer birinci ve ikinci çekimde yemleri koyduğunuz bölmelerin yerleri değiştirilirse, ratın doğru konumda yem olmamasına rağmen girmesi olarak tanımlanır (97).

Rearing: Ratın 2 ayağı üstünde yükselme davranışı anksiyetenin azaldığını gösterir.

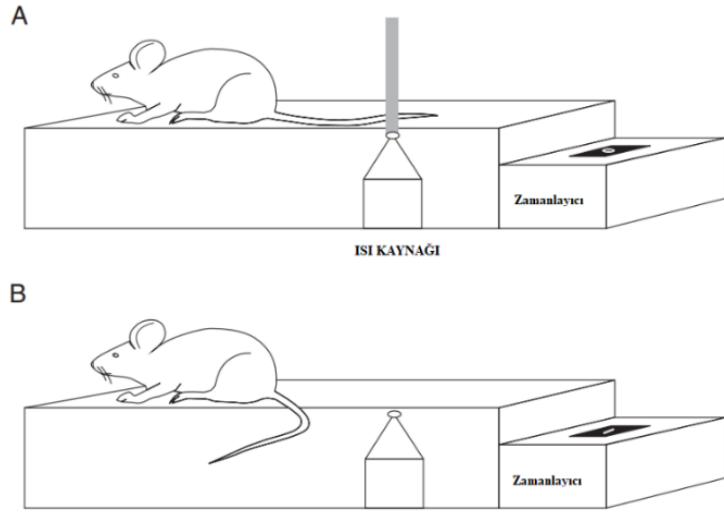
Toplam mesafe: Ratın düzeneğe koyulmasından testin sonuna kadar geçen sürede kat ettiği mesafe hesaplanır. Anestezi öncesine göre anestezi sonrası ölçülen değerlerde artış olması verilen ilacın hiperaktiviteye neden olabileceğini gösterir (79).

2.6.1.2.2 Morris Su Tankı Testi

Bu test içi zararsız beyaz boya ile opaklaştırılan yuvarlak bir yüzme havuzunun içine bırakılan deney hayvanının, su altına gizlenmiş kaçma platformunu bulması ve bu sayede sudan kurtulması esasına dayanır (80).

2.7 Kuyruk Sıkıştırma (Tail Pinch/Tail Clip Test):

Haffner tarafından 1929’da ilk kez tanımlanmıştır (98). Anestezi derinliğini değerlendirmek için kullanılır. Temel prensipler ve hayvanın olası davranışları açısından ayak çekme testi gibidir. Uygulanan basıncın büyüklüğüne bağlı olarak ya çok kısa sürede (<2 saniye) ya da daha uzun sürede (eğer analjezi söz konusuysa) kuyrukta klipse tepki (Ör. Isırmaya alışma) gösterir. Araştırmalarda farklı şiddette uyarı sağlayan farklı klipsler kullanılabileceği gibi belli bir klipsle eşik/eşik üstü süre tespit edilebilir. Eşik değer sıçan için 10-178 g, fare için ise 71-1070 g arasında bir değerdir.



Resim 4:Tail-Pinch Test (89) düzeneği

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na yapılan başvuru sonucunda G.Ü. ET. 20.013 kod numarası ile Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı aldıktan sonra 27.07.2020-21.08.2020 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'da gerçekleştirilmiştir. Daha sonra araştırma grubuna Patoloji AD'ndan araştırmacı eklenmesi için 12.02.2021-E.27650 tarih ve sayılı etik kurul onayı alınmıştır.

3.1 Denek Seçimi

Çalışmada 21 günlük (P21) 36 adet Wistar Albino cinsi bebek rat kullanılmıştır. Ratlar doğumlarından itibaren standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz - 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20-22°C oda ısısı, %50-60 nem, ad libitum beslenme) izlenmiştir. Sağkalım oranı ve deney tamamlanmadan ölümle sonuçlanan durumlarda ölüm saati (anestezi maruziyeti açısından) kaydedilmiş ve beyin dokuları histopatolojik olarak değerlendirilmiştir.

3.2 Kullanılan Yöntemler

Çalışmaya başlamadan önce ratların ağırlıkları kaydedildi, ardından randomize olarak 6 gruba (n=6) ayrıldı. Anestezi uygulamasında GÜDAM laboratuvar imkânlarından faydalanıldı.

Ratların anestezi uygulaması aşağıda belirtilen gruplara uygun olarak yapıldı. Cerrahi girişim uygulanan deneysel çalışmalarda etkilerinin değerlendirilmesi planlanan ilaçların uygulanmadığı bir kontrol (sham) grubu da oluşturuldu.

Grup I: Kontrol grubu, ilaç uygulaması yapılmadı (n=6).

Grup II: 4 saat %2,5 sevofluran verildi (n=6).

Grup III: 4 saat %2,5 sevofluran + 0,5 µg/kg deksmedetomidin (0.-2.-4. saat) intraperitoneal verildi (n=6).

Grup IV: 4 saat %2,5 sevofluran + 5 µg/kg deksmedetomidin (0.-2.-4. saat) intraperitoneal verildi (n=6).

Grup V: 0,5 µg/kg deksmedetomidin (0.-2.-4. saat) intraperitoneal verildi (n=6).

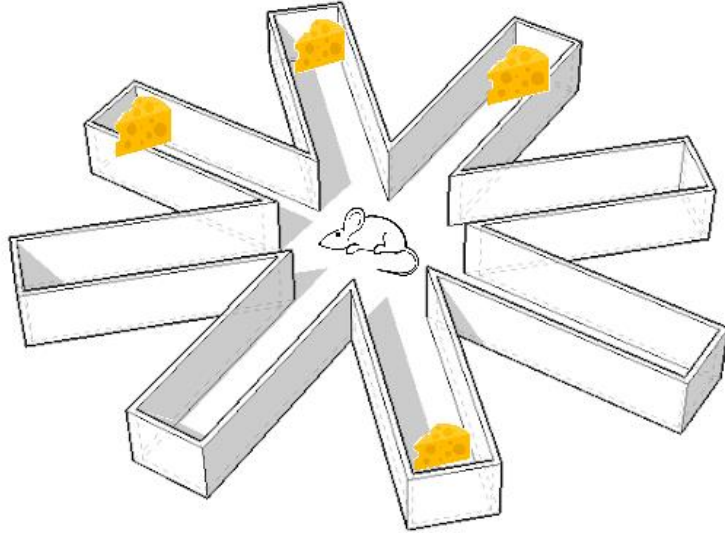
Grup VI: 5 µg/kg deksmedetomidin (0.-2.-4. Saat) intraperitoneal verildi (n=6).

Ratların yeterli anestezi düzeyine ulaştıkları Tail-pinch testi ile değerlendirildi. Pens ile 15 saniye boyunca, yaklaşık 3-4 lb basınç uygulanarak kuyruk kökü sıkımayla yanıt alınmaması, hareketsizliğin devam etmesi yeterli anestezi derinliği olarak değerlendirildi (99,100).

Ratlar 1. gün RAM düzeneğine yerleştirildi. RAM’da hipokampal hasar değerlendirilmesinde daha yönlendirici olması açısından birinci, ikinci, üçüncü ve altıncı kolların uç noktalarına yem konuldu (Resim 5) (101). 10 dakikalık video kayıtları alınarak aşağıdaki veriler kaydedildi.

- Toplam girilen kol sayıları
- Yem olmayan kola girme
- Yem olan kola tekrar girme
- Toplam mesafe
- Rearing

Anestezi öncesi ve sonrası toplam girilen kol sayıları hesaplandı. Tekrarlanan testlerde yem olmayan kola girme sayısı RHH olarak değerlendirildi. RHH sayılarının toplam girilen kol sayılarına göre yüzdeleri hesaplandı. Yem olan kola tekrar girme sayısı ÇHH olarak değerlendirildi ve toplam girilen kol sayılarına göre yüzdeleri hesaplandı. Toplam girilen kol sayıları ve kol uzunlukları kullanılarak toplam kat edilen mesafe hesaplandı. Son olarak ratların rearing sayıları kaydedildi.



Resim 5: Şematik RAM Test Düzeneği

Sevofluran (*Sevorane, AbbVie Tıbbi İlaçlar, İstanbul/Türkiye*) uygulaması için bir düzenek kuruldu. Bu düzenekte ekspiryumda havalanmaya izin verecek şekilde içerisi görünen şeffaf bir kutu içine hayvanlar SEVO alacak gruplar halinde sırayla yerleştirildi. İnspiryum tarafına vaporizatör (*Dräger vapor 2000, Almanya*), vaporizatör girişine de taze gaz olarak %100 oksijen bağlandı. %2,5 konsantrasyonda SEVO taze gaz akımı 3 l/dk olacak şekilde uygulandı.

1. gün RAM düzeneğindeki testten sonra Grup I dinlenmeye bırakıldı.

Grup II'ye 4 saat %2,5 SEVO uygulandı. Otuz dakikada bir solunum sayıları ve tail pinch testi ile anestezi derinlikleri değerlendirildi. Solunum sayısı takibi ve tail pinch testi SEVO verilen bütün deney gruplarında uygulandı.

Grup III'e 4 saat %2,5 SEVO ve 0., 2. ve 4. saatlerde 0,5 µg/kg deksmedetomidin (*Precedex 200 µg/2mL, Meditera ithalat ve ihracat, İzmir/Türkiye*) uygulandı.

Grup IV'e 4 saat %2,5 SEVO ve 0., 2. ve 4. saatlerde 5 µg/kg DEKS uygulandı.

Grup V'e 0., 2. ve 4. saatlerde 0,5 µg/kg DEKS uygulandı.

Grup VI'ya 0., 2. ve 4. saatlerde 5 µg/kg DEKS uygulandı.

Tüm ratlar derlendikten sonra bakım odalarında takip edildi.

3. gün ratlar tekrar RAM düzeneğine yerleştirildi. Aynı veriler kaydedildi. Sağkalım oranı ve deney tamamlanmadan ölümle sonuçlanan olgular kaydedildi.

Grup IV’te yer alan ratlardan birinin 3. gün eksitus olması nedeniyle değerlendirilen rat sayısı bu grupta 5’e düştü (n=5).

RAM değerlendirmesinden sonra ötenazi öncesi ratlara 45 mg/kg ketamin (*Alfamine %10, Ata Fen Veteriner Malzemeleri, İzmir/Türkiye*) ve 5 mg/kg xylazin (*Xylazinbio %2, İntermed Ecza Deposu Yenışehir/Ankara*) uygulandı. Anestezi altında iken intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Ardından kraniumları açıldı. Beyin dokusunun bütünlüğü bozulmadan çıkarıldı ve %10’luk formol içine konularak histopatolojik inceleme için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı’na teslim edildi.

3.3 RAM Testi Parametreleri

Araştırmamızda 8 kollu RAM düzeneğinde modifiye RAM testi uygulandı. Ratlar RAM düzeneğine yerleştirildi. Test anestezi öncesi ve sonrası olmak üzere 2 kez uygulandı. Her bir rat için deneye başlamadan RAM düzeneğindeki kollar %70’lik etanolla ardından da suyla ıslatılmış bezle silindi ve son olarak da kurulandı. Ratlar düzeneğin ortasına yerleştirildi. Resim 5’te gösterildiği şekilde 4 kola yem yerleştirildi. Kollar engelle kapatılmadı. 10 dakika boyunca video kaydı yapıldı. Aşağıda bahsedilen veriler toplandı.

- **RHH:** İlk çekimde toplam girilen kol sayısı, ikinci çekimdeki yem olmayan kollara girme sayısı not edildi.
- **ÇHH:** İkinci çekimde hayvan yem olan kolları öğrendi, ancak yem olan kola birinci giriş dışında tekrar giriyor ise ÇHH olarak kayıt altına alındı.

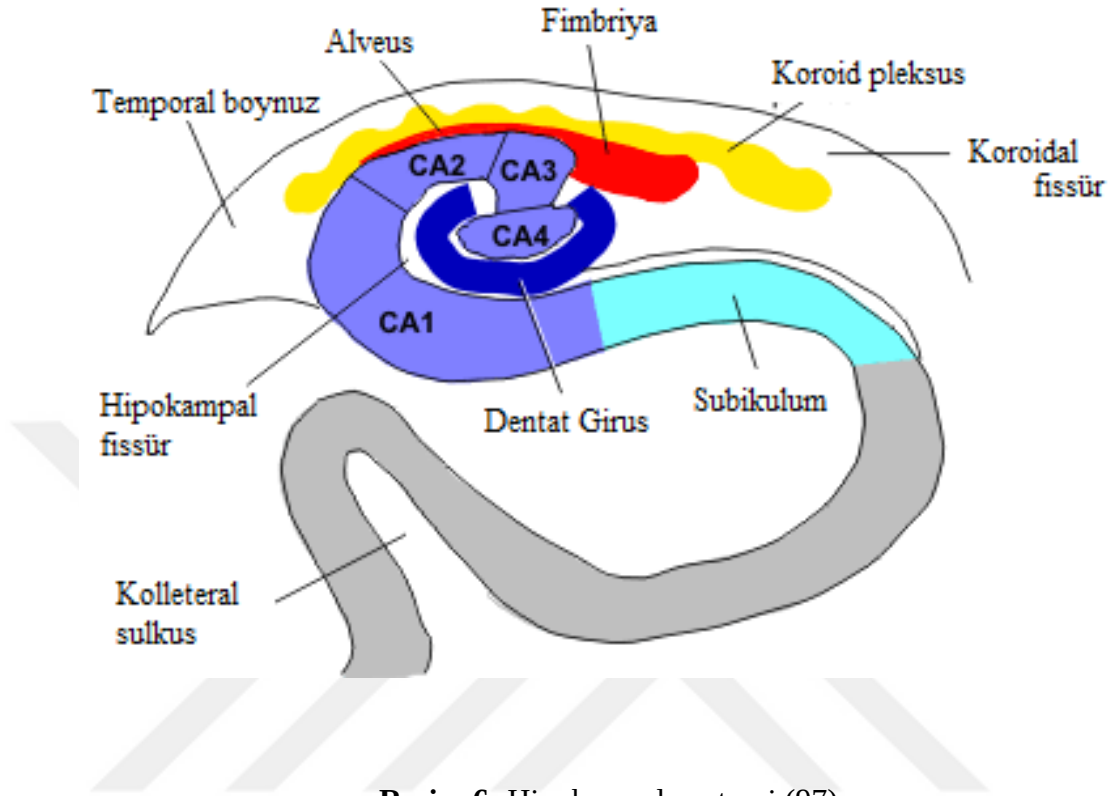
- **Toplam Mesafe:** Girilen kol sayısı x 2 x kol uzunluğu olarak hesaplandı.
- **Rearing:** Ratın 2 ayağı üzerinde yükselme davranışı kaydedildi.

RHH ve ÇHH'nin toplam kollara giriş sayılarına göre yüzdeleri hesaplandı.

3.4 Patolojik Değerlendirme Parametreleri

Işık mikroskopunda Rat beyinleri bregma noktası mihenk alınarak coronal dilimlendi. Her hayvana ait ayrı iki kasette, posteriora doğru, 2 mm kalınlıkta, dört dilim hipokampal bölgeleri (Cornu Ammonis (CA)) gösterecek şekilde örneklendi. 4 kesitten hipokampusu en iyi temsil eden seçildi (Resim 4). Lamel üzerinde CA1, CA2 ve CA3 nükleusları işaretlendi. Granüler tabaka nöronlarında dejeneratif değişiklikler, bir büyük büyütme alanında (BBA) (x400 OLYPMUS) sayılarak not alındı.

- Farklı ilaç ve doz uygulamalarının apoptozis yapıp yapmadığı 400 büyütmede değerlendirildi.
- Anestezi sonrası apoptoziste artış olup olmadığı değerlendirildi.
- Alanlara göre (CA1, CA2, CA3) apoptozis miktarında değişiklik olup olmadığı gözlemlendi.
- Parankimde inflamasyon bulguları değerlendirildi.



Resim 6: Hipokampal anatomi (97)

3.5 İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20,0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analiz verileri; ortalama, ortanca, standart sapma (SS), (Minimum-Maksimum), n (%) olarak sunuldu. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

Ölçülebilen parametrelere Shapiro-Wilk testi uygulanarak dağılımın normal ya da anormal olup olmadığı belirlendi. Gruplar arasında fark olup olmadığını

belirlemede bağımsız gruplarda One-way ANOVA testi ile değerlendirildi. Farklılık olması durumunda gruplar arası Post-hoc analizi Bonferroni düzeltme testi ile karşılaştırma yapıldı.

RAM giriş çıkış gibi verilerde; gruplar içerisinde tekrarlayan ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin meydana gelip gelmediği, Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi ile araştırıldı. Tekrarlı Ölçümler Varyans Analizi istatistiği sonucunun önemli bulunduğu durumlarda söz konusu farka neden olan ölçüm zamanını tespit etmek amacıyla Bonferroni Düzeltmeli Karşılaştırma Testi kullanıldı.

İncelemelerde tekrarlayan ölçümlerde sphericity analizi için Greenhouse-Geisser testi kullanıldı.

Patolojik verilerin istatistiksel değerlendirmeleri Kruskal-Wallis test ile yapıldı. İstatistiksel olarak anlamlı olan gruplara Mann-Whitney U ile Post-hoc analizi yapıldı.

4. BULGULAR

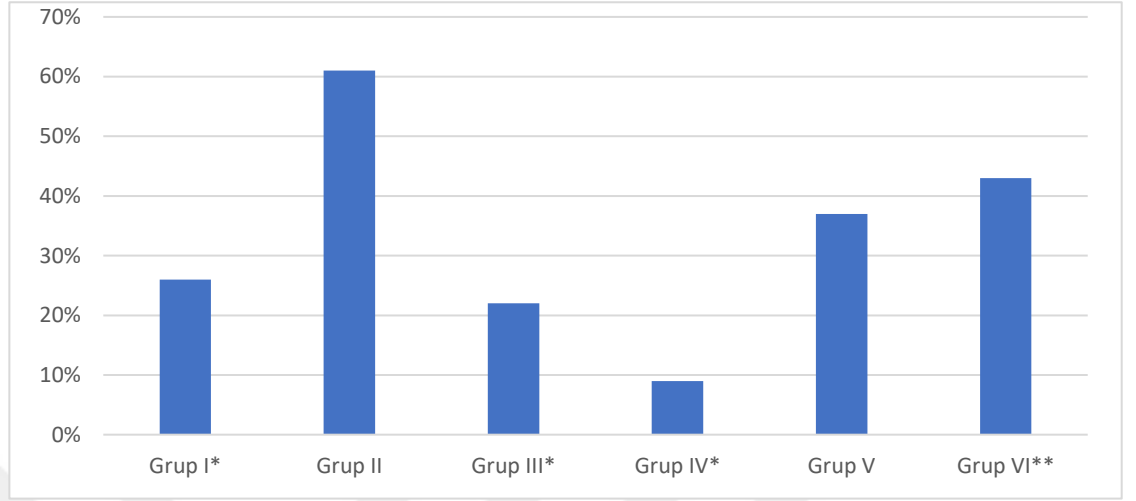
Araştırmaya dahil edilen tüm ratlar 21 günlük olup ağırlıkları arasında (Ortalama ağırlık±standart sapma: Grup I: 31,4±2,04 g, Grup II:31,4±1,7 g, Grup III:30,6±1,7 g, Grup IV: 30,05±1,34 g, Grup V:31,3±2,1 g, Grup VI: 29,7±1,5 g) istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0.370$). Deneyin 3. gününde RAM testi öncesinde Grup IV'e dahil olan bir rat eksitus olduğundan araştırmada 35 rat yer aldı.

Ratlara anestezi uygulamasından önce ve sonra RAM düzeneğinde yapılan testte;

- Toplam girilen kol sayıları
- Yem olmayan kola girme
- Yem olan kola tekrar girme
- Toplam mesafe
- Rearing sayıları ölçüldü.

İkinci çekimdeki yem olmayan kollara girme sayısı RHH değeri olarak kaydedildi. Buna benzer şekilde yem olan kola ratın tekrar girmesi ÇHH değeri olarak kaydedildi. Toplam mesafe; girilen kol sayısı ile RAM düzeneğindeki kol uzunluğunun (cm olarak) iki katı (gidiş-geliş) ile çarpılarak bulundu.

RHH değerlerinin toplam giriş sayılarına göre yüzde oranları saptandı (Tablo 2). Her bir grubun, grup içi karşılaştırmalarında değerler homojen dağılıyordu. One-way anova ile grupların birbirleriyle karşılaştırmalarında ise gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p<0.001$).



*p<0,05 Grup II ile karşılaştırıldığında, **p<0,05 Grup IV ile karşılaştırıldığında
 *(Grup I ve Grup II karşılaştırıldığında p:0,015, Grup II ile Grup III karşılaştırıldığında p:0,004, Grup II ile Grup IV karşılaştırıldığında p<0,001)
 **(Grup IV ile Grup VI karşılaştırıldığında p:0,028)

Grafik 1:Referans Hafıza Hatasının Toplam Girişlere Göre Yüzdeleri

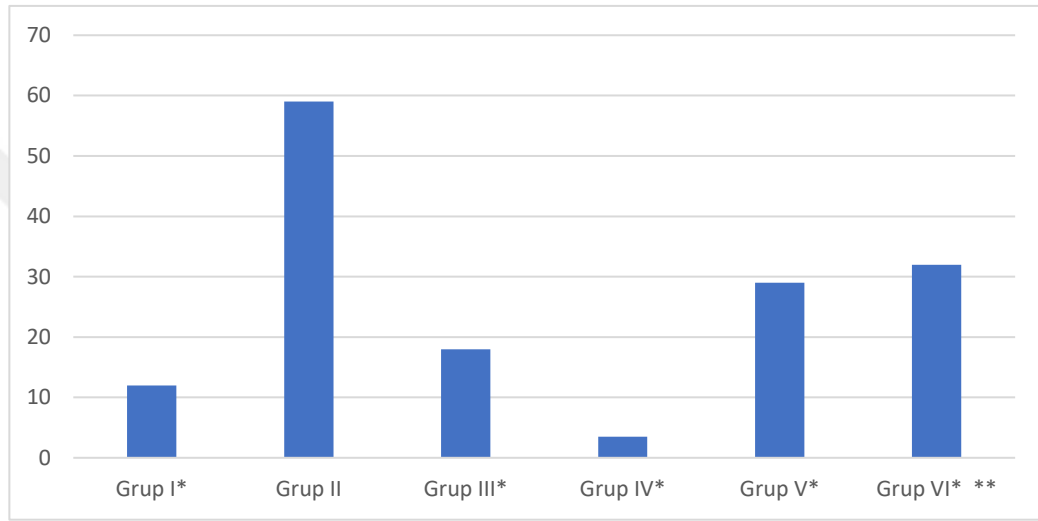
Grupların RHH yüzdeleri karşılaştırıldığında Grup II ile Grup I, Grup III ve Grup IV arasında anlamlı fark bulundu (p:0,015, p:0,004, p<0,001, sırasıyla). Ayrıca Grup IV ve Grup VI arasında da anlamlı fark bulundu (p:0,028). Grupların RHH değerlerinin toplam giriş sayılarına göre yüzdeleri Grafik 1’de sunulmuştur.

Tablo 2:Grupların Referans Hafıza Hatası değerlendirmesi (Ort ± SS).

	Grup I n=6	Grup II n=6	Grup III n=5	Grup IV n=6	Grup V n=6	Grup VI n=6
TGO	14,67±7,91	19,33±7,528	18,50±6,71	12,37±12,3	10,17±3,601	15,83±2,229
RHH	2,67±1,211	10,67±2,503	3,50±1,975	1,60±1,67	3,83±2,041	7±2
%RHH	%25,80	%60,40	%21,30	%9,50	%37,26	%43,60

n: Rat sayısı, RHH: Referans Hafıza Hatası, TGO: Kollara toplam giriş sayısı ortalaması

Çalışan hafıza hatası (ÇHH) değerlendirilmesinde yem olan kola tekrar girme sayısı değerlendirildi. ÇHH'nin toplam giriş sayılarına göre yüzdeleri grafik 2'de gösterildiği gibi bulundu. Gruplar arasında anlamlı bir değişim gösterildi ($p < 0,001$).



* $p < 0,05$ Grup II ile karşılaştırıldığında, ** $p < 0,05$ Grup IV ile karşılaştırıldığında

*(Grup I ve Grup II karşılaştırıldığında $p < 0,001$, Grup II ve Grup III karşılaştırıldığında $p < 0,001$, Grup II ve Grup IV karşılaştırıldığında $p < 0,001$, Grup II ve Grup V karşılaştırıldığında $p: 0,017$, Grup II ve Grup VI karşılaştırıldığında $p: 0,030$)

** (Grup IV ile Grup VI karşılaştırıldığında $p: 0,039$)

Grafik 2: Çalışan Hafıza Hatasının Toplam Girişlere Göre Yüzdeleri

Grupların ÇHH yüzdeleri karşılaştırıldığında Grup II ile Grup I, Grup III, Grup IV, Grup V ve Grup VI arasında anlamlı fark bulundu ($p: 0 < 0,001$, $p: 0 < 0,001$, $p: 0 < 0,001$, $p: 0,017$, $p: 0,030$ sırasıyla). Ayrıca Grup IV ve Grup VI arasında da anlamlı fark bulundu ($p: 0,039$).

Öğrenme davranışları için anestezi öncesi ve sonrası kollara toplam giriş sayıları karşılaştırıldı (Tablo 3). İncelemelerde tekrarlayan ölçümlerde sferisity sağlanmadığı için Greenhouse-Geisser testi kullanıldı.

Grup II'ye yönelik yapılan incelemede anestezi öncesi ve sonrasında toplam girilen kol sayısının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ($p:0,045$). Ayrıca tek başına Grup VI'da da girilen kol sayısı anlamlılık sınırında bir artış gösterdi ($p:0,05$). Grup I, Grup III, Grup IV ve Grup V'te fark saptanmadı (aynı sıra ile; $p:0,671$, $p: 0,590$, $p:0,278$, $p:0,395$) (Tablo 3).

Tablo 3:Anestezi öncesi ve sonrası total kollara giriş sayısı analizleri (Ort $\pm$ SS).

	Grup I n=6	Grup II n=6	Grup III n=5	Grup IV n=6	Grup V n=6	Grup VI n=6
TGO Anestezi Öncesi	16,17 $\pm$ 7,25	10,17 $\pm$ 3,971	20 $\pm$ 3,162	17,8 $\pm$ 5,167	14 $\pm$ 8,602	11,5 $\pm$ 2,950
TGO Anestezi Sonrası	14,67 $\pm$ 7,91	19,33 $\pm$ 7,528	18,50 $\pm$ 6,71	12,37 $\pm$ 12,3	10,17 $\pm$ 3,601	15,83 $\pm$ 2,229
P	0,671	0,045*	0,59	0,278	0,395	0,05*

N: Rat sayısı, TGO: Toplam Kollara Giriş Ortalaması

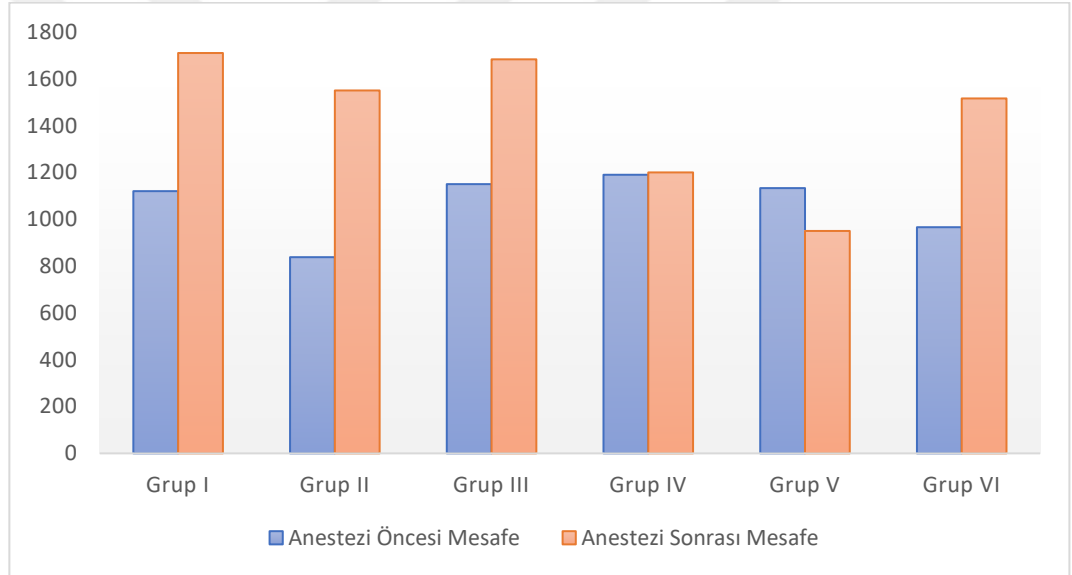
* $p \leq 0.05$ *(Grup II, Grup VI) İstatistiksel olarak anlamlı veriler kalın gösterildi

Ratların anestezi öncesi ve sonrası toplam kat ettiği mesafe (kol sayısı x 2 x kol uzunluğu (cm)) ilacın lokomotor aktivite artışına sebep olup olmadığı hakkında bilgi vermesi için değerlendirildi. Grup VI'da ratların anestezi sonrası toplam kat ettiği mesafe istatistiksel olarak artmıştı ($p:0,009$). Total mesafeler (Grup V hariç) artmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmadı (Tablo 4).

Tablo 4: Lokomotor aktivite açısından AÖ ve AS değerler (Ort $\pm$ SS).

	Grup I n=6	Grup II n=6	Grup III n=5	Grup IV n=6	Grup V n=6	Grup VI n=6
AÖ Mesafe	1120 $\pm$ 461,7	838 $\pm$ 373,9	1150 $\pm$ 384,7	1190 $\pm$ 469,5	1133 $\pm$ 753,4	966 $\pm$ 273,2
AS Mesafe	1710 $\pm$ 980	1550 $\pm$ 788	1683 $\pm$ 756	1200 $\pm$ 1141,8	950 $\pm$ 387	1516 $\pm$ 248,3
p	0,171	0,137	0,146	0,982	0,673	0,009*

* $p < 0.05$ (İstatistiksel olarak anlamlı veriler kalın gösterildi)



Grafik 3: Anestezi Öncesi ve Sonrası Total Mesafe (cm)

Anestezi sonrası anksiyete ölçümlerinde rearing sayıları kullanıldı. RAM'a ikinci kez giren ratların anksiyetesinin azalması, rearing sayılarının artması beklenir. Grup IV'te anestezi sonrası hiç rearing saptanmadı. Platforma tutunarak ayağa kalkma sık gözlemlendi. Ancak değerlendirmelerimizde dayanaksız 2 ayak üzerinde durma rearing olarak kabul edildiği için destekli kalkışlar kayda alınmadı.

Sadece Grup V ve Grup VI’da rearing sayılarının artmış olduğu görüldü. Grup VI da bu değer istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 5).

Tablo 5: Rearing sayıları

	Grup I n=6	Grup II n=6	Grup III n=5	Grup IV n=6	Grup V n=6	Grup VI n=6
Rearing AÖ	1,83±1,6	0,83±0,75	3±3,6	1,2±1,7	4,33±2,7	0,83±0,73
Rearing AS	0,5±0,8	0,50±0,8	2,67±2,42	0	6±5,02	4±2,2
p	0,121	0,576	0,75	0,208	0,352	0,032*

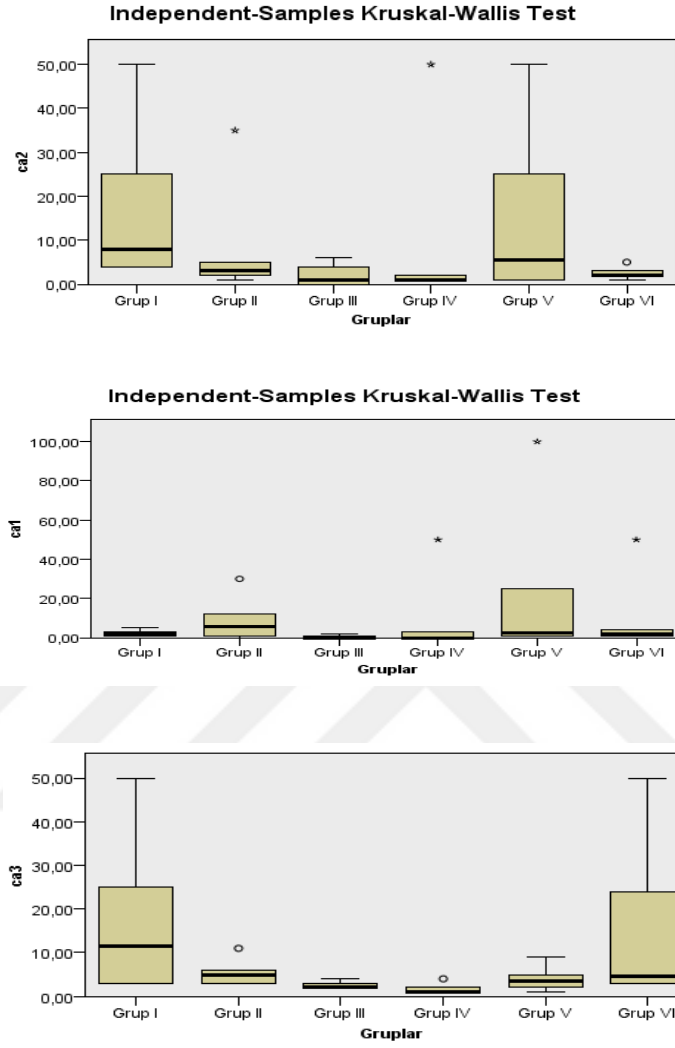
N: Rat sayısı, AÖ: Anestezi öncesi AS: Anestezi sonrası (Ort ± SS)

*:İstatistiksel olarak anlamlı veriler kalın gösterildi (p:0,05)

4.1 Patolojik Bulgular

Rat beyinleri bregma noktası mihenk alınarak coronal dilimlendi. Her hayvana ait ayrı iki kasette, posteriora doğru, 2 mm kalınlıkta, dört dilim hipokampal bölgeleri açığa çıkararak gösterecek şekilde örneklendirildi. Hematoksilen eozin ile boyandı. 4 kesitten hipokampüsü en iyi temsil eden seçildi. Lamel üzerinde CA1, CA2 ve CA3 nükleusları işaretlendi ve x400 büyütmede apoptozis oranları incelendi.

Grupların non-parametrik ve bağımsız değişkenlerinin Kruskal-Wallis testi analizlerine göre apoptozis yüzdeleri Grafik 4’te gösterilmektedir.



Grafik 4:Bölgelere göre apoptozis yüzdeleri grafiksel görünümü

Gruplar arası değerlendirmeler sonucunda hipokampusun CA1 ($p=0,122$) ve CA2 ($p=0,121$) bölgelerindeki apoptozis yüzdeleri arası anlamlı bir fark bulunmadı. Fakat CA3 bölgesindeki apoptozis yüzdeleri gruplar arasında anlamlı bir şekilde farklılık gösterdi ($p=0,015$).

Yapılan Post-hoc analizinde bu farkın Grup III ile Grup I, Grup II ve Grup VI; Grup IV ile Grup I, Grup II ve Grup VI arasındaki yüzde farklarından kaynaklandığı görüldü ($p:0,015$).

CA3 bölgesinde Grup III; Grup I, Grup II ve Grup VI'ya göre daha az apoptoz/BBA yüzdesine sahipti. Benzer şekilde Grup IV; Grup I, Grup II ve Grup VI'ya göre daha az apoptoz/BBA yüzdesine sahipti. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 6).

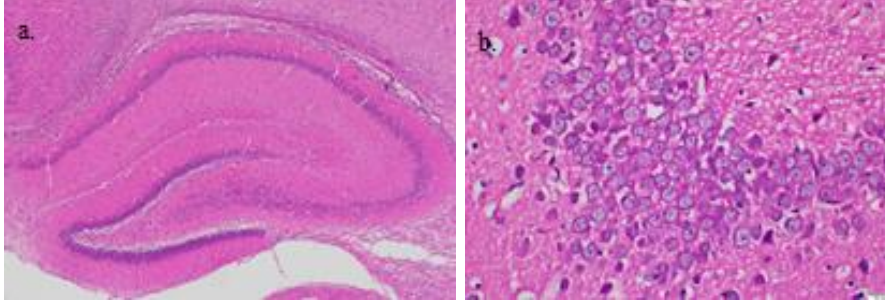
Tablo 6:CA3 bölgesinde gruplar arası apoptozis yüzdeleri karşılaştırılması

Grupların CA3 bölgelerinde apoptozis yüzdeleri karşılaştırılması	<i>P</i>
Grup I-Grup III	0,017*
Grup II-Grup III	0,041*
Grup III-Grup VI	0,049*
Grup I-Grup IV	0,004*
Grup II-Grup IV	0,01*
Grup IV-Grup VI	0,013*

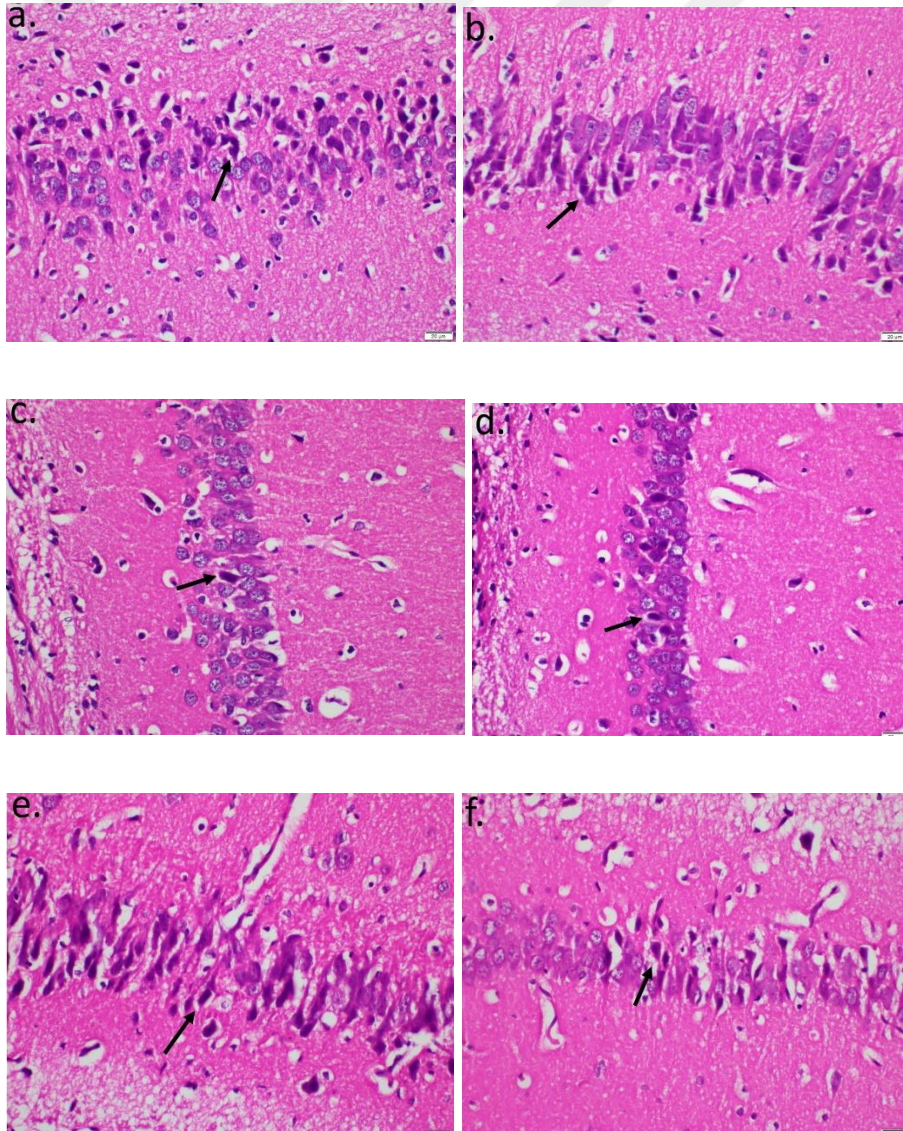
* $p<0,05$

Histopatolojik incelemeye ait apoptotik hücre sayıları her bir rat kesiti için Tablo 7'de verilmektedir. Hiçbir kesitte parankimde inflamasyon görülmemiştir.

Resim 7:Normal hipokampus histopatoloji görünümleri a. Hipokampus (x40) b. Granüler tabaka (x400)



Resim 8: Grupların H&E boyama ile histopatolojik görüntüleri (a. Grup I (x400), b. Grup II (x400), c. Grup III (x400), d. Grup IV(x400), e. Grup V (x400), f. Grup VI (x400), ok işareti; “kırmızı nöron (apoptoza uğramış hücreler)”



Tablo 7: Histopatolojik değerlendirme ile BBA gözlenen apoptotik hücre sayıları

GRUPLAR		Apoptozis (Büyük büyütme alanında)		
		CA1	CA2	CA3
Grup I	Rat 1	1,00	11,00	19,00
	Rat 2	3,00	50,00	50,00
	Rat 3	3,00	25,00	25,00
	Rat 4	5,00	4,00	4,00
	Rat 5	1,00	5,00	3,00
	Rat 6	1,00	4,00	3,00
	Min-Maks/Mean	1-5/2,33	4-50/16,50	3-50/17,3
Grup II	Rat 1	1,00	2,00	3,00
	Rat 2	30,00	35,00	6,00
	Rat 3	0,00	3,00	3,00
	Rat 4	9,00	3,00	6,00
	Rat 5	12,00	5,00	4,00
	Rat 6	2,00	1,00	11,00
	Min-Maks/Mean	1-30/9,00	1-35/8,17	3-11/5,50
Grup III	Rat 1	2,00	6,00	3,00
	Rat 2	0,00	0,00	2,00
	Rat 3	0,00	4,00	2,00
	Rat 4	0,00	0,00	2,00
	Rat 5	1,00	1,00	4,00
	Rat 6	0,00	1,00	2,00
	Min-Maks/Mean	0-2/0,50	0-6/2,00	2-4/2,50
Grup IV	Rat 1	3,00	1,00	4,00
	Rat 2	0,00	1,00	1,00
	Rat 3	0,00	2,00	1,00
	Rat 4	0,00	1,00	2,00
	Rat 5	50,00	50,00	1,00
	Rat 6	Eksitus	Eksitus	Eksitus
	Min-Maks/Mean	0-50/10,6	1-50/11	1-4/1,8
Grup V	Rat 1	1,00	1,00	5,00
	Rat 2	1,00	1,00	1,00
	Rat 3	25,00	25,00	4,00
	Rat 4	100,00	50,00	2,00
	Rat 5	3,00	1,00	9,00
	Rat 6	2,00	10,00	3,00
	Min-Maks/Mean	1-100/22,00	1-50/14,67	1-9/4,00
Grup VI	Rat 1	50,00	3,00	50,00
	Rat 2	4,00	1,00	3,00
	Rat 3	1,00	2,00	24,00
	Rat 4	1,00	2,00	3,00
	Rat 5	3,00	5,00	6,00
	Rat 6	1,00	2,00	3,00
	Min-Maks/Mean	1-50/10,00	1-5/2,50	3-50/14,8

5. TARTIŞMA

Araştırmamızda ratların kognitif performanslarının RHH, ÇHH, toplam katedilen mesafe ve rearing özellikleri ile değerlendirilerek, öğrenme, hafıza, anksiyete ve lokomotor aktiviteleri ölçüldü. Bu değerlendirmeler sonucunda; SEVO uygulanan grupta öğrenmenin diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde azaldığı, hafızanın da diğer gruplara göre daha çok etkilendiği bulundu. 5 µg/kg DEKS uygulanan grupta SEVO+5 µg/kg DEKS uygulanan gruba göre öğrenmenin ve hafızanın daha kötü etkilendiği görüldü. Ayrıca 5 µg/kg DEKS uygulanan ratların aktivitelerinde artış, anksiyetelerinde ise azalma görüldü. Beyin dokusunda histopatolojik özelliklerin gruplar arası değerlendirilmesi sonucunda hipokampusün CA1 ve CA2 bölgelerindeki apoptozis yüzdeleri arası anlamlı bir fark bulunmazken CA3 bölgesindeki apoptozis yüzdeleri gruplar arasında anlamlı bir şekilde farklılık gösteriyordu. CA3 bölgesinde SEVO ve DEKS'in birlikte uygulandığı grupların her ikisi de sırasıyla kontrol, sadece %2,5 SEVO, sadece 5 µg/kg DEKS uygulanan gruplara göre daha az apoptoz/BBA yüzdesine sahipti, farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi.

Günümüzde anesteziyoloji ve cerrahide yaşanan gelişmelere bağlı olarak küçük yaştaki çocuklarda daha karmaşık ameliyatlar yapılabilmektedir. Genel anestezi ilaçlarının hedef organı beyin, hedef fonksiyonu da bilinçtir. İntrauterin dönemden itibaren yenidoğan ve çocukluk döneminde beyin gelişimi hızlıdır. Beyin üzerine etkili ilaçların gelişmekte olan beyne zarar verebilecekleri kaygısı bu konuda detaylı araştırmalar yapılmasına neden olmaktadır.

Genel anestezi ajanlarının nörotoksik etkilerini bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ketamin, barbitürat, benzodiazepinler ve propofol gibi günlük uygulamalarda kullanılan ajanların çeşitli memeli türlerinde nöroapoptotik etkiye sebep olduğu gösterilmiştir (103).

Anesteziyle indüklenen nöroapoptoz çalışmalarında ve davranış testlerinde denek olarak sıklıkla rat kullanıldığı için çalışmamızda, gelişmekte olan memeli beyinde anesteziyle indüklenen nörotoksisite ve nörokognitif bozukluğu araştırmak üzere Wistar türü ratlar kullanılmıştır (104,105). Ratlar insan doku ve sistemlerine metabolik benzerlikleri, küçük olmaları, uysal olmaları nedeniyle deneysel araştırmalarda tercih edilirler.

Ratlarda da insanlarda olduğu gibi beyin; ön beyin (prosencefalon-forebrain), orta beyin (mesencefalon-midbrain) ve arka beyin (rhombensefalon-hindbrain) oluşturacak şekilde bölümlere ayrılır. Beyin ventrikülleri insandakine benzer özelliktedir. İnsanlarda olduğu gibi çift kranial sinirleri vardır (106). Nörolojik dokuların gelişimi açısından da benzerlikler vardır. Ratlarda sinaptogenezis postnatal 7-30 günler arasında devam etmektedir (107). Çalışmamızda sinaptogenezisin en yoğun olduğu 21 günlük ratlar tercih edildi.

Bu çalışmada SEVO ve DEKS'in tek başlarına ve kombine kullanıldıkları gruplar oluşturularak bebek ratlarda davranış ve apoptozis üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Ratlar randomize 6 gruba ayrıldı. Ratların yeterli anesteziye ulaştıkları Tail-Pinch testi ile değerlendirildi. Tail-Pinch testi birçok çalışmada çeşitli basınç değerleriyle uygulanır. Bu farklılıklara rağmen amaç

anestezinin derinliğinin hesaplanmasıdır. Uygulanan test sonucunda yanıt alınamaması, hareketsizliğin devam etmesi anestezinin etkili olduğunu göstermektedir (108-110).

Yapılan alışmalarda %3 SEVO maruziyetinin hipoksiyi veya solunum depresyonunu indüklediği gösterilmektedir (111,112). Hipoksi ve solunum depresyonu oluşturmamak için araştırmamızda SEVO dozu literatürde de önerildiği şekilde %2,5 olarak uygulanmıştır.

Birçok alışma, SEVO'ya bağlı oluşan nörotoksisiteyi ve bilişsel bozukluğu azaltmanın yollarını araştırmıştır. 30 günlük ratlarla yapılan ve kognitif fonksiyonların değerlendirildiği bir çalışmada 4 saatlik SEVO verilen ratlarda motor fonksiyonların bozulmadığı gösterilmiştir. Fakat ğrenme ve hafıza açısından SEVO verilen gruplarda neonatal sıçanların 4 saat SEVO'ya maruz bırakılmasının bilişsel eksikliklere neden olabileceği gösterilmiştir (113). Araştırmamızda sevofluran ve farklı DEKS dozlarının etkilerinin değerlendirilebilmesi amacıyla SEVO kullanılan gruplarda uygulama 4 saat sürdürülmüştür.

Bazı alışmalarda SEVO'nun kognitif fonksiyonlar üzerindeki olumsuz etkisinin DEKS ile azaldığı bildirilmektedir. Toru Goyagi (114)'nin yapmış olduğu bir çalışmada SEVO bağımlı nörodejenerasyonun DEKS ile azaldığı gösterilmektedir. Ayrıca DEKS'in nöroapoptoz ve kognitif disfonksiyonu azaltıcı etkisi birçok farklı anestezi (ketamin (115), izofluran (116), propofol (117)) ile de desteklenmiştir. Ayrıca DEKS'in hipoksik-iskemik neonatal beyinlerde de

koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (118). Fakat dikkat edilmesi gereken yüksek dozlarda DEKS, SEVO ile beraber mortaliteye neden olmaktadır (119). Yapılan bu çalışmalarda 5 µg/kg üstündeki DEKS'in etkisi benzer olarak bulunduğu için çalışmamızda 0,5 µg/kg ve 5 µg/kg dozları kullanılmıştır. Araştırmamızda SEVO ile birlikte yüksek doz DEKS uygulanan grupta 1 rat eks olmuştur.

Ratlarda kognitif fonksiyonları değerlendirmek için sıklıkla RAM ve Morris Su Tankı yöntemleri kullanılmaktadır (120,121). Çalışmamızda kullanılan RAM testi deklaratif belleğin bir bileşeni olarak spatial bellek performansının ölçümü amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Deklaratif bellek oluşturmada bir kusuru bulunan örneğin hipokampusu zedelenmiş bir sıçan RAM düzeneğine konulduğu zaman farklı bir performans gösterir. Normal bir sıçanın aksine, girdiği kola birden fazla girer ve de girdiği kolda, ziyaret etmediği diğer kollar varken anormal bir şekilde uzun zaman geçirir. Böyle bir davranış açıkça spatial bellekteki bir sorunun yansımaları olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle RAM performansları, sıçanların yem olmayan kola tekrar girmesinin ve yem olan kola birinci giriş dışında tekrar girmesi hata olarak değerlendirilir (122,123). RHH ve HH olarak karşımıza çıkan bu durum öğrenme ve hafıza problemlerini yansıtır.

ğrenme davranışları kognitif fonksiyonların önemli bir değerlendirme kriteri olarak görülmektedir ve ratların öğrenme sonrası kollara toplam giriş sayısının azalması beklenir. (124,125). Çalışmamızda da A ve AS kollara toplam giriş sayıları değerlendirilerek öğrenme davranışı analiz edildi.

Ratların toplam kat ettiği mesafe ilacın aktivite artışına sebep olup olmadığı hakkında bilgi vermesi için değerlendirildi. Pirke, K. ve ark (126)'nın yapmış olduğu çalışmada hiperaktivite benzer yöntemle değerlendirilmiştir. Ayrıca Sagvolden ve ark. (127)'nin yapmış olduğu başka bir çalışmada da benzer bulgular hiperaktivite ile ilişkilendirilmiştir.

Ratların rearing sayıları anksiyetenin göstergesidir (128,129). RAM'a ikinci kez giren ratların anksiyetesinin azalması beklenir. Yapılan çalışmalarda rearing sayıları anksiyete ile ilişkilendirildiği için bizim çalışmamızda da bu veriler incelenmiştir.

Kognitif fonksiyonların ortaya çıkmasında bazı beyin alanlarının öncelikli olduğu laboratuvar çalışmaları ile ortaya konulmuştur. Araştırmamızda hipokampus incelendi, çünkü hipokampus spatial hafıza ile ilgili öğrenme için anahtar yapıdır. Hipokampal yolların kesintiye uğraması, radyal kol labirent testinde önemli hafıza eksikliklerine neden olacağını gösteren çalışmalar vardır. (130). Hipokampus, spatial öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında da önemli bir role sahip olan beyin alanıdır (131). Majkutewicz I ve ark. (132) kognitif fonksiyonlar açısından hipokampusün CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinin incelenmesi gerektiğini vurgulamış, benzer şekilde Guilarte, Tomás R., ve ark. (133) da aynı şekilde kognitif fonksiyonları hipokampusün CA1, CA2, CA3 bölgelerindeki apoptozis oranlarına göre değerlendirmiştir. CA1 bölge nöronları entorinal korteksten veya CA3 bölgesinden bilgileri alır ve işler. Sağlam bir CA3 ve CA1- CA3 bağlantısı referans hafıza için mutlaka gereklidir (134).

Genel anestezi altında yapılan cerrahi veya cerrahi dışı işlemler sonrası kognitif fonksiyonlar bozulabilir. Günümüzde de anestezi ile kognitif fonksiyonlar arası ilişkiler araştırılmaya devam etmektedir. Amaç anestezinin neden olduğu fonksiyonel ya da yapısal sorunları araştırmaktır (135). Fonksiyonel olarak konsantrasyon bozukluğundan deliryuma, yapısal olarak da inflamasyondan apoptozise kadar geniş bir yelpaze içinde karşımıza çıkabilir. Bu durum özellikle beynin gelişim aşamalarında potansiyel bir problemdir.

Birçok çalışma, SEVO'ya bağlı oluşan nörotoksisiteyi ve bilişsel bozukluğu azaltmanın yollarını araştırmıştır. 30 günlük ratlarla yapılan ve kognitif fonksiyonların değerlendirildiği bir çalışmada 4 saatlik SEVO verilen ratlarda motor fonksiyonların bozulmadığı gösterilmiştir. Fakat öğrenme ve hafıza açısından SEVO verilen gruplarda neonatal sıçanların 4 saat SEVO'ya maruz bırakılmasının bilişsel eksikliklere neden olabileceği gösterilmiştir (113). Araştırmamızda tek başına SEVO uygulanan grupta kontrol grubuna ve diğer gruplara göre RHH ve ÇHH sayıları istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde artmıştı. Araştırmamızda tek başına 4 saat %2,5 konsantrasyonda SEVO uygulanmasının kognitif fonksiyonları davranış açısından olumsuz yönde etkilediği ortaya konulmuştur (SEVO grubu; RHH değerleri için kontrol grubuyla karşılaştırıldığında $p:0,015$; ÇHH değeri için kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p:0<0.001$; RHH'nin AÖ ve AS değişimi %60,40). Bu sonuç Perez-Zoghbi ve ark.'nın 2017 yılında yaptığı araştırmanın sonucu ile tutarlıdır (113).

Çalışmamızda %2,5 SEVO verilen grupta kontrol grubuna göre RHH oranları artmıştı. SEVO ile birlikte 5 µg/kg DEKS verilen grupta, tek başına %2,5 SEVO verilen gruba göre RHH ve ÇHH oranları istatistiksel olarak daha düşük bulundu. Bununla beraber sadece SEVO verilen grubun %2,5 SEVO+ 0,5 µg/kg DEKS verilen gruba göre RHH oranlarının arttığı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda ketamin ve izofluranın öğrenme üzerine olan negatif etkilerinin DEKS ile düzeldiğini gösteren çalışmalarla benzer olarak, SEVO ile birlikte DEKS uygulanmasının tek başına SEVO kullanılmasına göre öğrenme üzerine olan olumsuz etkileri azaltabileceği çıkarımı yapılmıştır (115-117). Ayrıca ÇHH oranları açısından tek başına SEVO verilen grup diğer tüm gruplar ile karşılaştırıldığında ÇHH oranları anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur. Öte yandan tek başına 5 µg/kg DEKS verilen gruba göre, %2,5 SEVO+5µg/kg DEKS verilen grupta RHH sayılarının azaldığı görülmüştür.

Araştırmamızda sadece 0,5 ve 5 µg/kg DEKS verilen gruplarda (sırası ile Grup V ve Grup VI) kognitif fonksiyonlara bakıldığında kontrol grubu ile (Grup I) karşılaştırıldığında RHH ve ÇHH değerleri daha iyi olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildi. 5 µg/kg DEKS verilen grupta %2,5 SEVO+5 µg/kg DEKS verilen gruba göre RHH ve ÇHH oranları daha yüksek bulundu. Literatür taramasında sadece DEKS verilerek kognitif fonksiyonların değerlendirildiği yayınlar çok az sayıdadır. Bununla birlikte Perez-Zoghbi ve ark., 5,0 µg/kg dozunda DEKS'in öğrenme ve spatial hafızayı iyileştirdiği bildirilmiştir (113). Nakano T ve ark.'nın (136) yapmış olduğu bir çalışmada ise 1 µg/kg dozundan sonra artan dozda DEKS uygulanan ratların beyin kan akımının azaldığı, arteriel kan basıncının arttığı,

serebral vasküler direncin arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada yohimbin ile bu etkinin tersine döndüğü gösterilmiştir. Bizim sonuçlarımızda tek başına 5 µg/kg DEKS verilen ratlarda RHH ve ÇHH yüzdelerinin artmasının beyin kan akımı üzerine olan etkilerinden kaynaklanmış olabileceği kanısındayız. SEVO ile birlikte uygulanmasındaki olumlu sonuç; serebral perfüzyon basıncı üzerinden, bu etkiyi tersine çevirerek dengelenmesinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür.

Goyagi, T. 2019 yılında yenidoğan ratlar üzerinde gerçekleştirdiği deney sonucunda; 6.6, 12.5, 25 µg/kg DEKS uygulamasının SEVO'ya bağlı nörodejenerasyon ve uzun süreli hafıza açıklarını düzelttiği, spatial öğrenme ve hafızayı geliştirdiğini bildirmiştir (114). Araştırmamızda DEKS uygulamasının kontrol grubuna göre istatistiksel ölçüde anlamlı bir fark yarattığı görülmemiştir.

Perez-Zoghbi ve ark. 2020 yılında yaptıkları çalışma ile; %1,1 konsantrasyonda SEVO'nun DEKS (1 µg/kg) ile birlikte uygulanmasının ne hayvanın dış uyaranlara tepkisini ne de tek başına SEVO tarafından indüklenen apoptozu değiştirmede sonucuna varmış, ayrıca %1,1'lik SEVO ile birlikte daha yüksek dozlarda DEKS (5–25 µg/kg) uygulanmasının ise SEVO'nun neden olduğu beyin hücresi apoptozunu artırdığını bildirmiştir (137). Araştırmamızda da %2,5 SEVO+5 µg/kg DEKS uygulanan grupta bir rat ölmüştür. Bu sonuç SEVO ile birlikte yüksek doz DEKS'in mortaliteye neden olduğunu gösteren çalışma (119) ile uyumlu bulunmakla birlikte araştırmamızdaki denek sayısının bu veriyi istatistiksel olarak analiz etmek için yeterli olmadığı gözönünde bulundurulmalıdır. Araştırmamızda DEKS dozları 0,5 ve 5 µg/kg şeklinde belirlendi. Bu dozların SEVO ile birlikte

kullanıldığında, tek başına SEVO kullanımına kıyasla kognitif fonksiyonlar üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu görüldü.

Bunun dışında çalışmamızda RAM testinde öğrenme davranışının değerlendirilmesinde, ratların toplam kollara giriş sayıları anestezi öncesi ve sonrası karşılaştırıldı. Tüm gruplar incelendiğinde tek başına SEVO veya SEVO ile birlikte yüksek doz DEKS uygulaması ile (sırası ile Grup II ve Grup VI) anestezi sonrası öğrenmenin azaldığı görüldü.

Ayrıca çalışmamızda anestezi öncesi ve sonrası ratlar tarafından toplam katedilen mesafe incelendi. SEVO ile birlikte yüksek doz DEKS uygulanan grupta (Grup VI) bu mesafenin arttığı, bu aktivite artışının da istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Zhang ve ark. (138) hiperaljezide DEKS'in etkisini inceledikleri çalışma sonucunda; DEKS'in doza bağlı hiperaktiviteyi azaltıcı yönde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Li J. ve ark. (139) ise propofol ile birlikte uygulanan DEKS'in hiperaktivite üzerine etkisinin olmadığı sonucuna varmıştır. Zhang ve ark.'nın çalışmasında (138) 20 µg/kg dozunda DEKS uygulandığında 30. dk ölçümlerinde aktivitenin azaldığı görülmüştür. Araştırmamızda aktivite artışı saptanmıştır. Bu sonuçların yorumlanabilmesi için ratlarda; ilacın veriliş yolunun, verilen DEKS dozunun, DEKS kan düzeylerinin daha detaylı araştırıldığı çalışmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

Araştırmamızda anestezi sonrası anksiyetenin değerlendirilmesinde rearing ölçümleri kullanıldı. RAM'a ikinci kez giren ratların anksiyetesinin azalması beklenir (140). Sadece tek başına DEKS uygulanan (sırası ile Grup V ve Grup VI) gruplarda rearing sayılarının artmış olduğu görüldü. Grup VI'da bu değer

istatistiksel olarak anlamlı idi. Morena ve ark. (141) deneysel araştırmalarında i.p. verilen 300 mg/kg propofol ve 100-125 mg/kg ketaminin anksiyeteyi artırdığı, 0.4 mg/kg DEKS'in ise anksiyeteyi azalttığı sonucuna varmıştır. Araştırmamızda da tek başına DEKS uygulanan gruplarda (Grup V, Grup VI) anksiyetenin azaldığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda SEVO ve DEKS'in bebek ratlarda hipokampus CA1, CA2 ve CA3 bölgelerindeki apoptozis üzerine etkileri de karşılaştırılmal olarak değerlendirdi. Perez-Zoghbi ve ark'nın (137) yaptığı çalışmada %1,1 dozunda uygulanan SEVO dozunun bebek sıçanlarda dış uyaranlara tepkiyi azalttığı ve SEVO'ya bağlı apoptozisi değiştirmedeği gösterilmiştir. Aynı ekibin 2017 yılında yaptıkları çalışmalarında kullanılan %2,5 dozunun ise %51 oranında apoptozisi indüklediğini göstermişlerdir (113). Bebek sıçanların 6 saat boyunca %2,5 SEVO'ya maruz kalması, farklı beyin seviyelerinde kortikal ve subkortikal alanlar dahil olmak üzere çeşitli beyin bölgelerinde ölçülen apoptozisi önemli ölçüde artırdığı da aynı çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca SEVO'ya maruz kalan neonatal hayvanlarda, cerrahiye izin verecek konsantrasyonlarda 4 ila 6 saat süreyle uygulanması apoptotik hücrelerde güçlü artışlara neden olduğu da gösterilmiştir (142). Araştırmamızda hiçbir grupta nöroinflamasyon gözlenmedi. Ayrıca kontrol grubu (Grup I) ile karşılaştırıldığında, tek başına SEVO (Grup II) uygulamasının ratların hipokampal CA1, CA2 ve CA3 bölgelerinde H&E boyama ile apoptozisi artırdığına dair istatistiksel olarak anlamlı bir veri bulunmadı.

Goyagi T. (114) gerçekteştirdiği çalışmada SEVO bağımlı nörodejenerasyonun DEKS ile azaldığını göstermektedir. Deksmetomidinin

nöroapoptozu azaltıcı etkisi birçok farklı anestezi ile yapılan çalışmalarda desteklenmiştir(115,116,117). Bizim çalışmamızda gruplar arası değerlendirmeler sonucunda hipokampusun CA1 ve CA2 bölgelerindeki apoptozis yüzdeleri arası anlamlı bir fark bulunamadı. Fakat CA3 bölgesindeki apoptozis yüzdeleri gruplar arasında anlamlı bir şekilde farklılık gösteriyordu. Bu farkın Grup III ile Grup I, Grup II ve Grup VI; Grup IV ile Grup I, Grup II ve Grup VI arasındaki yüzde farklarından kaynaklandığı görüldü (p:0,015). CA3 bölgesinde Grup III ve Grup IV her ikisi de sırasıyla Grup I, Grup II ve Grup VI'ya göre daha az apoptoz/BBA yüzdesine sahipti. Bu bulgular SEVO ile birlikte kullanılan 0,5 ve 5 µg/kg DEKS dozunun sadece SEVO kullanımına bağlı oluşan apoptozu azalttığını göstermiştir. Ayrıca DEKS'in koruyucu etkisini gösteren çalışmalarla benzer olarak bulundu (143,144). CA1 ve CA2 bölgeleri bellek ve yakın hafıza ile ilgili bölgeler olup CA3 spatial hafızayı ile ve genellikle RHH,ÇHH ilgilidir (145). Bizim çalışmamızda Grup III ve Grup IV'te bulunan CA3 bölgesinde apoptoz/BBA sayılarının düşüklüğü RHH ve ÇHH sayılarının Grup II'ye göre bu gruplarda azalması ile uyumlu bulunmuştur.

Literatür taramasında sadece DEKS verilerek apoptotik etki inceleyen yayınlar çok nadir olarak karşımıza çıkmaktadır. Hoffmann (146) DEKS'in sıçanlarda geçici beyin iskemisi ardından nörolojik geri dönüşü iyileştirdiğini bildirmiştir. DEKS, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (SIRS)'da pro-inflamatuvar sitokinler, IL1 β ve IL-6'nın salınımını azaltarak nöroinflamasyonun şiddetini azaltabilir. Bunun dışında nörotrofik faktör ekspresyonunu artırarak

perinatal hipoksik beyin hasarını hafiflettiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Ancak bu çalışmalarda normal gelişmekte olan beyin dokusu incelenmemiştir.

DEKS'in hangi mekanizma ile SEVO'nun kognitif ve apoptoz üzerindeki olumsuz etkilerini azalttığının anlaşılabilmesi için ilacın kan düzeylerinin ölçüldüğü ve mekanizmayı ortaya koyacak daha detaylı değerlendirmelerin yapıldığı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ

Yavru ratlar üzerinde prospektif randomize kontrollü olarak gerçekleştirilen bu deneysel araştırma sonucunda; tek başına SEVO anestezisi uygulanan ratlarda, kognitif fonksiyonların kontrol grubuna kıyasla daha fazla bozulduğu gösterildi. Ayrıca tek başına SEVO verilmesine kıyasla 0.5 ve 5 µg/kg dozunda DEKS eklenmesinin kognitif fonksiyonlar üzerine olumlu etki yaptığı gözlemlendi.

Deksmedetomidinin deliryumda kullanıldığı, beyin iskemisi tedavisinin bir parçası olduğu, sistemik inflamatuvar yanıt sendromunda pozitif etkili olduğu ve hipoksik beyin hasarını hafiflettiği çok sayıda çalışma ile ortaya konulmuşsa da normal ve gelişmekte olan beyin üzerindeki etkileri incelenmemiştir.

Sevofluranla birlikte ve tek başına farklı iki dozda DEKS kullanımı sonrası rat davranışlarını ve beyin histopatolojisini değerlendirdiğimiz bu çalışmamızın bulgularının klinik açıdan da anlamlılığının ortaya konulabilmesi için geniş serilerde klinik dozların etkilerinin değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- 1- Anand, K. J., & Soriano, S. G. Anesthetic agents and the immature brain: are these toxic or therapeutic? *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 2004; 101(2), 527-530.
- 2- Davidson, A. J. Anesthesia and neurotoxicity to the developing brain: the clinical relevance. *Pediatric Anesthesia*, 2011; 21(7), 716-721.
- 3- Ellen McCann, M., G Soriano, S. General anesthetics in pediatric anesthesia: influences on the developing brain. *Current drug targets*, 2012; 13(7), 944-951.
- 4- Hudson, A. E., Hemmings Jr, H. C. Are anesthetics toxic to the brain? *British journal of anesthesia*, 2011;107(1), 30-37.
- 5- Sowell, E. R., Peterson, B. S., Thompson, P. M., Welcome, S. E., Henkenius, A. L., Toga, A. W. Mapping cortical change across the human life span. *Nature neuroscience*, 2003; 6(3), 309-315.
- 6- Morgan EG, Mikhail SM, Murray MJ, İnhalyon anesteziikleri: Klinik Anesteziyoloji. Çev. Edt: Cuhruk H, Tulunay M., 3. baskı, Ankara: Güneş Kitabevi LTD. ŞTİ; 2004: 133-46
- 7- Kayhan Z. Klinik Anestezi. Logos Yayınevi, 1997;1-12.
- 8- Kayaalp O: Tıbbi Farmakoloji. V.Baskı, Ankara.1990; II. Cilt:1645-1649.
- 9- Esener Z. İnhalyon anesteziikleri. Klinik Anestezi 2004:84-96
- 10- Kayhan Z, Genel anestezi: Klinik Anestezi, 3. baskı, Ankara: Logos Yayıncılık Tic.AŞ; 2004: 75-92
- 11- Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ. Lange Klinik Anesteziyoloji 5. baskı, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara 2015
- 12- Franks NP, Lieb WR. Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature*. 1994; 367:607–614
- 13- Rossi MA, Chan CK, Christensen JD, DeGuzman EJ, Durieux ME. Interactions between propofol and lipid mediator receptors: Inhibition of lysophosphatidate signaling. *Anesth Analg*. 1996; 83: 1090–1096
- 14- Wakasugi M, Hirota K, Roth Sh, Ito Y. The effect of general anesthetics on excitatory and inhibitory synaptic transmission in area CA1 of the rat hippocampus in vitro. *Anesth Analg* 1999; 88:676-80
- 15- Scheller MS. New volatil anesthetics: Desflurane and Sevoflurane. *Seminars in Anesthesia* 1992; 11(2):114-22
- 16- Loscar M, Conzen P. Volatile Anesthetics. *Anaesthesist*. 2004; 53(2):183-984
- 17- Kathy W, Clarke MA. Desflurane and sevoflurane. New volatile anesthetic agents. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract*. 1999; 29(3):793-810.
- 18- Loscar M, Conzen P. Volatile Anesthetics. *Anaesthesist*. 2004; 53(2):183-98
- 19- Ghatge S, Lee J, Smith I. Sevoflurane: an ideal agent for adult day-case anesthesia? *Acta.Anaesth. Scand*. 2003; 47(8):917-31.
- 20- O'Keeffe NJ, Healy TE. The role of new anesthetic agents. *Pharmacol Ther*. 1999;84(3):233-48.

- 21- Goldberg ME, Cantillo J, Larijani GE ve ark. Sevoflurane versus isoflurane for maintenance of anaesthesia: are serum inorganic fluoride ion concentrations of concerns? *Anesth&Analg* 1996; 82:1268
- 22- Reves JG, Glass PSA, Lubarsky DA, McEvoy MD. Intravenous nonopioid anesthetics. In: Miller RD, ed. *Miller's Anesthesia* 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005; 317-378.
- 23- Isik, B., Arslan, M., Tunga, A. D., Kurtipek, O. Dexmedetomidine decreases emergence agitation in pediatric patients after sevoflurane anesthesia without surgery. *Pediatric Anesthesia*, 2006; 16(7), 748-753.
- 24- Dyck J. B.; Maze M.; Haack C.; Vuorilehto L; Shafer S. L.: The pharmacokinetics and hemodynamic effects of intravenous and intramuscular dexmedetomidine hydrochloride in adult human volunteers, *EtatsUnis, Anesthesiology*; 1993; 78(5), 813-820.
- 25- Mermerci, A., Özmerdivenli, R., Orallar, H., Beyazçiçek, E., Sungur, M. Galanin ve Egzersizin Ratlarda Anksiyete Üzerine Etkisinin Açık Alan ve Yükseltmiş Artı Labirent Testleri ile Değerlendirilmesi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 2018; 20(3), 63-68.
- 26- Ebert TJ, Hall JE, Barney JA, Uhrich TD, Colino MD. The effects of increasing plasma concentrations of dexmedetomidine in humans, Department of Anesthesiology, The Medical College of Wisconsin and the VA Medical Center, Milwaukee 53295, USA., *Anesthesiology*.: 2000; 93(2):382-94
- 27- Fodale V, Quattrone D, Trecroci C, Caminiti V, Santamaria LB. Alzheimer's disease and anaesthesia: implications for the central cholinergic system. *Br J Anaesth* 2006; 97: 445- 52
- 28- Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff DN et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci* 2003; 23:876–82.
- 29- Yang H, Liang G, Hawkins BJ, Madesh M. Inhalational anesthetics induce cell damage by disruption of intracellular calcium homeostasis with different potencies. *Anesthesiology* 2008; 109:243-50.
- 30- Wei H, Xie Z. Anesthesia, calcium homeostasis and Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2009; 6:30-5.
- 31- Madisen J S. The origin of programmed cell death. *Science* 1996; 272: 1278.
- 32- Thompson C B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-1462.
- 33- Kiess W, Gallaher B. Hormonal control of programmed cell death apoptosis. *Eur J Endocrin* 1998; 18: 482-491.
- 34- Kerr J F R, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-245.
- 35- Touchette N, Fogle S. Apoptosis: it chimes with mitosis. *JNIH Res* 1991; 3:75.
- 36- Cummings M C, Winterford C M, Walker N I. Apoptosis. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 88-101.
- 37- Majno G, Torisl A. Apoptosis oncosis and necrosis. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15.

- 38- Schwartzman R A, Cidloski J A. Apoptosis; the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Reviews* 1993;14: 133-144.
- 39- Wyllie A H. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980; 284: 555- 556.
- 40- Cohen J J. Apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14: 126-130.
- 41- Crowe M J, Bresnahan J C, Shuman S L, Masters J N, Beattie M S. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med* 1997; 3: 73-76.
- 42- Li M, Ona V O, Chen M, Kaul M, Tenneti L, Zhang X, Stieg P E, Lipton S A, Friedlander R M. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience* 2000; 99: 333-342.
- 43- Lou J, Lenke L G, Ludwig F J, O'Brien M F. Apoptosis as a mechanism of neuronal cell death following acute experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* 1998; 36: 683-690.
- 44- Krajewski S, Krajewska M, Ellerby L M, Welsh K, Xie Z, Deveraux Q L, et al. Release of caspase-9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1999; 96: 5752- 5757.
- 45- Banasiak K J , Haddad G G. Hypoxia-induced apoptosis: 60 effect of hypoxic severity and role of p53 in neuronal cell death. *Brain Res* 1998; 797: 295-304.
- 46- Kromer G, Petit P, Zamzami N, Vayssiere J L and Mignotte B. The biochemistry of programmed cell death. *Fedn Am. Soc. exp. Biol. J.* 1995; 9: 1277-1287.
- 47- Rao R V, Hermel E, Castro-Obregon S. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program: mechanism of caspase activation. *J Biol Chem* 2001; 276: 869-874.
- 48- Bao F and Liu D. Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces apoptosis cell death and activates caspase-3. *Neuroscience* 2003; 116: 59-70.
- 49- Pešić, V., Milanović, D., Tanić, N., Popić, J., Kanazir, S., Jevtović-Todorović, V. et al. Potential mechanism of cell death in the developing rat brain induced by propofol anesthesia. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 2009; 27(3), 279-287.
- 50- Istaphanous, G. K., Loepke, A. W. General anesthetics and the developing brain. *Current opinion in anesthesiology* 2009; 22(3), 368-373
- 51- Işık B. Anestezinin Kognitif Fonksiyonlarla İlişkisi. *Türkiye Klinikleri Anesteziyoloji Reanimasyon Dergisi*, 2004; 2(2), 94-102.
- 52- Işık B. Postoperative cognitive dysfunction and Alzheimer disease. *Turk J Med Sci* 2015; 45(5), 1015-1019.
- 53- Erkent, F. D., Isık, B., Küçük, A., Öztürk, L., Neşelioğlu, S., Doğan. et al. Effects of recurrent sevoflurane anesthesia on cognitive functions with streptozotocin induced Alzheimer disease. *Bratislavske lekarske listy*, 2019; 120(12), 887-893.
- 54- Işık, B., Pamukçu, Z., Alagöl, A. Sevofluran ve İzofluran Anestezisinin Postoperatif Erken Dönemde Kognitif Fonksiyonlara Etkisi+. 2007.
- 55- Jackson K. Psychological preparation as a method of reducing emotional trauma of anesthesia in children. *Anesthesiol* 1951; 12:293–300.

- 56- Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci* 2003; 23:876–82.
- 57- Ben-Ari Y. Excitatory actions of GABA during development: the nature of the nurture. *Nat Rev Neurosci.* 2002; 3:728–39.
- 58- Bilotta F, Novelli M, Yörükoğlu D. Anestetik Nörotoksisite. Ed. Keçik Y Temel Anestezi. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2016:1121–4
- 59- Hansen TG, Lönnqvist PA. The rise and fall of anaesthesia-related neurotoxicity and the immature developing human brain. *Acta Anaesthesiol Scand* 2016; 60(3):280-3.
- 60- Brown JK, Omar T, O'Regan M. Brain development and the development of tone and muscle. In: KJC, HF, editor. *Neurophysiology and the Neuropsychology of Motor Development*. Mackeith Press; 1997. p. 1-41.
- 61- Dobbing J, Sands J. The brain growth spurt in various mammalian species. *Early Hum Dev.* 1979; 3:79–84
- 62- Raper J, Alvarado MC, Murphy KL, Baxter MG. Multiple Anesthetic Exposure in Infant Monkeys Alters Emotional Reactivity to an Acute Stressor. *Anesthesiol* 2015; 123(5):1084–92.
- 63- Sun, L. S., Li, G., DiMaggio, C., Byrne, M., Rauh, V., Brooks-Gunn, et al. Anesthesia and neurodevelopment in children: time for an answer? . *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 2008; 109(5), 757-761.
- 64- Ikonomidou, C., Bittigau, P., Koch, C., Genz, K., Hoerster, F., Felderhoff-Mueser, U. et al. Neurotransmitters and apoptosis in the developing brain. *Biochem Pharmacol* 2001; 62:401–5.
- 65- Wells BA, Keats AS, Cooley DA. Increased tolerance to cerebral ischemia produced by general anesthesia during temporary carotid occlusion. *Surgery* 1963; 54:216–23.
- 66- Hoffman WE, Charbel FT, Edelman G, Ausman JI. Thiopental and desflurane treatment for brain protection. *Neurosurgery* 1998; 43:1050–3.
- 67- Pape M, Engelhard K, Eberspächer E, Hollweck, R., Kellermann, K., Zintner, S et al The long-term effect of sevoflurane on neuronal cell damage and expression of apoptotic factors after cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg.* 2006; 103:173–79.
- 68- Khatibi NH, Ma Q, Rolland W, Ostrowski R., Fathali, N., Martin, R. et al. Isoflurane posttreatment reduced brain injury after an intracerebral hemorrhagic stroke in mice. *Anesth Analg* 2011; 113:343–8.
- 69- Chen H Burris M, Fajilan A, Spagnoli F, Tang J, Zhang JH. Prolonged exposure to isoflurane ameliorates infarction severity in the rat pup model of neonatal hypoxia-ischemia. *Transl. Stroke Res* 2011; 2:382–90.
- 70- Li H, Yin J, Li L, Deng J, Zuo Z. Isoflurane postconditioning reduces ischemia-induced nuclear factor- κ B activation and interleukin 1 β production to provide neuroprotection in rats and mice. *Neurobiol. Dis* 2013; 54:216–24.
- 71- Yan J, Jiang H. Dual effects of ketamine: Neurotoxicity versus neuroprotection in anesthesia for the developing brain. *J. Neurosurg. Anesthesiol* 2014; 26:155–60.

- 72- Balakumran A, Campbell G A, Maslen M T. Calcium channel blockers induce thymic apoptosis in vivo in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 139: 122-127, 1996.
- 73- Wyllie A H. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980; 284: 555- 556.
- 74- Cohen J J. Apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14: 126-130.
- 75- Lu J, Ashwell K, Ken W S, Waite P. Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. *Spine* 2000; 25: 1859-1866.
- 76- Gao L, Taha R, Othmen LB, Wang Y, Blaise G. Postoperative cognitive dysfunction after cardiac surgery. *Chest* 2006;125: 3664-3670.
- 77- Poucet B, Benhamou S. The neuropsychology of spatial cognition in the rat. *Crit Rev Neurobiol* 1997; 11: 101-20.
- 78- Block F. Global ischemia and behavioral deficits. *Prog Neurobio.*1999; 58:279-95.
- 79- Akaike, M., Kato, N., Ohno, H., Kobayashi, T. Hyperactivity and spatial maze learning impairment of adult rats with temporary neonatal hypothyroidism. *Neurotoxicology and teratology*, 1991; 13(3), 317-322.
- 80- Schimanski LA, Nguyen PV. Multidisciplinary approaches for investigating the mechanisms of hippocampus-dependent memory: a focus on inbred Mouse strains. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28:463-83.
- 81- Belotti M, Galey D. Consequences of selective blockade of septal noradrenergic afferents on anxiety and spatial working memory performance in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53: 541-7
- 82- Sara SJ, Przybylski J, Rouillet P. Consolidation of memory for odorreward association: beta-adrenergic receptor involvement in the late phase. *Learn Mem* 1999; 6: 88-96.
- 83- Przybylski J, Sara SJ. Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behav Brain Res* 1997; 84: 241-6
- 84- Levin ED. Learning about cognition risk with the radial-arm maze in the developmental neurotoxicology battery. *Neurotoxicol Teratol* 2015; 52: 88-92.
- 85- Mahmmoud RR, Sase S, Aher YD, Sase A. Spatial and Working Memory Is Linked to Spine Density and Mushroom Spines. 2015; 10(10), e0139739.
- 86- Olton, D. S. The radial arm maze as a tool in behavioral pharmacology. *Physiology & Behavior*, 1987; 40(6), 793-797.
- 87- Amano M, Hasegawa M, Hasegawa T, Nobeshima T. Characteristics of transient cerebral ischemia-induced deficits on various learning and memory tasks in male mongolian gerbils. *J.Pharmacol* 1993; 63: 469-77.
- 88- Bustos G, Basoalto E, Hamuy TP. Spatial memory in Long Evans and Rattus Norvegicus rats. *Biol Res* 2003; 36: 193-9.
- 89- Breslin DS, Reid JE, Mirakhur RK, Hayes AH, Mc Brien ME. Sevoflurane/Nitrous Oxide Anaesthesia Supplemented with Remifentanyl: Effect on Recovery And Cognitive Function. *Anaesthesia* 2001; 56: 114-9.
- 90- Davis S, Rodger J, Hicks A, Mallet J, Laroche S. Brain structure and task-specific increase in expression of the gene encoding syntaxin 1B during learning in the rat: a potential molecular marker for learning-induced synaptic plasticity in neural networks. *Eur J Neurosci* 1996; 8: 2068-74.

- 91- Nogues X, Micheau J, Jaffard R. Protein kinase C activity in the hippocampus following spatial learning tasks in mice. *Hippocampus* 1994; 4: 71-7.
- 92- Dubreuil D, Jay T, Edeline JM. Does head-only exposure to GSM-900 electromagnetic fields affect the performance of rats in spatial learning tasks? *Behav Brain Res* 2002; 129: 203-10.
- 93- Lai H, Horita A, Guy AW. Microwave irradiation affects radial-arm maze performance in the rat. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 95-104.
- 94- Culley, D. J., Baxter, M., Yukhananov, R., Crosby, G. The memory effects of general anesthesia persist for weeks in young and aged rats. *Anesthesia & Analgesia*, 2003; 96(4), 1004-1009.
- 95- Floresco, S. B., Seamans, J. K., Phillips, A. G. Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *Journal of Neuroscience*, 1997; 17(5), 1880-1890.
- 96- Penley, S. C., Gaudet, C. M., Threlkeld, S. W. Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 2013; (82), e50940.
- 97- Brain Res Cogn Brain Res. 3(3-4):167-81. Nadel L, Hardt O. Update on memory systems and processes. *Neuropsychopharmacology*. 2011; 36(1):251-73.
- 98- Haffner F. Experimentelle prüfung schmerzstellendermittel. *Deutsch Me Worchenschr* 1929; 55: 731-733
- 99- Bannon, A. W., & Malmberg, A. B. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Current protocols in neuroscience*, 2007; 41(1), 8-9.
- 100- Silbert, B. S., Lipkowski, A. W., Cepeda, M. S., Szyfelbein, S. K., Osgood, P. F., Carr, D. B. Analgesic activity of a novel bivalent opioid peptide compared to morphine via different routes of administration. *Agents and actions*. 1991; 33(3-4), 382-387.
- 101- Iwasaki, T. Characteristics of radial-arm maze behavior. *Japanese Journal of Animal Psychology*. 1997; 47(2), 139-144.
- 102- <http://spinwarp.ucsd.edu/NeuroWeb/Text/br-800epi.htm#anchor68761>
- 103- Jevtovic-Todorovic, V., Hartman, R. E., Izumi, Y., Benshoff, N. D., Dikranian, K., Zorumski, C. F. et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *Journal of Neuroscience*. 2003; 23(3), 876-882.
- 104- Young, C., Jevtovic-Todorovic, V., Qin, Y. Q., Tenkova, T., Wang, H., Labruyere, J., Olney, J. W. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain. *British journal of pharmacology*, 2005; 146(2), 189-197.
- 105- Zhang, Xiaoguang, Zhanggang Xue, Anyang Sun. Subclinical concentration of sevoflurane potentiates neuronal apoptosis in the developing C57BL/6 mouse brain. *Neuroscience letters*, 2008; 447(2-3), 109-114.
- 106- Bayramiçli M. Deneysel Mikrocerrahi (1. bs.). İstanbul: Argos 2005
- 107- Briner, A., Nikonenko, I., De Roo, M., Dayer, A., Muller, D., Vutskits, L. Developmental stage-dependent persistent impact of propofol anesthesia on

- dendritic spines in the rat medial prefrontal cortex. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 2011; 115(2), 282-293.
- 108- Kawakita, K., Funakoshi, M. A quantitative study on the tail flick test in the rat. *Physiology & behavior*, 1987; 39(2), 235-240.
 - 109- Antelman, Seymour M., Henry Szechtman. Tail pinch induces eating in sated rats which appears to depend on nigrostriatal dopamine. 1975; 189(4204): 731-733.
 - 110- Rampil, I. J. Anesthetic potency is not altered after hypothermic spinal cord transection in rats. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 1994; 80(3), 606-610.
 - 111- Satomoto, M., Satoh, Y., Terui, K., Miyao, H., Takishima, K., Ito, M., Imaki, J. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*. 2009; 110(3), 628-637.
 - 112- Zhang, X., Xue, Z., Sun, A. Subclinical concentration of sevoflurane potentiates neuronal apoptosis in the developing C57BL/6 mouse brain. *Neuroscience letters*, 2008; 447,2-3
 - 113- Perez-Zoghbi, J. F., Zhu, W., Grafe, M. R., Brambrink, A. M. Dexmedetomidine-mediated neuroprotection against sevoflurane-induced neurotoxicity extends to several brain regions in neonatal rats. *BJA: British Journal of Anaesthesia*. 2017; 119(3), 506-516.
 - 114- Goyagi, Toru. Dexmedetomidine reduced sevoflurane-induced neurodegeneration and long-term memory deficits in neonatal rats. *International Journal of Developmental Neuroscience* 2019; 75, 19-26.
 - 115- Duan, X., Li, Y., Zhou, C., Huang, L., Dong, Z. Dexmedetomidine provides neuroprotection: impact on ketamine-induced neuroapoptosis in the developing rat brain. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 2014; 58(9), 1121-1126.
 - 116- Li, Y., Zeng, M., Chen, W., Liu, C., Wang, F., Han, X., et al. Dexmedetomidine reduces isoflurane-induced neuroapoptosis partly by preserving PI3K/Akt pathway in the hippocampus of neonatal rats. *PloS one*, 2014; 9(4), e93639.
 - 117- Li, J., Xiong, M., Nadavaluru, P. R., Zuo, W., Ye, J. H., Eloy, J. D., Bekker, A. Dexmedetomidine attenuates neurotoxicity induced by prenatal propofol exposure. *Journal of neurosurgical anesthesiology*, 2016; 28(1), 51-64.
 - 118- Endesfelder, S., Makki, H., von Haefen, C., Spies, C. D., Bühner, C., Sifringer, M. Neuroprotective effects of dexmedetomidine against hyperoxia-induced injury in the developing rat brain. *PLoS One*, 2017;12(2), e0171498.
 - 119- Lee, J. R., Lin, E. P., Hofacer, R. D., Upton, B., Lee, S. Y., Ewing, L., et al. Alternative technique or mitigating strategy for sevoflurane-induced neurodegeneration: a randomized controlled dose-escalation study of dexmedetomidine in neonatal rats. *BJA: British Journal of Anaesthesia*, 2017; 119(3), 492-505.
 - 120- Poucet B, Benhamou S. The neuropsychology of spatial cognition in the rat. *CritRevNeurobiol* 1997; 11: 101-20.
 - 121- Mizuno, M., Yamada, K., Olariu, A., Nawa, H., Nabeshima, T. (2000). Involvement of brain-derived neurotrophic factor in spatial memory formation

- and maintenance in a radial arm maze test in rats. *Journal of Neuroscience*, 2000;20(18), 7116-7121.
- 122- Hodges, H. Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. *Cognitive Brain Research*, 1996; 3(3-4), 167-181.
 - 123- Gresack, J. E., & Frick, K. M. Male mice exhibit better spatial working and reference memory than females in a water-escape radial arm maze task. *Brain research*, 2003; 982(1), 98-107.
 - 124- Zhang, Y., Gao, Q., Wu, Z., Xue, H., Liu, B., Zhao, P. Dexmedetomidine Promotes Hippocampal Neurogenesis and Improves Spatial Learning and Memory in Neonatal Rats. *Drug Design, Development and Therapy*. 2019; 13, 4439.
 - 125- Hyde, L. A., Hoplight, B. J., Denenberg, V. H. Water version of the radial-arm maze: learning in three inbred strains of mice. *Brain research*, 1998; 785(2), 236-244.
 - 126- Pirke, K. M., Broocks, A., Wilckens, T., Marquard, R., Schweiger, U. Starvation-induced hyperactivity in the rat: the role of endocrine and neurotransmitter changes. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1993;17(3), 287-294.
 - 127- Sagvolden, Terje, Edith D. Hendley, Stein Knardahl. Behavior of hypertensive and hyperactive rat strains: Hyperactivity is not unitarily determined. *Physiology & Behavior* 1992; 52(1) : 49-57.
 - 128- Wright, Ian K., N. Upton, and C. A. Marsden. Resocialisation of isolation-reared rats does not alter their anxiogenic profile on the elevated X-maze model of anxiety. *Physiology & behavior* 1991; 50(6): 1129-1132.
 - 129- Chappell, A. M., Carter, E., McCool, B. A., Weiner, J. L. Adolescent rearing conditions influence the relationship between initial anxiety-like behavior and ethanol drinking in male Long Evans rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2013; 37, 394-403.
 - 130- Gamoh, S., Hashimoto, M., Hossain, S., Masumura, S. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves the performance of radial arm maze task in aged rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2001; 28(4), 266-270
 - 131- Levin, E. D. Nicotinic receptor subtypes and cognitive function. *Journal of neurobiology*. 2002; 53(4), 633-640.
 - 132- Majkutewicz, I., Kurowska, E., Podlacha, M., Myślińska, D., Grembecka, B., Ruciński, J., et al. Age-dependent effects of dimethyl fumarate on cognitive and neuropathological features in the streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. *Brain research*, 2018;1686, 19-33.
 - 133- Guilarte, T. R., Toscano, C. D., McGlothan, J. L., Weaver, S. A. Environmental enrichment reverses cognitive and molecular deficits induced by developmental lead exposure. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 2013; 53(1), 50-56.
 - 134- İzci, Y., Erbaş, Y. Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları. *Türk Nöroşir Derg*, 2015; 25(3), 287-95.

- 135- Tzabar, Y., A. J. Asbury, K. Millar. Cognitive failures after general anaesthesia for day-case surgery. *British journal of anaesthesia* 1996; 76.2 :194-197.
- 136- Nakano, T., Okamoto, H. Dexmedetomidine-induced cerebral hypoperfusion exacerbates ischemic brain injury in rats. *Journal of anesthesia*, 2009; 23(3), 378.
- 137- Perez-Zoghbi, J. F., Zhu, W., Neudecker, V., Grafe, M. R., Brambrink, A. M. (2020). Neurotoxicity of sub-anesthetic doses of sevoflurane and dexmedetomidine co-administration in neonatal rats. *NeuroToxicology*.2020
- 138- Zhang, W. S., Xu, H., Xu, B., Sun, S., Deng, X. M., Zhang, Y. Q. Antihyperalgesic effect of systemic dexmedetomidine and gabapentin in a rat model of monoarthritis. *Brain research*, 2009; 1264, 57-66.
- 139- Li, J., Xiong, M., Nadavaluru, P. Dexmedetomidine attenuates gestational propofol anesthesia-induced spacial memory impairment in offspring rats. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2014; 26, 477.
- 140- Arakawa, Hiroyuki. The effects of isolation rearing on open-field behavior in male rats depends on developmental stages. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 2003; 43.1: 11-19
- 141- Morena, M., Berardi, A., Peloso, A., Valeri, D., Palmery, M., Trezza, V., et al. Effects of ketamine, dexmedetomidine and propofol anesthesia on emotional memory consolidation in rats: consequences for the development of post-traumatic stress disorder. *Behavioural Brain Research*, 2017; 329, 215-220.
- 142- Zhou, X., Li, W., Chen, X., Yang, X., Zhou, Z., Lu, D., Feng, X. Dose-dependent effects of sevoflurane exposure during early lifetime on apoptosis in hippocampus and neurocognitive outcomes in Sprague-Dawley rats. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 2016; 8(3), 111.
- 143- Eser, O., Fidan, H., Sahin, O., Cosar, M., Yaman, M., Mollaoglu, H., et al. The influence of dexmedetomidine on ischemic rat hippocampus. *Brain research*, 2008; 1218, 250-256.
- 144- Akpınar, H., Nazıroğlu, M., Övey, İ. S., Çiğ, B., Akpınar, O. (2016). The neuroprotective action of dexmedetomidine on apoptosis, calcium entry and oxidative stress in cerebral ischemia-induced rats: Contribution of TRPM2 and TRPV1 channels. *Scientific reports*, 2016; 6, 37196.
- 145- Ning, Q., Liu, Z., Wang, X., Zhang, R., Zhang, J., Yang, M., et al. Neurodegenerative changes and neuroapoptosis induced by systemic lipopolysaccharide administration are reversed by dexmedetomidine treatment in mice. *Neurological research*, 2017; 39(4), 357-366.
- 146- Hoffman, W. E., Kochs, E., Werner, C., Thomas, C., Albrecht, R. F. Dexmedetomidine Improves Neurologic Outcome from Incomplete Ischemia in the Rat Reversal by the α 2-Adrenergic Antagonist Atipamezole. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 1991; 75(2), 328-332.

8. ÖZET:

BEBEK RATLARDA SEVOFLURAN VE DEKSMEDETOMİDİNİN DAVRANIŞ, NÖROİNFLAMASYON VE APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş: Bilim ve teknolojiye yaşanan gelişmeler, tanı ve tedavi metodlarının gelişmesi her yaş grubunda olduğu gibi intrauterin dönemden başlayarak, yeni doğan, erken çocukluk ve çocukluk döneminde de anestezi maruziyetini artırmaktadır. Çocukluk döneminin özellikle sinir sistemi gelişimi açısından erişkinden farklı özellikler göstermesi çocuklarda bu sistemleri etkileyen ilaçların daha detaylı araştırılmasına neden olmaktadır. Kognitif fonksiyonları baskıladığı düşünülen birçok anestezi ajanının beyin fonksiyonlarını hangi şekilde ve ne kadar sürede etkilendiği ise yeterince açık değildir. Çocuklarda anestezi maruziyetinin nörotoksik olup olmadığını ortaya koymayı amaçlayan klinik, deneysel ve hücre kültürü çalışmaları artan bir ilgiyle sürdürülmektedir. Ancak bildirilen sonuçlar çelişkili olup henüz fikir birliğine varılmamıştır.

Materyal ve Metod: Bu deneysel çalışmada 21 günlük ratlara santral sinir sisteminin gelişiminin en yoğun olduğu dönemde sevofluran ve deksmedetomidin anestezisi verilerek ratların kognitif fonksiyonlarında gerileme olup olmadığı RAM testi ile değerlendirildi. RAM testi uygulamasından sonra yavru ratların beyin doku örnekleri histopatolojik olarak nöron hasarı ve apoptozis yönünden değerlendirildi. Ratlar randomize 6 gruba (n=6) ayrıldı. RAM testine alınan ratlara daha sonra gruplarına göre anestezi ajanları verildi. Grup I: Cerrahi girişim uygulanan deneysel çalışmalarda etkilerinin değerlendirilmesi planlanan ilaçların uygulanmadığı bir kontrol grubu (n=6) oluşturuldu. Grup II'ye 4 saat %2,5 Sevofluran, Grup III'e 4 saat %2,5 Sevofluran + 0,5 µg/kg Deksmetomidin, Grup IV'e 4 saat %2,5 Sevofluran + 5 µg/kg Deksmetomidin, Grup V'e 0,5µg/kg Deksmetomidin, Grup VI'ya 5 µg/kg Deksmetomidin verildi. 3 gün sonra tekrar RAM testine alınan ratların kognitif fonksiyonları referans hafıza hatası, çalışan hafıza hatası, hiperaktivite, anksiyete yönünden değerlendirildi.

Bulgular: Sevofluran anestezisi sonrası kognitif fonksiyonlar anlamlı bir şekilde bozulmaktadır. Deksmetomidin sevofluranın kognitif fonksiyonlar üzerine etkisini doz bağımlı olarak değiştirmektedir. Deksmetomidin 5 µg/kg dozda hiperaktiviteye sebep olabilir. Apoptosis açısından CA3 bölgesi hariç gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sonuç: Anestezinin kognitif fonksiyonlar ve apoptosis üzerinde etkisi artan bir ilgiyle incelenmektedir. Yapmış olduğumuz bu çalışma sonucunda uygun dozlarda deksmedetomidinin sevofluran ile birlikte kullanılmasının kognitif fonksiyonlar açısından olumlu yönde etki sağlayabileceğini söyleyebiliriz.

9. SUMMARY:

A COMPARATIVE EVALUATION OF THE EFFECTS OF SEVOFLURAN AND DEXMEDETOMIDINE ON BEHAVIOR, NEUROINFLAMMATION AND APOPTOSIS IN BABY RATS

Introduction: Advances in science and technology, development of diagnosis and treatment methods, starting from the intrauterine period, increase anesthesia exposure in the neonatal period, early childhood, and childhood, as in all age groups. The fact that childhood shows different characteristics from adults, especially in terms of nervous system development, leads to a more detailed investigation of drugs that affect these systems in children. It is not clear how and for how long many anesthetic agents, which are thought to suppress cognitive functions, affect brain functions. Clinical, experimental, and cell culture studies aiming to reveal whether anesthesia exposure in children is neurotoxic are being carried out with increasing interest. However, the reported results are contradictory and no consensus has yet been reached.

Materials and Methods: In this experimental study, 20-day-old rats have given Sevoflurane and Dexmetathymidine anesthesia during the period when the central nervous system development was most intense, and whether the cognitive functions of rats decreased or not was evaluated by RAM test. After the application of the RAM test, the brain tissue samples of the young rats were evaluated histopathologically in terms of neuron damage and apoptosis. Rats were randomly divided into 6 groups ($n = 6$). Anesthetic agents were given to the rats taken for the RAM test, according to their groups. Group I: A control group ($n = 6$) was formed in which drugs whose effects were planned to be evaluated in experimental studies undergoing surgical intervention were not administered. Group II: 2.5% Sevoflurane for 4 hours, Group III: 2.5% Sevoflurane + 0.5 $\mu\text{g} / \text{kg}$ Dexmedetomidine for 4 hours, Group IV: 2.5% Sevoflurane + 5 $\mu\text{g} / \text{kg}$ Dexmedetomidine for 4 hours, Group V: 0.5 $\mu\text{g} / \text{kg}$ Dexmedetomidine, Group VI: 5 $\mu\text{g} / \text{kg}$ Dexmedetomidine was given. The cognitive functions of the rats that were taken to the RAM test again 3 days later were evaluated in terms of reference memory error, working memory error, hyperactivity, and anxiety.

Results: Cognitive functions are significantly impaired after sevoflurane anesthesia. Dexmedetomidine changes the effect of sevoflurane on cognitive functions in a dose-dependent manner. Dexmedetomidine may cause hyperactivity at a dose of 5 $\mu\text{g} / \text{kg}$. There was no significant difference between the groups in terms of apoptosis except for the CA3 region.

Conclusion: The effect of anesthesia on cognitive functions and apoptosis is being studied with increasing interest. As a result of our study, we can say that the use of appropriate doses of dexmedetomidine with sevoflurane can have a positive effect on cognitive functions.

10. ETİK KURUL ONAYI

Evrak Tarih ve Sayısı: 21.02.2020-E.27819



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Berrin IŞIK
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Berrin IŞIK, Semir TURHAN, Mustafa KAVUTÇU'dan oluşan G.Ü.ET-20.013 kod numaralı ve *"Bebek Ratlarda Sevofluran ve Deksmetomidinin Davranış, Nöroinflamasyon ve Apoptosis Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması Değerlendirilmesi"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-20.013 and entitled *"Evaluation of the effects of the sevoflurane and dexmedetomidine on behavior, neuroinflammation and apoptosis in puppy rat comparatively"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 36

Ek: 1 Liste



Ankara
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Esengül BOŞNAK
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:03122022666

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :14/02/2020

TOPLANTI SAYISI : 02

ADI-SOYADI

Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ
(Başkan)

Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL
(Başkan Yrd.)

Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU

Prof.Dr.Tuncay PEKER

Prof.Dr.Fatma AKAR

Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK

Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ

Doç.Dr.Emre BARIŞ

Doç.Dr.İpek SÜNTAR

Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR

Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER

Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM

Vet.Hek.Burcu AVCI

Osman İÇ

11. ÖZGEÇMİŞ

1. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-soyadı: Semin Turhan
Doğum tarihi ve yeri:
Görevi: Araştırma Görevlisi
Yazışma Adresi: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.
Beşevler/ANKARA
Telefon:
E-mail:

2. EĞİTİM

DERECE	ÜNİVERSİTE – FAKÜLTE	BAŞLANGIÇ-BİTİRME YILI
Lisans /Y. Lisans	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	2008-2014
Doktora/Tıpta Uzmanlık	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	2015-

3. AKADEMİK DENEYİM

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Doktor	Kadın Doğum Ve Çocuk Hastanesi-Batman	8.2014-9.2014
Doktor	Gazi üni. Anesteziyoloji ve Rean. ABD-Ankara	06.2015-

ESERLER:

C. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

C1. Aydın ME, İnan G, **Turhan S**, Çelebi H Bir Kalp ve Akciğer Transplantasyon Adayında Genel ve Rejyonel Anestezi Tecrübemiz

C2. Kılıçarslan, G., Alkan, M., Kurtipek, Ö., Ünal, Y., Şıvgın, V., Dikmen, K., **Turhan, S.**
Spinal anestezide, anestezi kalitesi ve postoperatif analjeziye sirkadiyen ritmin etkisinin retrospektif olarak değerlendirilmesi. . TARD 52. Ulusal Kongresi (Tark 2018), Türkiye

C3. **Turhan S**, Özdemir Ç., Karabulut G, Işık B.
Rop Olgusunda Anestezi Yönetimi. TARD 52. Ulusal Kongresi (Tark 2018), Türkiye

D. Sertifikalar:

D1. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Sertifikası; Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, 2019, Ankara

D2. Sağlık Bakanlığı Onaylı Mezoterapi Sertifikası; Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, 2019, Ankara

D3. Sağlık Bakanlığı Onaylı Ozon Terapi Sertifikası; Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, 2020, Ankara

E. Katıldığı Kurslar:

E1. TARD Transplantasyon Anestezisi Kursu, TARD 52. Ulusal Kongresi, 2018, Antalya

E2. Asistan Okulu. TARD 6. 2018, Antalya

E3. Ultrasonografi Kursu, Gazi Üniversitesi 2019, Ankara

E4. Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi 2020, Ankara

F. Katıldığı Kongreler:

F1. 52. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, 2018, Antalya

F2. 54. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, 2020, Online

F3. 20. Ulusal Yoğun Bakım E-kongresi, 2020, Online