



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA ERKEN VE GEÇ YENİDOĞAN
DÖNEMLERİNDE FARKLI SEVOFLURANE
UYGULAMALARININ PREADÖLESAN DÖNEMDE
ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Kübra DOĞAN

Antalya, 2022



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI**

SIÇANLARDA ERKEN VE GEÇ YENİDOĞAN DÖNEMLERİNDE FARKLI SEVOFLURANE UYGULAMALARININ PREADÖLESAN DÖNEMDE ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Kübra DOĞAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hanife KARAKAYA KABUKÇU

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2022

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'ndaki eğitimim süresince ve tez çalışmamın her aşamasında bana yol gösteren, desteğini ve güvenini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Hanife KABUKÇU hocama,

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ayşe Gülbin ARICI ve şahsında tüm hocalarıma,

Tez çalışmama başlamadan önceki süreçte fikirleriyle ufkumu açan, cesaretlendiren ve dikkatimi ve ilgimi hep yüksekte tutan Biyofizik Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Narin DERİN hocama ve bu süreçte yardımlarını esirgemeyen Biyofizik Anabilim Dalı Araş. Gör. Mustafa MUNZUROĞLU ve Araş. Gör. Ayşegül GEMİCİ'ye,

Çalışmalarına destek olan Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi Dr. Öğr. Üyesi Doğa BESNE ve tüm ekibine,

Uzmanlık eğitimim boyunca tüm sıkıntıları ve sevinçleri birlikte yaşadığım, beraber çalışmaktan gurur ve mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, özellikle akademik olarak bilgisini ve desteğini esirgemeyen, her anımda yanımda olduğunu bildiğim çok değerli kıdemlim, canım arkadaşım Dr. Ela ATMACA KAPLAN'a, her durumda bize destek olan kıymetli başasistanımız Dr. Naci NECCAR'a,

Bizim için canla başla çalışan, kliniğimizin çok değerli sekreterleri Saime ÖZCAN ve Ayşegül AYCAN'a, bölüme başladığım ilk günden beri desteğini esirgemeyen Elif ONAT DİKMEN'e,

Tüm anestezi teknikerlerine ve ameliyathane ekibine, tüm yoğun bakım hemşireleri ve personeline,

Bugüne gelebilmem için canla başla çalışan, maddi ve manevi olarak her daim yanımda olan, derdimi dert, mutluluğumu huzur bilen canım aileme ve özellikle canım kardeşime

Sonsuz teşekkürü borç bilirim...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
Şekiller Dizini	vi
Tablolar Dizini	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Genel Anesteziklerin Santral Sinir Sisteminde Etki Mekanizmaları	2
2.2. Sevofluran	5
2.2.1. Fizikokimyasal Özellikleri	5
2.2.2. Farmakokinetik	7
2.2.3. Farmakodinamik	10
2.3. Öğrenme ve Bellek	11
2.4. Öğrenme-Bellek ve Sinaptik Plastisite	16
2.5. Öğrenme-Bellek ve Hipokampus	18
2.6. Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi	19
2.6.1. Sıçanların Bilişsel ve Lokomotor Yetilerinin Değerlendirilmesi	20
2.6.2. Morris Su Tankı (Morris Water Maze)	21
2.6.3. Açık Alan Testi	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Çalışma Grupları	25
3.2. Sevofluran Uygulaması	26
3.2.1. Anestezi Düzenegi, Başlangıcı ve İdamesi	26
3.2.2. Anestezi Sonlandırılması	27
3.3. Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi	27
3.3.1. Öğrenme Deneyleri	27
3.4. LTP Kaydı	29
3.4.1. Elektrofizyolojik Kayıt Alınması	29
3.4.2. LTP İndüksiyonu İçin Cerrahi Prosedürler	29
3.5. İstatistiksel Analiz	31

4. BULGULAR	32
4.1. Genel Görünüm	32
4.2. Öğrenme Deneyi Bulguları	32
4.2.1. Morris Su Tankı Testi Sonuçları	32
4.2.2. Açık Alan Testi Sonuçları	35
4.3. LTP Kaydı ile İlişkili Sonuçlar	38
4.3.1. Eksitatorpostsinaptik Potansiyel Ortalama Değerleri	38
4.3.2. Population Spike Ortalama Değerleri	39
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	46
7. ÖZET	47
8. ABSTRACT	49
9. KAYNAKLAR	51
10. EKLER	60
Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Onayı	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAT	Açık Alan Testi
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
CA1	Cornu Ammonis 1
CO	Kardiyak Output
DG	Dentat Girus
EEG	Elektroensafalogram
GABA	Gama Aminobütirik Asit
HDD	Hayvan Davranış Deneyi
HFIP	Hexafluoroisopropanol
HFS	Yüksek Frekanslı Uyarı
IPSA	İnhibitör Postsinaptik Akım
LTD	Long Term Synaptic Depression (Uzun Süreli Sinaptik Depresyon)
LTM	Long Term Memory (Uzun Süreli Bellek)
LTP	Long Term Potentiation (Uzun Süreli Potansiyel)
MAK	Minimum Alveoler Konsantrasyon
MST	Moris Su Tankı
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
PS	Populasyon Spike
SSS	Santral Sinir Sistemi

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. İnsan (solda) ve sıçan (sağda) beyninin midsagital kesitleri	3
2.2. Genel anestezi ve eksitator mediatörler	4
2.3. Sevofluranın kimyasal yapısı	5
2.4. Uzun dönem bellek sınıflaması ve beyinde ilişkili olduğu bölgeler	13
2.5. LTP oluşumunda nöral ağ	17
3.1. Deney protokolünün zaman ilişkili çizelgesi	26
3.2. Morris Su Tankı Testi Protokolü	28
3.3. Anestezi altındaki sıçanın LTP kaydı alınması sırasında alınan görüntü	29
3.4. EPSP eğimi ve PS genliğinin hesaplanması	31
4.1. Morris su tankı testinde ilk 5 günlük eğitim günlerinde (training days) platformu bulma süreleri (escapelatens)	33
4.2. Morris su tankı testinde 6. günde (probetrial) daha önceden platformun olduğu kadranda geçirilen süre	33
4.3. MST testinde grupları temsilen bir sıçana ait alınan yolu gösteren kamera görüntüleri	34
4.4. Morris su tankı testinin 6. gün verileri. (A) Alınan toplam yol, (B) Ortalama hız	35
4.5. Açık alan testinde girilen kare sayısı	35
4.6. Açık alan testinde alınan toplam yol	36
4.7. Açık alan testinde ortalama hız	37
4.8. Açık alan testinde sıçanların merkezde geçirdikleri sürenin kenarlarda geçirilen süreye oranı	37

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.9. Dentat girus alan potansiyeli EPSP verileri EPSP eğimi	39
4.10. Dentat girus alan potansiyeli PS verileri	40



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo**Sayfa**

2.1. MAK değerini etkileyen faktörler

7



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Her gün çok sayıda yenidoğan, cerrahi işlemler amacı ile anesteziye maruz kalmaktadır (1). Yenidoğan döneminde en çok kullanılan anestezik ajanlardan birisi; sevoflurane'dır. Yapılan çalışmalarda sevofluranın öğrenme ve bellek üzerine olumsuz etkileri olabileceği araştırılmıştır ancak ilerleyen yaşlarda bellek ve öğrenme üzerine etkileri hala net değildir (1,2).

Bununla birlikte, anesteziye maruz kalma süresinin hipokampal sinaptik plastisite, öğrenme ve bellek üzerindeki etkisi de henüz tam olarak açıklanamamıştır (2,3). Yapılan çalışmalarda sıçanlar; farklı konsantrasyonlarda (2,4), sürede (2,5) ve farklı zaman diliminde (2) sevoflurana maruz bırakılmıştır.

Çalışmamızın amacı; sıçanlarda erken ve geç yenidoğan dönemlerinde, aynı doz sevoflurane'ın tek ve tekrarlayan maruziyetinin preadölesan dönemde öğrenme ve bellek üzerine etkilerini araştırmaktır.

Bu doğrultuda 3 temel amaç belirlenmiştir:

1. Temel amaç: yenidoğan dönemindeki sıçanları belirlenen günlerde sevoflurana maruz bırakmak.
2. Temel amaç: yenidoğan döneminde sevoflurana maruz kalmış sıçanlara preadölesan dönemde Moris Su Tankı (MST) testi ve Açık Alan Testi (AAT) uygulamak.
3. Temel amaç: öğrenme testleri sonrasında LTP kayıtları almak.

LTP (Long Term Potentiation) yaygın olarak öğrenme ve bellek için nöronal temel kabul edilmektedir (6). Bu nedenle çalışmamızda öğrenme-bellek testlerinden sonra LTP derin kayıtlarının alınması planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Anestezi, kelime olarak “hissizlik, duyarsızlık” anlamına gelmektedir (7). Genel anestezi, vital fonksiyonlarda değişiklik olmaksızın geçici bilinç kaybı, reflekslerin baskılanması ve kas gevşemesi ile karakterizedir. Bu durum, genel anestezi etkili ilaçların SSS’de oluşturduğu, kortikal merkezlerden başlayarak, sırasıyla bazal ganglionlar, serebellum, medulla spinalis ve medüller merkezleri izleyen inici bir depresyonla oluşur (8).

Genel anestezi ilaçları çeşitli yollarla (oral, nazal, subkutan, transdermal, rektal, intravenöz, inhalasyon) uygulanabilmektedir. Klinik pratikte ise çoğunlukla intravenöz ve inhalasyon yolu tercih edilmektedir (9).

Genel anestezi seyri; indüksiyon, idame ve uyanma olmak üzere üç fazda incelenir. Erişkinlerde intravenöz yoldan indüksiyon tercih edilirken pediatrik hasta grubunda damar yolu uygulamasının güç olması nedeni ile inhalasyon anesteziği ile indüksiyon tercih edilmektedir.

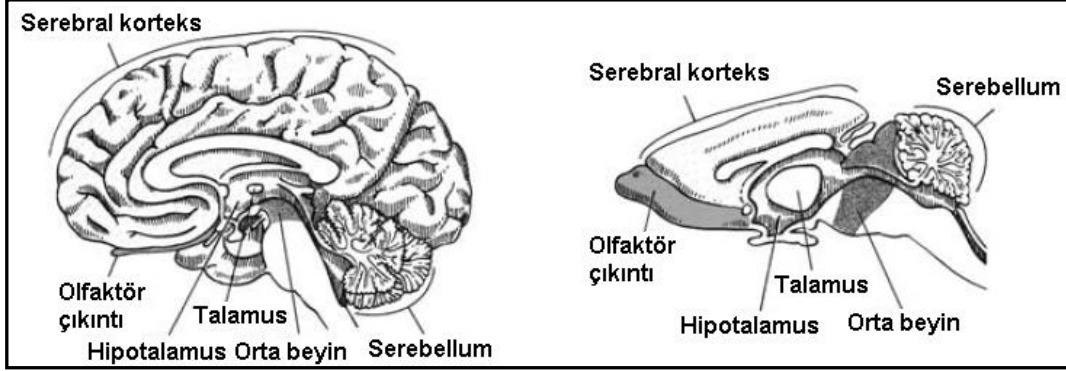
Pediatrik hastaların anestezisinde kullanılan ajanların gelişmekte olan SSS’ne etkileri halen araştırılmaktadır (10). Bu ajanların gelişmekte olan SSS’ne olan etkilerini bilmek, pediatrik anestezi uygulamalarına büyük katkı sağlayacaktır.

2.1. Genel Anesteziklerin Santral Sinir Sisteminde Etki Mekanizmaları

1846’da eterin cerrahi ağrıyı ortadan kaldırmadaki başarılı demonstrasyonunun ardından anestezi ve cerrahide yeni bir çağ başlamıştır (11). Süregelen zamanda genel anesteziklerin etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olup genel anestezi ajanlarının öğrenme ve bellek üzerine olan etkileri halen çalışmalara konu olmaktadır.

Hipokampus bölgesinin SSS’de kullanılan anestezi ajanlarının sinaptik transmisyon üzerine etkilerinin en iyi gösterilebildiği bölge olması nedeni ile anestezi ajanlarının sıçan beyinde (Şekil 2.1) ve özellikle hipokampus bölgesinde yaptığı değişiklikler sık olarak araştırılmıştır. Hipokampus nörotransmitterler, afferent ve efferent yapılar ve gyrusdentatus, hipokampus, fimbria hippocampi gibi

birçok katmandan meydana gelen limbik bir yapıdır. Bununla birlikte anestezi ajanlarının ana hedef bölgelerinden biridir (12).



Şekil 2.1. İnsan (solda) ve sıçan (sağda) beyninin midsagittal kesitleri (13)

Yapılan hayvan çalışmaları, farmakolojik müdahalelerin hipokampus üzerinden öğrenme ve bellek disfonksiyonuna neden olduğunu gösterdi (14). Bununla birlikte, hipokampus ve prefrontal korteksdeki değişiklikler, yaşlanma sırasında kognitif fonksiyon bozukluklarına ve bellek bozukluklarına neden olur (15).

Memeli SSS'inde en çok bulunan inhibitör nörotransmitter GABA'dır. GABA ve GABA sentezleyici enzimler, hipokampusteki internöronlarda bulunur ve bu nöronlar GABA'yı serbest bırakarak eksitator sinaptik akımların ve piramidal hücre deşarjının inhibitör kontrolünü sağlar (14). Bu nedenle, GABAerjik internöronlar, hipokampus ve diğer kortikal bölgelerdeki nöral aktivitenin uyarılabilirliğini ve senkronizasyonunu düzenlemede önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, sık kullanılan anestezi ajanların, beyin fonksiyonlarında rol oynayan inhibitör internöronlar üzerindeki hücresel ve moleküler etkileşimleri henüz tam olarak bilinmemektedir (16).

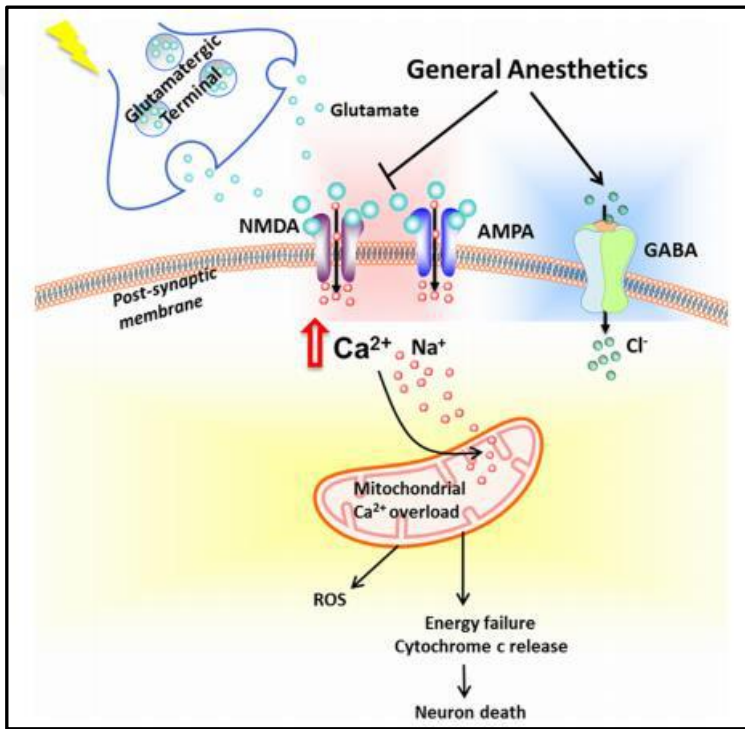
Genel anestezipler Santral Sinir Sistemi (SSS)'nde iki mekanizma ile etki göstermektedir (17):

- 1- Gama aminobütirik asit (GABA) reseptörleri ile inhibisyonda artış yoluyla (benzodiyazepinler, barbitüratlar, propofol, etomidat, izofluran, enfluran, halotan ve desfluran)
- 2- N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin uyarılabilirliğinde azalma (ketamin, N₂O, ksenon).

Volatil anestezi ajanlar SSS’nde nöronal aktiviteyi deprese eder ve GABA-A reseptör-iyon kanal kompleksinden klor akımının inhibisyonunu arttırırlar. Bununla birlikte konsantrasyona bağımlı ve spontan olarak, neokortikal nöronların aksiyon potansiyel ateşlemelerini deprese ederler (18).

Volatil anesteziğin sinaptik GABA-A reseptörleri üzerinde etkileri (16):

- 1- DecayPhase’da uzama,
- 2- İnhibitör postsinaptik akımların (İPSA) pik amplitüdünün azalması,
- 3- Glutamat salınımının inhibe edilmesi.



Şekil 2.2. Genel anestezi ve eksitator mediatörler (19)

Yapılan çalışmalarda anestezi maddelerin, nöron kültürlerinde GABA-A reseptörleriyle ilgili sinaptik akımları ve in vivo olarak cornu ammonis 1’deki (CA1) piramidal hücrelerde ve beyin kesitlerinde DecayPhase’ı uzattığı bulunmuştur. İnhibitör akımların bu şekilde uzaması sinaptik inhibisyonun kuvvetlenmesine ve SSS’nin anesteziğe bağlı depresyonunun artmasına neden olur. Literatürde, genel anestezi maddelerin hipokampüsteki etkilerinin, inhibitör nöronlar üzerinden olduğu gösterilmiştir (20).

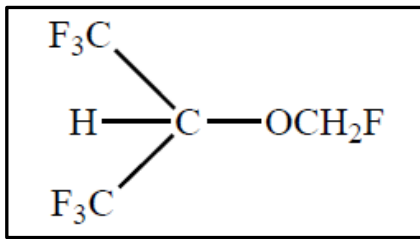
Son yıllarda, hayvan çalışmalarından elde edilen bilgiler, GA ajanlarının gelişmekte olan memeli beyinde nöro-apoptoza ve diğer nörodejeneratif değişikliklere neden olma potansiyelini göstermiştir. Postnatal erken dönemde GA'lara maruz kalmanın, SSS'de uzun dönemde morfolojik ve fonksiyonel değişiklikleri tetiklediği ve bunun da nörobilişsel performansın bozulmasına neden olabileceği gösterilmiştir (21).

2.2. Sevofluran

Sevofluran ilk olarak, 1960'ların sonlarında, Baxter-Travenol Laboratuvarlarında R.F. Wallin, M.D. Napoli ve B.M. Regan isimli farmakologlar tarafından sentezlenmiştir. Halojenlenmiş inhale ajanların sentez ve testleriyle ilgilenen Regan florlanmış izopropil eter serisini geliştirmiş ve en umut verici olanına sevofluran adını vermiştir (22). Faz I çalışmaları çok iyi neticelense de firmanın ilgi ve desteği olmaması nedeniyle çalışmalar yarıda kalmıştır. İlk kez 1990 yılında Japonya'da klinik onay almış ve güvenli, hızlı etkili ve kullanıcı dostu olarak tanımlanmışlardır (22,23). 1995 yılında ABD'nde klinik kullanıma girmiştir. Günümüzde ise sevofluran sık kullanılan inhalasyon anesteziklerinden biridir. Hızlı ve yumuşak bir anestezi indüksiyonu sağlar. Çocuklarda, obezlerde ve renal yetmezlikli hastalarda sevofluranın farmakokinetik özelliği değişmez (24).

2.2.1. Fizikokimyasal Özellikleri

Florlu bir inhalasyon anesteziğidir. Kimyasal formülü; florometil-2,2,2-trifloro-1-(triflorometil) etil eterdir.



Şekil 2.3. Sevofluranın kimyasal yapısı (25)

Oda sıcaklığı ve basıncında renksiz, az kokulu, yanıcı ve parlayıcı olmayan sıvı haldedir. Kan ve dokuda çözünürlüğü halotandan düşük, desflurandan yüksektir. Kan/gaz partisyon katsayısı 0.59, beyin/kan partisyon katsayısı 1.7'dir.

Kimyasal olarak stabildir. Oda sıcaklığında bir şişede neredeyse iki yıldan fazla süre boyunca bozulmadan kaldığı gösterilmiştir (26). Yüksek kaynama noktası ve düşük buhar basıncı nedeniyle klasik vaporizatörlerde kullanılabilir (22). Ancak taze gaz girişi 2 lt/dk'nın altında olan vaporizatörlerde kullanımı önerilmemektedir.

Güçlü bir baz varlığında degrade olur. Ancak güçlü asitler ve ısı ile önemli bir degradasyon meydana gelmez. CO₂ absorbanlar (sodalime, baralyme) ile direkt teması, klinik ortamda, aynı zamanda compound A olarak da bilinen pentafluoroisopropenyl fluoromethyl ether ve çok az miktarlarda (0.5 ppm) compound B (pentafluoromethoxy isopropyl fluoromethyl ether) meydana getirebilir. Hepatik metabolizması %5'in altındadır ve oluşan metabolitler inorganik flor ve hexafluoroisopropanol'dur (27).

Sevofluran hızlı indüksiyon ve anestezi derinliğinin kontrolünü sağlayan düşük çözünürlüğü sayesinde hızlı derlenmeye olanak veren potent bir inhale anesteziktir. Desfluran dışındaki diğer tüm anesteziklerden daha hızlı indüksiyon ve uyanma sağlayabilmektedir. Hızlı derlenme özelliği ile hastanın operasyon odası ve anestezi sonrası yoğun bakım ünitesinden hızlı taburculuğuna olanak vermektedir.

Sevofluranın erişkinlerde MAK değeri %1,7-2,05 aralığındadır. Diğer volatil anestezikler gibi sevofluranın da MAK'ı yaş ilerledikçe, N₂O ve opioid kullanımı ile azalır (Tablo 2.1).

Sevofluran minimal keskin koku, düşük kan/gaz partisyon katsayısı, düşük MAK ve minimal havayolu irritasyonu gibi birçok yararlı özelliğe sahiptir.

Sevofluran diğer anestezikler gibi nöromusküler blokerleri potansiyalize eder. Duyarlı vakalarda malign hipertermiyi tetikleyebilir (28).

Postoperatif bulantı ve kusma en sık görülen ve hastanın taburcu olmasını geciktiren yan etkilere aittir. Genel anesteziklerle birlikte N₂O veya opioidlerin kullanılması görülme insidansını artırır (29).

Tablo 2.1. MAK değerini etkileyen faktörler

MAK'ı Azaltanlar	MAK'ı Artıranlar
Artan yaş	Azalan yaş
Hipotermi	Hipertermi
Akut alkol intoksikasyonu	Kronik alkol
Hipoksi	Tirotoksikoz
Hipotansiyon	Hipernatremi
Anemi	Efedrin
Gebelik	Amfetamin
Hipnotikler	Antikolinesterazlar
Verapamil	Kokain
Sedatifler	Naloksan
Metil dopa	
Opioidler	
Lokal anestezikler	
Kas gevşeticiler	

Sevofluran'ın fizikokimyasal özellikleri (30);

Molekül Ağırlığı (g)	: 200,05
Kaynama Noktası (°C)	: 58,6
Buhar Basıncı (mmHg) (20°C)	: 157
Buhar Basıncı (mmHg) (25°C)	: 197
Buhar Basıncı (mmHg) (36°C)	: 317
37°C'de Yağ/Gaz Partisyon Katsayısı	: 47 – 54
37°C'de Kan/Gaz Partisyon Katsayısı	: 0,63 – 0,69
37°C'de Beyin/Gaz Partisyon Katsayısı	: 1,15

2.2.2. Farmakokinetik

İndüksiyon hızını etkileyen temel faktörler, kan/gaz eriyebilirliği, alveoler ventilasyon, kardiyak output (CO), inspire edilen ajanın kullanılan yoğunluğu ve havayolu irritasyonunun derecesidir. İndüksiyon hızı, desflurandan daha yavaş, izofluran ve halotandan hızlıdır. Sevofluranın farmakokinetiği üzerine yapılan bazı araştırmalarda, sıçanlar ve köpekler de dahil bazı hayvan türlerinde ve insanlarda sevofluranın sistemik dolaşıma hızlı bir şekilde girdiği, sevofluranın kesilmesinden sonra ise kan konsantrasyonunun hızlı bir şekilde düştüğü tespit edilmiştir (24).

1- Metabolizma ve Eliminasyon

Bütün inhalasyon anestetikleri belirli oranlarda hepatik metabolizmaya uğrar. Sevofluran da sitokrom P-450 enzimi ile okside olarak inorganik flor ve hexafluoroisopropanol (HFIP) adlı organik flor metabolitine ayrışır. HFIP sevofluranın bugüne kadar saptanan tek organik flor metabolitidir (31). Flor ve HFIP eşmolar miktarlarda oluşur. HFIP'in daha ileri deflorinasyon veya oksidatif metabolizmaya (Faz 1) uğradığını gösteren kanıt yoktur. HFIP, glukronik asit ile konjuge olur (Faz 2 metabolizma). HFIP glukronit oluşur, bu da idrarla atılır. Sevofluran, Faz 2 biotransformasyon (glukronidasyon) gösteren tek halojenlenmiş inhalasyon anestetikidir. Sevofluran metabolizması hızlıdır, flor ve HFIP sevofluran uygulandıktan sonra dakikalar içinde plazmada ortaya çıkar. Pik plazma flor konsantrasyonu ise yaklaşık bir saat sonra oluşur ve sevofluran konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Sevofluran kesilince, inorganik flor konsantrasyonu hızla düşer (31).

Sevofluran asıl olarak sitokrom P-450 2E1 aracılığı ile metabolize olur. Fenobarbital ve fenitoin gibi enzim indükleyicilerden etkilenmez. Bununla birlikte obezite, yağlı karaciğer filtrasyonu, izoniazid, kronik etanol tüketimi, tedavi edilmemiş diyabet ve uzamış açlık gibi P450 2E1 indükleyicilerin, sevofluran metabolizmasını stimüle etmesi beklenir.

Florür ise böbrekler tarafında hızla vücuttan uzaklaştırılır (32).

Sevofluranın kauçuk ve plastiklerdeki çözünürlüğü düşüktür. Bu özelliği ile anestezi devresinde az oranda absorbe edilir. Kimyasal olarak stabil bir molekül olup, güçlü asitler ve ısı ile degradasyon meydana gelmez. Ancak güçlü bazlarla degrade olur. Bu nedenle CO₂ absorbanlarıyla (sodalaym, barolaym) direkt teması sonucu compaund A (pentafluorometoksiizopropanil fluorometil eter-PMFE, C₅H₆F₆O) meydana getirir (27).

Compaund A'da degradasyonun doza bağlı olduğu ve Compaund A ve Compaund B'nin alkalen hidrolizi sonucu formaldehit meydana geldiği gösterilmiştir (33).

2- Toksisite

İnorganik florid tüm volatil anestetiklerin metabolitidir. Biotransformasyon sırasında oluşan florür iyonu ve bu iyonun CO₂ absorbanlarıyla etkileşimine bağlı nefrotoksisite konusunda söylenenlerin gerçek olmaktan çok teorik olduğu gösterilmiştir.

Klinik deneyimlerine dayanarak metoksifluranın >50 mcM (micromol) serum inorganik florid konsantrasyonlarının nefrotoksisite ile ilişkili olduğu bildirilmiş. 50 mcM inorganik florid konsantrasyonunun, renal florid konsantre etme yeteneğinin bozulması için eşik değer olduğu ileri sürülmüştür. Bu eşik değer, diğer halojenlenmiş ajanlarla yeniden değerlendirilmemiştir. Çünkü diğer halojenlenmiş ajanlar, genellikle <50 mcM inorganik florid konsantrasyonları meydana getirirler. >50 mcM olduğu özel durumlarda (örn. enfluran verilmeden önce isoniazid alan kişiler, uzun süre izofluran alan hastalarda) nefrotoksisite bulgusu gözlenmemiştir (32).

Gönüllülerde ve hastalarda sevofluran ile yapılan çalışmalarda, >50 mcM plazma inorganik florid konsantrasyonlarında (çalışmaya alınan erişkinlerin yaklaşık %7'si) renal toksisiteye ait kanıt bulunmamıştır (34).

Sevofluran, insanlarda renal enzimlerin substratı değildir ve renal enzimlerce metabolize edilmez. Metoksifluran anestezisi sonrasında gözlenen yüksek idrar çıkışlı yetmezliğin, intrarenal oluşan florüre bağlı olduğu düşünülmektedir. Sıçanlarda compound A, 50-100 ppm arasındaki konsantrasyonlarda, renal toksisite yapabilir (35). İnsanlarda düşük akımlı (<700 ml/dk) uzamış sevofluran anestezisi sırasında CO₂ absorbanı olarak sodalime kullanıldığında oluşan compound A, 7.6 ppm'in altında olup, bu miktarda renal bozukluk bildirilmemiştir. Düşük akımlı anestezi devrelerini inceleyen çalışmalarda, karaciğer ya da böbrek toksisitesi bulgusuna rastlanmamıştır. Metabolizma sonucunda oluşan HFIP'un klinik olarak toksisitesi gösterilememiştir (35).

2.2.3. Farmakodinamik

1. Solunum Sistemi Üzerine Etkileri: Tüm volatil ajanlar gibi doz bağımlı olarak solunum depresyonu yapar. Sağlıklı hastalarda doz bağımlı olarak tidal volümü düşürür, dakika ventilasyonunu azaltır, CO₂ yanıtını baskılar, PaCO₂ yükselir.

Solunumu deprese edici etkisi halotandan daha belirgindir. Bronkospazmın düzeltilmesinde etkin olup bronkodilatasyon yapar. Hayvan çalışmalarında, sevofluran ile indüksiyonun hızlı olduğu ve hava yolu iritasyonu yapmadığı gösterilmiştir. Hava yolu iritasyonu yapmadığı ve öksürük refleksini uyarmadığı için, çocuklarda iyi bir inhalasyon indüksiyonu sağlamaktadır (36).

2. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri: Kardiyovasküler sistem üzerine depresan etkilidir (37). Daha kararlı bir kardiyak profil çizmektedir. Doza bağımlı olarak arteriyel kan basıncını azaltır. Koroner kan akımını önemsiz derecede etkiler, koroner çalma sendromuna neden olmaz (38). Feokromasitomalı hastalarda sorunsuz olarak kullanılabilir. (39).

3. Nöromusküler etkileri: Sevofluranın, halotana göre daha zayıf olmakla birlikte malign hipertermiyi tetiklediği gösterilmiştir. Sevofluranın hem farmakolojik hem de etki süresi açısından kas gevşeticiler üzerinde güçlendirici bir etkisi olduğu görülmektedir. Sevofluranın, cerrahi hastalarda vekuronyum ve pankuronyum ile nöromusküler blokajın şiddetini ve süresini etkilediği rapor edilmiştir. Sevofluran ile birlikte uygulanan bu kas gevşeticiler için doz ayarlaması, izofluran için gerekene benzerdir.

4. Renal Sistem Üzerine Etkileri: Metoksifluran ve sevofluran, 50 µmol/L'den fazla plazma florür konsantrasyonu oluşturmalarına rağmen aynı nefrotoksik etkiyi göstermemektedir. Renal kan akımını etkilemez ve konsantrasyon fonksiyonunu bozmaz (39).

5. Hepatik Sistem Üzerine Etkileri: Sevofluranın metaboliti HFIP'nin karaciğer makro moleküllerine affinitesi vardır. Ancak klinik çalışmalarda hepatik hasar görülmemiştir (40).

6. Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkileri: İnhalasyon anestezikleri doza bağlı olarak serebral damarlarda vazodilatasyon ile serebral kan akımını artırırlar.

Serebral kan akımı ve serebral kan volümündeki artış ile de intrakraniyal basıncı arttırmırlar.

İzofluran ve desfluran'a benzer SSS etkilerine sahiptir. Sevofluranın yüksek inspiratuar konsantrasyonlarında intrakranial basınç yükselir; bununla birlikte 0,5-1 MAK aralığında bu etki minimaldir. Serebral metabolik hızı ve serebral vasküler direnci azaltır. Serebral otonöregülasyon korunur. Konvülsif veya epileptik aktivite yaratmaz. Elektroensafalogram (EEG)'da doza bağımlı değişiklikler yapar (41).

2.3. Öğrenme ve Bellek

Öğrenme ve bellek beynin en önemli kognitif (bilişsel) fonksiyonlarındanıdır. Algılama, sebep-sonuç ilişkisi kurma, karar verme, dikkat, karşılaştırma ve dil becerileri ise beynin diğerk kognitif fonksiyonları arasında sayılabilir. Öğrenme ve bellek iki farklı kavram olmasına rağmen bu iki süreç birbirinin içine geçmiş durumdadıır. Sıkça kullanılan bu terimleri tam olarak açıklamak ve birbirinden ayırmak oldukça zordur. Sweatt'a göre bir şeyi öğrendiğinizde öğrenme, öğrendiğinizi hatırladığınızda bellekten söz edilmektedir (42).

Kavramları kısaca tanımlamak gerekirse;

- **Öğrenme**, çevresel uyarılara karşı kazanılmış davranış yanıtıdır. Burada dikkat edilmesi gereken nokta öğrenmenin çevresel uyarıya verilen yanıt değil, çevresel uyarıyı deneyimledikten sonra, verilen bazal yanıtta değişim olmasıdır. Bir deney hayvanı üzerinden düşünürsek, deney hayvanı herhangi bir çevresel uyarıya karşı bazal bir tepki verir, deney hayvanı aynı çevresel uyarı ile ikinci kez karşılaştığında ilkinden farklı, değişmiş bir tepki verir ve bu öğrenmedir.
- **Bellek**, öğrenilen bilginin depolanmasıdır. Kandel'e göre öğrenme dünyayla ilgili bilginin kazanılması veya deneyimlere bağılı olarak davranış değişikliğı yapabilme yeteneğidir; bellek ise bilginin kodlanması, depolanması ve sonrasında bilinçli ya da bilinçsiz olarak hatırlanmasıdır.

Bellek işlevlerinin beyinde birçok farklı yolakla ve anatomik bölgeyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (43). Yapılan çalışmalarda öğrenme ve bellek farklı açılardan gruplandırılmıştır. Bellek; içeriğine, süresine, işlem düzeyine bağlı olarak birçok alt sınıfa ayrılabilir. Belleği öncelikle depolanan bilginin türüne ve depolanma süresine bağlı olarak sınıflandırmak anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır.

Belleğin Zamana Göre Sınıflandırılması

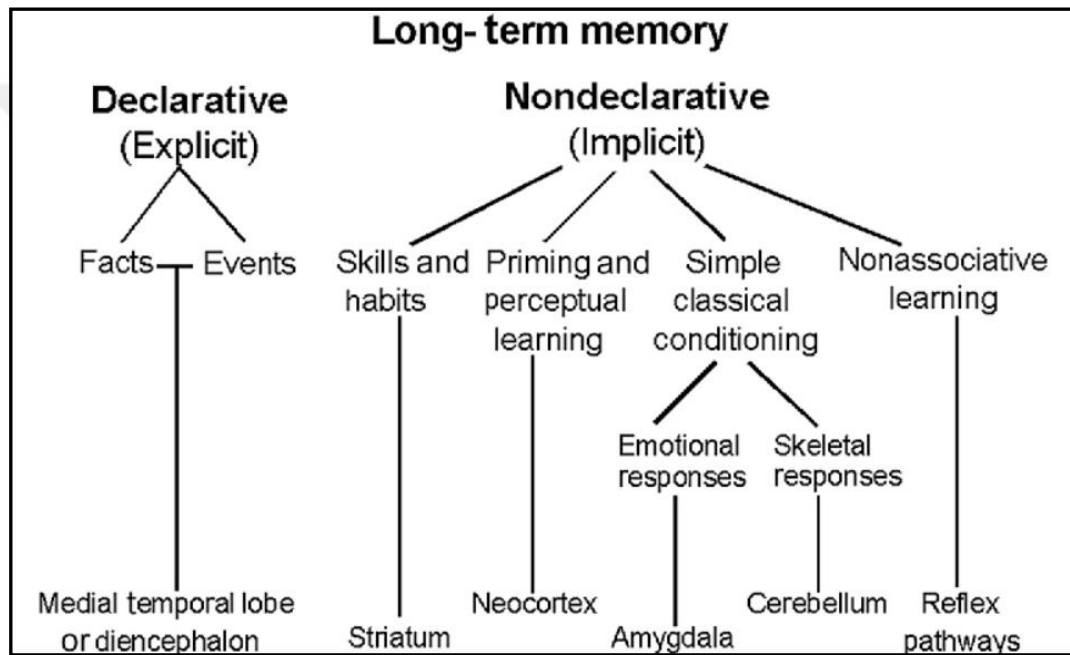
Anıların ömrü bazen birkaç saniye, bazen saatler, bazen de yıllarca sürebilmektedir. 19. yüzyıl sonlarında Hering, Ebbinghaus ve ardından Atkinson ve Shiffrin tarafından ilk kez belleğin zamansal yönden sınıflandırılması yapılmıştır (44). Belleği kısa süreli bellek ve uzun süreli bellek olmak üzere iki ana başlıkta incelemek anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır.

1) Kısa süreli bellek: Belleğin hızlı ve erken evreleri duyuşal ve algısal uyarılarla ilgilidir. Duyusal bilgiler saniyeler ya da birkaç dakika içinde kısa dönem belleğe dönüştürülür. Kısa dönem belleğin üç temel bileşeni; duyuşal bellek (sensory memory), kısa dönem depolanma (short-term storage) ve işler bellek (working memory)'tir. Kısa süreli bellek iki yönlüdür. Yeni algılanan duyuşal verilerle ilişkili olduğu gibi, uzun dönem bellek depolarından yeni geri çağrılan bilgilerle de ilgilidir. Bu nedenle kısa süreli bellek hem bir giriş merkezi hem de çıkış merkezi görevini üstlenmiştir. Kısa dönem belleğin ilk komponenti, yeni tanışılan bir kişinin yüzü gibi yeni algılanan duyuşal verilerle ilgilidir (42). Algılanan duyuşal uyarının kısa dönem belleğe geçişindeki ilk basamak kısa dönem depolanmadır. Bu aşamada duyuşal uyarın ne kadar güçlü ve açıksa kısa süreli belleğe geçişi o kadar belirgindir. Duyusal belleği, uyarının türüne göre ikiye ayırabiliriz: eğer uyarı işitselse ekoik, görselse ikonik bellekten söz edilir.

Kısa dönem depolanmada, depolanan bilgiye hiçbir şey yapmadan bilgi depolanabilir. Eğer bilgi işleniyorsa o zaman işler bellekten söz edilir. Günlük yaşamın sonucu olarak bazı bilgileri kısa süre aklımızda tutmamız ve hatırlamamız gerekir. İşler bellek, bilginin manipölasyonunu ve geçici depolanmasını anlatan bir terimdir. Pariyatal korteks ve dorsalateral, prefrontal korteks kısa süreli bellek ile ilişkili beyin alanlarıdır (44).

2) Uzun süreli bellek: Kısa dönem bellek ve işler bellekte bilgiler çok kısa süreler saklanabilirken, uzun dönem bellekte (long term memory, LTM) bilgiler yıllarca saklanabilir. Uzun dönem belleğin saklanan bilginin içeriğine göre sınıflandırılması ve ilişkili oldukları beyin bölgeleri Şekil 2.4’te gösterilmiştir.

LTM’nin altında yatan moleküler mekanizmalar ile bilgiler uzun süre saklanabilmektedir. LTM’nin oluşabilmesi için sinaptik gücün artması, yeni sinapsların oluşması, nörotransmitter salıverilmesi ve protein sentezi gereklidir (45).



Şekil 2.4. Uzun dönem bellek sınıflaması ve beyinde ilişkili olduğu bölgeler (46)

2.A- Deklaratif (eksplisit) bellek

Olayların, yerlerin, insanların ve gerçeklerle ilgili bilgilerin bilinçli olarak hatırlandığı bellek türüdür. Deklaratif bellek oldukça değişkendir, bilgilerin farklı parçaları farklı koşullarla ilişkili olabilir. Medial temporal lob ya da diensefalonda hasar olduğunda deklaratif belleğin kaybına bağlı nörolojik amnezi görülür (47).

Deklaratif bellek, epizodik ve semantik bellek olarak ikiye ayrılır. Tulving’e göre; epizodik bellek kişisel deneyimler ve otobiyografik bellekten oluşurken, semantik bellek gerçeklerle ilgili bellekten oluşur (48).

Deklaratif bellekte bilgilerin tek bir uzun dönem bellek deposu yoktur. Görsel, işitsel ve diğer duyuşsal uyarılara göre beynin çeşitli bölgelerine erişir.

Deklaratif bellek: kodlama (encoding), depolama (storage), konsolidasyon (consolidation) ve geri çağırma (retrieval) işlemlerinden oluşur.

Kodlama: Edinilen yeni bilginin belleğe kaydedilmesi ve bellekteki bilgilerle bağlantısının kurulması sürecidir.

Depolama: Bilgilerin bellekte depolanmasıdır. Uzun dönem belleğin kapasitesi tam olarak bilinmemekte ve sınırsız gibi görünmektedir. Ancak işler bellek bir anda sadece birkaç bilgiyi saklayabilmektedir.

Konsolidasyon: Labil (kararsız) olan bilginin protein sentezi, gen ekspresyonu ve sinapsların güçlendirilmesiyle kararlı (kalıcı) hale gelmesi sürecidir.

Geri çağırma: Depolanan bilginin hatırlanmasıdır. Beynin farklı bölgelerinde depolanan bilgileri akla getiren farklı düşünceler olur. Eğer kişi saklanan bilgiyi kişisel bir deneyimle kodlamışsa geri çağırma daha etkin olur.

Deklaratif belleğin iki alt tipi olan epizodik bellek ve semantik bellek, medial temporal lob ve diensefalik yapılar ile ilişkilidir. Bunlara ek olarak frontal lob da epizodik bellekle ilişkilidir (49).

2.B- Non-deklaratif (implisit) bellek

Non-deklaratif bellek, bilinç dışı öğrenilen (klasik koşullanma, alışkanlık, beceri gibi) bilgilerden oluşur. Kısaca non-deklaratif bellek, bilinçli bir çaba harcamadan ve bilinç dışı davranışlarla kazanılan bellek türüdür (45).

Non-deklaratif bellek dört ana başlık altında incelenebilir:

1) Asosiyatif öğrenme: İki uyarı arasındaki ilişkinin ya da bir uyarı ile bir davranışın arasındaki ilişkinin öğrenildiği öğrenme biçimidir. Klasik koşullanma ve operant koşullanma olarak iki başlıkta incelenebilir.

Klasik koşullanma: Temel olarak refleksif süreçlere dayanır. İlk olarak Rus fizyolog Ivan Pavlov tarafından tanımlanmıştır. İki uyarıyı birbirine eşleştirmek klasik koşullanmanın temelini oluşturur. Ses, ışık, dokunma gibi zayıf ya da hiç yanıt oluşturmayan koşullu bir uyarı belirlenir. Yiyecek ya da şok gibi belirgin

bir yanıt (salivasyon, ayağını geri çekme) oluşturacak koşulsuz bir uyarın belirlenir. Koşulsuz yanıtlar içseldir ve öğrenmeye bağı değildir. Asosiyatif öğrenmede; koşullu uyarının, koşulsuz uyarınla birlikte tekrarlayan uygulamaları sonucunda koşullu uyarına karşı farklı bir yanıt oluşması sağlanır. Oluşan bu yanıt koşullu yanıttır.

Operant (edimsel) koşullanma: İlk olarak Edgar Thorndike tarafından tanımlanmıştır. Operant koşullanmayı tarifleyen deney düzeneğinde, aç bir sıçan deney bölmesine yerleştirilir. Bu sıçan deney odasındaki bir duvarda bulunan kola bastığında kendisine ödöl olarak yemek verilir. Bu davranış ve ödüllendirme birkaç kez tekrarlandıktan sonra sıçan, acıktıkça duvardaki kola basmaya başlar. Deney düzeneğinde de görüldüğü gibi operant koşullanma ödöl ve ceza sisteminin temelini oluşturur ve davranış sonuç ilişkisini açıklar. Eğer sonuç olumluysa davranış tekrarlanır, olumsuz ise davranış tekrarlanmaz.

2) Non-asosiyatif öğrenme: En basit öğrenme şeklidir. Bir canlının, bir uyarını öğrendiği bu öğrenme tipi için daha çok omurgasız canlılarda fleksiyon, göz kırpmı, korkma gibi refleks yanıtlar üzerinde çalışılmıştır. Habitüasyon ve sensitizasyon olmak üzere iki alt tipi vardır.

Habitüasyon (alışma): İmplicit belleğin en basit halidir. Canlı ilk defa karşılaşılan çevresel bir uyarıya karşı yanıt geliştirir. Bu uyarı zarar verici değilse tekrarlayan uygulamalar sonunda canlı bu uyarıya alışır, verdiği yanıt azalır ve kaybolur.

Sensitizasyon (duyarlılaşma): Organizmanın bir uyarıya karşı beklenen bazal yanıtın daha güçlü bir yanıt vermesi durumudur. Sensitizasyon, genellikle rahatsızlık verici bir uyarıdan sonra zayıf başka bir uyarın verildiğinde, bu zayıf uyarına verilen yanıtta artışın görülmesidir (50).

Bu iki non-asosiyatif öğrenme tipi de kısa süreli ya da uzun süreli olarak yanıt oluşturabilir. Öğrenilen olay için oluşın bellek tipi sadece uyarının ne kadar tekrarlandığına bağıdır.

3) Prosedural öğrenme (motor öğrenme, yetenek): Motor öğrenme, beceri ve alışkanlıklar bilinçdışı öğrenme ve bilinçsiz geri çağırmanın önemli örnekleridir. Örneğin yürümek, otomatik olarak kolaylıkla yerine getirilen, ancak oldukça karışık motor hareketleri içeren bir beceridir ve daha küçücük bir

çocukken öğrenilir. Aynı durum konuşmak için de geçerlidir. Motor öğrenme için bilinçsiz yapılan davranışlarla çevresel uyarılar arasında karışık bağlantılar mevcuttur. Motor öğrenmede, motor korteks ve bazal gangliyonlar birlikte rol alır.

4) Priming (hazırlama): Daha önceki deneyimlerin sonucunda bir ipucuyla, kelime ya da herhangi bir durumu tanımlamayı sağlayan gelişmiş bir yetenektir. Herhangi bir öge ile ilk defa karşılaşıldığında; o öge beyne sunulur ve beyinde işlenir. Aynı ögeyle tekrar karşılaşıldığında daha hızlı hatırlanır. Priming, herhangi bir uyarı ile ikinci kez karşılaşıldığında daha hızlı ve daha verimli bir yanıt oluşmasını sağlamaktadır. Eksik parçaları olan bir resimden bütünü tahmin edebilme ya da bir kelimeyi ilk harfi söylendiğinde tahmin edebilmek priminge örnek verilebilir (51).

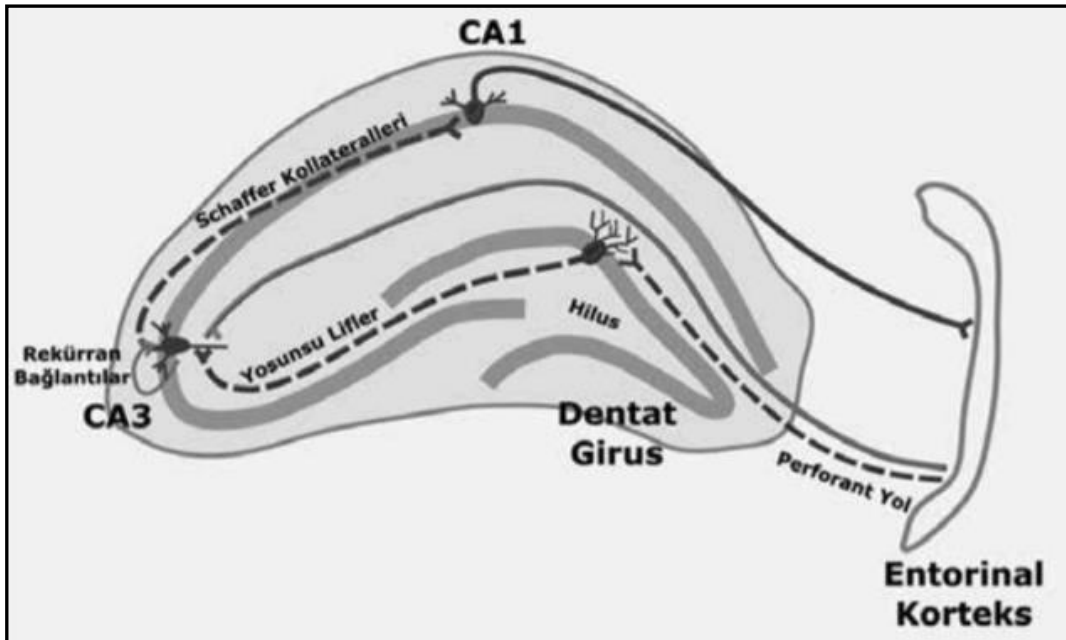
2.4. Öğrenme-Bellek ve Sinaptik Plastisite

Öğrenme ve bellek oluşumu; elektrofizyolojik, kimyasal ve sinaptik değişiklikleri, gen ekspresyonunu ve yeni proteinlerin sentezini içerir. Bilim dünyası davranış, bilinç, öğrenme ve bellek oluşumunun moleküler temellerini anlamaya çalışmaktadır. Ancak nöral ağın karmaşık anatomisi ve fizyolojisi nedeniyle bellek oluşumunun altında yatan moleküler mekanizmayı anlamak oldukça zordur. Bellek oluşumunun hücresel mekanizması için en temel hipotez Kanadalı Donald Hebb'in hipotezi olarak karşımıza çıkmaktadır. Hebb'in hipotezine göre anılar, santral sinir sisteminde nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıların gücündeki değişiklikler olarak depolanmaktadır (45).

Santral sinir sistemindeki sinaptik bağlantının yapısı, sayısı ve gücü canlılar için önemlidir. Sinaps, nöronlar arasında bağlantının kurulduğu, nöronların birbiriyle etkileşim içinde olduğu bölgedir. Nöronlar arasındaki sinaptik bağlantının değişme kapasitesine sinaptikplastisite denir. Sinaptik plastisite, davranışın ve belleğin altında yatan temel mekanizmadır. Sinaptik plastisitenin, uzun dönem potansiyalizasyon (long term synaptic potentiation, LTP) ve uzun dönem depresyon (long term synaptic depression, LTD) olmak üzere iki ana formu vardır (52).

LTP, sinaptik gücün aktivite bağımlı olarak uzun zamanlı artmasıdır. İlk olarak Tim Bliss ve Terje Lomo'nun hipokampus üzerinde yaptığı çalışmalarda tanımlanmıştır. LTP, glutamat NMDA reseptörü ile ilişkilidir. Hipokampus, amigdala ve serebral kortekste asosiyatif öğrenme, uzaysal öğrenme ve adaptif değişikliklerin altında yatan hücresel mekanizmadır (53).

LTP'yi anlamak için yapılan çalışmalar daha çok hipokampus CA1 bölgesindeki Schaffer kollaterallerinde yapılmıştır. Hipokampüste LTP oluşumundaki nöral ağ Şekil 2.5'te gösterilmiştir. Nöral ağda üç nöron grubu bulunmaktadır. Bilgi, entorinal korteksten başlayıp perforant yolakla dentat girusa ulaşan ilk nöron grubuyla dentat girusa taşınır. Bu nöronlar dentat granül hücreleri ile sinaps yapar. Dentat girusdaki sinapstan sonra bilgi, dentat granül hücrelerinin aksonlarından oluşan mossy lifleri ile hipokampusün CA3 bölgesine taşınır ve CA3'teki piramidal hücreler ile sinaps yapar. CA3 bölgesindeki sinapstan sonra Schaffer kollateralleri olarak bilinen piramidal hücre aksonları ile ipsilateral CA1 bölgesine taşınır. CA1 bölgesindeki piramidal hücrelerle yapılan sinapstan sonra bilgi, piramidal hücrelerin aksonları ile hipokampüsten çıkar. Kortikal ve subkortikal yapılara taşınır (41).



Şekil 2.5. LTP oluşumunda nöral ağ (41)

LTP'nin altında yatan mekanizmayı anlamaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda LTP'nin, eksitator bir nörotransmitter olan glutamatın AMPA ve NMDA reseptör alt tipleriyle ilişkili olduğu anlaşılmıştır (54). Bu iki reseptör iyonotropik reseptörler olup, kanal proteinleri ile kenetlenmişlerdir. NMDA reseptörü üzerinde allosterik etki oluşturarak kanal fonksiyonunu değiştiren glisin, poliamin, fensiklidin bağlanma alanları mevcuttur. NMDA reseptörünün ortasında bir Mg^{+2} tıkaçı bulunur. Magnezyumun bağlanması voltaj bağımlı bir özellik gösterir. Böylece istirahat membran potansiyelinde Mg^{+2} kendi bağlanma yerine bağlı kalır ve reseptöre glutamat bağlansa bile kanal açılmaz.

Membran potansiyeli artacak olursa (hücre depolarize edilirse) Mg^{+2} bağlanma yerinden ayrılır. Eğer ortamda glutamat varsa kanal açılabilir. AMPA reseptörü Na^{+} kanalı ile kenetlidir ve AMPA reseptörünün uyarılması hücre içine fazla Na^{+} girişine ve EPSP oluşumuna sebep olur. Oluşan aksiyon potansiyeli sinirsel iletinin devamını sağlar. AMPA reseptörlerinin uyarılmasıyla oluşan EPSP sonucunda hücre yeterince depolarize olur ve NMDA reseptörü Mg^{+2} tıkaçından kurtulur. Mg^{+2} tıkaçının açılmasıyla postsinaptik sinir ucuna Ca^{+2} girişi artar. Hücre içinde artan Ca^{+2} ilgili hücre içi sinyal yollarını aktive eder ve LTP oluşmasını sağlar (55).

2.5. Öğrenme-Bellek ve Hipokampus

Öğrenme sürecinde ve farklı bellek alt tiplerinde birçok farklı beyin bölgesi görev yapar. Frontal, parietal, oksipital ve temporal loblar, korteks, limbik sistem ve hipokampusün kendileriyle ve farklı yapılarla aralarında bulunan nöral ağlar öğrenme ve bellek sürecinde önemlidir (45).

Öğrenme ve bellek sürecinde beyinin farklı birçok bölgesi yer almaktadır. Ancak hipokampus birçok bölgeden veri alması ve bir veri çıkış merkezi olması nedeniyle bu süreçte kilit rol oynamaktadır. Öğrenme ve bellek çalışmalarında hipokampüsten tek bir anatomik yapıymış gibi bahsetmek doğru değildir. Hipokampal sistem, hipokampal ve parahipokampal yapılar olarak gruplanabilir. Hipokampus (CA1, CA2, CA3), dentatgirus ve subikulum hipokampal yapıları oluştururken; peririnal, postrinal, entorinal, presubikular ve parasubikular korteksler parahipokampal yapıları oluşturmaktadır (56).

Hipokampus birçok bölgeden input alan ve birçok bölgeye output gönderen bir merkezdir. Hipokampus görsel, işitsel ve somatosensoryal korteksten direkt ve indirekt yollarla, olfaktör sistemden de direkt olarak girdiler alır. Dış merkezlerden gelen veriler hipokampusün kendi içindeki nöral ağda iletdikten sonra tekrar korteks, amigdala gibi beyin bölgelerine dağılır. Hipokampal sistemdeki nöral ağ çok farklı nöromodülatörler içerir. Nöral ağ kolinerjik, serotonerjik, dopaminerjik, noradrenerjik projeksiyon liflerini içerir. Hipokampal internöronlar arasındaki sinapslar ise çoğunlukla GABA'eriiktir; hipokampüsteki piramidal nöronlar ise glutamaterjiiktir (56).

Birçok fonksiyonundan bahsedilmesine rağmen özellikle uzaysal bellek gelişiminde ve deklaratif belleğin yapılanmasında hipokampal yapılar önemlidir. Hipokampusün ana fonksiyonları, çevresel uyarıları algılama, zamanlama, ilişkilendirme ve bellek yapılanması olarak sınıflandırılabilir.

Hipokampusün uzaysal öğrenmedeki rolünü tam olarak açıklamak için yapılan çalışmalarda hipokampusün fonksiyonları üç ana başlık altında toplanmıştır. Bunlardan ilki mekansal verilerin yorumlanmasıdır. İkinci fonksiyon ise zamanlama (timing)'dır. Epizodik belleğin kodlanmasında hipokampus görev yapar. Kişinin hayatındaki önemli olayların ya da bireysel deneyimlerinin zamansal ilişkisini kodlar ve sıralar. İki uyarı arasındaki zamansal ilişkiyi kurmada da hipokampus görev alır. Üçüncü fonksiyon ise çoklu bağlantıları (multi modal associations) kurmaktır. Hipokampus farklı duyuusal girdileri düzenler, birbiriyle ilişkilendirir ve kodlar. Bir uyarının yeri, kokusu, tadı, bir ödöl ya da ceza ile sonuçlanması gibi birçok farklı yönü hipokampus tarafından değerlendirilir ve uyarıyla eşleştirilir (42).

2.6. Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi

Davranışsal süreç ve mekanizmaların araştırılması, hem hayvan ve insan beyninin nasıl çalıştığının anlaşılması için hem de insandaki davranış bozukluklarına çözüm getirilmesi açısından önemlidir. Nörobiyolojik çalışmalar farklı memeli gruplarında beynin temel morfolojik ve işlevsel yapılarının çok benzer olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte davranış seviyesinde de yakın

benzerlikler bulunmaktadır. Bu nedenle hayvan çalışmalarından elde edilen birçok bilgi insanlar için de geçerlidir (57).

Laboratuvar ortamında yapılan nörobiyolojik ve davranışsal çalışmalarda en yaygın kullanılan deney hayvanı sıçan ve maymundur. Dünyada çok az araştırma merkezinde maymunlar denek olarak kullanılmaktadır. Sıçanlar, üretim ve bakımı oldukça kolay ve ekonomik olduğu için günümüzde bilimsel araştırmalarda en çok kullanılan hayvandır.

2.6.1. Sıçanların Bilişsel ve Lokomotor Yetilerinin Değerlendirilmesi

Sıçanların bilişsel ve lokomotor yetilerinin değerlendirilmesinde tanımlanmış pek çok hayvan davranış deneyi (HDD) modeli mevcuttur. HDD'leri sıçanlarda anksiyete, otonom fonksiyonlar, öğrenme, hafıza ve lokomotor aktivite gibi pek çok özelliğin değerlendirilmesini sağlamaktadır. Bilimsel yeterlilik ölçütlerinin tümünü kapsayan bir HDD modeli yoktur ve bu modellerin çoğu %100 sonuç sağlayamamaktadır. Ancak bilimsel teknolojiye gelişmelerle birlikte HDD'leri giderek daha ideal ölçütlerde yapılabilmektedir (58).

Sıçanlarda davranış deneylerinin, ratların çevresel (nöromotor) gelişiminin tamamlandığı 80-85. günlerden sonra yapılması önerilmektedir. Ancak sıçanların doğumunu takiben yapılan pek çok çalışmada, deneylerin ortalama 180-400 gr ağırlığındaki erişkin erkek sıçanlarla yapıldığı bildirilmiştir. Bu deneylerde sıçanların cinsiyetlerine göre farklı davranışlar sergilediği görülmüştür. Özellikle uzaysal öğrenmenin değerlendirilmesinde erkek cinsiyetin daha uygun olduğu saptanmıştır. Bu durumun hormonal farklılık ve hipokampus gelişimindeki farktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Bu nedenlerle son yıllarda yapılan pek çok çalışmada erkek sıçan kullanılmıştır (59).

HDD'lerinin $23\pm1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, 12 saatlik gece-gündüz ritminin sağlandığı bir odada ses, ışık, sıcaklık ve bekleme koşullarının standardize edildiği ortamlarda yapılması önerilmektedir. Deney hayvanlarının tümünün daha önce doğum yapmış, bir gebelikte birbirine yakın sayıda yavru doğuran annelerin yavrularından seçilmesi, doğumdan sonra aynı günde sütten kesilerek anneden ayrılması, anneden ayrılan sıçanların her kafeste eşit sayıda olacak şekilde barındırılması, standart yem ile beslenmesi gibi temel koşulların sağlanması

önerilmektedir. Burada amaç sıçanların davranış deneylerinin yapılacağı tarihte birbirine yakın ağırlıkta olmalarının, nöromotor gelişiminin eşit düzeyde olmasının sağlanmasıdır. Ayrıca daha önce yavru doğurmuş, yavrularına zarar vermediği bilinen annelerin yavrularının seçilmesi ile deneye alınacak sıçanların anne tarafından reddedilme ya da yenmesini önleme amaçlanmaktadır. Sıçanların her zaman aynı araştırmacı tarafından, aynı yöntemle düzeneklere konması, araştırmacının odada her zaman aynı yerde durması, aynı renk kıyafet giymesi ve hatta parfümünü bile deneyler süresince değiştirmemesi önerilmektedir (60).

Çalışmalar göz önüne alındığında sıçanlarda bilişsel ve motor yetilerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan pek çok farklı deney düzeneği olduğu görülmektedir (60).

Sıçanların duygusal durumunu, sedasyonunu, lokomotor aktivitesini ölçmede açık alan testinin kullanılması ve çalışmanın doğumu takiben 10. haftada yapılması önerilmektedir. Morris su tankı (MST) düzeneği Dr. Richard Morris tarafından tanımlanmış olup kemirgenlerin öğrenme ve bellek çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır (59).

2.6.2. Morris Su Tankı (Morris Water Maze)

1982 yılında Morris ve arkadaşları tarafından tasarlanan morris su tankı günümüzde sıçan ve fare gibi küçük kemirgenlerde hipokampusla bağlı mekânsal öğrenme ve bellek araştırmaları için yaygın olarak kullanılmaktadır. MST deneyleri ile uzak hafıza, yakın hafıza ve öğrenme değerlendirilebilir (61).

Morris su tankı yaklaşık 35-90 cm yükseklikte ve 117–210 cm çapında dairesel bir tanktır.

Bu tank 45 cm yüksekliğe kadar ılık matlaştırılmış su ile doldurulmuştur. Yayınlarda MST deneyi sırasında oda sıcaklığının $23\pm1^{\circ}\text{C}$ ve su sıcaklığının ise $21-26^{\circ}\text{C}$ aralığında olabileceği belirtilmiştir. Sıçanların ve farelerin havuzda takibi genellikle bilgisayar destekli video kamera ile yapılır. Tank sanal olarak dörde bölünür ve bölünen 4 parçadan birinin ortasına, su seviyesinin 2 cm altında 10×10 cm boyutunda şeffaf pleksiglastan yapılmış gizli bir platform yerleştirilir. Tank, değişik ve sabit görsel işaretlerle donatılmış geniş bir odada bulunmaktadır. Deneyleri yapan kişinin bu sabit çevrenin bir parçası olduğu varsayıldığı için

deneyler sırasında hep aynı pozisyonu alması beklenir. Bazı araştırmacılar deneylerin birinci gününde dış uyaranları izole etmek için su tanklarını perde ile çevirirler ve hayvanları suya alıştırmak ve platforma çıkmayı öğretmek amacıyla, platforma yakın bir mesafede onları suya bırakıp gerekirse platforma doğru yavaşça yöneltirler. Gittikçe bu mesafe uzatılmalıdır. Bunu takip eden esas eğitim sırasında platformun yeri alıştırmaya eğitimindeki platform yerinden farklıdır. Esas eğitim günde 4 deneme ile 4-6 gün sürer. Günlük 4 denemede sıçanlar yüzleri havuzun duvarına bakacak şekilde havuzun çevresinde rastgele seçilmiş 4 farklı noktadan ama tüm denekler için aynı noktalardan havuza bırakılır. Hayvan suya bırakıldıktan sonra platformu bulana kadar veya 60 sn suda kalır. Sıçanlar su tankına her atıldığında, yüzmelerine izin verilen süreler eşit tutulmakta olup, bu süre çeşitli araştırmalarda 30 ile 180 sn arasında değişmektedir (62).

Platforma çıktıktan sonra yükselti üzerinde bekletilme süreleri 10-15 sn olup, 3 saniye ile 30 saniye arasında değişmektedir. Genellikle gruptaki tüm sıçanları 1. denemeden geçirildikten sonra 2. deneme başlatılır ve böylece deneme arası süreler biraz uzar. Seyrek eğitim yoğun eğitime nazaran daha başarılıdır. Ancak farklı çalışmalarda deneme arası süreler çok farklılık gösterebilmekte, bu süre saniyelerle dakikalar arasında değişebilmektedir (63).

Geçmişte bu testte hayvanların başarısı platforma ulaşma süresi ile değerlendirilmekte ve bu süre kronometre ile değerlendirilmekteydi. Ancak bu ölçüm hayvanın yüzme hızına bağlıdır. Bu da hayvanlar arasında değişebilmektedir. Günümüzde hayvanların performansı genellikle video kamera ve görüntü analizi yapan bilgisayar sistemi ile değerlendirilmektedir. Kaydedilen değerler arasında, hayvanların yüzerken izledikleri yol, bırakıldığı noktadan platforma ulaşmaya kadar geçen süre, bırakıldığı noktadan platforma yüzülünceye kadar mesafe, sanal 4 kadranda harcadığı süre ve yüzme hızı bulunmaktadır. 150 cm çapı olan standart bir su labirentinde eğitimin dördüncü gününde normal genç sıçanların platformu bulma süresi 15 sn'ye inmektedir (64).

Öğrenmenin derecesini ölçmek için eğitimin bitiminde kaldırılmış platform ile yapılan yer tercihi testi uygulanmaktadır (probetrial). Bu test genellikle öğrenme eğitiminden bir gün sonra yapılır ancak bu süre daha da uzun olabilir. Daha uzun süreden sonra yapılan yer tercihi testi, aynı zamanda bilgileri bellekte

tutma testi olacaktır (memory retention test). Bu testte hayvanın 60 sn içinde daha önce platformun bulunduğu bölgede diğer bölgelere nazaran ne kadar yüzdüğü kaydedilmektedir. Platformun yerini iyi öğrenmiş bir sıçan veya fareden harcadığı zamanın/yolun en az %35'ini platform bölgesinde geçirmesi beklenmektedir.

Davranış deneylerinde veri kayıtları, bilgisayar programları aracılığıyla veya kronometre kullanarak sıçanların gözle takibi yoluyla yapılabilmektedir (65).

2.6.3. Açık Alan Testi

İlk olarak 1934 yılında Hall tarafından yapılan bir deneyde sıçanın açık alana konulmasıyla oluşan dışkılama sayısı ile ürkeklik arasındaki ilişki incelenmiştir. Deneklerin alışık olduğu ortamdan alınarak yeni çevreye konulmaları, gruptan ayrılma ve açık alana bırakılma anksiyeteye yol açmaktadır. Açık alan testini uygulama alanları farklı ebatlarda ve şekillerde olabilir. Araştırmacılar tarafından dairesel, dikdörtgen ve kare formları kullanılmaktadır. Bütün formlarında merkez bölge ve periferik bölge olmak üzere açık alan testinde iki bölge bulunur. Deneye her zaman denek test düzeneğinde merkez bölgeye konularak başlanır. Anksiyetenin azalmasına bağlı olarak merkez bölgeye girme sayısı ve merkez bölgede geçen süre artar. Aksine anksiyete artışı ile periferik bölgede geçen süre artar. Açık alana konan hayvanlarda anksiyete artışına bağlı olarak sınırları belirli testin duvar ve köşelerine kaçma, periferde vakit geçirme isteği görülür. Bu davranışa thigmotaksis denir. Açık alan testinde anksiyete ölçümü ile ilgili birçok davranış (iki ayağı üzerine kalkma, kaşınma, gezinme vb) ve parametre belirtilmiştir (66).

Açık alan testi anksiyete testi olarak kullanılmakla birlikte 1977 yılında Porsolt ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş depresyon testi olan zorunlu yüzme testiyle birlikte kombine uygulanmaktadır. Porsolt yüzmeye zorlanan sıçan ve farelerde belli bir süre sonra odun kütüğü gibi su içinde asılı kaldığını tanımlamıştır. Pasif hareket olarak tanımladığı bu davranışın depresyondaki çaresizliğe denk geldiğini ve klinikte etkili olan antidepresanların bu süreyi kısalttığını göstermiştir. Yaptığı çalışmada kafein gibi psikostimülantların da antidepresan gibi pasif süreyi kısalttığı, su içinde aktif hareketi arttırdığını gözlemlemiştir. Bu durumu ortadan kaldırmak için sonradan yaptığı zorunlu

yüzme testine açık alan testini eklemiştir. Kafein gibi psikostimülanların hem zorunlu yüzme testinde hem de açık alan testinde lokomotor aktivite artışı gözlenirken, antidepresanlarda sadece zorunlu yüzme testinde aktif hareket artışı bildirilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda yalancı antidepresan aktiviteyi göstermek ve yeni antidepresan ajan geliştirirken açık alan testi zorunlu yüzme testi ile kombine uygulanmıştır (67).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra (Ek-1), anestezi uygulaması Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, öğrenme ve bellek testleri Biyofizik Anabilim Dalı Öğrenme Laboratuvarı'nda yapıldı.

Çalışmaya postnatal 7. gününde ve 21. gününde olmak üzere *Wistar* cinsi toplam 75 adet yavru erkek sıçan alındı. Annelerinin yavru sıçanları emzirdikleri göz önüne alınarak, kanibalizmi önlemek amacıyla, sıçanlara mümkün olduğu kadar dokunulmamaya çalışıldı ve eğer dokunulacaksa her annenin yavruları için eldiven değiştirilerek dokunuldu. Yavru sıçanlar doğumlarından itibaren standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz - 12 saat gece olacak şekilde ısılandırma, 20-22°C oda ısısı, %50-60 nem) izlendi.

3.1. Çalışma Grupları

Bu proje kapsamında çalışmanın gerçekleştirilmesi için beş deney grubu oluşturuldu.

Toplamda 75 adet erkek *Wistar* sıçan ile çalışma yapıldı.

S1 (n=15): Postnatal 7.günde 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup.

S2 (n=15): Postnatal 7., 8., 9. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup.

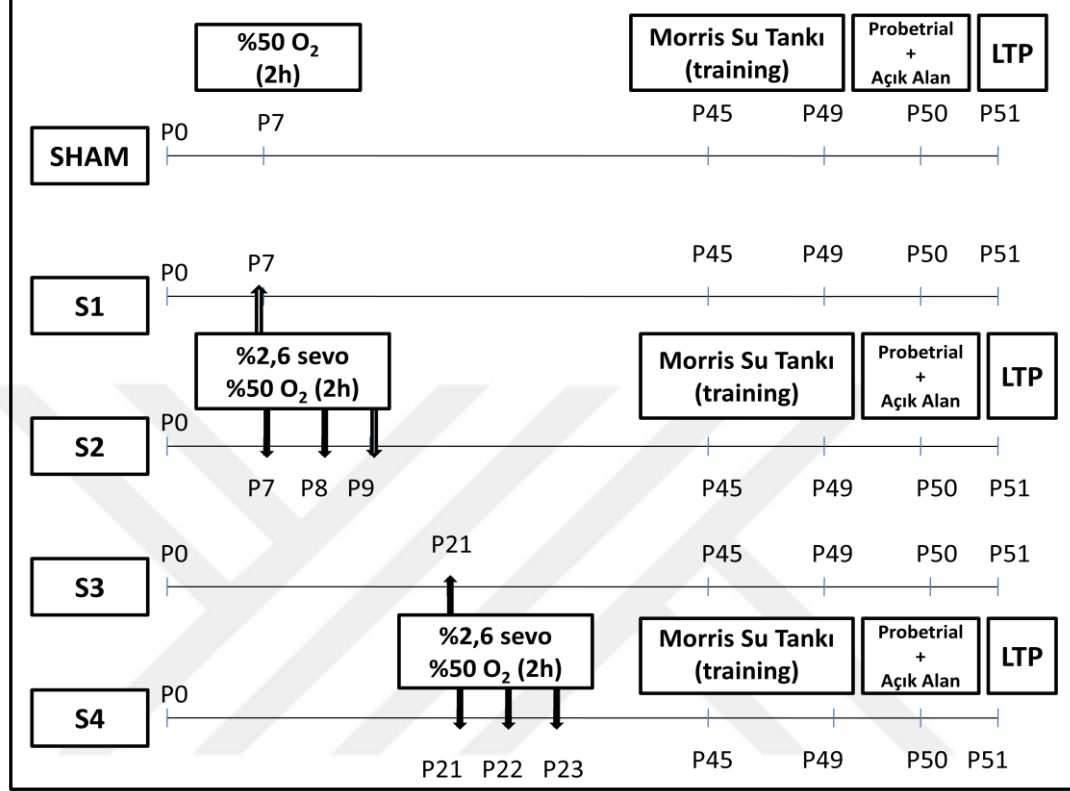
S3 (n=15): Postnatal 21. günde 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup.

S4 (n=15): Postnatal 21., 22., 23. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup.

SHAM Grubu (çalışmanın kontrol grubu) (n=15): Postnatal 7. günde 2 saat sadece %50 O₂ uygulanan grup.

Tüm gruptaki sıçanlar postnatal 45. günlerinde (P 45) öğrenme deneylerine dahil edildi. Deneylere Morris su tankı testi ile başlandı. 5 günlük eğitim (training) sürelerinin ardından 6. gün (P 50) probe trialleri alındı. Aynı gün

açık alan testi de uygulandı. Postnatal 51. günde elektrofizyolojik kayıtları alınan sıçanlar anestezi altında dekapite edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deney protokolünün zaman ilişkili çizelgesi

3.2. Sevofluran Uygulaması

3.2.1. Anestezi Düzenegi, Başlangıcı ve İdamesi

Her deney grubu için aynı 500 mL hacimli, gaz giriş ve çıkış sistemi bulunan chamberlar kullanıldı. Kanibalizmi engellemek için bu chamberların içine bölmeler yapıldı. Farklı annelerin yavruları farklı bölgelere yerleştirildi. Böylelikle koku değişimi engellendi. Chamberlara vaporizatör ile 10 L/dk akım hızında %50 O₂ ile %2,6 konsantrasyonda sevofluran girişi sağlandı. Anestezi idamesinde inspire edilen oksijen ve uygulanan volatil ajanın konsantrasyon düzeyleri çıkış hattına bağlanan anestezi gaz monitörü ile izlenerek sabit tutuldu. Deney hayvanları 2 saat süre ile chamberlarda bu gaz karışımını soludu.

3.2.2. Anestezi Sonlandırılması

İki saatlik sürenin sonunda volatil anestezi uygulaması kesilerek 10 L/dk akım hızında %100 O₂ verilerek deneklerin derlenmeleri sağlandı. Derlenmelerinin sonunda yavru sıçanlar annelerinin yanına alındı.

3.3. Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi

Tüm gruplardaki sıçanlara, öğrenme ve belleğin değerlendirilmesi amacıyla testler uygulanana kadar 45 gün süre ile Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda standart koşullarda bakıldı. Sıçanlar öğrenme testleri başlamadan 1 gün önce adaptasyon için Biyofizik Anabilim Dalı Öğrenme Laboratuvarı'na taşındı ve sonraki süreçte yine aynı standart koşullarda Biyofizik Anabilim Dalı Öğrenme Laboratuvarı'nda bakıldı.

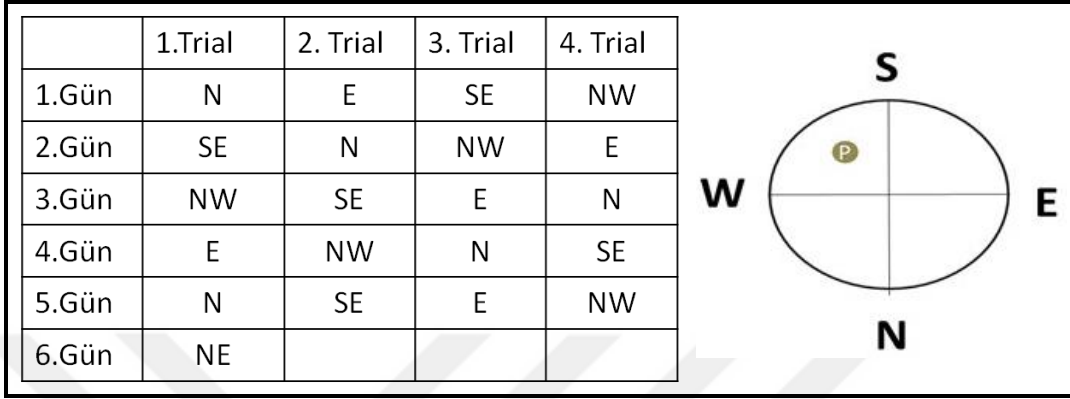
3.3.1. Öğrenme Deneyleri

Öğrenme deneyleri için Noldus Ethovision XT video izleme sistemi kullanıldı. Bu sistem sayesinde sıçanların davranış deneyleri sırasındaki hareketleri video kamera ile kaydedildi ve gerekli veriler alınarak analiz edildi.

3.3.1.1. Morris Su Tankı (MST) testi

Morris su tankı testi için çapı 150 cm, yüksekliği 60 cm olan dairesel siyah mat tabanlı su tankı kullanıldı. Uzaysal hafıza değerlendirileceğinden su tankının çevresine görülebilir ve yerleri sabit görsel ipuçları yerleştirildi. Dairesel su tankı 31 cm derinlikte olacak şekilde, 22±1°C sıcaklığında suyla doldurularak bilgisayar ekranında 4 eşit kadrana bölündü. Hedef kadranın ortasına 9 cm çapında bir platform, su yüzeyinden 2 cm aşağıda olacak şekilde yerleştirildi. Deneyin öğrenme aşamasında sıçanlar protokole uygun olarak tanka konuldu ve 120 sn tankta yüzmelerine izin verildi. Bu süre içinde platformu bulan hayvanların 10 sn süreyle platform üzerinde kalmalarına müsaade edildi ve 120 sn içinde platformu bulamayan sıçanlar yavaşça platforma yönlendirilerek 10 sn platformda kalmaları sağlandı. 5 gün süreyle 5 dk aralıklarla günde 4 deneme (trial) uygulandı. 5 günlük öğrenme aşamasının sonunda platform kaldırıldı, 6. gün deney süresince öğrenmenin gerçekleşip gerçekleşmediği platformsuz su tankında

yapılan 30 sn’lik yüzdürme test aşaması (probe trial) ile değerlendirildi. Bu sırada sıçanların platformu bulma süreleri (escape latans), hedef kadranda geçirilen süre, aldıkları yol ve yüzme hızları analiz edildi (Şekil 3.2) (68).



Şekil 3.2. Morris Su Tankı Testi Protokolü

3.3.1.2. Açık alan (Open field) testi

Açık alan deneyleri duvar yüksekliği 40 cm olan, tabanı 80x80 cm ebatlarında kare şeklindeki siyah mat tabanlı düzenekte yapıldı. Deney düzeneği 16 küçük kareye bölündü. Deneyin başlangıcında sıçanlar tek tek bu alanın merkezine bırakılarak, 5 dk boyunca hareketleri video kayıt sistemi ile dijital olarak kaydedildi. Her sıçan için girilen kare sayısı, alanın merkezinde ve dışında geçirilen süre oranı, kat edilen toplam mesafe ve ortalama hız ölçüldü (69).

3.4. LTP Kaydı

3.4.1. Elektrofizyolojik Kayıt Alınması

Elektrofizyolojik kayıtların tamamı Faraday kafesi içinde alındı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Anestezi altındaki sıçanın LTP kaydı alınması sırasında alınan görüntü

3.4.2. LTP İndüksiyonu İçin Cerrahi Prosedürler

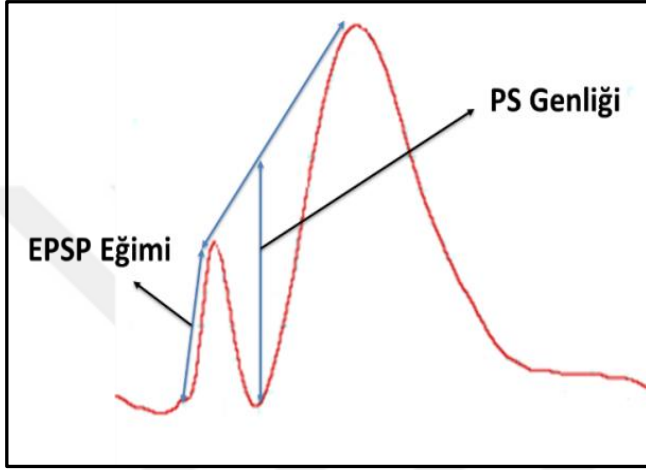
Sıçanlar 1.5 g/kg dozda intraperitoneal olarak uygulanan üretan ile uyutuldu ve tüm işlemler sırasında sıçanların vücut sıcaklığı $37.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 'de sabit tutuldu. Sıçanların kafaları kulak ve ağız çubukları ile stereotaksik sisteme yerleştirilerek sabitlendi (Kopf Instruments, Tjunga, CA, ABD). Daha sonra, deri ve deri altı dokuları orta hat insizyonu ile açılarak kafatasına ulaşıldı. Fasyayı ayırarak kafatasını ortaya çıkarmak için pamuklu çubuklar kullanıldı. Bregma ve lambda açıkça görülebilir hale getirilerek aynı dorsoventral pozisyonda olacak şekilde ayarlandı, hayvanın kafatası düz pozisyona getirildi. Anterior-posterior, lateral ve dorsoventral ölçümleri kaydedebilmek için kafatasına değen iğne bregma üzerine yerleştirildi ve medial perforant yol ile dentat girus (DG) koordinatları stereotaksik beyin atlasından belirlenerek ince uçlu kurşun kalem ile işaretlendi (70). İğne, stereotaksik koldan çıkarılarak elektrikli matkap (High Speed

Stereotaxic Drill, Kopf Instruments) ile değiştirildi. Matkabı işaretli her bir noktanın üzerine yerleştirilerek, yaklaşık 0,5 mm çapında küçük delikler açıldı. Delme sırasında, tekrar eden yukarı aşağı hareketler ile matkabın kafatasına girip girmediği kontrol edildi. Lambdanın yaklaşık 3 mm kadar arkasında açılan deliğe referans vida elektrodu (#0-80 1/8 paslanmaz çelik), kortikal yüzeye dokunacak şekilde hafifçe vidalandı. Sol ve sağ stereotaksik kollardaki elektrot tutuculara uyarıcı ve kayıt elektrotları monte edildi. AgCl disk elektrot, toprak elektrot olarak kuyruğa yerleştirildi.

Uyarıcı elektrot (platin kaplı, 0,010 inch bipolar twisted, Plastic One, paslanmaz çelik, ucu dışında izole edilmiş), belirlenen koordinatlara göre hipokampüste perforant yolağa yerleştirildi (yaklaşık kafatası yüzeyinin 3.2 mm altında) (70). Uyarıcı elektrotun iki kutbu düşük dirençli kablolar ile uyarım izolatörüne (MASTER 9, A.M.P.I, ISO Flex) bağlandı. Monopolar kayıt elektrodu (0,005 inch, paslanmaz çelik, Plastic One) terminali elektrofizyolojik diferansiyel amplifikatöre (bant geçiren filtre = 1 Hz – 3 kHz) (Bio Amps, AD instruments) bağlandı ve veri kontrolü Scope yazılımı (AD Instruments) ile yapıldı. Ayrıca, toprak ve referans elektrot terminalleri de diferansiyel amplifikatöre bağlandı. Hem uyarıcı hem de kayıt elektrodu, maksimal EPSP olarak tanımlanan pozitif yönlü sapmanın ardından populasyon spike (PS) olarak tanımlanan maksimum negatif yönlü sapma elde edilene kadar indirildi. Granül hücre tabakasının tipik yanıtı elde edildiğinde elektrotlar 0.1 mm'lik adımlarla indirilip en büyük cevap elde edilinceye kadar uyarılmaya devam edildi. Maksimal alan EPSP'nin kaydedilmesi için kayıt elektrotunun yaklaşık derinliği 2,7-3,2 mm arasında tutuldu. Optimal ventral konum, perforant yolağın stimülasyonunu takiben dentat girusta tetiklenen elektrofizyolojik kaydın izlenmesi ile elde edildi. Baseline kayıtları 0,1 Hz frekansta, 0,1 ms çift fazlı kare dalga pulsları ile elde edildi (58).

LTP, 400 Hz (20 uyarılık 10 burst, 0,2 ms uyarı süresi (iki fazlı kare dalga darbeleri), 10 saniye burst aralığı) yüksek frekanslı uyarı (HFS) protokolü kullanılarak tetiklenmiştir. HFS'den sonra EPSP ve PS, DG nöronlarının sinaptik tepkisindeki değişiklikler için 60 dakika boyunca kaydedilmiştir (71,72). Her bir sıçan için tek bir LTP kaydı alınmıştır.

PS genliği, ilk pozitif dalğanın tepe noktası ile ilk negatif sapmanın tepe noktası arasındaki potansiyel fark ölçölerek, fEPSP eğimi ise EPSP'nin başlangıç noktası ile ilk pozitif dalga tepesi arasındaki maksimum eğim olarak ölçölldü. Dentat girus nöronlarının sinaptik yanıtındaki değışikliği belirleyebilmek için hem fEPSP, hem de PS yüksek frekanslı uyarı 60 dakika boyunca kaydedildi. 10 ardışık uyarılmış yanıtın ortalaması alındı (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. EPSP eğimi ve PS genliğinin hesaplanması

3.5. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verilmiş ve $p < 0.05$ olan değlerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Grupların çoklu karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi, ikili karşılaştırmalarda ise Mann Whitney-U testi kullanıldı.

4. BULGULAR

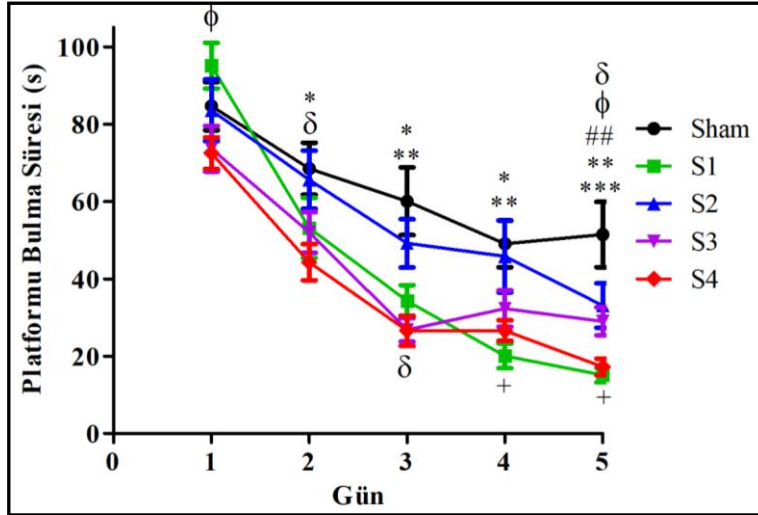
4.1. Genel Görünüm

Sıçanlar genel davranışsal özellikler ve elektrofizyolojik kayıtlar ile değerlendirildiğinde, deney grupları arasında anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir.

4.2. Öğrenme Deneyi Bulguları

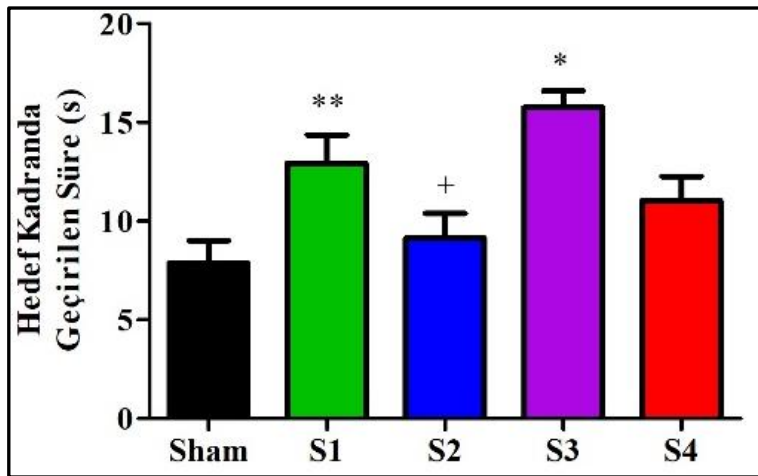
4.2.1. Morris Su Tankı Testi Sonuçları

Morris su tankı testi eğitim günlerinde gruplar arasında anlamlı farklar bulunmuştur (Şekil 4.1). Eğitimin 1. gününde S1 grubundaki sıçanlar diğer gruplara göre daha uzun sürede platformu bulmuş fakat sadece S3 grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($\Phi p < 0.05$). 2. günde S4 grubundaki sıçanlar tüm gruplara göre platformu daha kısa sürede bulmuş ancak sadece sham ($*p < 0.05$) ve S2 ($\delta p < 0.05$) gruplarıyla yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir. Eğitim denemelerinin 3. gününde sham grubuna kıyasla S1 ($*p < 0.05$), S3 ($**p < 0.01$), S4 ($**p < 0.01$) grupları platforma daha kısa sürede gitmiştir. S4 ($\delta p < 0.05$) grubu S2 grubuna kıyasla platforma daha kısa sürede varmıştır. 4. gün yapılan eğitim denemelerinde S1 ($**p < 0.01$), S3 ($*p < 0.05$), S4 ($**p < 0.01$) grupları sham grubuna kıyasla platforma daha kısa sürede gitmiştir. S1 ($+p < 0.05$) grubu S2 grubuna kıyasla platformu daha kısa sürede bulmuştur. 5. günde S1 ($*** p < 0.001$) ve S4 ($**p < 0.01$) grupları sham grubuna kıyasla platformu daha kısa sürede bulmuştur. S2 ($+p < 0.05$) ve S3 ($\Phi p < 0.05$) grupları S1 grubuna kıyasla platforma daha uzun sürede varmış, S2 ($\delta p < 0.05$) ve S3 ($##p < 0.01$) grupları S4 grubuna kıyasla platformu daha uzun sürede bulmuştur (Şekil 4.1).



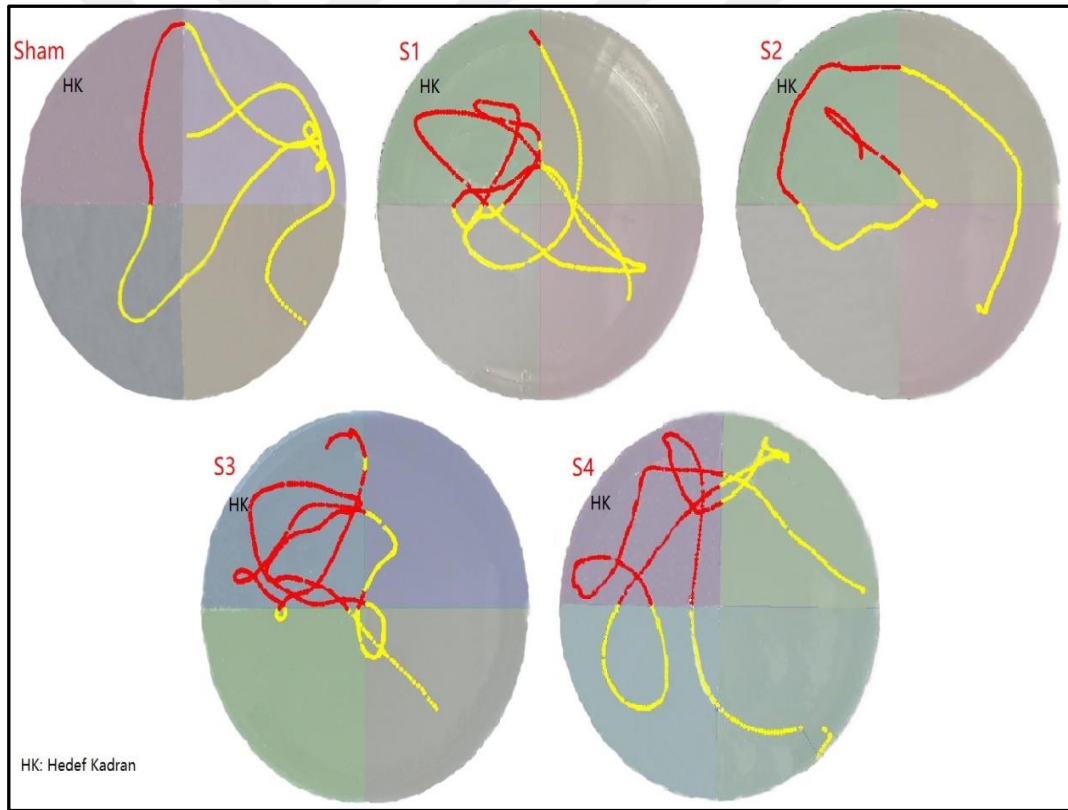
Şekil 4.1. Morris su tankı testinde ilk 5 günlük eğitim günlerinde (training days) platformu bulma süreleri (escape latens). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ sham grubu ile karşılaştırma, + $p < 0.05$ S1 ve S2 gruplarının karşılaştırması, $\Phi p < 0.05$, S1 ve S3 gruplarının karşılaştırması, $\delta p < 0.05$, S2 ve S4 gruplarının karşılaştırması, ### $p < 0.01$ S3 grubu ile S4 grubunun karşılaştırması.

Morris su tankı testinde deneyin 6. günü hedef kadranda geçirilen süre sıçanların platformun olduğu kadranı hatırlayıp, ısrarla bu kadranda platformu aradığını ve hafızasının iyi olduğunu göstergesidir (Şekil 4.2). Sham grubu ile karşılaştırıldığında S1 ve S3 gruplarındaki sıçanlar hedef kadranda daha uzun süre zaman geçirmiştir. Mükerrer anesteziye maruz kalan S2 grubunun hedef kadranda geçirdiği süre S1 grubuna göre kısalmıştır.

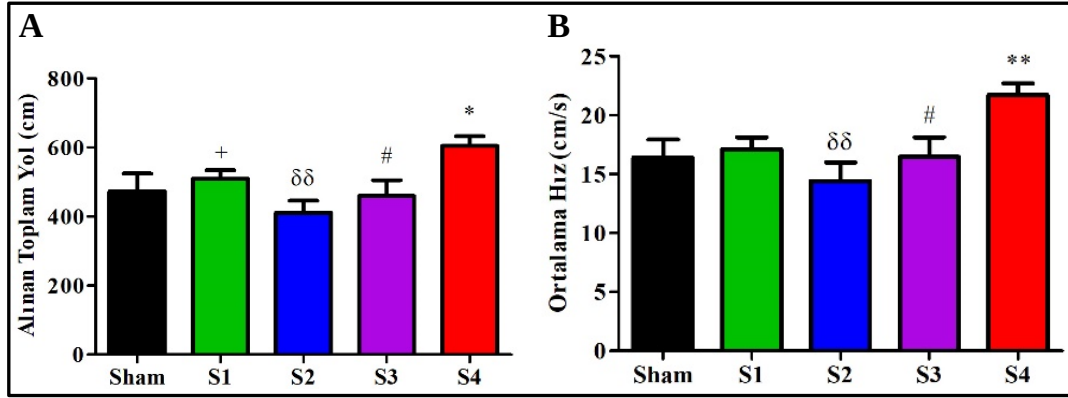


Şekil 4.2. Morris su tankı testinde 6. günde (probe trial) daha önceden platformun olduğu kadranda geçirilen süre. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ sırasıyla S3 ve S1 gruplarının sham grubu, + $p < 0.05$ S1 ve S2 gruplarının karşılaştırması.

Morris su tankı testinde her bir grubun aldığı toplam yolun kamera görüntüleri Şekil 4.3'te sunulmuştur. Morris su tankı testinde alınan toplam yol (Şekil 4.4A) ve hız (Şekil 4.4B) açısından değerlendirildiğinde S4 grubunun hem alınan yol hem de hız değerlerinin sham grubundan yüksek olduğu görülmüştür. S2 grubuna tekrarlayan anestezi uygulamasının tek doz anestezi verilen gruba (S1) göre hem yol hem de hız parametrelerinde azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. S1 ile S3 grupları arasında yol ve hız değerleri açısından fark saptanmamıştır. Tekrarlayan anestezi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında S4 grubunun hem alınan yol hem de hız değerlerinde S2 grubuna göre artış bulunmuştur. S4 grubunun hem hız hem de alınan toplam yol verileri S3 grubuna göre artış göstermiştir.



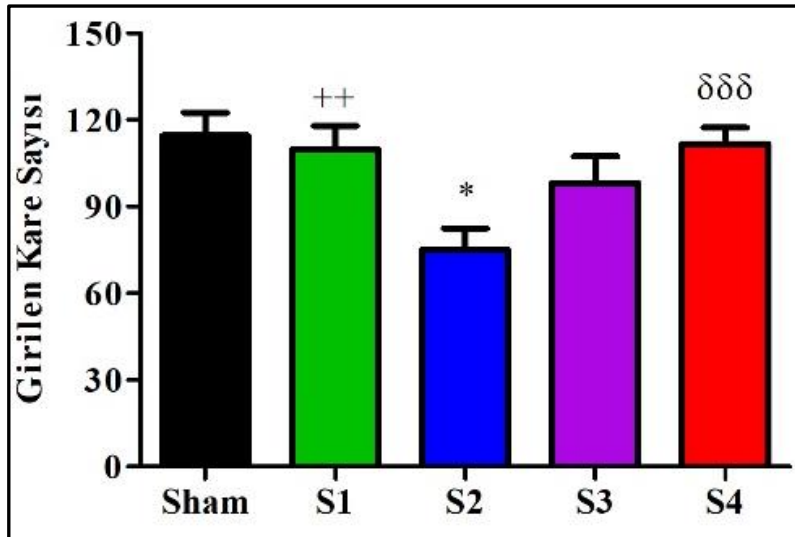
Şekil 4.3. MST testinde grupları temsilen bir sıçana ait alınan yolu gösteren kamera görüntüleri (Kırmızı çizgiler hedef kadran içinde alınan yolu göstermektedir)



Şekil 4.4. Morris su tankı testinin 6. gün verileri. **(A)** Alınan toplam yol, **(B)** Ortalama hız. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ S4 grubunun sham grubu ile karşılaştırılması, # $p<0.05$ S3 grubunun S4 grubu ile karşılaştırılması, δδ $p<0.01$ S2 grubunun S4 ile karşılaştırılması, + $p<0.05$ S1 grubu ile S2 grubunun karşılaştırılması.

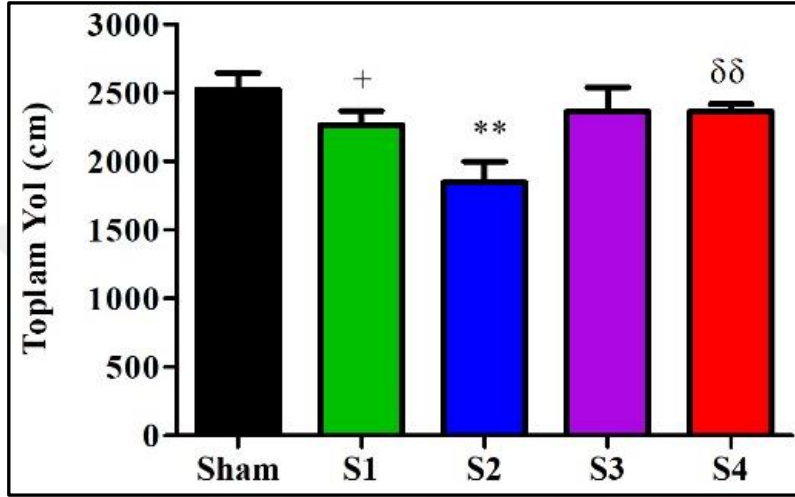
4.2.2. Açık Alan Testi Sonuçları

Sham grubuna göre sadece S2 grubunda girilen kare sayısı azalmıştır. S2 grubunun girdiği kare sayısı S1 grubuna göre anlamlı olarak azalmış, S1 ve S3 gruplarında tek sefer anestezi uygulamasının önemli bir etkisi olmamıştır. Girilen kare sayısında S3 grubu ile S1, S4 grupları arasında anlamlı fark görülmemiştir. Geç dönem tekrarlayan anestezi uygulanan S4 grubunda girilen kare sayısı S2 grubuna göre artış göstermiştir (Şekil 4.5).



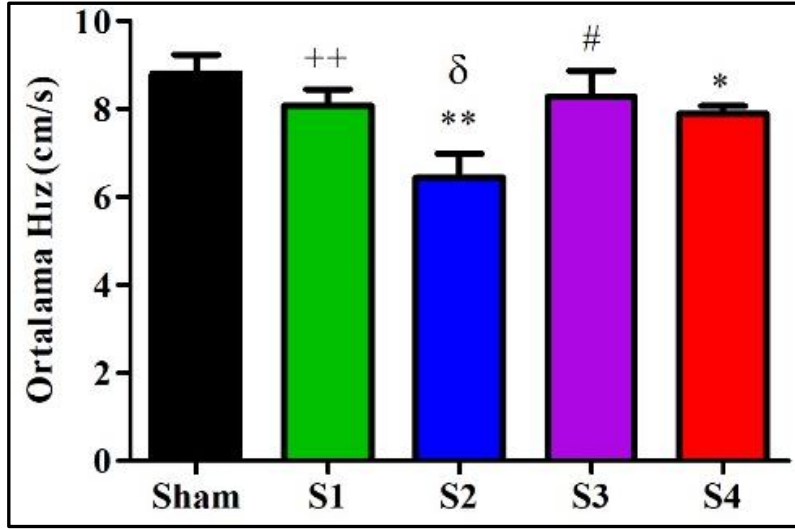
Şekil 4.5. Açık alan testinde girilen kare sayısı. * $p<0.05$ S2 grubunun sham grubuyla karşılaştırılması, ++ $p<0.01$ S1 grubunun S2 grubuyla karşılaştırılması, δδδ $p<0.001$ S4 grubunun S2 grubuyla karşılaştırılması.

Açık alan testinde alınan toplam yol değerlendirildiğinde sadece S2 grubunda sham grubuna göre anlamlı azalma tespit edilmiştir. S2 grubunda alınan yolun S1 ve S4 gruplarına göre azaldığı, S1 ve S3 grupları arasında ise fark olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.6).



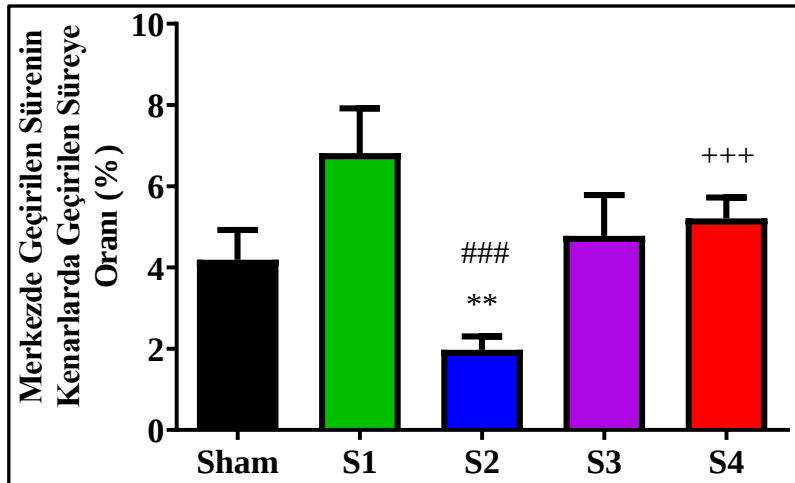
Şekil 4.6. Açık alan testinde alınan toplam yol. ** $p < 0.01$ S2 grubunun sham ile karşılaştırılması, + $p < 0.05$ S2 grubunun S1 grubu ile karşılaştırılması, δδ $p < 0.01$ S4 grubunun S2 grubu ile karşılaştırılması.

Açık alan testinde S2 ve S4 gruplarının hız değerlerinin sham grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Tekrarlayan anesteziye maruz kalan S2 grubunun ortalama hız değerinin S1 grubuna göre azaldığı saptanmış olup, S3 grubu S4 grubu ile kıyaslandığında S3 grubunun ortalama hızı anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Mükerrer anestezi uygulanan gruplar karşılaştırıldığında S4 grubunun ortalama hız değerinin S2 grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Açık alan testinde ortalama hız. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ S4 ve S2 gruplarının sham grubu ile karşılaştırılması, # $p<0.05$ S3 ve S4 gruplarının karşılaştırılması, ++ $p<0.01$ S1 grubunun S2 grubu ile karşılaştırılması, $\delta p<0.05$, S2 ve S4 gruplarının karşılaştırılması.

Açık alan testinde merkezde geçirilen sürenin kenarlarda geçirilen süreye oranı Şekil 4.8’de verilmiştir. S2 (1.97 ± 0.33) grubunun sham (4.19 ± 0.73), S1 (6.81 ± 1.10) ve S4 (5.20 ± 0.51) gruplarına göre merkezde daha az zaman geçirdiği tespit edilmiştir. S3 (4.77 ± 1.00) grubunun merkezde geçirdiği süre S1 ve S4 grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.



Şekil 4.8. Açık alan testinde sıçanların merkezde geçirdikleri sürenin kenarlarda geçirilen süreye oranı. ** $p<0.01$ Sham grubuna göre fark, ### $p<0.001$ S1 grubuna göre fark, +++ $p<0.001$ S2 grubuna göre fark

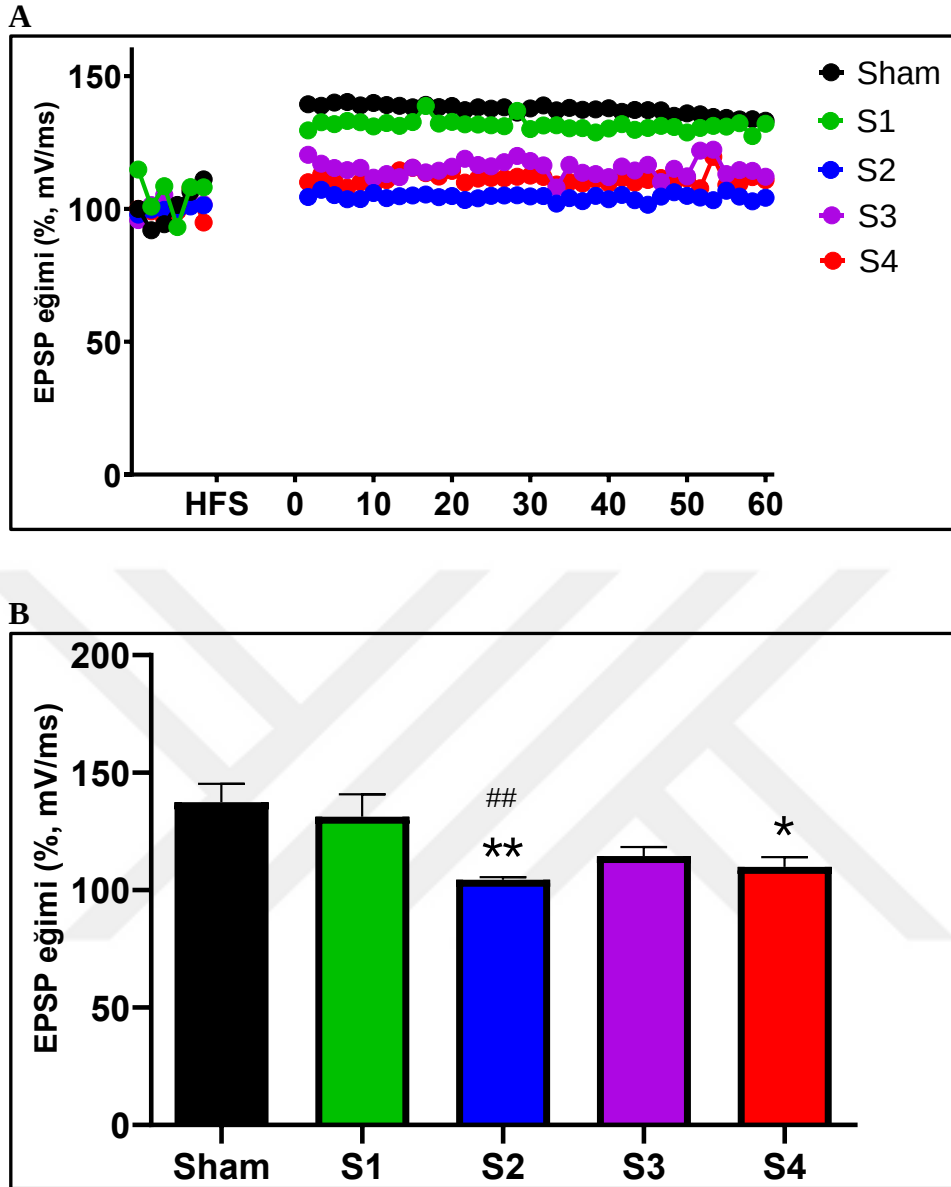
Açık alan testinde merkezde geçirilen sürenin kenarlarda geçirilen süreye oranına bakıldığında Sham (4.19 ± 0.73), S1 (6.81 ± 1.10), S2 (1.97 ± 0.33), S3 (4.77 ± 1.00) ve S4 grupları (5.20 ± 0.51) arasında anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$).

4.3. LTP Kaydı ile İlişkili Sonuçlar

Perforant yol ve dentat girus sinapslarında indüklenen LTP, HFS sonraki 0-60'ıncı dakikalar arasındaki potansiyellerin bazal dönem kayıt ortalamalarına göre yüzdelik değişim olarak ifade edilmiş, PS genliği ve EPSP eğimleri hesaplanmıştır (Şekil 3.4). Sonuçlar Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

4.3.1. Eksitatör Postsinaptik Potansiyel Ortalama Değerleri

HFS sonrası 60 dakikalık kayıta elde edilen EPSP değerlerinin, bazal kayıta alınan değerlere göre değişimine bakıldığında, S2 (104.37 ± 1.10) ve S4 (109.86 ± 4.10) gruplarının EPSP eğimlerindeki değişimin sham (137.39 ± 7.80) grubuna göre anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir. EPSP eğimlerindeki değişimler açısından S2 grubundaki değişimin S1'e (131.18 ± 9.54) göre düşük olduğu, bir defa anestezi uygulanan S1 ve S3 (114.49 ± 3.80) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.9).



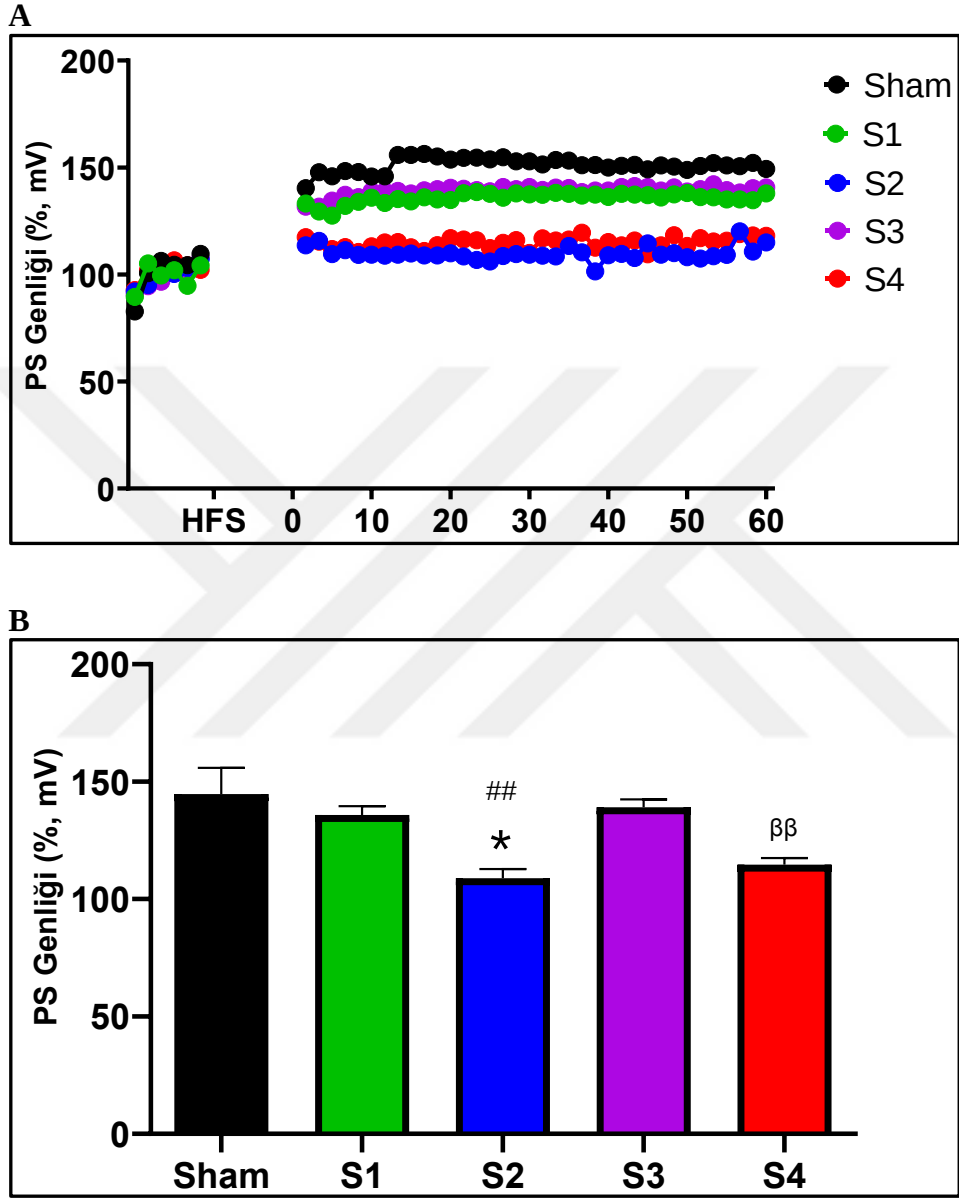
Şekil 4.9. Dentat girus alan potansiyeli EPSP verileri EPSP eğimi, bazal kayıt ortalamasına göre yüzdelik değişim olarak ifade edilmektedir. **A)**Dentat girus sinapslarından elde edilen sham ve anestezi uygulanan deney gruplarına ait EPSP eğimleri, **B)** HFS sonrası dönemlerdeki ortalama EPSP eğim değerleri.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ Sham grubuna göre fark, ## $p < 0.05$ S1 grubuna göre fark

4.3.2. Population Spike Ortalama Değerleri

PS genliklerindeki değişim analiz edildiğinde sadece S2 (108.88 ± 3.85) grubunda sham (144.68 ± 11.16) grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu, diğer gruplar ile sham grubu arasında fark olmadığı görülmüştür. Mükerrer anestezi alan S2 grubunun PS genlik değişiminin tek sefer anestezi alan S1 (135.79 ± 3.75)

grubundan düşük olduğu saptanmıştır. Geç dönem tekrarlayan anestezi alan S4 (114.63 ± 2.78) grubunun PS genliğinin geç dönem tek sefer anestezi alan S3 (139.06 ± 3.39) grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Dentat girus alan potansiyeli PS verileri. **A)** Dentat girus sinapslarından elde edilen sham ve anestezi uygulanan deney gruplarına ait alan potansiyeli PS genlik değerleri, **B)** HFS sonrası dönemlerindeki ortalama PS genlik değerleri. PS, bazal kayıt ortalamasına göre yüzdelik değişim olarak ifade edilmektedir.

* $p < 0,05$ Sham grubuna göre fark, ## $p < 0,01$ S1 grubuna göre fark, $\beta\beta$ $p < 0,01$ S3 grubuna göre fark.

5. TARTIŞMA

Öğrenme ve bellek beynin önemli nörokognitif fonksiyonlarıdır. Öğrenme ve bellek oluşumunun çevresel uyaranlara maruziyetle, genetik yapıyla ne kadar ilişkili olduğu net değildir. Anestezik maddelerin nörokognitif fonksiyonlara etkisi güncel çalışmalara konu olmuştur (1,3,6,73). Özellikle yenidoğan ve çocuklarda anestezinin öğrenme ve bellek üzerindeki etkileri dikkat çeken bir konudur (1,2,4,5).

Pediyatrik hasta grubunda en çok tercih edilen anestezik ajan ise sevoflurandır (1). Biz de kliniğimizde sık kullandığımız sevofluranın özellikle yenidoğan döneminde maruziyetinin zamanlamasının, preadölesan dönemde öğrenme bellek fonksiyonuna etkilerini araştırmayı planladık. Ancak bunu klinik hasta grubunda çalışmamız hem etik olmayacağından hem de uzun zaman gerektireceğinden çalışmayı sıçanlar üzerinde yapmayı planladık.

Bu çalışmada, sıçanları postnatal 7. gün ve postnatal 21. gün tek sefer ve bu günlerden başlayarak 3 gün ard arda olmak üzere, 2 saat boyunca aynı dozda sevoflurana (%2,6) maruz bıraktık ve gelişen beyin üzerindeki etkilerini değerlendirdik. Grupların maruziyet günleri belirlenirken daha önce yapılmış olan çalışmalar dikkate alındı (1,6,74). Öncelikle sıçanlarda sinaptogenezin en fazla meydana geldiği postnatal 7. günü (P7), geç dönem maruziyeti için de yenidoğanın son dönemlerine denk gelmesi açısından postnatal 21. günü (P21) seçtik. Artan lokomotor ve keşif aktiviteleriyle birlikte yaşa bağlı davranışların en iyi yansıtıldığı dönem postnatal 30-45. günlerdir (73). Bu nedenle öğrenme testlerini postnatal 45. günde başlattık.

Kemirgenlerde uzaysal bellek hipokampal lezyonlardan etkilenmektedir. Sıçanlarda anestezinin indüklediği hipokampal lezyonların öğrenme ve bellek üzerindeki etkilerini değerlendirmek için MST kullanılmaktadır (66). MST testinde ilk 5 günlük eğitim sürecinde, platformu bulma süresi sıçanların öğrenme yeteneğini yansıtmaktadır. Probe trialde (6. gün) hedef kadranda geçirilen süre de sıçanların bellek durumu ile ilgili bilgi vermektedir.

Bu çalışmada, sevoflurana geç dönemde maruz kalan sıçanlar platformu daha kısa sürede buldu. Geç dönemde tek sefer sevoflurana maruz kalan sıçanlar,

tekrarlayan sevoflurana maruz kalan sıçanlara göre daha kısa sürede platformu buldu. Bu veriler, geç dönemde tek sefer anestezi uygulamasının öğrenme fonksiyonları üzerinde daha az bozulmaya neden olduğunu gösterdi. Literatüre göre; sevofluran ve farklı inhalasyon ajanlarıyla yapılan çalışmalarda, geç dönemde düşük dozlarda ve tek sefer anestezik ajan uygulamasının öğrenme üzerinde daha az olumsuz etki yarattığı bulunmuştur (5,74).

Ek olarak erken dönem tekrarlayan doz sevofluran alan S2 grubunun S1 grubuna göre platformu uzun sürede bulması ise erken dönemde tek doz anestezinin öğrenme üzerinde olumsuz etkisinin az olduğunu ancak tekrarlayan anestezi uygulamasının öğrenmeyi bozduğunu göstermiştir. İlginç olarak Sham grubu platformu en uzun sürede bulan grup oldu. Biz Sham grubunda öğrenmenin kötü olmasını bu sıçanların postnatal 7. günlerinde 2 saat süreyle sedasyon almaksızın anneden ayrı kaldıkları için stres olmalarına bağladık. S1 ise platformu en kısa sürede bulan grup oldu. Sinaptogenezi henüz tamamlanacak olan S1 grubunda sevofluranın anksiyeteyi engellemesi nedeni ile motor aktivitenin bozulmadığını düşünüyoruz. Bu durumu netleştirmek için mevcut grupların, herhangi bir işlem uygulanmayan bir kontrol grubuyla kıyaslanmaya ve hatta stres hormonlarının değerlendirilmesine ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Morris su tankı testinde deneyin 6. günü hedef kadranda geçirilen süre sıçanların platformun olduğu kadranı hatırlayıp, ısrarla bu kadranda platformu aradığının ve hafızasının iyi olduğunun göstergesidir. Bizim çalışmamızda tekrarlayan anesteziye maruz kalan gruplar (S2, S4), tek sefer maruz kalan (S1, S3) gruplara göre hedef kadranda daha az zaman geçirmişlerdir. Hedef kadranda geçirilen süreye göre bakılacak olursa; geç dönemde verilen sevofluran anestezisi erken dönem verilen sevoflurana kıyasla daha az bellek disfonksiyonuna sebep olmuştur. Shen ve ark. (2), sıçanlara postnatal 3., 7., 14. günlerinde farklı dozlarda sevofluran uygulamışlar ve erişkinlik dönemde öğrenme ve bellek testlerini kıyaslamışlardır. Yaptıkları çalışmada göre; sıçanların sevofluran maruziyet yaşı ne kadar küçükse, ileri dönemde öğrenme bellek disfonksiyonunun derecesi o kadar artmıştır. Ek olarak, tekrarlayan maruziyetler arasındaki süre kısaldıkça bellek disfonksiyonu artmıştır. Shen ve ark.'nın yaptığı çalışma ve bizim yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçları paralellik göstermektedir. Biz bu sonuçlara göre

sevofluran anestezisi planlanıyorsa geç yenidoğan döneminde ve mümkünse tek doz olarak verilmesinin uygun olduğunu düşünüyoruz.

Açık alan testinde, keşif ve lokomotor aktivitenin yanı sıra anksiyete ile ilgili davranışsal disfonksiyon da değerlendirilmektedir (75). S2 grubunda diğer gruplara göre girilen kare sayısı, ortalama hız ve aldığı toplam yol anlamlı olarak düşük bulundu. Ayrıca S3 ve S4 gruplarının erken dönem sevofluran alan S1 ve S2 gruplarına göre daha az anksiyetede oldukları ve lokomotor olarak daha aktif oldukları görüldü. Shen F ve ark. (6) tarafından sıçanlara postnatal P7-10-13. günlerde tekrarlayan %3 konsantrasyonda sevofluran uygulanmış ve açık alan testinde kontrol grubu ile sevofluran grubu arasında alınan toplam mesafede anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuç bizim çalışmamızdaki sonuçla çelişmektedir. Literatürde, sevofluranın öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalarda açık alan testine, Morris su tankı testi kadar yer verilmemiştir. Çalışmamızda Morris su tankı testi bulgularının, anksiyetenin de değerlendirilmesine katkıda bulunan açık alan testiyle güçlendirilmiş olması literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır. Anksiyetenin, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının gelişiminde etkili olması nedeni ile ilerleyen çalışmalarda açık alan testine daha fazla yer verilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Nöronal aktivite sonucu sinaptik bağlantıdaki değişiklikler öğrenme ve belleğin temelini oluşturmaktadır (76). Sinaptik plastisite, presinaptik liflerin tekrar tekrar uyarılmasıyla oluşur ve sinaptik etkinlikteki değişikliği ifade eder (76). Plastisitedeki uzun süreli artışı modelleme yöntemlerinden biri LTP kayıtlarıdır. Bliss ve Lomo'nun yapmış olduğu çalışmada iki bağımsız mekanizmanın uzun süreli güçlenmeden sorumlu olabileceği gösterilmiştir; perforant yol sinapslarında sinaptik iletimin etkinliğinde artış ya da granül hücre popülasyonunun uyarılabilirliğindeki artış (76).

Biz de bu çalışmada Bliss ve Lomo'nun (76) çalışmasını baz alarak sevofluran ve öğrenme ilişkisini hipokampusün perforant yol-dentat girus sinapslarındaki elektrofizyolojik LTP kayıtları ile EPSP eğimi ve PS genliğini ölçerek değerlendirdik. LTP, HFS'dan sonraki 0- 60'ıncı dakikalar arasındaki potansiyellerin bazal dönem kayıt ortalamalarına göre yüzdelik değişimi olarak ifade edilmiştir. EPSP, afferent liflerden gelen aksiyon potansiyeli

oluşturamayacak sinyallerin postsinaptik nöronlarda oluşturduğu geçici depolarizasyonun yanıtıdır (76). Gelen bu sinyaller nöron tarafından entegre edilerek eşik değeri aşarsa aksiyon potansiyeli oluşturur. Toplanmış olan bu aksiyon potansiyelleri PS olarak kaydedilir. Bu iki bileşen, hücrenin uyarılabilirliği ve aksiyon potansiyeli oluşturan nöron popülasyonu hakkında bilgi verir. Aksiyon potansiyeli oluşturan nöron sayısı arttıkça PS genliği artar (76).

Çalışmamızda EPSP değerlerinin, bazal kayıta alınan değerlere göre değişimine bakıldığında, S2 ve S4 gruplarının EPSP eğimlerindeki değişimin sham grubuna göre anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. Ancak en fazla azalmanın S2’de olduğu görüldü. Literatüre göre de, sevofluran uygulamalarında özellikle tekrarlayan uygulamalarında EPSP eğimleri anlamlı olarak azalmıştır (1,6).

Yapılan bu çalışmada PS genliklerindeki değişim analiz edildiğinde sadece S2 grubunda sham grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu, diğer gruplar ile sham grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Her ne kadar elektrofizyolojik kayıtlarda EPSP sık kullanılsa da PS analizi sınırlı sayıda çalışmaya dahil edilmiştir. Liang ve ark. da (1) yaptığı çalışmada EPSP’ye ek olarak PS’yi analiz etmişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonucuna göre sevofluranı tekrarlayan dozlarda alan grupta, kontrol grubuna göre anlamlı olarak LTP baskılanmıştır. Ancak bu çalışmada tekrarlayan sevofluran uygulamasıyla öğrenme ve bellek disfonksiyonu saptanmamıştır.

Bir bütün olarak yaptığımız çalışmaya baktığımızda; erken dönem tekrarlayan sevofluran uygulaması preadölesan dönemde hem öğrenme ve bellek disfonksiyonuna, hem de nöral hasara daha fazla neden olmuştur. Aynı zamanda açık alan testinde merkezde geçirilen sürenin S2 grubunda en kısa olması da anksiyete üzerinde de erken dönem tekrarlayan doz sevofluranın olumsuz etkili olduğunu göstermektedir.

Liang ve ark. (1) %2,6 sevofluranı postnatal 7-14-21. günlerde tekrarlayan dozlarda uygulamışlardır. Yenidoğan sıçanların %2,6 sevofluran tekrarlayan maruziyeti sonrasında çocuklukta ve erişkinlikte öğrenme ve bellek disfonksiyonuna neden olmamıştır. Ancak erişkin yaşta LTP’nin baskılanmasına neden olmuştur. Biz çalışmamızda farklı olarak, tekrarlayan %2,6 sevofluranın

özellikle erken yenidoğan dönemde maruziyetinin preadölesan dönemde nörokognitif disfonksiyona neden olduğunu bulduk.

Xia Shen ve ark. (77) yaptıkları çalışmada, sevofluranı yenidoğan döneminde tekli ve çoklu olarak ve yetişkin sıçanlarda tek doz olarak uygulamıştır. Yenidoğan sıçanlarda çoklu sevofluran (P 6-7-8, 2 saat, %3 sevofluran) maruziyeti, sıçanlarda bilişsel bozulmaya ve beyin IL-6 ve TNF- α birikimine neden olmuştur. Sevoflurana tek doz (P6, 2 saat, %3 sevofluran) maruziyet, sıçanlarda bilişsel bozulmaya ve beyin IL-6 ve TNF- α birikimine neden olmamıştır. Yetişkin ratlarda (P60, 2 saat, %3 sevofluran) çoklu sevofluran maruziyeti, sıçanlarda bilişsel bozulmaya ve nöroinflamasyona neden olmamıştır.

İşgüven ve ark. (8) yaptıkları çalışmada, postnatal 7. gün desfluran uygulaması sonrası belirgin hücre ölümü saptanmasına rağmen nörokognitif bozukluk saptanmamıştır. Benzer şekilde Stratman ve ark. (74), postnatal 7. günde sıçan beyinde hücre ölümüne sebep olan tüm olayların nörokognitif disfonksiyona yol açmadığını belirtmiştir. Bu çalışmalar, bizim çalışmamızdaki S1 grubunda nörokognitif bozukluk olmaksızın, LTP baskılanmasını desteklemektedir. Ayrıca S2'nin S1'e göre nörokognitif disfonksiyonunun fazla olması ve LTP'nin daha baskılı olmasının, tekrarlayan doz uygulanmasına bağlı olduğunu desteklemektedir. Dean B ve ark. (78) hem klinik öncesi hem de retrospektif verilerinde, nörotoksisite riskinin anestezik ajanın tekrarlayan dozlarına maruz kalma ile arttığını rapor etmişlerdir ve bu çalışmanın sonuçları bizim verilerimizi desteklemektedir.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardı. Sevofluran anestezisine maruz bırakma dönemi olarak yenidoğan dönemini seçmemiz ve seçilen bu sıçanların boyutlarının çok küçük olması nedeni ile sıçanların hemodinamik olarak monitörizasyonu yapılamadı. Yine sıçanların küçük olmaları nedeni ile herhangi bir kan parametresi çalışılmadı. Klinikte cerrahi prosedürler nedeni ile cerrahi uyaran verilmekteyken, sıçanlara herhangi bir uyarı verilmeksizin sadece anestezisi uygulandı. Son olarak da sadece erkek sıçanlarda çalışmamız nedeni ile cinsiyete bağlı nörokognitif değişiklikler değerlendirilemedi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yenidoğan sıçanlarda yaptığımız bu çalışma ile %2,6 konsantrasyonda sevofluranın yenidoğanın erken döneminde ve tekrarlayan dozlarda uygulanmasının nörotoksik olduğunu ve öğrenme bellek disfonksiyonuna neden olduğunu bulduk.

Postnatal 7. günde sıçanlara %2,6 konsantrasyonda tek sefer uygulanan sevofluranın preadölesan dönemde öğrenme ve bellek fonksiyonunu bozmadığını, hatta motor aktiviteyi olumlu etkilediğini, sham grubuna göre anksiyetelerinin daha az olduğunu ancak elektrofizyolojik değerlendirmede ise nörotoksik olduğunu gördük.

Çalışmamızın sonucuna göre klinik uygulamalarda yenidoğana sevofluran anestezisi planlanıyorsa mümkün oldukça geç dönemde ve tek dozda sevofluran anestezisi tercih edilmesini önermekteyiz.

İlerleyen çalışmalarda; sevofluranın nörotoksik etkisinin hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğinin ve bu mekanizmalar için önleyici veya tedavi edici yolların araştırılmasına ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Sıçanlarda Erken ve Geç Yenidoğan Dönemlerinde Farklı Sevoflurane Uygulamalarının Preadölesan Dönemde Öğrenme ve Bellek Üzerine Etkileri

Amaç: Bu çalışmanın amacı; erken ve geç yenidoğan dönemlerindeki sevofluran uygulamalarının preadölesan dönemde nörotoksisite, öğrenme ve bellek üzerine etkilerini araştırmaktır.

Yöntem: 75 yenidoğan erkek Wistar sıçan çalışmaya alındı ve 5 gruba randomize edildi. %2,6 sevofluran+O₂; postnatal 7. günde tek sefer sevofluran uygulanan grup (S1), postnatal 7., 8., 9. günlerde tekrarlayan dozlarda sevofluran uygulanan grup (S2), postnatal 21. günde tek sefer sevofluran uygulanan grup (S3), postnatal 21., 22., 23. günlerde tekrarlayan dozlarda sevofluran uygulanan grup (S4). Sham grubuna (çalışmanın kontrol grubu) ise postnatal 7. günde sadece %50 O₂ uygulandı. Tüm gruplarda Morris su tankı (MST) testlerine postnatal 45. günde başlandı. Postnatal 50. gün probe trial ve ardından açık alan testleri uygulandı. Postnatal 52. gün anestezi altında Long Term Potentiation (LTP) kayıtları alındı ve anestezi altında dekapite edildi.

Bulgular: Yenidoğan sıçanlara erken ve geç dönem tek sefer ve tekrarlayan sevofluran uygulaması sonrası yapılan davranış deneylerinde, Morris su tankı ve açık alan testlerinde gruplar arasında anlamlı farklar bulundu. MST testlerinde, Sham grubu ile karşılaştırıldığında S1 ve S3 gruplarındaki sıçanların hedef kadranda daha uzun süre zaman geçirdiği ve tekrarlayan anesteziye maruz kalan S2 grubunun hedef kadranda geçirdiği sürenin S1 grubuna göre kısa olduğu bulundu. Açık alan testlerinde, Sham grubuna göre sadece S2 grubunda girilen kare sayısının azaldığı bulundu.

LTP kayıtlarında, bazal kayıta alınan değerlere göre değişimine bakıldığında, S2 (104.37 ± 1.10) ve S4 (109.86 ± 4.10) gruplarının EPSP eğimindeki değişimin sham (137.39 ± 7.80) grubuna göre anlamlı derecede azaldığı ve S2 (108.88 ± 3.85) grubunda PS genliğinde sham (144.68 ± 11.16) grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu bulundu.

Sonuçlar: Öğrenme ve bellek testleri değeriendirildiğinde; yenidoğan sıçanlarda yaptığımız bu çalışma ile 2 saat süreyle %2,6 konsantrasyonda sevofluranın yenidoğanın erken döneminde ve tekrarlayan dozlarda uygulanmasının nörotoksik olduğu ve öğrenme bellek disfonksiyonuna neden olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Sevofluran, LTP, Öğrenme, Bellek, Sıçan



8. ABSTRACT

The Effects of Different Sevoflurane Applications in Early and Late Neonatal Periods of Rats on Learning and Memory in Preadolescent Period

Aim: The aim of this study; to investigate the effects of sevoflurane administration in early and late neonatal periods on neurotoxicity, learning and memory in preadolescence.

Methods: 75 newborn male Wistar rats were included in the study and randomized into 5 groups. 2.6% sevoflurane+O₂; the group that received once sevoflurane on postnatal 7th day (S1), the group that received repeated doses of sevoflurane on postnatal 7th, 8th and 9th days (S2), the group that received sevoflurane once on postnatal 21st day (S3), the group that received repeated doses of sevoflurane on postnatal 21st, 22nd, 23rd days (S4).

On the other hand, only 50% O₂ was administered to the Sham group (control group of the study) on the postnatal 7th day. Morris water tank (MST) tests were started on the postnatal 45th day in all groups. Probe trial and then open field tests were performed on the postnatal 50th day. Long Term Potentiation (LTP) records were taken under anesthesia on the postnatal 52nd day and decapitated under anesthesia.

Results: In behavioral experiments performed on newborn rats after a single and repeated administration of sevoflurane in the early and late periods, Morris water tank and open field tests, significant differences were found between the groups. In MST tests, it was found that rats in the S1 and S3 groups spent longer time in the target quadrant compared to the Sham group, and the time spent in the target quadrant of the S2 group exposed to repeated anesthesia was shorter than the S1 group. In the open field tests, it was found that the number of squares entered decreased only in the S2 group compared to the Sham group.

When the change in LTP recordings compared to the values taken in the baseline recording was examined, the change in EPSP slopes of the S2 (104.37±1.10) and S4 (109.86±4.10) groups decreased significantly compared to

the sham (137.39 ± 7.80) group and it was found that there was a significant decrease in PS amplitude in the S2 (108.88 ± 3.85) group compared to the sham (144.68 ± 11.16) group.

Conclusion: When learning and memory tests were evaluated; In this study we performed in newborn rats, it was observed that the administration of sevoflurane at a concentration of 2.6% for 2 hours in the early period of the newborn and at repeated doses was neurotoxic and caused learning memory dysfunction.

Key Words: Sevoflurane, LTP, Learning, Memory, Rat

9. KAYNAKLAR

1. Liang X, Zhang Y, Zhang C, Tang C, Wang Y, Ren J, et al. Effect of repeated neonatal sevoflurane exposure on the learning, memory and synaptic plasticity at juvenile and adult age. *Am J Transl Res* 2017; 9(11): 4974-83. PMID: 29218095
2. Shen X, Liu Y, Xu S, Zhao Q, Guo X, Shen R, et al. Early life exposure to sevoflurane impairs adulthood spatial memory in the rat. *Neurotoxicology* 2013; 39: 45-56. doi: 10.1016/j.neuro.2013.08.007
3. Xiao H, Liu B, Chen Y, Zhang J. Learning, memory and synaptic plasticity in hippocampus in rats exposed to sevoflurane. *Int J Dev Neurosci Off J Int Soc Dev Neurosci* 2016; 48: 38-49. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2015.11.001
4. Azimaraghi O, Nezhad Sistani M, Abdollahifar M-A, Movafegh A, Maleki A, Soltani E, et al. Effects of repeated exposure to different concentrations of sevoflurane on the neonatal mouse hippocampus. *Braz J Anesthesiol Elsevier* 2019; 69(1): 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.bjane.2018.09.001>
5. Kilicaslan A, Belviranli M, Okudan N, Nurullahoglu Atalik E. Single and repeated sevoflurane or desflurane exposure does not impair spatial memory performance of young adult mice. *Fundam Clin Pharmacol* 2013; 27(6): 641-9. doi: 10.1111/fcp.12027
6. Shen F-Y, Song Y-C, Guo F, Xu Z-D, Li Q, Zhang B, et al. Cognitive Impairment and Endoplasmic Reticulum Stress Induced by Repeated Short-Term Sevoflurane Exposure in Early Life of Rats. *Front Psychiatry* 2018; 9: 332. doi: 10.3389/fpsy.2018.00332
7. Erkoçak R. Desfluran, sevofluran ve propofol anesteziyelerinin erken postoperatif kognitif fonksiyonlar üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Selçuk Üni Meram Tıp F Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD Tıpta Uzmanlık Tezi. Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şeref Otelcioğlu, Konya 2008.
8. İşgüven D. Desfluran'ın yenidoğan ratlarda nörotoksitesinin, öğrenme ve bellek üzerine etkisinin araştırılması. Dokuz Eylül Üni Tıp F Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD Tıpta Uzmanlık Tezi. Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali Necati Gökmen. İzmir 2010.

9. Watkins WD SD. Miller Anestezi. 4. bs. New York, Churchill Livigstone 1994; 43-65.
10. Apai C, Shah R, Tran K, Pandya Shah S. Anesthesia and the Developing Brain: A Review of Sevoflurane-induced Neurotoxicity in Pediatric Populations. Clin Ther 2021; 43(4): 762-78. doi: 10.1016/j.clinthera.2021.01.024
11. Bilgin TE. Anestezide Öncüler ve Keşifler Tarihi. Lokman Hekim J 2013; 3(2): 37-52.
12. Brioni JD, Varughese S, Ahmed R, Bein B. A clinical review of inhalation anesthesia with sevoflurane: from early research to emerging topics. J Anesth 2017; 31(5): 764-78. doi: 10.1007/s00540-017-2375-6
13. Banks MI, Pearce RA. Dual actions of volatile anesthetics on GABA(A) IPSCs: dissociation of blocking and prolonging effects. Anesthesiology 1999; 90(1): 120-34. doi: 10.1097/00000542-199901000-00018
14. Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC. Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. Science 2006; 313(5790): 1141-4. doi: 10.1126/science.1128657
15. Kolosova NG, Vitovtov AO, Muraleva NA, Akulov AE, Stefanova NA, Blagosklonny MV. Rapamycin suppresses brain aging in senescence accelerated OXYS rats. Aging 2013; 5(6): 474-84. doi: 10.18632/aging.100573
16. Nishikawa K, MacIver MB. Agent-selective Effects of Volatile Anesthetics on GABAAReceptor-mediated Synaptic Inhibition in Hippocampal Interneurons. Anesthesiology 2001; 94(2): 340-7. doi: 10.1097/00000542-200102000-00025
17. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF, et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. J Neurosci 2003; 23(3): 876-82. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-03-00876.2003
18. Antkowiak B, Helfrich-Forster C. Effects of Small Concentrations of Volatile Anesthetics on Action Potential Firing of Neocortical Neurons In Vitro.

- Anesthesiology 1998; 88(6): 1592-605. doi: 10.1097/00000542-199806000-00024
19. Wu Z, Zhang Y, Zhang Y, Zhao P. Sirtuin 2 Inhibition Attenuates Sevoflurane-Induced Learning and Memory Deficits in Developing Rats via Modulating Microglial Activation. *Cell Mol Neurobiol* 2020; 40(3): 437-46. doi: 10.1007/s10571-019-00746-9
 20. Nishikawa K, MacIver MB. Membrane and Synaptic Actions of Halothane on Rat Hippocampal Pyramidal Neurons and Inhibitory Interneurons. *J Neurosci* 2000; 20(16): 5915-23. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-16-05915.2000
 21. Sinner B, Becke K, Engelhard K. General anaesthetics and the developing brain: an overview. *Anaesthesia* 2014; 69(9): 1009-22. doi: 10.1111/anae.12637
 22. Brown Jr B. Sevoflurane: Introduction and Overview. *Anesth Analg* 1995; 81(6S): S1-3. doi: 10.1097/00000539-199512001-00001
 23. Brown Jr BR, Frink EJ. The Safety of Sevoflurane in Humans. *Anesthesiology* 1993; 79(1): 201-2. doi: 10.1097/00000542-199307000-00051
 24. Behne M, Wilke HJ, Harder S. Clinical Pharmacokinetics of Sevoflurane. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36(1): 13-26. doi: 10.2165/00003088-199936010-00002
 25. ULTANE® (sevoflurane) volatile liquid for inhalation NOVAPLUS® [Internet]. [Erişim tarihi: 22 Şubat 2022]. Erişim adresi: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=c9aa6489-5a36-44ed-9512-b996833d82f7&type=display>
 26. Young CJ, Apfelbaum JL. Inhalational anesthetics: Desflurane and sevoflurane. *J Clin Anesth* 1995; 7(7): 564-77. doi: 10.1016/0952-8180(95)00129-8
 27. Kharasch ED. Biotransformation of Sevoflurane. *Anesth Analg* 1995; 81(6S): 27-38. doi: 10.1097/00000539-199512001-00005
 28. Smith I, Nathanson M, White PF. Sevoflurane-a long-awaited volatile anaesthetic. *Br J Anaesth* 1996; 76(3): 435-45. doi: 10.1093/bja/76.3.435

29. Patel S, Goa K. Sevoflurane: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its clinical use in general anaesthesia. *Drugs* 1996; 51(4): 658-700. doi: 10.2165/00003495-199651040-00009
30. Sevoflurane, USP. [Internet]; 1-35. [Erişim tarihi: 14 Eylül 2021]. Erişim adresi: https://baxterpi.com/pi-pdf/Sevoflurane_PI.pdf
31. Holaday DA, Smith FR. Clinical Characteristics and Biotransformation of Sevoflurane in Healthy Human Volunteers. *Anesthesiology* 1981; 54(2): 100-6. doi: 10.1097/00000542-198102000-00002
32. Malan Jr TP. Sevoflurane and Renal Function. *Anesth Analg* 1995; 81(6S): 39-45. doi: 10.1097/00000539-199512001-00006
33. Strum DP, Eger EI 2nd. The Degradation, Absorption, and Solubility of Volatile Anesthetics in Soda Lime Depend on Water Content. *Anesth Analg* 1994; 78(2): 340-8. doi: 10.1213/00000539-199402000-00024
34. Frink Jr EJ, Ghantous H, Malan PT, Morgan S, Fernando J, Gandolfi JA, et al. Plasma Inorganic Fluoride with Sevoflurane Anesthesia: Correlation with Indices of Hepatic and Renal Function. *Anesth Analg* 1992; 74(2): 231-5. doi: 10.1213/00000539-199202000-00010
35. Kharasch ED, Hankins DC, Thummel KE. Human Kidney Methoxyflurane and Sevoflurane Metabolism: Intrarenal Fluoride Production as a Possible Mechanism of Methoxyflurane Nephrotoxicity. *Anesthesiology* 1995; 82(3): 689-99. doi: 10.1097/00000542-199503000-00011
36. Mitsuhashi H, Saitoh J, Shimizu R, Takeuchi H, Hasome N, Horiguchi Y. Sevoflurane and isoflurane protect against bronchospasm in dogs. *Anesthesiology* 1994; 81(5): 1230-4. doi: 10.1097/00000542-199411000-00017
37. Bulte CSE, Slikkerveer J, Kamp O, Heymans MW, Loer SA, de Marchi SF, et al. General anesthesia with sevoflurane decreases myocardial blood volume and hyperemic blood flow in healthy humans. *Anesth Analg* 2013; 116(4): 767-74. doi: 10.1213/ANE.0b013e31827e4e41
38. Kanaya N, Kawana S, Tsuchida H, Miyamoto A, Ohshika H, Namiki A. Comparative Myocardial Depression of Sevoflurane, Isoflurane, and

- Halothane in Cultured Neonatal Rat Ventricular Myocytes. *Anesth Analg* 1998; 87(5): 1041-7. doi: 10.1097/00000539-199811000-00013
39. Gonsowski CT, Laster MJ, Eger EI, Ferrell LD, Kerschmann RL. Toxicity of Compound A in Rats: Effect of a 3-Hour Administration. *Anesthesiology* 1994; 80(3): 556-65. doi: 10.1097/00000542-199403000-00012
40. Lin J, Moore D, Hockey B, Di Lernia R, Gorelik A, Liew D, et al. Drug-induced hepatotoxicity: incidence of abnormal liver function tests consistent with volatile anaesthetic hepatitis in trauma patients. *Liver Int* 2014; 34(4): 576-82. doi: 10.1111/liv.12278
41. Kaptan Z, Üzüm G. The Role of Adult Hippocampal Neurogenesis in Learning and Memory Function. *Turk J Neurol* 2016; 22(4): 149-55.
42. Sweatt JD. *Mechanisms of Memory*. 2nd Edition. Elsevier 2009.
43. Gasparini L, Govoni S, Battaini F. A review on the neurobiological basis of memory. *Arch Gerontol Geriatr* 1998; 26(1): 225-34. [https://doi.org/10.1016/S0167-4943\(98\)80032-0](https://doi.org/10.1016/S0167-4943(98)80032-0)
44. Türk Psikiyatri Dergisi [Internet]. [Erişim Tarihi: 17 Eylül 2021]. Erişim adresi: <http://www.turkpsikiyatri.com/default.aspx?modul=turkceOzet&gFPrkMakale=591>
45. Kandel ER, Pittenger C. The past, the future and the biology of memory storage. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 1999; 354(1392): 2027-52. doi: 10.1098/rstb.1999.0542
46. Manns J. 3. 04 Declarative Memory System: Amnesia q. [Internet]. 2017 [Erişim Tarihi: 26 Eylül 2021]. Erişim adresi: <https://www.semanticscholar.org/paper/3-.04-Declarative-Memory-System-%3A-Amnesia-q-Manns/def19f570e6dc8712bc5ecaf8a5a6cc38bdc137a/figure/1>
47. Albright TD, Kandel ER, Posner MI. Cognitive neuroscience. *Curr Opin Neurobiol* 2000; 10(5): 612-24. doi: 10.1016/s0959-4388(00)00132-x
48. Squire LR, Zola SM. Episodic memory, semantic memory, and amnesia. *Hippocampus* 1998; 8(3): 205-11. doi: 10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:3<205::AID-HIPO3>3.0.CO;2-I
49. Shimamura AP, Squire LR. A neuropsychological study of fact memory and source amnesia. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 1987; 13(3): 464-73. doi: 10.1037//0278-7393.13.3.464

50. Byrne JH, Hawkins RD. Nonassociative Learning in Invertebrates. Cold Spring Harb Perspect Biol 2015; 7(5): a021675. doi: 10.1101/cshperspect.a021675
51. Spuire LR. Memory and Brain Systems: 1969–2009. J Neurosci 2009; 29(41): 12711-6. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3575-09.2009>
52. Mayford M, Siegelbaum SA, Kandel ER. Synapses and Memory Storage. Cold Spring Harb Perspect Biol 2012; 4(6): a005751. doi: 10.1101/cshperspect.a005751
53. Themes UFO. Pre-Frontal Cortex, Hippocampus, and the Biology of Explicit Memory Storage [Internet]. Neupsy Key. 2017 [a.yer 29 Eylül 2021]. Erişim adresi: <https://neupsykey.com/pre-frontal-cortex-hippocampus-and-the-biology-of-explicit-memory-storage/>
54. Topuz RD. Morris su labirenti uzaysal öğrenme ve bellek modelinde, sıçan hipokampusünde histon asetilasyonu ve histon deasetilaz inhibitörünün etkisi. Trakya Üni Sağlık Bilimleri Enst Tıbbi Farmakoloji AD Doktora Tezi. Tez Danışmanı: Prof. Dr. Cetin Hakan Karadağ. Edirne 2015.
55. Lüscher C, Malenka RC. NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation and Long-Term Depression (LTP/LTD). Cold Spring Harb Perspect Biol 2012; 4(6): a005710. doi: 10.1101/cshperspect.a005710
56. Sweatt JD. Hippocampal function in cognition. Psychopharmacology (Berl) 2004; 174(1): 99-110. doi: 10.1007/s00213-004-1795-9
57. Kesner RP, Hopkins RO. Mnemonic functions of the hippocampus: a comparison between animals and humans. Biol Psychol 2006; 73(1): 3-18. doi: 10.1016/j.biopsycho.2006.01.004
58. Aykaç A, Süer K, Taşkıran C. Anksiyete araştırmalarında kullanılan sıçan davranış modelleri. Marmara Med J 2015; 28(1): 1-7. <https://doi.org/10.5472/MMJ.2015.03661.1>
59. Szyndler J, Piechal A, Blecharz-Klin K, Skórzewska A, Maciejak P, Walkowiak J, et al. Effect of kindled seizures on rat behavior in water Morris maze test and amino acid concentrations in brain structures. Pharmacol Rep 2006; 58(1): 75-82. PMID: 16531633

60. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev* 2001; 36(1): 60-90. doi: 10.1016/s0165-0173(01)00067-4
61. Nicholas A, Munhoz CD, Ferguson D, Campbell L, Sapolsky R. Enhancing Cognition after Stress with Gene Therapy. *J Neurosci* 2006; 26(45): 11637-43. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3122-06.2006
62. Yun YJ, Lee B, Hahm DH, Kang SK, Han SM, Lee HJ, et al. Neuroprotective effect of palmul-chongmyeong-tang on ischemia-induced learning and memory deficits in the rat. *Biol Pharm Bull* 2007; 30(2): 337-42. doi: 10.1248/bpb.30.337
63. Kiray M, Bagriyanik HA, Pekcetin C, Ergur BU, Uysal N, Ozyurt D, et al. Deprenyl and the relationship between its effects on spatial memory, oxidant stress and hippocampal neurons in aged male rats. *Physiol Res* 2006; 55(2): 205-12. PMID: 15910165
64. Dursun I, Jakubowska-Doğru E, Uzbay T. Effects of prenatal exposure to alcohol on activity, anxiety, motor coordination, and memory in young adult Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 85(2): 345-55. doi: 10.1016/j.pbb.2006.09.001
65. Lieben CKJ, van Oorsouw K, Deutz NEP, Blokland A. Acute tryptophan depletion induced by a gelatin-based mixture impairs object memory but not affective behavior and spatial learning in the rat. *Behav Brain Res* 2004; 151(1-2): 53-64. doi: 10.1016/j.bbr.2003.08.002
66. Satomoto M, Satoh Y, Terui K, Miyao H, Takishima K, Ito M, et al. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Anesthesiology* 2009; 110(3): 628-37. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181974fa2
67. Çalışkan H, Akat F, Zaloğlu N. Şartsız Hayvan Anksiyete Testleri. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi* 2017; 16(1): 35-40.
68. Zhang J, Li Y, Chen Z, Dang H, Ding J, Fan Y, et al. Glia Protein Aquaporin-4 Regulates Aversive Motivation of Spatial Memory in Morris Water Maze. *CNS Neurosci Ther* 2013; 19(12): 937-44. doi: 10.1111/cns.12191

69. Liso Navarro AA, Sikoglu EM, Heinze CR, Rogan RC, Russell VA, King JA, et al. Effect of diet on brain metabolites and behavior in spontaneously hypertensive rats. *Behav Brain Res* 2014; 270: 240-7. doi: 10.1016/j.bbr.2014.05.013
70. Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* - 7th Edition. Elsevier 2013.
71. Süer C, Dolu N, Artis AS, Sahin L, Yilmaz A, Cetin A. The effects of long-term sleep deprivation on the long-term potentiation in the dentate gyrus and brain oxidation status in rats. *Neurosci Res* 2011; 70(1): 71-7. doi: 10.1016/j.neures.2011.01.008
72. Omid G, Rezvani-Kamran A, Ganji A, Komaki S, Etaee F, Asadbegi M, et al. Effects of *Hypericum scabrum* extract on dentate gyrus synaptic plasticity in high fat diet-fed rats. *J Physiol Sci* 2020; 70(1): 19. <https://doi.org/10.1186/s12576-020-00747-0>
73. Nakamura E, Kinoshita H, Feng GG, Hayashi H, Satomoto M, Sato M, et al. Sevoflurane Inhalation Accelerates the Long-Term Memory Consolidation via Small GTPase Overexpression in the Hippocampus of Mice in Adolescence. *PLOS ONE* 2016; 11(9): e0163151. doi: 10.1371/journal.pone.0163151
74. Stratmann G, May LDV, Sall JW, Alvi RS, Bell JS, Ormerod BK, et al. Effect of hypercarbia and isoflurane on brain cell death and neurocognitive dysfunction in 7-day-old rats. *Anesthesiology* 2009; 110(4): 849-61. doi: 10.1097/ALN.0b013e31819c7140
75. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 2003; 463(1–3): 3–33. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01272-x
76. Bliss TVP, Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 1973; 232(2): 331-56. doi: 10.1113/jphysiol.1973.sp010273
77. Shen X, Dong Y, Xu Z, Wang H, Miao C, Soriano SG, et al. Selective anesthesia-induced neuroinflammation in developing mouse brain and

cognitive impairment. *Anesthesiology* 2013; 118(3): 502-15. doi: 10.1097/ALN.0b013e3182834d77

78. Andropoulos DB, Greene MF. Anesthesia and Developing Brains - Implications of the FDA Warning. *N Engl J Med* 2017; 376(10): 905-7. doi: 10.1056/NEJMp1700196



10. EKLER

Ek 1. Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi,
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Onayı

*“Kişisel Verilerin Korunması Kanunu
kapsamında ilgili belge açık erişime
kapatılmıştır”*