

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

YENİDOĞAN RATLARDA TEKRARLAYAN İZOFLURAN
UYGULAMASININ ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE
ETKİLERİ

DR. Çiğdem GÜMÜŞGERDANLI

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

YENİDOĞAN RATLARDA TEKRARLAYAN İZOFLURAN
UYGULAMASININ ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE
ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

DR. Çiğdem GÜMÜŞGERDANLI

Danışman Öğretim Üyesi

PROF.DR. Ali Necati GÖKMEN

TESEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, hekimliğin ve anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim hocalarım; Sayın Prof. Dr. Zahide Elar'a, Sayın Prof. Dr. Ali Günerli'ye, Sayın Prof. Dr. Atalay Arkan'a, Sayın Prof. Dr. Erol Gökel'e, Sayın Prof. Dr. Semih Küçükgüçlü'ye, Sayın Prof. Dr. Necati Gökmen'e, Sayın Prof. Dr. Sermin Öztekin'e, Sayın Prof. Dr. Deniz Özzeybek'e

Tezimin her aşamasında yardımlarını hiç esirgemeyen, gösterdiği yoğun çaba, verdiği büyük emek ve harcadığı değerli vaktiyle beni destekleyen danışman hocam Sayın Prof.Dr.Necati Gökmen 'e

Tezin yapımında emeği geçen Fizyoloji ABD. dan öğretim üyeleri' ne

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım, eğitimime katkıda bulunan bölümümüz öğretim üyeleri ve uzmanlarına,

Tezimin tüm aşamalarında verdiği destek, ayırdığı zaman ve bana gösterdiği sabır nedeniyle Uzm. Dr. Elvan Öçmen'e

Her açıdan desteklerini hep yanımda hissettiğim,sıkıntılarımı paylaştığım başta tüm asistan arkadaşlarıma, anestezi teknikerleri, ameliyathane, derlenme, yoğun bakım, ağrı ünitesi hemşire ve personeline,

Hayatımın her aşamasında desteklerini hiç esirgemeyen aileme, özellikle hergün sıkılmadan beni dinleyip moral veren anneme,

Her zaman her konuda yanımda olan eşim Ali Cem' e

Sevgi ve saygılarımla sonsuz teşekkür ederim...

Dr.Çiğdem Gümüşgerdanlı

İÇİNDEKİLER:

TEŞEKKÜR

ŞEKİL LİSTESİ	III
TABLO LİSTESİ	III
RESİM LİSTESİ	III
KISALTMALAR	IV
ÖZET	1
SUMMARY	2
GİRİŞ	3
AMAÇ	5
GENEL BİLGİLER	6
Genel Anestezi	6
Genel Anesteziklerin Santral Sinir Sisteminde Etki Mekanizmaları.....	7
İzofluran	8
Fiziksel Özellikleri	8
Farmakodinamik Özellikleri	9
Farmakokinetik Özellikleri	11
Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi	11
Hayvan Deneylerinde Kullanılan Davranış Testleri.....	13
Morris Su Tankı.....	13
GEREÇ VE YÖNTEM	15
Çalışma Grupları.....	15
Volatil Anestezik Ajan Uygulaması	15
Öğrenme ve Belleğin Değerlendirilmesi (Morris Su Tankı Testi)	17
İstatistiksel Yöntem	19

BULGULAR.....	20
TARTIŞMA.....	27
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	32
KAYNAKLAR.....	33
EKLER.....	38

Ek 1: Etik Kurul İzin Belgesi

SEKİL LİSTESİ:

Şekil-1. İzofluranın kimyasal yapısı	9
Şekil-2. Platformu bulma süresi	21
Şekil-3. Grupların yüzme hızları	22
Şekil-4. Gruplardaki <i>thigmotaxis</i> süresi	23
Şekil-5. <i>Probe trialde</i> kadralarda geçirdikleri süre.....	24
Şekil-6. <i>Probe trialde</i> yüzme hızları.....	25
Şekil-7. <i>Probe trial'de thigmotaxis</i> davranışı.....	26

TABLO LİSTESİ:

Tablo-1. Gruplardaki toplam rat sayıları	20
---	----

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Anestezi uygulaması düzeneği.....	16
Resim 2. Morris Su Tankı	18

KISALTMALAR

MAK: Minimum Alveoler Konsantrasyon

SSS: Santral Sinir Sistemi

NMDA: N-Metil D-Aspartat

GABA: Gama Amino Bütirik Asit

N₂O: Azot Protoksit

Ach: Asetilkolin

Ca: Kalsiyum

Na: Sodyum

K: Potasyum

CA1: *Cornu Ammonis I*

AH: Alzheimer Hastalığı

A β P: Amiloid β Protein

HDD: Hayvan Davranış Deneyi

MST: Morris Su Tankı

ÖZET:

YENİDOĞAN RATLARDA TEKRARLAYAN İZOFLURAN UYGULAMASININ ÖĞRENME VE BELLEK ÜZERİNE ETKİLERİ

Çiğdem Gümüşgerdanlı, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İZMİR

Amaç: Bu çalışmanın amacı yenidoğan (yedi günlük) ratlarda tekrarlayan izofluran uygulamasının öğrenme ve bellek üzerine olası etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Anestezi grubu (n:13) : bir kez anestezi uygulanan grup (GA1) (n:7) ve beş kez anestezi uygulanan grup (GA5) (n:6) olarak iki gruba ayrıldı ve 6 L.dk⁻¹ akım hızında oksijen içinde %1.5 konsantrasyonda izofluran ikişer saat tekrarlayan dozlarda uygulandı. Kontrol grubundaki ratlar (GK) (n:8) ise oda havasında solutuldu. Tüm ratlar uygulamadan sonra standart koşullarda izlendi. Morris Su Tankı testi (MST) ile beş hafta sonunda öğrenme ve bellek testleri uygulandı.

Bulgular: Öğrenme sürecinin ikinci, üçüncü ve dördüncü gününde deney gruplarının platformu bulma süresinin kontrole göre daha uzun olduğu görüldü. Hatırlama deneyi olan beşinci gün deneyinde (probe trial) bir kez grubunun diğer gruplara göre hedef kadranda daha az (p<0.001), karşı kadranda ise daha fazla zaman geçirdiği gözlemlendi (p<0.05).

Tartışma ve Sonuç: Morris Su Tankı testinde GK' nın GA1 ve GA5' den, GA5'in ise GA1' den daha başarılı olması izofluranın öğrenme ve bellek fonksiyonlarını bozduğunu ancak tekrarlayan izofluran uygulamasının koruyucu etkisi olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak yenidoğan dönemindeki ratlara tekrarlayan dozlarda uygulanan %1.5 izofluran anestezisinin ilerleyen dönemde öğrenme ve bellek fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İzofluran, rat, Morris Water mazze, öğrenme ve bellek

SUMMARY:

EFFECTS OF REPETITIVE ISOFLURANE ANESTHESIA ON LEARNING AND MEMORY SKILLS OF INFANT RATS

Aim: The aim of this study is to investigate the effects of repetitive isoflurane anesthesia during newborn period of rats on learning and memory skills.

Material and Method: Anesthesia group (n:13): divided into two as one time isoflurane anesthesia group (GA1) (n:7) and five times isoflurane anesthesia group (GA5) (n:6) and %1.5 isoflurane concentration in 6 L.dk-1 oxygen two hours/day performed repetitively. The rats in the control group (GK) (n:8) breath in normal room air. All rats had standard conditions after anesthesia and Morris Water Maze test was performed at the end of fifth week to determine learning and memory skills.

Results: Memory test was performed on the fifth day (probe trial) and it was observed that one time anesthesia group stayed less in the target area ($p < 0.001$) and longer in the opposite area than other groups ($p < 0.05$). The time to find the platform was longer in the anesthesia groups than the control group for four days' learning process in Morris Water Maze test ($p = 0.082$).

Discussion and Conclusion: GK' s performance was better than GA1 and GA5 and GA5' s performance was better than GA1 in Morris Water Maze Task. These findings confirm that isoflurane impairs the learning and memory abilities but repeated isoflurane anesthesia protects these skills.

In this study it has been shown that isoflurane anesthesia at %1.5 concentration administered to newborn rats causes learning and memory deficits in declining ages.

Key Words: Isoflurane, rat, learning and memory

GİRİŞ

Günümüzde prematüre bebeklere ve çok küçük çocuklara değişik nedenlerle yapılan operasyonlarda genel anestezi uygulaması sıklıkla kullanılmaktadır. Genç/yavru hayvan modelleriyle yapılan deneysel çalışmalarda sedasyon ve anestezide kullanılan bazı ilaçların santral sinir sistemi (SSS) histopatolojik değişiklikleri oluşturduğu ayrıca öğrenme bellek fonksiyonlarını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (1,2). Pediatrik anestezide kullanılan anestezi ajanlarının gelişmekte olan SSS' ne etkileri halen en sık araştırılan konular arasında önceliğini korumaktadır (1).

Gelişmekte olan beynin sinaptogenez sırasında N-metil D-aspartat (NMDA) glutamat reseptörü bloke edici veya Gama amino bütirik asit tip A ($GABA_A$) reseptörlerini potansiyalize edici ajanlara maruz kalması sonucu, yaygın apoptotik nörodejenerasyonun tetiklenebileceği gösterilmiştir (2). Halen kullanılmakta olan anestezi ilaçları, anestezi etkilerini NMDA reseptör blokajıyla [ketamin, azot protoksit (N_2O), ksenon, kloralhidrat] veya $GABA_A$ reseptör potansiyalizasyonu (benzodiyazepinler, barbitüratlar, propofol, etomidat, izofluran, desfluran, sevofluran, enfluran ve halotan) gösterirler (2).

Volatil ajanlardan, izofluran tek başına veya diğer anestezi ajanlarıyla beraber genel anestezi oluşturmak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel anestezi oluşumundaki mekanizmaları tam olarak bilinmemekle beraber $GABA_A$, NMDA ve glutamat reseptörlerinin sinaptik iletimindeki değişikliklerin genel anestezi oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (3). Ayrıca bu reseptörlerin memelilerde beyin gelişimi için zorunlu olduğu ve bu nedenle volatil anestezi ajanlarına maruz kalınmasının normal beyin gelişimini etkileyebileceği bildirilmiştir (4,5). Yenidoğan ratlarda ve farelerde yapılan çalışmalarda izofluran uygulamasını takiben saatler içerisinde nöronal hücre ölümü meydana geldiği saptanmıştır (1,6).

Yaşamın erken dönemlerinde sık kullanılan anestezi ajanlarına bağlı uzun dönemde davranışsal değişikliklerin olduğunu gösteren prelinik kanıtlar bulunmaktadır (7).

Anestezik ajanlardan izofluranın, yaşa bağılı olarak hem nörotoksik hem nöroprotektif etkileri bildirilmiştir (8). Erişkin farelere %1 konsantrasyonda izofluran uygulaması sonrası hipokampusta apoptotik nörodejenerasyon olduğu gösterilmiştir (9). İnfant ratlarda oluşan fokal hipokampal lezyonlar ciddi uzaysal hafıza kusurları oluşturduğu ve bu kusurların genç erişkin ve erişkin dönemde de devam ettiği bilinmektedir (10-12). Anterior talamik nükleuslar ve prefrontal korteks gibi diğer beyin yapılarını etkileyen lezyonlar da bu davranışsal bozuklukları taklit edebilmektedir (13).

Yaptığımız literatür taramasında yeni doğan ratlarda tekrarlayan izofluran uygulamasının öğrenme ve bellek üzerine etkileri inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

AMAC

Bu çalışmada, günümüzde çeşitli nedenlerle genel anestezi uygulanan yenidoğan dönemine denk gelen yedi günlük ratlarda, tekrarlayan izofluran uygulamalarının öğrenme ve bellek üzerine etkilerinin incelemesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

GENEL ANESTEZİ

Genel anestezi vital fonksiyonlarda bir değişiklik olmadan, geçici bilinç kaybı ve refleks aktivitede azalma ile karakterizedir. Şimdiye kadar bulunmuş en etkin ilaçlar olmalarına, yüzyılı aşkın süredir kullanılmalarına rağmen etki mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir.

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

1. Gaz anestezikler: siklopropan, etilen, azotprotoksit
2. Sıvı inhalasyon anestezikleri: kloroform, eter, etil klorür, fluraksen, halotan, metoksifluran, enfluran, izofluran, sevofluran, desfluran 'dır (14)

Genel anesteziklerin etki mekanizmaları ise; (1,15)

- Gama amino bütirik asit tip A (GABA_A) reseptörleri ile inhibisyonda artış (benzodiyazepinler, barbitüratlar, propofol, etomidat, izofluran, enfluran, halotan ve desfluran)
- N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin uyarılabilirliğinde azalma (ketamin, N₂O, ksenon, kloralhidrat) olmak üzere ikiye ayrılır.

İnhalasyon anestezikleri akciğerler yoluyla alınan ve kan aracılığıyla vücudun değişik dokularına dağılan maddelerdir. Asıl etki yerleri beyindir. Burada nöral membranların fonksiyonları ile etkileşirler: ya inhibitör fonksiyonların etkilerini artırır, ya da sinapslarda veya ince çaplı aksonların sinir uçlarından iletinin geçişini baskırlar. Bu etkileri nedeniyle inhalasyon anestezikleri bilinçsizlik ve duyarsızlığa neden olur ve bu durum yeterli düzeyde ise herhangi bir reaksiyon olmaksızın cerrahi girişimlerin yapılabileceği genel anestezi durumunu oluşturur.

Değişik anesteziklerin etkilediği değişik beyin alanları şunlardır:

- Retiküler aktive edici sistem
- Serebral korteks

- *Cuneat* çekirdek
- Olfaktör korteks
- Hipokampus

Anestezik ajanların ana hedef bölgelerinden biri olan hipokampus, afferent ve efferent yapılar, nörotransmitterler ve birçok katmandan meydana gelen (gyrus dentatus, hipokampus, fimbria hippocampi) limbik bir yapıdır (15). Anterograd ve retrograd hafıza ve uzaysal yön bulmada önemli rolü vardır.

Hipokampusta, internöronlar içinde GABA ve onun sentezleyici enzimleri bulunur. Bu nöronlar eksitator sinaptik akımların ve piramidal hücre deşarjının inhibisyonunu sağlar(16).

Anesteziklerin ayrıca spinal kord içindeki eksitator iletiyi, özellikle ağrı iletiminde rol oynayan arka boynuz internöronlar düzeyinde baskılayıcı etkileri vardır (17).

GENEL ANESTEZİK AJANLARIN SANTRAL SİNİR SİSTEMİNE ETKİLERİ

Genel anestezik ajanların santral sinir sistemine etkisi farklı mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmaktadır. Bunlar;

1. Kolinerjik sistemin ve asetilkolin (Ach) salınımının depresyonu
2. Sinaps sayılarında azalma ve sinaps disfonksiyonu
3. Kalsiyum (Ca) disregülasyonu
4. Apoptotik dejenerasyon

Genel anestezi sırasında azalan Ach salınımı ve deprese olmuş kolinerjik sistem genel anestezinin bilinçsizlik, ağrı, istemli hareket ve hafıza kaybı gibi istenen etkilerini kolaylaştırır. Genel anestezi ve anestezi idamesinde kullanılan ilaçlar santral kolinerjik sistemle etkileşir ve dejeneratif hastalıklarda beyinde kolinerjik sistem defisitleriyle birliktelik gösterir ve postoperatif kognitif disfonksiyon ve deliryum patogeneğinde rol oynarlar (18).

Volatil ajanlardan desfluran, izofluran ve sevofluran nikotinic ve muskarinic reseptörleri doz bağımlı olarak inhibe ederler. İntravenöz ajanlardan barbitüratlar muskarinic Ach (mAch) nin kompetatif antagonistidir, propofolün yüksek dozları, opioidlerden ise morfin ve fentanil muskarinic Ach ve nikotinic Ach reseptörlerini inhibe eder, remifentanil ise etkisizdir (19).

Anestezik ajanlar, iyon değişiklikleri (Na–K ve Ca kanalları ile) yaparak ve

nörotransmitter reseptörlerine (nikotik, asetilkolin (Ach), seratonin tip 3, GABA, glisin, glutamat reseptörleri) etki ederek sinaps disfonksiyonuna ve sinaps sayılarında azalmaya neden olurlar. Bu da kognitif hasara ve Alzheimer Hastalığı (AH) gibi demansif hastalıkların oluşmasına neden olur (1).

İnhalasyon ajanlarının neden olduğu hücre zedelenmesinin mekanizması açık olmamakla beraber kalsiyum disregülasyonu suçlanmaktadır. Sevofluran ve desfluranın, izoflurana oranla intrasellüler kalsiyumu çok daha az etkileyerek daha az apoptoz oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir (20). İnhalasyon ajanlarına kısa süre maruziyet, subletal strese önkoşullanma ile nöroproteksiyon sağlarken, uzamış maruziyetler direk sitotoksik etki ile apoptozise bağlı hücre hasarını arttırmaktadır (21).

Santral sinir sistemi gelişimi sırasında sinaptogenez evresinin herhangi bir aşamasında meydana gelen patoloji, apoptotik kaskada hayatla bağdaşmayan şiddetli migrasyonel defektlere neden olabilir. İnsanlarda beyin gelişim süreci gebeliğin altıncı ayında başlar ve doğumdan sonra üç yaşına kadar devam eder. Nöral gelişim evresinde meydana gelen geçici değişiklikler bile, gelişen milyonlarca beyin hücresinde, apoptotik dejenerasyonu tetikleyebilir (2).

İmmatür memeli beyinde nöronal apoptoz, sinaptogenez periyodunda NMDA reseptörlerinin geçici blokajıyla veya GABA_A reseptörlerinin aşırı uyarımıyla tetiklenebilir (2).

Jevtovic-Todorovic ve ark. (1) yedi günlük ratlarda altı saat boyunca farklı konsantrasyonlarda veya kombinasyonlarda N₂O, izofluran ve midazolam uyguladıkları çalışmalarında; tek başına N₂O veya midazolam uygulamalarının apoptotik nörodejenerasyona neden olmadığını, izofluranın ise tek başına doz bağımlı (% 0.75, %1 veya %1.5) nörodejenerasyona neden olduğunu saptamışlardır.

İZOFLURAN

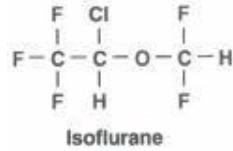
Fiziksel Özellikleri

İzofluran, Terrell tarafından 1965' te sentezlenmiştir. Klinik kullanıma 1984' te girmiştir. Halojenli, sıvı inhalasyon ajanıdır. Belirli ısı ve basınç altında vaporizatörlerle buhar haline getirildikten sonra kullanılır. Patrisyon katsayıları; kan/gaz 1.4, beyin/kan 2.6, kas/kan 4.0, yağ/kan 45' tir.

Minimum Alveolar Konsantrasyon (MAK) değeri % 1.2' dir. Buhar basıncı 20°C de 240 mmHg' dir. İzofluranın, MAK' ı artan yaş ile ve N₂O, fentanil, klonidin veya midazolamın

birlikte kullanımını ile azalır (22).

Keskin, eter benzeri kokusu vardır ve yanıcı değildir. Keskin kokusu nedeniyle indüksiyonda kullanılması uygun değildir (23).



Şekil-1. İzofluranın kimyasal yapısı

Kimyasal Yapısı

İzofluran $\text{CHF}_2\text{-O-CHClCF}_3$, 1-kloro-2,2,2-trifloretil diflor metil eterdir. Kimyasal olarak stabildir ve normalde sodalime ile reaksiyona girmez (23).

Desfluran ve izofluranın kimyasal olarak yıkımı sonucunda zararsız bir ürün olan triflurometan ortaya çıkar. Desfluran, izofluran ve enfluranın yıkımı kuru sodalime ve barolime içinde de meydana gelebilir. Bu durum karbonmonoksit oluşumu ile sonuçlanır.

Bununla birlikte, karbonmonoksidin bu türlü oluşumu % 4.8 veya daha fazla su içeren sodalime kullanımı ile veya % 9.7 ve daha fazla su içeren barolime kullanımı ile önlenabilir (24).

Farmakodinamik Özellikleri

Beyin Üzerine Etkileri

İzofluran beynin elektriksel aktivitesini ve metabolizma hızını azaltır. Serebral metabolik oksijen tüketimini düşüren ve serebral kan akımı dengesini en iyi koruyan, bu nedenle nöroanesteziye en çok tercih edilen volatil ajandır. Serebral kan akımını ve kafa içi

basıncını arttırıcı etkisi diğer ajanlardan daha azdır (22).

Anestezik ajanların;

- Eksitatör aktivitenin inhibisyonu
- İnhibitör aktivitenin arttırılması
- İntrasellüler sinyal kaskadının aktivasyonu gibi mekanizmalarla eksitotoksik yaralanmayı azaltarak nöroprotektif etki gösterdikleri düşünülmektedir (25).

Schifilliti ve ark.'nın (26) yaptığı çalışmada, 1980-2010 yılları arasında yapılan invitro, insan ve hayvan çalışmaları incelenmiş ve intravenöz anestezik ajanların (barbiturat, propofol) ve inhalasyon ajanlarının (halotan, izofluran, desfluran, sevofluran, ksenon), kronik dejeneratif hastalıklar, iskemi, inme ve sinir sistemi travması sonucu beyin dokusunda görülen apopitozis, dejenerasyon, inflamasyon gibi yan etkilere karşı beyin dokusunu koruduğu gösterilmiştir. Bu ajanlardan özellikle izofluran ve ketaminin gelişmekte olan beyindeki nöroprotektif etkilerinin doz ve uygulama zamanına bağımlı olduğu gösterilmiştir.

Kardiyovasküler Sisteme Etkileri

İn vivo olarak minimal kardiyak depresan etkisi vardır. Kalp debisi, karotis barorefllekslerin kısmen korunması nedeniyle kalp hızının arttırılması ile idame ettirilir. İzofluran koroner damarları dilate eder, normal koroner arterlerdeki dilatasyon kanı teorik olarak stenotik alanlardan uzaklaştırır (koroner *steal* sendromu) (23).

Solunum Sistemine Etkileri

Diğer volatil ajanlarda olduğu gibi solunum depresyonu gözlenir fakat takipne daha az belirgindir. Düşük düzeylerde bile (0.1 MAK) hipoksi ve hiperkarbiye normal ventilasyon yanıtını baskılar. Üst solunum yolu reflekslerini uyarmasına rağmen, iyi bir bronkodilatatör olduğu düşünülür, fakat halotan kadar potent değildir (23).

Farmakokinetik Özellikleri

Eliminasyon: İzofluran total vücut klirensi 4.0 L.dk^{-1} dır. Ciltten kaybı total anesteziik alımının %0.2' sidir (27).

Metabolizma: %0.2 oranında metabolize olması nedeniyle florür düzeyinde önemli artış olmamaktadır. Metabolize olan kısmın sadece %50' si idrarla atılır, temel metaboliti trifloraasetikasittir. İnorganik florid düzeyi klinik olarak önemsizdir ve nefrotoksisite sınırının çok altındadır (23).

ÖĞRENME VE BELLEĞİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Davranışsal süreç ve mekanizmaların araştırılması, sadece hayvan ve insan beyninin nasıl çalıştığıın anlaşılması için değil, aynı zamanda insandaki davranış bozukluklarına çözüm getirilmesi açısından da çok önemlidir. Karşılaştırmalı nörobiyolojik çalışmalar farklı memeli gruplarında beynin temel morfolojik ve işlevsel yapılarının çok benzer olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda davranış seviyesinde de yakın benzerlikler bulunmaktadır. Bu nedenle hayvan çalışmalarından elde edilen birçok bilgi insanlar için de geçerlidir (28).

Laboratuvar ortamında yapılan nörobiyolojik ve davranışsal çalışmalarda en yaygın kullanılan deney hayvanı rat ve maymundur. Dünyada çok az araştırma merkezinde maymunlar denek olarak kullanılmaktadır. Ratların üretim ve bakımı oldukça kolay ve ekonomik olduğu için günümüzde bilimsel araştırmalarda en çok kullanılan hayvandır (28).

Ratların Bilişsel ve Lokomotor Yetilerinin Değerlendirilmesi

Ratların bilişsel ve lokomotor yetilerinin değerlendirilmesinde bugüne dek tanımlanmış pek çok hayvan davranış deneyi (HDD) modeli mevcuttur. Ratlarda, HDD' leri ile anksiyete, otonom fonksiyonlar, öğrenme, hafıza ve lokomotor aktivite gibi pek çok özelliğın değerlendirilmesi yapılmaktadır. Bilimsel yeterlilik ölçütlerinin tümüne aynı anda sahip olan bir HDD modeli yoktur ve bu modellerin çoğu %100 kesinlikte sonuç sağlayamamaktadır. Ancak bilimsel teknolojideki gelişmelerle birlikte HDD' leri giderek daha ideal ölçütlerde yapılabilmektedir.

Davranış deneylerinin ratların çevresel (nöromotor) gelişimin tamamlandığı 80-85. günlerden sonra yapılması önerilmektedir (29). Ancak ratların doğumu takiben kaç haftalık olduğu belirtilen ya da belirtilmeyen pek çok çalışmada, deneylerin ortalama 180-400 gr

ağırlığındaki erişkin erkek ratlarla yapıldığı bildirilmiştir. Bu deneylerde ratların cinsiyetlerine göre farklı davranışlar sergilediği tespit edilmiştir. Özellikle uzaysal (*spasyal*) öğrenmenin değerlendirilmesinde erkek cinsiyetin daha uygun olduğu saptanmıştır. Bu durumun hormonal farklılık ve hipokampus gelişimdeki farktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada bu nedenle erkek rat kullanılmıştır (30-32).

Tüm HDD'lerin $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, 12 saatlik gece-gündüz ritminin sağlandığı bir odada ses, ışık, sıcaklık ve bekleme koşullarının standardize edildiği ortamlarda yapılması önerilmektedir. Bu standardizasyonun sağlanabilmesi için tüm hayvan gruplarının deney alanına deney gününden birkaç gün önce getirilmesi, deneylere başlanmadan önce tek tek bekleme kaplarına konmasının gerekliliği belirtilmektedir. Deney hayvanlarının tümünün daha önce doğum yapmış, bir gebelikte birbirine yakın sayıda yavru doğuran annelerin yavrularından seçilmesi, doğumdan sonra aynı günde süttten kesilerek anneden ayrılması, anneden ayrılan ratların her kafeste eşit sayıda olacak şekilde barındırılması, standart yem ile beslenmesi gibi temel koşulların sağlanması önerilmektedir. Burada amaç ratların 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 ratların anne tarafından reddedilme ya da yenmesini önleme amaçlanmaktadır. Ratların 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 (33).

Yayımlar değerlendirildiğinde ratlarda bilişsel ve motor yetilerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan pek çok farklı deney düzeneği olduğu görülmektedir (30-34).

Anksiyete, korku, tekrarlayan uygulamalarla öğrenme ve kısa hafıza değerlendirilmesinin labirent deneyi ile doğumdan sonraki altıncı haftada ve iki-üç gün süreyle yapılması önerilmektedir (34). Ratların duygusal durumunu, sedasyonunu, lokomotor aktivitesini ölçmede açık alanın kullanılması ve çalışmanın doğumu takiben 10. haftada yapılması önerilmektedir. Prof. Dr. Richard Morris tarafından tanımlandığından bu yana kemirgenlerin öğrenme ve hafıza çalışmalarında sıkça kullanılan Morris Su Tankı (MST) düzeneği ile doğumdan sonraki 12. haftada beş gün süreyle uzak hafızanın (*reference memory*), 14. haftada ise dört gün süreyle yakın hafızanın (*working memory*) değerlendirmesi önerilmektedir (29,30).

HAYVAN DENEYLERİNDE KULLANILAN DAVRANIŞ TESTLERİ

1. Pasif kaçınma testi
2. Aktif kaçınma ve kaçma testleri
3. Mekansal bellek testleri
 - Labirentler (*Y maze, 12-arm radial maze*)
 - Yükseltilmiş radyal labirent (*Elevated plus maze*)
 - Barnes labirenti (*Barnes maze*)
 - Morris su tankı (*Morris water maze*)
 - Dönen arena
 - Olay (event) arena
4. Örneğe gecikmeli eşleştirme/eşleştirmeme testi

MORRIS SU TANKI TESTİ

Rat ve fare gibi küçük kemirgenlerde hipokampusa bağlı mekansal öğrenme bellek araştırmaları için bugünlerde çok yaygın olarak kullanılan su tankı, 1982 yılında Morris ve arkadaşları tarafından tasarlanmıştır (35). Morris su tankı (MST) deneyleri ile uzak hafıza, yakın hafıza ve öğrenme değerlendirilebilir (29- 32).

Morris su tankı yaklaşık 60 cm (35-90 cm) yükseklikte ve 117 – 210 cm çapında dairesel bir tanktır (Resim 2)

Bu tank 45 cm yüksekliğe kadar ılık matlaştırılmış su ile doldurulmuştur. Morris su tankı deneyi sırasında oda sıcaklığının $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ve su sıcaklığının ise 21°C ile 26°C aralığında olabileceği pek çok yayında bildirilmiştir (31, 32). Rat veya farenin havuzda takip edilmesi genellikle otomatik olarak bilgisayar destekli video kamera ile yapılır. Tank sanal olarak dörde bölünür ve bölünen dört parçadan birinin ortasına, su seviyesinin iki cm altında 10 cm X 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 aalıştırma eğitimindeki platform yerinden farklıdır. Esas eğitim günde dđrt deneme ile dđrt – altı gđn sđrer. Gđnlđk dđrt denemede ratlar yđzleri havuzun duvarına bakacak şekilde havuzun çevresinde rastgele seçilmiş dđrt farklı ama tđm denekler için aynı noktalardan havuza bırakılır. Hayvan suya bırakıldıktan sonra platformu bulana kadar veya 60 sn suda kalır. Ratlar su tankına her atıldığında, yđzmelerine izin verilen sđreler eşit tutulmakta olup, bu sđre çeşitli araştırmalarda 30 ile 180 sn arasında değişmektedir (36). Platforma çıktıktan sonra yđkselti úzerinde bekletilme sđreleri 10 – 15 sn olup, ú saniye (34) ile 30 saniye (36) arasında değişmektedir. Genellikle gruptaki tđm ratları birinci denemeden geçirildikten sonra ikinci deneme başlatılır ve bđylece deneme arası sđreler biraz uzar. Seyrek eğitim yoğun eğitime nazaran daha başarılıdır. Ancak farklı çalışmalarda deneme arası sđreler çok farklılık gđsterebilmekte, bu sđre saniyelerle dakikalar arasında değişebilmektedir.

Geçmişte bu testte hayvanların başarısı platforma ulaşma sđresi ile değerlendirilmekte ve bu sđre kronometre ile değerlendirilmekteydi. Ancak bu olğm hayvanın yđzme hızına bağlıdır. Bu da hayvanlar arasında değişebilmektedir. Gđnđmđzde hayvanların performansı genellikle video kamera ve gđrđntđ analizi yapan bilgisayar sistemi ile değerlendirilmektedir.

Kaydedilen değerler arasında, hayvanların yđzerken izledikleri yol, bırakıldığı noktadan platforma ulaşıncaya kadar geçen sđre, bırakıldığı noktadan platforma yđzđlđnceye kadar mesafe, sanal dđrt kadranda harcadığı sđre ve yđzme hızı bulunmaktadır. apı 150 cm olan standart bir su labirentinde eğitimin dđrdđncđ gđnđnde normal geç ratların platformu bulma sđresi 15 sn' ye inmektedir.

Đđrenmenin derecesini olmek için eğitimin bitiminde kaldırılmış platform ile yer tercihi testi uygulanmaktadır (*probe trial*). Bu test genellikle đđrenme eğitiminden bir gđn sonra yapılır ancak bu sđre daha da uzun olabilir. Daha uzun sđreden 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 bđlgede diğer bđlgelere nazaran ne kadar yđzdđđđ kaydedilmektedir. Platformun yerini iyi đđrenmiř bir rat veya fareden harcadığı zamanın/yolun en az %35' ini platform bđlgesinde geçirmesi beklenmektedir (37).

Davranış deneylerinde veri kayıtları, bilgisayar programları aracılığıyla veya kronometre kullanarak ratların gđzle takibi yoluyla yapılabilir (34).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra (EK-1), anestezi uygulaması Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, öğrenme ve bellek testleri Fizyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Çalışmaya postnatal yedinci günde olan, *Wistar* cinsi, ağırlıkları 9-11 gr arasında değişen, 32 adet yavru rat alınmıştır. Annelerinin yavru ratları emzirdikleri göz önüne alınarak, kanibalizmi önlemek amacıyla, ratlara mümkün olduğu kadar dokunulmamaya çalışılmıştır ve eğer dokunulacaksa pamuk ile dokunulmuştur. Yavru ratlar doğumlarından itibaren standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz - 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20-22°C oda ısısı, % 50-60 nem) izlenmiştir.

Çalışma grupları;

Anestezi grubu (GA) (n:24):

1 kez anestezi uygulanan grup (GA1) (n:8): Ratlara %1,5 konsantrasyonda izofluran bir kez ikişer saat uygulanmıştır.

5 kez anestezi uygulanan grup (GA5) (n:8): Ratlara %1,5 konsantrasyonda 24 saat aralarla ardışık beş kez ikişer saat izofluran uygulanmıştır (Toplam 10 saat).

10 kez anestezi uygulanan grup (GA10) (n:8): Ratlara %1,5 konsantrasyonda 24 saat aralarla ardışık on kez ikişer saat izofluran uygulanmıştır (Toplam 20 saat).

Kontrol grubu (GK) (n:8): Ratlar oda havasında solutulmuştur.

Anestezi uygulaması

Her deney hayvanı için ayrı olmak üzere 450 mL hacimli gaz giriş ve çıkış sistemi bulunan cam kavanozlar kullanılmıştır. Cam kavanozlara vaporizatör (*Isoflurane, Vapor 19.1, Abbott Lab, Almanya*) ile 6 L.dk⁻¹ akım hızında oksijen içinde %1,5 konsantrasyonda izofluran (*Forane, Abbott Lab, İstanbul, Türkiye*) girişi sağlanmıştır.



Resim 1. Anestezi uygulama düzeneği

İnspire edilen oksijen ve uygulanan volatil ajanın konsantrasyon düzeyleri, çıkış hattına bağlanan anestezi gaz monitörü (*Anesthesia Gas Monitoring 1304*, Danimarka) ile izlenerek sabit tutulmuştur. Tüm kavanozlar 37°C sabit sıcaklıkta su banyosuna yerleştirildi. Ratlara iki saat süre ile bu kavanozlarda gaz karışımı solutulmuştur.

Anestezi sonlandırılması:

Volatil anestezi uygulaması iki saatlik sürenin sonunda kesilip ve 6 L.dk⁻¹ akım hızında oksijen verilerek deneklerin derlenmeleri sağlanmıştır. Derlenmelerinin sonunda ratlar annelerinin yanına alınmıştır.

Gruplarına göre ratlara ardışık, aynı dozda anestezi uygulaması yapılmıştır.

Araştırmadan çıkarılma kriteri:

Herhangi bir sebeple deney süreçlerini tamamlayamayan hayvanlar çalışmadan çıkarılmıştır.

Bakım yeri ve koşulları:

Ratlar MST testi uygulanana kadar beş hafta süre ile Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda standart koşullarda izlenmiştir.

Öğrenme testleri başlamadan bir hafta önce adaptasyon için Fizyoloji Laboratuvarı'na taşınıp ve bir hafta süre ile standart koşullarda bakılmıştır.

ÖĞRENME VE BELLEĞİN DEĞERLENDİRİLMESİ**Morris Su Tankı Testi**

Öğrenme testleri çapı 120 cm, derinliği 80 cm olan, siyah renkli pleksiglas maddeden imal edilmiş su ile dolu yuvarlak bir havuzda (su tankı) yapılmıştır (Resim 2).

Tankın içine ratın çevresel ipuçlarından faydalanarak bulabileceği 10 cm çapında gizli bir platform konulmuştur. Platform kadranlardan birisinin ortasına, suyun 3-4 mm kadar altında olacak şekilde sabitlenmiştir. Suyun sıcaklığı 23 ± 1 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Platform lifli yapıda bir kumaş ile kaplanarak ratın bu bölgede düşme tehlikesi yaşamadan, kendini güvende hissetmesi sağlanmıştır. Testin yapıldığı odanın duvarlarına hayvanın su içinden de görebileceği şekilde renkli geometrik şekiller ya da resimler asılmıştır (Resim 2).

Deneyin başından sonuna kadar odada hiçbir şeyin yeri (dolap, perde, ışık vs.) değiştirilmemiştir. Hatta deney hep aynı kişi tarafından yapılmıştır; kıyafet, parfüm vs. değişikliği yapılmamıştır. Ratın çevre ipuçlarını kullanarak çevre ve platform arasında ilişki kurması ve platformun yerini bulması sağlanmıştır.

Morris su tankı kuzey, güney, doğu ve batı kutuplar olmak üzere dört kısma ayrılmıştır. 10 dakika aralıklarla günde dört kez, dört gün süre ile öğrenme denemeleri yapılmış, 5. gün test fazına alınmıştır. Öğrenme denemeleri için ratlar her gün farklı bir kutuptan bırakılmış ve platformu bulma süreleri tespit edilmiştir (*learning trial*). Su içine bırakılan rata platformu bulması için iki dakika süre verilmiştir. Bu süre içinde deneklerin yüzme hızları ve Morris su tankındaki anksiyete göstergesi olan *thigmotaxis* (deneğin tank duvarını öpmesi, tank içinde cepeçevre dolaşması) davranışı ölçülmüştür. Platformu bulma süresi içinde platformu

bulamaması durumunda rat platforma yönlendirilerek, zarar vermeden platform üzerine alınmış ve 30 saniye süresince etrafı tanmasına izin verilmiştir. Daha sonra platform üzerinden alınarak havlu kağıt ile kurutulmuştur.

Bellek değerlendirilmesi için platform kaldırılmış ve 60 sn yüzme süresi verilmiştir. Ratın daha önce platform bulunan kadranda (hedef kadranda) geçirdiği süre ve *thigmotaxis* davranışı değerlendirilmiştir (*probe trial*). Deneyler sırasında bütün aşamalar “HVS image” kayıt ve analiz sistemi kullanılarak yapılmıştır. Bu sistem bir CCD kamera ve ulaşan görüntülerin analizini yapan bir yazılımdan oluşmaktadır.



Resim 2. Morris Su Tankı

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

İstatistik analiz SPSS for Windows istatistik programının 15.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma biçiminde verilmiştir. Öğrenme testlerinde günler arasındaki farklılığı saptamak için *repeated measures ANOVA* ve gruplar arasındaki farklılığı saptamak için one way ANOVA testi ve bunu izleyen *post hoc* Dunnett testi yapılmıştır. $p < 0.05$ düzeyi anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bir kez anestezi verilen gruptan bir, beş kez anestezi uygulanan gruptan iki, on kez anestezi uygulanan gruptan ise dört, toplamda ise yedi tane rat anestezi uygulama sırasında eks olmuştur. Çalışmaya toplam 25 yavru rat alınmıştır.

GA10 grubunda toplam 4 deneğin bulunması nedeniyle istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır.

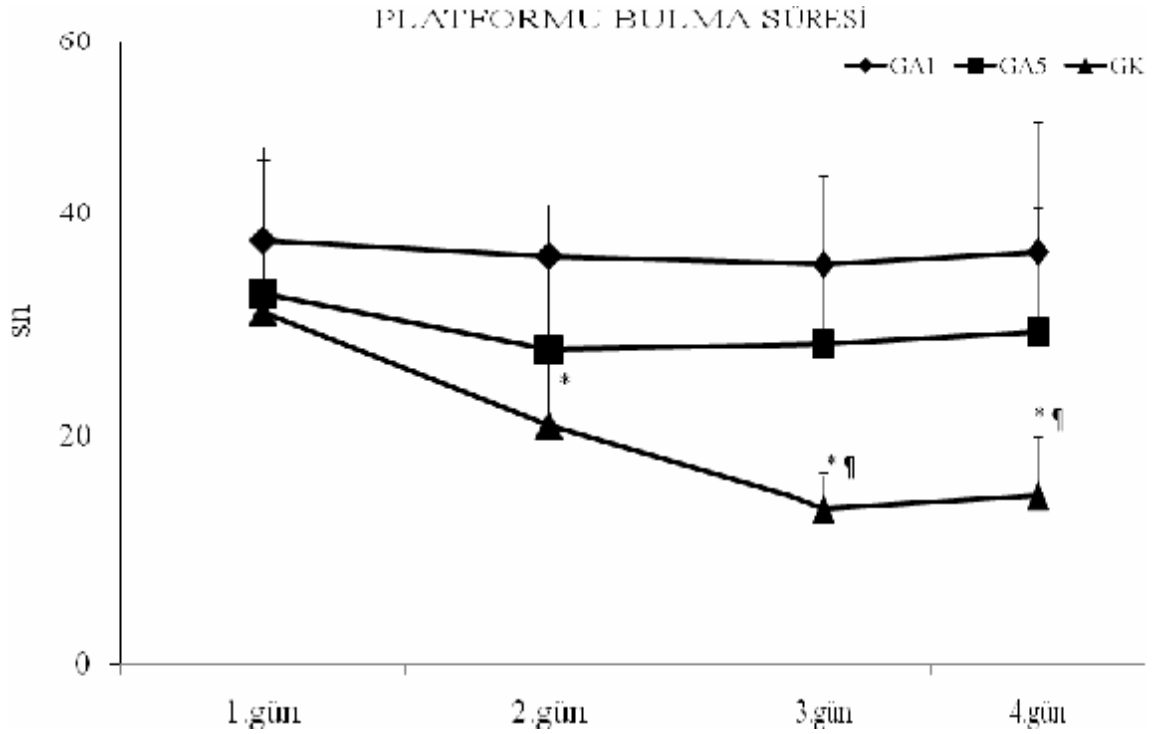
Deney gruplarının dağılımı Tablo-1’de sunulmuştur.

Tablo-1. Gruplardaki toplam rat sayıları

Gruplar	Erkek	Dişi	Toplam
GA1 (bir kez)	4	3	7
GA5 (beş kez)	2	4	6
GK (Kontrol grubu)	6	2	8

ÖĞRENME DENEMELERİ (*LEARNING TRIAL*) PLATFORMU BULMA SÜRESİ

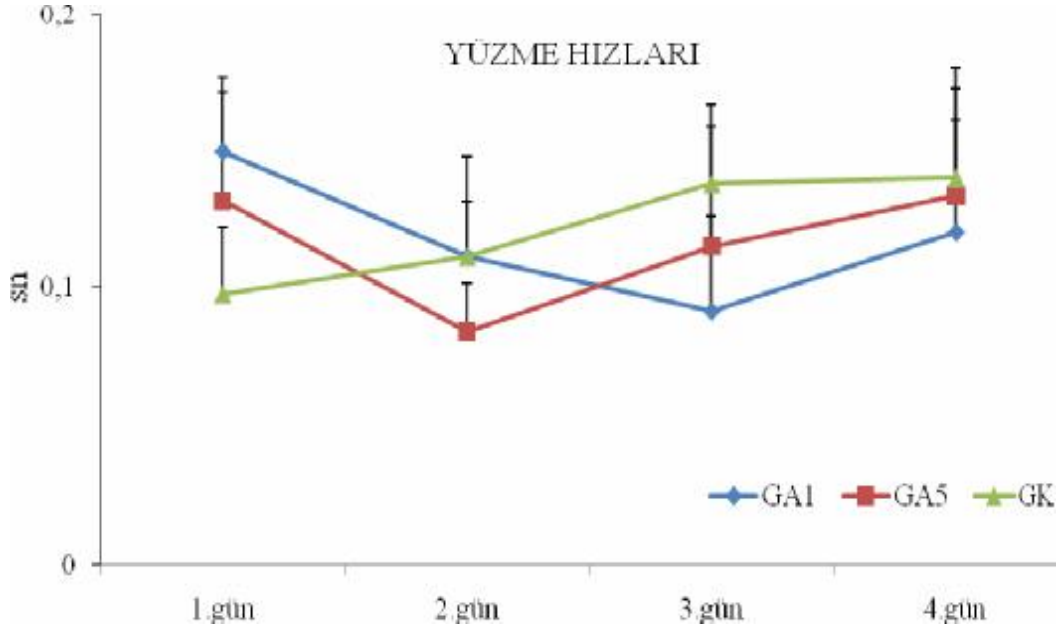
Öğrenme denemelerinin birinci gün gruplar arası platformu bulma süresi karşılaştırılmasında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,649$). İkinci gün gruplar arası platformu bulma süresi karşılaştırılmasında; GK'un platformu bulma süresi GA1'e göre anlamlı daha kısa olduğu saptanmıştır ($p=0,001$). Üçüncü gün gruplar arası platformu bulma süresi karşılaştırılmasında; GK'un platformu bulma süresi GA1'e ve GA5'e göre anlamlı daha kısa olduğu bulunmuştur (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,002$). Dördüncü gün gruplar arası platformu bulma süresi karşılaştırılmasında; GK'un platformu bulma süresi GA1'e ve GA5'e göre anlamlı daha kısa olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0,003$, $p=0,046$) (Şekil 2).



Şekil-2. Platformu bulma süresi (başlama noktasından görünmez platformu bulana kadar geçen sürenin günlük değişimi) (* $p < 0.001$ GK ile GA1 karşılaştırıldığında anlamlı kısa; ¶ $p < 0,05$; GK ile GA5 karşılaştırıldığında anlamlı kısa)

YÜZME HIZI

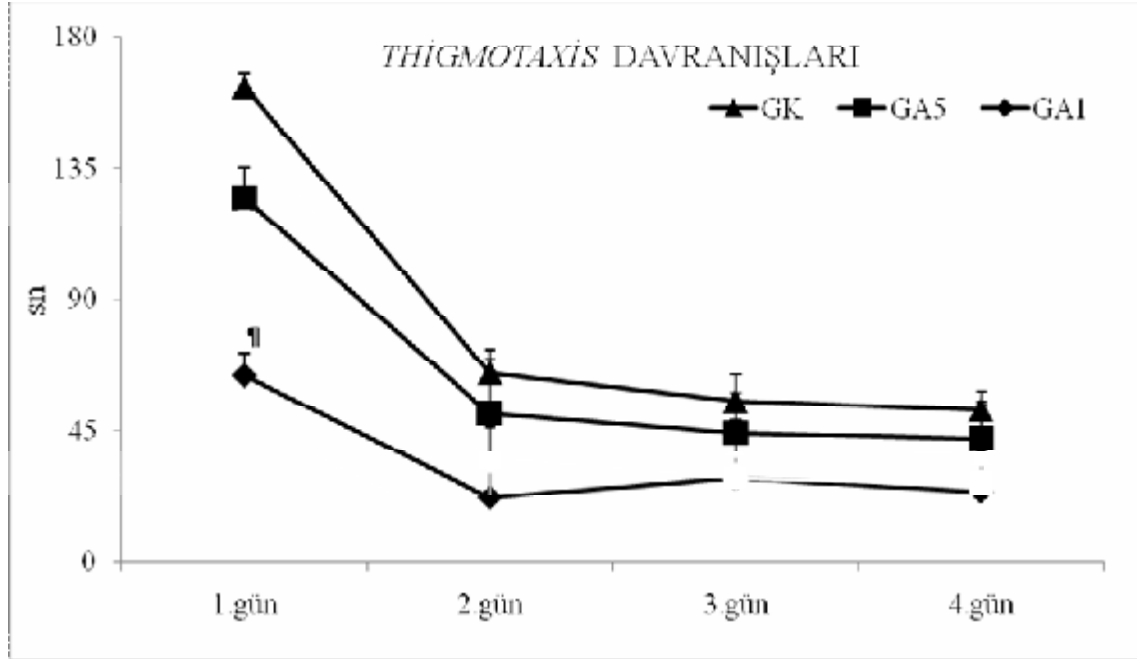
Öğrenme denemelerinin birinci gün gruplar arası yüzme hızı ortalamaları karşılaştırıldığında GK'un yüzme hızı ortalaması GA1 yüzme hızı ortalamasına göre anlamlı kısa bulunmuştur ($p=0,007$). İkinci, üçüncü ve dördüncü gün gruplar arası yüzme hızı ortalamaları karşılaştırıldığında; gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,12$, $p=0,06$, $p=0,63$) (Şekil 3).



Şekil 3. Grupların yüzme hızları (* $p<0.05$: GK ile GA1 karşılaştırıldığında anlamlı kısa)

THİGMOTAXİS DAVRANIŞLARI

Öğrenme denemelerinin birinci gün gruplar arası *thigmotaxis* davranışı ortalamaları karşılaştırıldığında GK'un *thigmotaxis* davranışı ortalaması GA1 ve GA5'e göre anlamlı kısa bulunmuştur (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,001$). İkinci, üçüncü ve dördüncü gün gruplar arası *thigmotaxis* davranışı ortalamaları karşılaştırıldığında; gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,32$, $p=0,09$, $p=0,37$) (Şekil 4).



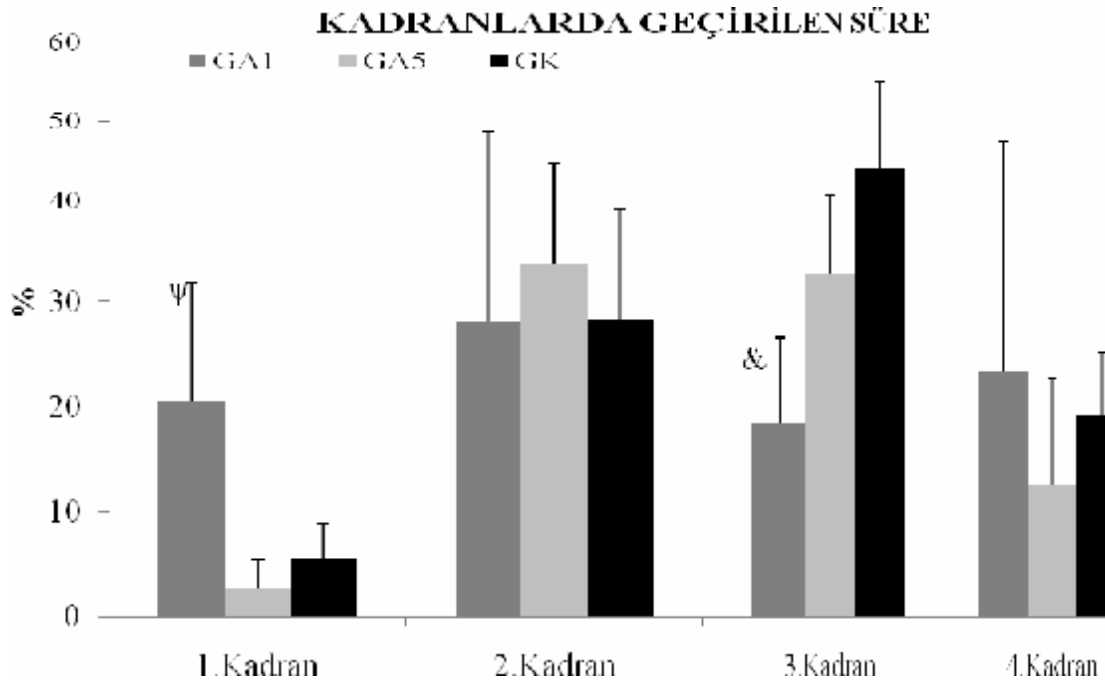
Şekil 4. Grupların *thigmotaxis* davranışı ortalama süreleri (¶ $p<0,05$; GK ile GA5 karşılaştırıldığında anlamlı kısa)

HATIRLAMA DENEMESİ (*PROBE TRIAL*)

PROBE TRIALDE KADRALARDA GEÇİRDİKLERİ SÜRE

Bellek değerlendirilmesi olan beşinci günde (*probe trial*) 1. kadranda geçirdiği süre ortalamaları karşılaştırıldığında GA1'in 1. kadranda geçirdiği süre ortalamasının GK ve GA5'e göre daha uzun olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0,001, p=0,004$). Hedef kadranda (3. kadranda) geçirdiği süre ortalaması karşılaştırıldığında; GA1'in 3. kadranda geçirdiği süre ortalamasının GK ve GA5'e göre daha kısa olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0,04, p=0,001$) (Şekil 5).

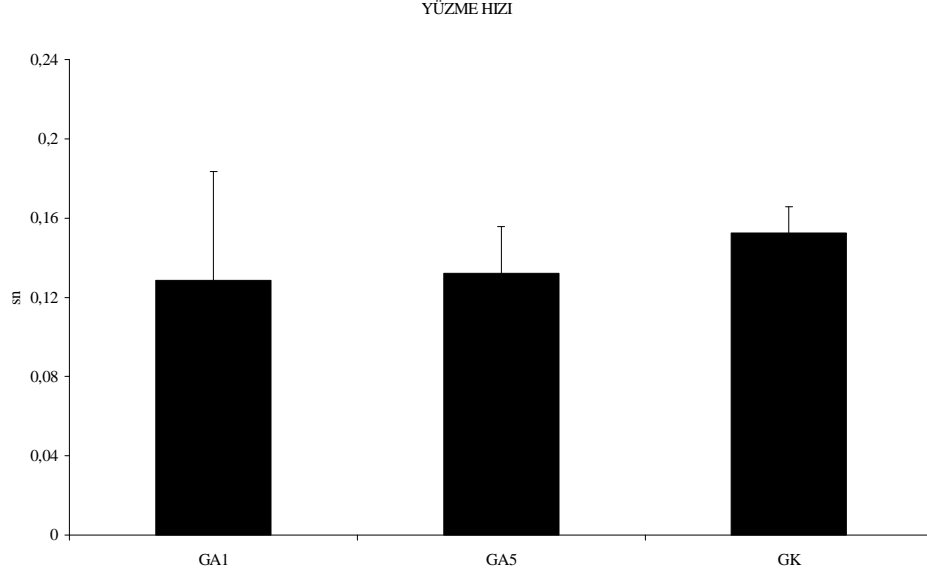
GA1 ve GA5'in GK ile ikinci kadranda ve dördüncü kadranda geçirdikleri süre ortalamaları karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,777$); $p=0,449$).



Şekil 5. Grupların bellek değerlendirilmesi (*probe trial*) ($\psi p<0,05$ GA1 ile GA5 ve GK karşılaştırıldığında anlamlı uzun, & $p=0,05$ GA1 ile GA5ve GK karşılaştırıldığında anlamlı kısa)

YÜZME HIZI

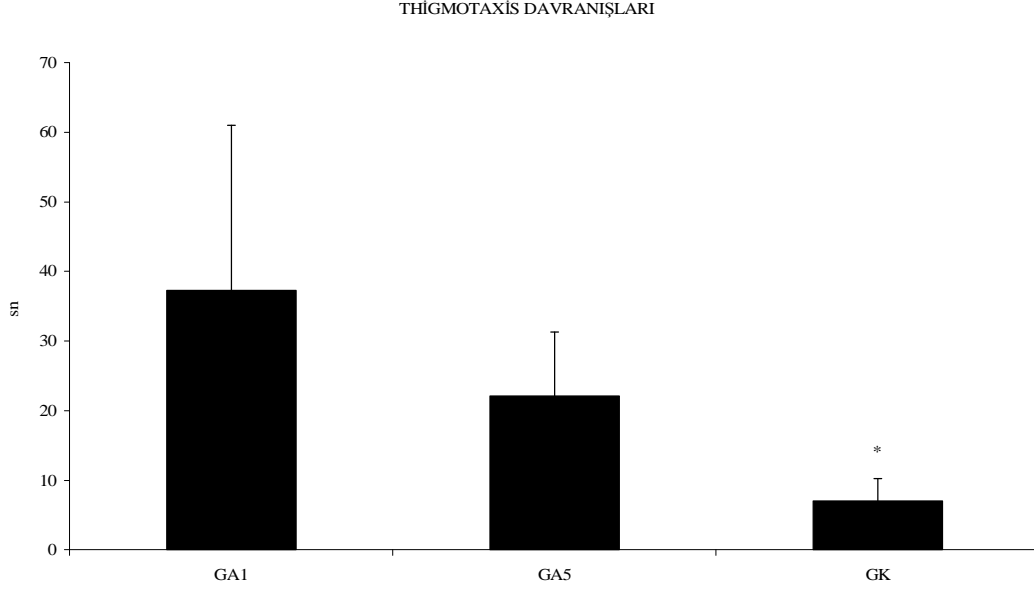
Bellek değerlendirilmesi olan beşinci günde gruplar arası yüzme hızı ortalamaları karşılaştırıldığında; gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,370$) (Şekil 6).



Şekil 6. *Probe trialde* yüzme hızları

THİGMOTAXİS DAVRANIŞLARI

Probe trialde thigmotaxis davranışı ortalaması karşılaştırıldığında; GK *thigmotaxis* davranışı ortalaması GA1'e göre daha kısa olduğu saptandı ($p=0,007$) GK ile GA5 arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,224$) (Şekil 7).



Şekil 7. *Probe trial*'de *thigmotaxis* davranışı (* $p<0.05$ GK ile GA1 karşılaştırıldığında anlamlı kısa)

TARTIŞMA:

Bu çalışmada, yeni doğan dönemdeki ratlara uygulanan izofluran anestezisinin uzun dönemde öğrenme ve bellek testlerini bozduğu saptanmıştır.

İzofluran anestezisi uygulanan ratların, MST' deki performanslarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha kötü performans gösterdiği saptanmasına rağmen beş kez anestezi uygulamasının bir kez anestezi uygulamasına göre öğrenme ve bellek performansının daha iyi olması beş kez izofluran uygulamasının bu fonksiyonlar üzerine koruyucu etkilerinin olduğunu düşündürmektedir.

Anesteziyle indüklenen nöroapoptoz çalışmalarında ve davranış testlerinde denek olarak sıklıkla rat kullanıldığı için çalışmamızda, gelişmekte olan memeli beyinde anesteziyle indüklenen nörotoksisite ve nörokognitif bozukluğu araştırmak üzere *Wistar* türü ratlar kullanılmıştır (1,40,41).

Anestezinin indüklediği uzun dönem nörokognitif bozuklukların saptanması için uzaysal referans hafızasını değerlendiren, MST ve *radyal arm maze* (radiyal kol labirent) testleri uygulanmaktadır (1,42,43). Kemirgenlerde uzaysal bellek hipokampal lezyonlardan etkilendiği için genellikle bu testler hipokampal bağımlı olarak kabul edilmektedir (13). İnfant ratlarda oluşan fokal hipokampal lezyonlar ciddi uzaysal hafıza kusurları oluşturduğu ve bu kusurların genç erişkin ve erişkin dönemde de devam ettiği bilinmektedir (11-13). Anterior talamik nükleuslar ve prefrontal korteks gibi diğer beyin yapılarını etkileyen lezyonlar da bu davranışsal bozuklukları taklit edebilmektedir (13). Bu testlerden üniversitemiz Fizyoloji laboratuvarında mevcut olan MST testi kullanılmıştır.

Yenidoğan döneminde kullanılan anestezik ajanlara bağlı gelişebilecek nörokognitif bozukluğun saptanması için MST testlerinin yapılma zamanı ile ilgili görüş birliği bulunmamaktadır. Bu testte performansın artmasında tekrarlamalar önemlidir. Deneme sayısı arttıkça hayvan ipuçlarını daha iyi değerlendirip hafızasına kaydetmekte ve özel haritalar oluşturarak daha sonraki denemelerde platformun yerini daha kolay bulmaktadır (44-48). Bu çalışmada izofluranın geç dönem etkileri araştırılması planlandığı için öğrenme testleri anestezi uygulamasından altı hafta sonra yapılmıştır.

Morris Su Tankı testi uygulanan hayvanlarda öğrenme performansının bozulması her zaman uzaysal öğrenmenin bozulduğunu göstermemekte, hayvanın bulunduğu ortamdaki rahatsız olması veya korkması da öğrenme performansını etkilemektedir (49). Bu deneylerde ratların cinsiyetlere göre de farklı davranışlar sergilediği, bu durumun hormonal farklılık ve hipokampus gelişimindeki farktan kaynaklandığı ve özellikle uzaysal öğrenmenin

değerlendirilmesinde erkek cinsiyetin daha uygun olduğu saptanmıştır (30-32). Ancak çalışmamızda yedi günlük ratlarda cinsiyet belirleme imkanı olmadığı için izofluran uygulaması öncesi annelerinin yanından rastgele alınan ratların cinsiyetine önem verilmemiştir.

Bellek değerlendirilmesi olan beşinci gün deneyinde (*probe trial*) ratların en az karşı kadranda bulunmaları beklenmektedir. *Probe trial*'de ölçülmek istenen, hedef kadranda geçirdiği süre ile bellek fonksiyonunun değerlendirilmesidir. Bir kez grubunun diğer gruplara göre hedef kadranda daha az ($p<0.001$), karşı kadranda ise daha fazla zaman geçirdiği gözlenmiştir ($p<0.05$). Tekrarlayan anestezi uygulamalarında, hedef kadranda geçirilen sürenin bir kez uygulanan gruptan daha fazla olduğu fakat kontrol grubundan daha az olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada izofluran uygulamasının bellek fonksiyonlarını bozduğuna ancak tekrarlayan uygulamaların geç dönemde bir miktar koruyucu etki gösterdiğine dair veriler elde edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları Su ve ark.'nın (50) erken dönemde yaptıkları (anesteziden 48 saat sonra) MST testinin sonuçlarına benzemektedir. Bu çalışmacılar anesteziden iki hafta sonra yaptıkları MST testinde kontrol, bir kez ve beş kez izofluran grupları arasında fark bulamamışlardır. Bu bulguların nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte araştırmacılar Rammes ve ark.'nın (51) izofluran uygulamasından 24 saat sonra hipokampal nöronlarda saptadığı NMDA reseptörlerinin NR2B alt grubundaki artışın erken dönemdeki iyileşmeden sorumlu olabileceğini belirtmişlerdir.

İzofluranın öğrenme ve bellek üzerine etkileri daha önce de araştırılmış ancak çeşitli çalışmacılar tarafından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Culley ve ark.'nın (47) çalışmasında, altı aylık ratlarda iki saat %1.2 izofluran ve %70 N₂O/ %30 O₂ uygulamasının, anesteziden sonraki dönemde uygulanan labirent (*12-arm maze*) testindeki performansı kötü etkilediği gösterilmiştir. Crosby ve ark. (52) iki saat %1.2 izofluran ve %70 nitroz oksit uygulamasının iki hafta sonra yaptıkları *12-arm maze* testinde sonuçları iyileştirdiğini saptamışlardır. Rammes ve ark. (51) %1.33 izofluran uygulamasının öğrenmeyi indüklediğini belirtmişlerdir. Ancak Butterfield ve ark. (53) erişkin farelerde ne tek ne de tekrarlayan izofluran uygulamalarının öğrenme üzerine etkisini gösterememişlerdir.

Palanisamy ve ark.'nın (7) yaptıkları çalışmada 14. gestasyonel haftadaki ratlarda (insanda ikinci trimester) dört saat %1,4 izofluran ve %100 oksijen uygulanmış ve postnatal sekizinci haftada yavru ratlarda spontan lökomotor aktivite, hipokampal öğrenme ve bellek ve anksiyete durumları değerlendirilmiş, sonuçta fetal beynin maternal anesteziden olumsuz etkilendiği ve izoflurana yaşamın erken evrelerinde maruziyetin daha fazla nörogelişimsel sorunlara neden olabileceği ileri sürülmüştür.

Yaşamın erken dönemlerinde sık kullanılan anestezi ajanlarına bağlı uzun dönemde davranışsal değişikliklerin olduğunu gösteren prelinik kanıtlar bulunmaktadır (7). Anestezi ajanlarından izofluranın, yaşa bağlı olarak hem nörotoksik hem nöroprotektif etkileri bildirilmiştir (8). Erişkin farelere %1 konsantrasyonda izofluran uygulaması sonrası hipokampüste apoptotik nörodejenerasyon olduğu gösterilmiştir (9). Fakat yenidoğan ratlarda tekrarlayan izofluran uygulamasının öğrenme ve bellek üzerine etkileri incelenmemiştir.

Yapılan çalışmalarda ikinci dekattan önceki maruziyetlerde genel anesteziye bağlı nöronal hasarın ve nörokognitif bozuklukların daha sık olduğu gözlenmiştir. Neonatal farelerde izofluran uygulamasını takiben fizyolojik apoptoziste artma ve nöronal dansitede azalma olduğu ve yaygın nörodejenerasyon olduğu saptanmıştır fakat neden olan mekanizmalar hala açıklanamamıştır (54).

İzofluranın yeni doğmuş ve bir yaşındaki hayvan beyinde toksik olduğu, yaşlılıkta ise postoperatif kognitif bozukluklara neden olduğu bulunmuştur (50). Yedi günlük rat beyinde, NMDA reseptör antagonistlerinden; N₂O, GABA_A'erjik ajanlardan; izofluran ve midazolam ile iki saatlik anestezi uygulamasından 18 saat sonra masif hücre ölümüne neden olmuştur. Neonatal ratlarda, anestezinin indüklediği hücre ölümleri nörokognitif hasarlarla ilişkilidir ve anesteziden aylar sonra bile gösterilebilir. Anestezi uygulanan neonatal ratlarda, öğrenmede ilerleyici bozuklukların ve sosyal davranış disfonksiyonlarının geliştiği, dört yaşından küçük çocuklarda ise uygulanan anestezi ajanlarının sinaptogenez döneminde nörotoksosite yaptığı gözlenmiştir (8).

Çalışmamızda izofluran uygulanan bütün ratların Morris su tankındaki başarıları ve *probe trial*'da hedef kadranda kalma süreleri kontrol grubuna göre daha kötü olarak bulunmuştur. Bu bulgular yenidoğan dönemindeki ratlara %1,5 konsantrasyonda ki iki saatlik izofluran uygulamasının öğrenme ve bellek fonksiyonlarını ilerleyen dönemlerde bozduğunu desteklemektedir.

Deneyin ilk gününde bir kez grubunun yüzme hızı ve *thigmotaxis* gibi anksiyete göstergesi olarak kullanılan davranışlarda diğer gruplara göre artış olduğu görülmüştür. Yüzme hızındaki farklılığın bu grubun anksiyete seviyesinin yüksek olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Palanisamy ve ark.'nın (7) maternal dönemde uyguladıkları dört saatlik %1,4 izofluran anestezisinden sonra yetişkin döneme gelen yavru ratlarda yapılan anksiyete testlerinden *elevated plus maze*'de elde edilen verilerden, anksiyetenin azaldığı fakat diğer anksiyete testlerinde kontrol grubu ile aralarında fark olmadığı saptanmıştır.

Halotan, desfluran ve sevofluranın kronik subanestezik dozlarda (%0,1, %0,3, % 0,6 konsantrasyonda 30 gün boyunca 4 saat) anksiyete oluşturduğu gösterilmiştir. Çalışmacılar inhalasyon anesteziklerinin neden olduğu davranış bozukluklarını mental fonksiyon bozuklukları, anksiyetede artış, psikomotor performans ve öğrenmede bozukluk olarak sınıflamışlardır (55). Levin ve ark. (56) benzer şekilde yenidoğan döneminden itibaren tekrarlayan düşük konsantrasyonda halotan uygulamalarının ratlarda erişkin dönemlerinde davranış bozukluklarına neden olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar halotanın bu etkisini hipokampus ve neokortekste sinaptogenezi baskılaması ve dendritik ağacın büyümesinin gecikmesine neden olmasına bağlamışlardır. Fredriksson ve ark. (57) neonatal dönemde NMDA ve GABA_A üzerinden etki gösteren anesteziklerin kullanımında ileriki dönemlerde öğrenme ve davranış bozukluklarının ortaya çıktığını, diazepamın anksiyolitik etkinliğinin azaldığını göstermişlerdir. Anesteziklerin bu etkisini nöronal apoptoza (özellikle olfaktor sistemde) bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. İzofluranın da hipokampüste apoptotik nörodejenerasyon yaptığı gösterilmiştir (9). Bu çalışmalar gelişmekte olan rat beyinde anesteziklerin hücre ölümüne, ilerleyen yaşlarda ise anksiyete, öğrenme ve davranış bozukluklarına neden olabileceğini göstermektedir.

Literatürde anksiyete çalışmalarında kullanılması en uygun olan testin *elevated plus maze* olduğu bildirilmektedir (55). Açık alan taskı (veya MST) gibi stresli bir ortama bırakılan ratlarda ise *thigmotaxis* genel anksiyeteyi ölçmekte kullanılmaktadır (58). Çalışmamızda primer olarak anksiyete araştırılması planlanmamıştır bu nedenle *elevated plus maze* testi değil öğrenme ve bellek değerlendirilmelerinde kullanılan MST testi tercih edilmiştir.

Yetişkin ve yaşlı ratlarda bir kez izofluran uygulanması ile nörokognitif fonksiyonlar ve öğrenme performanslarında değişiklik olmadığını gösteren yayınlar mevcuttur (53).

Culley ve ark.'nın (45) çalışmasında, iki saatlik %1.2 izofluran, %70 N₂O ve %30 O₂ verilen genç (altı aylık) ve yaşlı (18 aylık) ratlarda anesteziden sekiz hafta sonra yapılan labirent testinde (*12-arm radial maze*) gençlerde hata yapma oranının azaldığı, yaşlılarda ise beyin dokusunun genç beyin dokusundan farklılıkları nedeniyle anesteziklere daha fazla duyarlı olmasıyla hem hata oranında hem de test tamamlama süresinde artış olduğu bulunmuştur.

Valentim ve ark. (9) %1, %1,5 ve %2 konsantrasyonda bir kez bir saatlik izofluran anestezisi uyguladıkları çalışmalarında, %1 konsantrasyonda izofluran verilen erişkin farelerde diğer gruplara göre daha yüksek oranda hipokampal apoptoz ve uzaysal hafızada bozulma olduğunu saptamışlardır.

Anestezi altındaki yenidoğan ratların hemodinamik ve solunumsal monitörizasyonları küçük boyutlarından dolayı teknik olarak uygulanabilir olmadığından ve elimizdeki cihazların, hemodinamiyi etkilemeyecek düzeyde alınan küçük kan volümlerinde (100 mikrolitre) ölçüme uygun olmadığından, çalışmamızda deneklere hemodinamik monitörizasyon ve arteriyel kan gazı analizi yapılamamıştır. Daha önce yapılmış çalışmalarda, gruplardan randomize olarak seçilen birer rattan alınan arteriyel kan gazı analizi sonuçlarında herhangi bir metabolik ve solunumsal anormallik saptanmamış ve kan glukoz düzeyleri normal sınırlarda olduğu tespit edilmiştir (59-61). Aynı düzeneğin kullanıldığı çalışmamızda bu veriler değerlendirilerek kan gazı örneklendirilmesi yapılmamıştır.

Çalışmamızda patoloji incelemesi yapılmamıştır. Öğrenme ve bellek testlerinde saptadığımız bozulmalar patolojik değerlendirme ile karşılaştırılamamıştır. Diğer kısıtlamamızda bu olabilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER:

Sonuç olarak; bu çalışmada yenidoğan döneminde %1,5 konsantrasyondaki izofluran uygulamasının ergenlik döneminde yapılan öğrenme ve bellek testlerinde bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir.

KAYNAKLAR:

1. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff DN et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci* 2003;23:876–82.
2. Ikonomidou C, Bittgau P, Koch C, Genz K et al. Neurotransmitters and apoptosis in the developing brain. *Biochem Pharmacol* 2001;62:401–5.
3. Campagna JA, Miller KW, Forman SA. Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. *N Engl J Med* 2003;348:2110–24
4. Varju P, Katarova Z, Madarasz E, Szabo G. GABA signalling during development: new data and old questions. *Cell Tissue Res* 2001;305:239–46
5. De Lima AD, Opitz T, Voigt T. Irreversible loss of a subpopulation of cortical interneurons in the absence of glutamatergic network activity. *Eur J Neurosci* 2004;19:2931–43
6. Johnson SA, Young C, Olney JW. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the developing brain of nonhypoglycemic mice. *J Neurosurg Anesthesiol* 2008;20:21–8
7. Palanisamy A, Baxter G. Mark. Rats Exposed to Isoflurane In Utero during Early Gestation Are Behaviorally Abnormal as Adults. *Anesthesiology* 2011; 114:521– 8
8. Liang, M.D., Christopher Ward, Jun Peng, Yifan Zhao. Isoflurane Causes Greater Neurodegeneration Than an Equivalent Exposure of Sevoflurane in the Developing Brain of Neonatal Mice. *Anesthesiology* 2010; 112:1325–34
9. Valentim Ana M, Giminiani Pierpaolo Di. Lower Isoflurane concentration affects spatial learning and neurodegeneration in adult mice compared with higher concentrations. *Anesthesiology* 2010 113:1099-1108
10. Almlı CR, Levy TJ, Han BH, Shah AR, Gidday JM, Holtzman DM: BDNF protects against spatial memory deficits following neonatal hypoxia-ischemia. *Exp Neurol.* 2000; 166: 99–114
11. Chou IC, Trakht T, Signori C, et al: Behavioral/environmental intervention improves learning after cerebral hypoxia-ischemia in rats. *Stroke* 2001; 32: 2192–97
12. Young RS, Kolonich J, Woods CL, Yagel SK: Behavioral performance of rats following neonatal hypoxia-ischemia. *Stroke* 1986; 17:1313–16.
13. Aggleton JP, Brown MW. Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behav Brain Sci* 1999;22:425– 44.
14. Esener Z. İnhalyasyon anesteziikleri. *Klinik Anestezi* 2004:84-96

15. Wakasugi M, Hirota K, Roth Sh, Ito Y. The effect of general anesthetics on excitatory and inhibitory synaptic transmission in area CA1 of the rat hippocampus in vitro. *Anesth Analg* 1999;88:676-80.
16. Nishikawa K, MacIver M. Agent-selective effects of volatile anesthetics on GABA_A receptor-mediated synaptic inhibition in hippocampal interneurons. *Anesthesiology* 2001;94:340-7.
17. Miller Ronald D. *Anesthesia*, 5th edition, Churchill Livingstone, 2000. Chapter 4, Edmond I Eger, Uptake and Distribution
18. Fodale V, Quattrone D, Trecroci C, Caminiti V, Santamaria LB. Alzheimer's disease and anaesthesia: implications for the central cholinergic system. *Br J Anaesth* 2006; 97: 445-52
19. Götz J, Ittner LM. Animal models of Alzheimer's disease and frontotemporal dementia *Nat Rev Neurosci.* 2008;9:532-44.
20. Yang H, Liang G, Hawkins BJ, Madesh M et al. Inhalational anesthetics induce cell damage by disruption of intracellular calcium homeostasis with different potencies. *Anesthesiology* 2008;109:243-50.
21. Wei H, Xie Z. Anesthesia, calcium homeostasis and Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2009;6:30-5.
22. Tüzüner F. . İnhalasyon Anestezikleri. *Anestezi Yoğun Bakım Ağrı.* 2010:157-179
23. Morgan G.E, Mikhail M, Murray M. İnhalasyon Anestezikleri. *Lange Klinik Anesteziyoloji* 2008:155-178
24. Fang ZX, Eger EI, Laster MJ, Chortkoff BS et al. Carbon monoxide production from degradation of desflurane, enflurane, sevoflurane, isoflurane and halothane by sodalime and baralyme. *Anesth Analg* 1995;80:1187-93.
25. Ines P. Koerner and Ansgar M. Brambrink. Brain protection by anesthetic agents. *Current Opinion in Anaesthesiology* 2006;19:481–86
26. Schifilliti D, Grasso G, Conti A, Anaesthetic-related neuroprotection: intravenous or inhalational agents? *Fodale VCNS Drugs.*2010;24(11):893-907
27. Preckel B, Bolten J. Pharmacology of modern volatile anaesthetics. *Best Prac Res Clin Anaesth* 2005;19:331-48
28. Kesner RP, Hopkins RO. Mnemonic functions of the hippocampus: A comparison between animals and humans. *Biol Psychol* 2006;73:3-18.

29. Pereria LO, Arteni NS, Peterson RC, Padilha da Rocha A et al. Effects of daily environmental enrichment on memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Neurobiol Learn Mem.* 2007;87:101-8.
30. Szyndler J, Piechal A, Blecharz-Klin K, Skórzewska A et al. Effect of kindled seizures on rat behavior in water Morris maze test amino acid concentrations in brain structures. *Pharmacological Reports* 2006;58:75-82.
31. Nowakawska E, Kus K, Czubak A, Glowacka D et al. Some behavioural effects of carbamazepin-comparison with haloperidol. *J Physiol Pharmacol* 2007;58:253-64.
32. Nicholas A, Munhoz CD, Ferguson D, Campbell L et al. Enhancing cognition after stress with gene therapy. *J Neurosci.* 2006;26:11637-43.
33. D'Hooge RD, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res. Rev* 2001;36:60-90.
34. Lieben CK.J, Oorsouw KV, 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;151:53-64.
35. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 1984;11:47-60
36. Yun YJ, Lee B, Hahm DH, Kang SK et al. Neuroprotective effect of palmul-chongmyeong-tang and ischemia-induced learning and memory deficits in the rat. *Biol Pharm Bull* 2007;30:337-42.
37. 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;85:345-55.
38. Stratmann G, Jeffrey W.Sall. Isoflurane Does Not Affect Brain Cell Death, Hippocampal Neurogenesis, or Long-term Neurocognitive Outcome in Aged Rats. *Anesthesiology* 2010; 112:305–15
39. Liang M, Ward C. Isoflurane Causes Greater Neurodegeneration Than an Equivalent Exposure of Sevoflurane in the Developing Brain of Neonatal. *Anesthesiology* 2010;112:1325-34
40. Young C, Jevtovic-Todorovic V, Qin YQ, Tenkova et al. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain. *Brit J Pharmacol* 2005;146:189–97.
41. Zhang X, Xue Z, Sun A. Subclinical concentration of sevoflurane potentiates neuronal apoptosis in the developing C57BL/6 mouse brain. *Neurosci Lett* 2008;447:109–14.

42. Fredriksson A, Archer T, Alm H, Gordh T et al. Neurofunctional deficits and potentiated apoptosis by neonatal NMDA antagonist administration. *Behav Brain Res* 2004;153:367–76.
43. Satomoto M, Satoh Y, Terui K, Miyao H et al. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Anesthesiology* 2009;110:628–37.
44. Stratmann G, Sall JW, May LD, Bell JS et al. Isoflurane differentially affects neurogenesis and long-term neurocognitive function in 60-day-old and 7-day-old rats. *Anesthesiology* 2009; 110:834–48.
45. Culley DJ, Baxter M, Yukhananov R, Crosby G. The memory effects of general anesthesia persist for weeks in young and aged rats. *Anesth Analg* 2003;96:1004–9.
46. Culley DJ, Baxter MG, Crosby CA, Yukhananov R et al. Impaired acquisition of spatial memory 2 weeks after isoflurane and isoflurane-nitrous oxide anesthesia in aged rats. *Anesth Analg* 2004;99:1393–7.
47. Culley DJ, Baxter MG, Yukhananov R, Crosby G. Long-term impairment of acquisition of a spatial memory task following isoflurane-nitrous oxide anesthesia in rats. *Anesthesiology* 2004;100:309–14.
48. Culley DJ, Raghavan SV, Waly M, Baxter MG et al. Nitrous oxide decreases cortical methionine synthase transiently but produces lasting memory impairment in aged rats. *Anesth Analg* 2007;105:83–8.
49. Hölscher C. Stress impairs performance in spatial water maze learning tasks. *Behav Brain Res* 1999;100:225-35
50. Su D, Y. Zhao, B.Wang, Repeated but not single isoflurane exposure improved thespatial memory of young adult mice. *ACTA Anaesthesiologica Scandinavia* 2011;55:468-73.
51. Rammes G, Starker LK, Haseneder R, Berkmann J, Plack A, Zieglgansberger W, Ohl F, Kochs EF, Blobner M. Isoflurane anaesthesia reversibly improves cognitive function and long-term potentiation (LTP) via an up-regulation in NMDA receptor 2B subunit expression. *Neuropharmacology* 2009; 56: 626–36.
52. Crosby C, Culley DJ, Baxter MG, Yukhananov R, Crosby G. Spatial memory performance 2 weeks after general anesthesia in adult rats. *Anesth Analg* 2005; 101: 1389–92.

53. Butterfield NN, Graf P, Ries CR, MacLeod BA. The effect of repeated isoflurane anesthesia on spatial and psychomotor performance in young and aged mice. *Anesth Analg* 2004;98:1305–11.
54. George K. General anesthetics and developing brain. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009;22:368-73.
55. Özer M, Barış S, Karakaya D. Behavioural effects of chronic exposure to subanesthetic concentrations of halothane, sevoflurane and desflurane in rats. *Can J Anesth* 2006;53(7) 653–58.
56. Levin ED, Bowman RE. Behavioral effects of chronic exposure to low concentrations of halothane during development in rats. *Anesth Analg* 1986;65:653-9
57. Fredriksson A, Pontén E, Gordh T, Eriksson P. Neonatal exposure to a combination of N-Methyl-Daspartate and γ -Aminobutyric Acid Type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits. *Anesthesiology* 2007; 107:427–36
58. Miller BH, Schultz LE, Gulati A, Su AI, Pletcher MT. Phenotypic characterization of a genetically diverse panel of mice for behavioral despair and anxiety. *PLoS One*. 2010; 29;5(12):e14458.
59. İşgüven D. Desfluran' ın yenidoğan ratlarda nörotoksisitesi, öğrenme ve bellek üzerine etkisinin incelenmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi
60. Özel Ö. Yenidoğan ratlarda gece-gündüz izofluran uygulamasının öğrenme ve bellek üzerine etkisinin araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi
61. Alper D. Sirkadiyen ritmin izofluran uygulanan yenidoğan ratlarda nörotoksisite üzerine etkisinin araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Toplantı No : 10/08/2011
Toplantı Tarihi : 15 Nisan 2011

Sayın, Uzm.Dr.Elvan ÖÇMEN
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

01/2011 Protokol No'lu; Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Uzm.Dr.Elvan ÖÇMEN yürütücüsü olduğu "Yenidoğan ratlarda tekrarlayan izofluran uygulamasının Alzheimer Hastalığı patogenezi ve öğrenme bellek üzerindeki etkileri" isimli projede; Dr.Çiğdem GÜMÜŞGERDANLI'nın proje sorumlusu, Fizyoloji Anabilim Dalından Yard.Doç.Dr.Ayfer DAYI ve Araş.Gör.Ferihan ÇETİN'in öğrenme ve bellek testlerini yapmak üzere eklenmeleri hususunda bilgi edinilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.


Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik
Kurul Başkanı

Prof.Dr.A.Necati GÖKMEN
Başkan Yardımcısı
(Araştırmacı)


Prof.Dr.Alper SOYLU
Üye

Prof.Dr.Ayşe GELAL
Üye (topl.katılmadı)


Prof.Dr.Selman SÖKMEN
Üye

Prof.Dr.O.Nejat SARIOSMANOĞLU
Üye

Prof.Dr.Abdullah KUMRAL
Üye(topl.katılmadı)

Prof.Dr.A.Hüseyin BASKIN
Üye(topl.katılmadı)

Doç.Dr.Turna İLKNUR
Üye(topl.katılmadı)

Doç.Dr.H.Alper BAĞRIYANIK
Üye

Doç.Dr.Tonay İNCEBOZ
Üye

Vtr.Hekim Adnan SERPEN
Üye

Ayşe Nur BALIN
Üye

Doç.Dr.Şermin GENÇ
Üye (topl.katılmadı)