



T.C.

BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON

ANABİLİM DALI

**TEKRARLAYAN ANESTEZİDE KULLANILAN
PROPOFOL VE KETAMİNİN RATLARDA NÖROKOGNİTİF
FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih BOZKURT

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi İsmail SÜMER

AĞUSTOS 2024

BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON

ANABİLİM DALI

TEKRARLAYAN ANESTEZİDE KULLANILAN
PROPOFOL VE KETAMİNİN RATLARDA NÖROKOGNİTİF
FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Fatih BOZKURT

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi İsmail SÜMER

AĞUSTOS 2024

Bu tez Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
20231208 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nın Tıpta Uzmanlık Öğrencisi Dr. Fatih BOZKURT ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **“Tekrarlayan Anesteziye Kullanılan Propofol ve Ketaminin Ratlarda Nörokognitif Fonksiyonlar Üzerine Etkisi”** başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi İsmail SÜMER
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Hayrettin DAŞKAYA
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

Doç. Dr. Sedat AKBAŞ
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Asım ESEN
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

Yedek Üyeler : Doç. Dr. Harun UYSAL
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

Doç. Dr. Serdar YEŞİLTAŞ
Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

Teslim Tarihi : **18/07/2024**

Savunma Tarihi : **09/08/2024**

BEYAN FORMU

Uzmanlık tezi olarak sunduğum ‘‘Tekrarlayan Anesteziye Kullanılan Propofol ve Ketaminin Ratlarda Nörokognitif Fonksiyonlar Üzerine Etkisi’’ başlıklı bu çalışmayı baştan sona danışmanım Dr. Öğretim Üyesi İsmail SÜMER sorumluluğunda tamamladığımı, tezin planlamasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynakçada eksiksiz gösterdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Dr. Fatih BOZKURT

ÖNSÖZ

Tezimin her aşamasında beni yönlendiren, asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, gerek hayat gerekse meslek anlamında şahsi birikimi ve örneğiyle bana yol gösteren tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi İsmail SÜMER'e teşekkür ederim.

İhtisas eğitimimiz boyunca bilgi ve beceri kazanmamızda desteklerini esirgemeyen ve meslek anlayışımıza yön veren Prof. Dr. Kazim KARAASLAN'a, Prof. Dr. Murat HALİLOĞLU'na, Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ'a, Prof. Dr. Meltem TÜRKAY'a, Doç. Dr. Hayrettin DAŞKAYA'ya, Doç. Dr. Harun UYSAL'a, Doç. Dr. Sedat AKBAŞ'a, Doç. Dr. Serdar YEŞİLTAŞ'a, Dr. Öğr. Üyesi Asım ESEN'e, Dr. Öğr. Üyesi Muhittin ÇALIM'a, Öğr. Gör. Dr. Sinan YILMAZ'a, Öğr. Gör. Dr. Sait YILDIRIM'a, Öğr. Gör. Dr. Ayşe KARATAŞ'a ve Uzm. Dr. Şeyhamit ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Bu serüveni güzelleştiren ve kolaylaştıran başta ilk yol arkadaşlarım, değerli dostlarım Dr. Hilal YILDIRIM, Dr. Aylin Ceren ŞANLI, Dr. Saadet ÖZTOP nezdinde tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tezimin deney sürecinde emek ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Savaş ÜSTÜNOVA, Doç. Dr. Huri DEDEAKAYOĞULLARI, Öğr. Gör. Aysu KILIÇ ve tüm Bezmialem Deney Hayvanları Laboratuvarı ekibine teşekkür ederim.

Beş yıllık eğitimim boyunca birlikte çalışma şansı bulduğum, bu işin bir ekip işi olduğunu fark ettiren tüm mesai arkadaşlarıma, anestezi teknikeri, hemşire ve yardımcı sağlık personellerine teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük katkıya sahip, emeklerinin zerresine layık olabilmeyi amaç edindiğim canım annem ve babama, her daim varlıklarını yanı başımda hissettiğim güzel aileme, uzakları yakın eden can dostlarıma teşekkür ederim.

Koşulsuz her zaman yanımda olduğunu bildiğim, hayatın zorlu yollarını el ele zevkle yürüdüğüm, beslediğim büyük aşk ve sevgiyi bana yaşatan biricik eşim Dr. Çağla BOZKURT'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BEYAN FORMU	III
ÖNSÖZ	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	VIII
TABLoların LİSTESİ.....	X
KISALTMALAR	XI
ÖZET.....	XIII
SUMMARY	XV
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Sedasyon.....	4
2.1.1. Sedasyonun sınıflandırılması	4
2.1.1.1. Minimal sedasyon (Anksiyoliz)	6
2.1.1.2. Orta derecede sedasyon/analjezi (Bilinçli sedasyon).....	6
2.1.1.3. Derin sedasyon/analjezi	6
2.1.1.4. Genel anestezi	6
2.2. İlaçlar.....	7
2.2.1. Propofol.....	7
2.2.1.1. Farmakokinetiği	7
2.2.1.2. Kimyasal yapısı.....	7
2.2.1.3. Merkezi sinir sistemi üzerine etkisi.....	8
2.2.1.4. Kardiyovasküler sistem üzerine etkisi	8
2.2.1.5. Solunum sistemi üzerine etkisi	9
2.2.1.6. Uygulama şekli ve dozu	9
2.2.2. Ketamin	9
2.2.2.1. Farmakokinetiği	10
2.2.2.2. Kimyasal yapısı.....	11
2.2.2.3. Merkezi sinir sistemi üzerine etkisi.....	12
2.2.2.4. Kardiyovasküler sistem üzerine etkisi	13

2.2.2.5. Solunum sistemi üzerine etkisi	14
2.2.2.6. Uygulama şekli ve dozu	14
2.3. Öğrenme ve Bellek	15
2.3.1. Öğrenme	16
2.3.1.1. Öğrenme çeşitleri	16
2.3.2. Bellek	18
2.3.2.1. Bellek çeşitleri	18
2.3.3. Öğrenme ve belleğin değerlendirilmesi ve kullanılan testler	22
2.3.3.1. Hayvan deneylerinde kullanılan davranış testleri	24
2.4. Nörokognitif Fonksiyonlar	28
2.4.1. Anatomi-Fizyoloji	28
2.4.2. Postoperatif kognitif disfonksiyon (POKD)	30
2.5. Biyokimyasal Belirteçler	33
2.5.1. İnflamasyon belirteçleri	33
2.5.2. Öğrenme belirteçleri	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Güç Analizi	36
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	36
3.3. Deney Protokolü	37
3.3.1. İlaç enjeksiyonları	38
3.4. Öğrenme ve Bellek İşlevlerini Değerlendirmeye Yönelik Testler	39
3.4.1. Pasif sakınma testi	39
3.4.2. Morris su labirenti testi	40
3.4.3. Biyokimyasal analizler	42
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	43
4. BULGULAR	44
4.1. Pasif Sakınma Testi	48
4.2. Morris Su Labirenti Testi	49
4.2.1. Öğrenme periyodu	49
4.2.2. Test periyodu	52
4.3. Biyokimyasal Analizler	54

4.3.1 Tümör nekroz faktör- α (TNF- α)	55
4.3.2. İnterlökin 1 β (IL-1 β)	55
4.3.3. İnterlökin 6 (IL-6)	56
4.3.4. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)	57
4.3.5. Nükleer faktör kapa B (NF- κ B)	58
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ	67
7. KAYNAKLAR.....	68



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 2-1: İndüksiyon sonrası ketaminin plazma düzeyi	10
Şekil 2-2: Ketaminin ve fensiklidinin yapısı	11
Şekil 2-3: Ketaminin kimyasal formülü	12
Şekil 2-4: Pasif sakınma test düzeneğinin şematik gösterimi	25
Şekil 2-5: Morris su labirenti şeması	27
Şekil 2-6: Çevresindeki görsel ipuçlarıyla birlikte Morris su labirenti örneği	27
Şekil 2-7: Anestezi ilaçlarının inflamasyon belirteçleri üzerine etkilerinin şematik gösterimi.....	33
Şekil 3-1: Deneyin zaman çizelgesi.....	35
Şekil 3-2: Denek olarak kullanılan Sprague Dawley cinsi ratlar.....	35
Şekil 3-3: Ratların grup ve numara metoduyla kimliklendirilmiş halleri.....	36
Şekil 3-4: Ratlara intraperitoneal yoldan ilaç uygulaması.....	38
Şekil 3-5: A: Deneyde kullanılan pasif sakınma testi düzeneği B: Aydınlık bölmeden karanlık bölmeye geçen rat C: Kapı açıldığında aydınlık bölmede kalma eğilimi gösteren bir denek.	39
Şekil 3-6: Deneyde kullanılan Morris su tankı ve ipuçlarını kullanarak platformu bulmaya çalışan bir deney hayvanı.	40
Şekil 3-7: EthoVision sisteminden deney verilerinin kayıt edilmesi ve takibi.....	41
Şekil 4-1: Sedasyon altında, spontan solunumdayken tartılan bir deney hayvanı.....	44
Şekil 4-2: Deney gruplarının günlere göre ortalama ağırlıkları	45
Şekil 4-3: Deney gruplarının 5 günlük ortalama anestezi süreleri.	46
Şekil 4-4: Deney gruplarının 5 günlük ortalama derlenme süreleri.	47
Şekil 4-5: Grupların pasif sakınma testi sırasında karanlık bölmeye geçiş latansı....	48
Şekil 4-6: Grupların günlere göre platform bulma süreleri	49
Şekil 4-7: Gruplarının günlere göre kat ettiği mesafe	50
Şekil 4-8: Grupların yüzme hızları	51
Şekil 4-9: Grupların platform bölgesinde geçirdikleri süre.....	52
Şekil 4-10: Grupların platform kadranına giriş frekansı.....	53
Şekil 4-11: Grupların platform bölgesine ulaşma latansı	53
Şekil 4-12: Hipokampus dokusundaki tümör nekroz faktör α (TNF- α) düzeyleri	55
Şekil 4-13: Hipokampus dokusundaki interlökin (IL-1 β) düzeyleri	55
Şekil 4-14: Hipokampus dokusundaki interlökin (IL-6) düzeyleri.....	56

Şekil 4-15: Hipokampus dokusundaki beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) düzeyleri..... 57

Şekil 4-16: Hipokampus dokusundaki nükleer faktör kappa B (NF-κB) düzeyleri... 58



TABLULARIN LİSTESİ

Tablo 2-1: Sedasyon sınıflaması.	5
Tablo 2-2: Kantitatif sedasyon skalası	5
Tablo 2-3: Ketaminin dozları	15
Tablo 2-4: Öğrenme ve bellek türlerinin sınıflandırılması.....	22
Tablo 2-5: Postoperatif kognitif disfonksiyon için risk faktörleri.....	32
Tablo 4-1: Morris su labirenti prop testinde gruplara göre platform bölgesinde geçirilen süre, platform kadranına giriş frekansı ve platform bölgesine ulaşma latansı.	52
Tablo 4-2: Gruplara göre hipokampus dokusundaki TNF- α , IL-1 β , IL-6, BDNF, NF- κ B düzeyleri	54

KISALTMALAR

- ABD:** Amerikan Birleşik Devletleri
ASA: Amerikan Anesteziyolojistleri Derneği
BCA: Bikinkoninik Asit
BDNF: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BİS: Bispektral İndeks
BSA: Bovin serum albumin
cm: Santimetre
CO₂: Karbondioksit
COX-2: Siklooksijenaz 2
CREB: cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein
CS: Koşullu uyaran (Conditional stimulus)
dk: Dakika
DNA: Deoksiriboz nükleik asit
DSM-IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4th edition
EEG: Elektroensefalogram
ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GABA: γ -aminobutirik asit
HCl: Hidrojen klorür
HDD: Hayvan davranış deneyi
IL- 1 β : İnterlökin 1 β
IL-6: İnterlökin 6
im: İntramüsküler
iv: İntravenöz
i.p.: İntraperitoneal
K-ATP: Potasyum-adenozin trifosfat
kg: Kilogram
L: Litre
LTP: Uzun süreli potansiyasyon
mA: Miliamper
mcg: Mikrogram
mg: Miligram

ml: Mililitre
MSS: Merkezi sinir sistemi
N₂O: Azot protoksit
nAChRs: Nikotinerjik asetilkolin reseptörü
NF-κB: Nükleer faktör kappa B
ng: Nanogram
NLRP3: NOD benzeri reseptör protein 3
nm: Nanometre
NMDA: N -metil-D-aspartat
NO: Azot Monoksit
O₂: Oksijen
pKa: Asidik iyonlaşma sabiti
PKA: Protein kinaz A
POKD: Postoperative kognitif disfonksiyon
Prof.: Profesör
TNF-α: Tümör Nekroz Faktör
Trk: Yüksek afiniteli protein kinaz reseptörü
US: Koşulsuz uyarın (Unconditional stimulus)

TEKRARLAYAN ANESTEZİDE KULLANILAN PROPOFOL VE KETAMİNİN RATLARDA NÖROKOGNİTİF FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Giriş ve Amaç: Postoperatif kognitif disfonksiyon (POKD), ameliyat sonrası sık görülen ve özellikle yaşlı hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde tehdit eden bir durumdur. Postoperatif hem merkezi sinir sisteminde hem de sistemik dolaşımda proinflamatuvar sitokinlerin artış düzeyi bilişsel gerilemenin derecesi ile ilişkili olabilir. Anestezik ajanlar, hem mikroglyal aktivasyona hem de nöroinflamasyona yol açabilmesi nedeniyle POKD için kritik bir risk faktörü olarak görülmektedir. Tekrarlayan propofol uygulamalarının nöroinflamasyonu tetikleyerek nörobilişsel bozukluğa neden olabileceği bildirilmiştir. Ketaminin ise hipokampusta TNF- α , IL-6, IL-1 β düzeylerini azalttığı ve otofajiyi engelleyerek hipokampusta nöronal kaybı koruyabileceği gösterilmiştir. Propofolün kullanımı ile ortaya çıkabilen nörokognitif disfonksiyonun ketamin ile birlikte kullanılarak azaltılabileceği düşüncesi, araştırmamızın hipotezini oluşturmaktadır. Bu çalışmada birincil amacımız tekrarlayan dozlarda propofol, ketamin ve ketamin+propofol uygulamalarının ratlarda nörokognitif fonksiyonlar, uzaysal öğrenme ve hafıza değişiklikleri üzerine etkilerini incelemektir. İkincil amacımız ise bu uygulamaların öğrenme (BDNF, NF- κ B) ve inflamasyon (TNF- α , IL-1 β , IL-6) belirteçleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda her biri 12 haftalık, ağırlıkları 410-570 gr arasında değişen 32 adet erkek Sprague Dawley cinsi rat sekizerli 4 gruba ayrıldı. Gruplar; Kontrol (K), Propofol (P), Ketamin (Ke), Ketamin+Propofol (KeP) grubu olarak adlandırıldı. Araştırmamızda ilk etapta tekrarlayan anestezi simülasyonu amacıyla gruplara 5 gün boyunca 24 saat arayla grup K 4 ml salin; grup P 150 mg/kg propofol; grup Ke 120 mg/kg; grup KeP 60 mg/kg ketamin+75 mg/kg propofol i.p. olarak uygulandı. Grup K dışındaki grupların anestezi ve derlenme süreleri kaydedildi. İki

gün dinlendirilen ratlar önce pasif sakınma testine, ardından Morris su labirenti testine tabi tutuldu. Davranış deneyleri sonrasında dekapite edilen ratların hipokampus dokuları izole edilerek inflamasyon belirteçleri (TNF-a, IL-1 β , IL-6) ve öğrenme belirteçleri (BDNF, NF- κ B) düzeyleri biyokimyasal testler aracılığıyla ölçüldü.

Bulgular: Tekrarlayan anestezi uygulanan gruplar arasında, grup P ve grup KeP'in anestezi süresi istatistiksel olarak anlamlı derecede daha uzun, grup Ke ve grup KeP'in derlenme süresi ise istatistiksel olarak anlamlı derecede daha kısa tespit edildi. Öğrenme ve bellek fonksiyonlarını değerlendirmek için yapılan pasif sakınma ve MSL testlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Biyokimyasal belirteçlere bakıldığında, IL-6 düzeyi grup KeP'e göre grup P ($p<0,001$) ve grup Ke'de ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az bulunurken, BDNF düzeyi tüm gruplarda grup K'ya göre daha düşük tespit edildi ($p<0,05$; $p<0,01$). TNF- α , IL-1 β ve NF- κ B düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Sonuç: Bu çalışmada, grup Ke ve grup KeP'de grup K'ya göre öğrenme ve bellek fonksiyonlarının olumsuz etkilendiği ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonuçları, tekrarlayan sedasyon uygulamalarında sıkça kullanılan propofol ve ketaminin kombine kullanımının POKD gelişimini arttırabileceğini göstermiştir. Bu bulgular doğrultusunda, bu ilaçların kombine kullanımı sırasında daha dikkatli olunması ve tekrarlayan anestezi uygulamalarında POKD gelişimi riskinin göz önünde bulundurulması gerektiğine inanıyoruz.

Anahtar Kelimeler: Postoperatif kognitif disfonksiyon, öğrenme, bellek, tekrarlayan anestezi uygulaması

THE EFFECT OF PROPOFOL AND KETAMINE USED IN REPETITIVE ANESTHESIA ON NEUROCOGNITIVE FUNCTIONS IN RATS

SUMMARY

Introduction and Objective: Postoperative cognitive dysfunction (POCD) is a common postoperative condition that seriously threatens the quality of life, particularly in elderly patients. Postoperative elevation of proinflammatory cytokines both in the central nervous system and in the systemic circulation may be related to the degree of cognitive decline. Anesthetic agents are considered a critical risk factor for POCD because they can lead to both microglial activation and neuroinflammation. It has been reported that repeated propofol administration may cause neurocognitive impairment by triggering neuroinflammation. Ketamine has been shown to decrease TNF- α , IL-6, IL-1 β levels in the hippocampus and may protect neuronal loss in the hippocampus by inhibiting autophagy. The hypothesis of our study is that neurocognitive dysfunction that may occur with the use of propofol may be reduced by using it together with ketamine. The primary aim of this study was to investigate the effects of repeated doses of propofol, ketamine and ketamine+propofol on neurocognitive functions, spatial learning and memory changes in rats. The secondary aim was to evaluate the effects of these applications on markers of learning (BDNF, NF- κ B) and inflammation (TNF- α , IL-1 β , IL-6).

Materials and Methods In our study, 32 male Sprague Dawley rats, each 12 weeks old and weighing between 410-570 g, were divided into 4 groups of 8 rats. The groups were named as Control (K), Propofol (P), Ketamine (Ke), Ketamine+Propofol (KeP) group. Initially, to simulate repeated anesthesia, the groups received the following treatments for 5 days at 24-hour intervals: group K received 4 ml saline; group P received 150 mg/kg propofol; group Ke received 120 mg/kg ketamine; and group KeP received 60 mg/kg ketamine + 75 mg/kg propofol (i.p.). The anesthesia and recovery times of the groups, except for group K, were recorded. After resting for two days, the

rats were first subjected to the passive avoidance test and then to the Morris water maze test. After the behavioral experiments, hippocampus tissues of decapitated rats were isolated and levels of inflammation markers (TNF- α , IL-1 β , IL-6) and learning markers (BDNF, NF- κ B) were measured by biochemical tests.

Results: Among the groups that underwent repeated anesthesia, the duration of anesthesia was statistically significantly longer in group P and group KeP, and the recovery time was statistically significantly shorter in group Ke and group KeP. No significant difference was found between the groups in passive avoidance and MSL tests performed to evaluate learning and memory functions ($p > 0.05$). When biochemical markers were analyzed, IL-6 level was significantly lower in group P ($p < 0.001$) and group Ke ($p < 0.05$) compared to group KeP, while BDNF level was lower in all groups compared to group K ($p < 0.05$; $p < 0.01$). No significant difference was observed between the groups in terms of TNF- α , IL-1 β and NF- κ B levels ($p > 0.05$).

Conclusion: : In this study, it was observed that learning and memory functions were negatively affected in group Ke and group KeP compared to group K, but this effect was not statistically significant. The results of the study showed that the combined use of propofol and ketamine, which are frequently used in repetitive sedation applications, may increase the development of POCD. Based on these findings, we believe that more caution should be exercised during the combined use of these drugs and the risk of POCD development should be considered in repeated anesthesia procedures.

Key Words: Postoperative cognitive dysfunction, learning, memory, repeated anesthesia

1 GİRİŞ ve AMAÇ

Postoperatif kognitif disfonksiyon (POKD), ameliyat sonrası sık görülen ve özellikle yaşlı hastaların yaşam kalitesini ciddi şekilde tehdit eden bir hastalıktır. POKD ile ilgili altta yatan patogenez hala kesin değildir. Genel olarak POKD, demans, depresyon ve alzheimer hastalığı gibi nöropsikiyatrik hastalıklarla moleküler yollardan yakından ilişkilidir. POKD etyolojisinde nöroinflamasyon, oksidatif stres, otofaji bozukluğu, bozulmuş sinaptik fonksiyon, nörotrofik desteğin eksikliği vb. gibi hipotezler öne sürülmüştür [1]. Bazı POKD vakaları, alzheimer hastalığı ve demans gibi kalıcı ve sonunda bağımsız yaşam becerilerinin kaybına bile dönüşebilir [2]. POKD, hastaların hastanede kalış süresini uzatır, hastanede yatış maliyetini artırır, rehabilitasyonu geciktirir ve morbidite ve erken mortaliteyi artırır [3].

Şu anda kullanılan genel anesteziğin neredeyse tamamı ya eksituar N - metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünü bloke edici ya da inhibitör γ -aminobutirat (GABA) reseptörünü potansiyelize edici özelliklere sahiptir [4]. Glutamat, merkezi sinir sisteminde (MSS) en yaygın uyarıcı nörotransmitterdir. Ketamin ve nitroz oksit, anesteziğin etkilerini ağırlıklı olarak NMDA tipi glutamat reseptörünün inhibisyonu yoluyla sağlayan ilaçlardır [5]. GABA_A, MSS'deki ana inhibitör nörotransmitterdir. Propofol, GABA_A agonisti bir bileşiktir ve NMDA reseptörlerini bloke eder ve GABA_A reseptörlerini güçlendirir [6].

Genel anesteziğin beyin gelişimi üzerindeki potansiyel zararlı etkilerine ilişkin endişeler mevcuttur [5]. Ameliyat sonrası bilişsel işlev bozukluğunun yaşlı hastaların %25,8'inde ameliyattan 1 hafta sonra ve %9,9'unda ameliyattan 3 ay sonra mevcut olduğu bildirilmiştir [7].

Hayvan çalışmalarında nörotoksik duyarlılığın yaş aralığının dar olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalara göre, gelişmekte olan beyin, sıçanlarda ilk 14 gün ve maymunlarda ilk 35 gün içinde ketamin veya etanole maruz kaldığında hasar görünürken, daha yaşlı hayvanlarda bu durum söz konusu değildir. Hayvan çalışmaları, erken

gelişim sırasında GABA_A agonisti bileşiklere maruz kalmanın, beyin hücresi yapısı ve daha sonraki nörolojik fonksiyon üzerindeki zararlı etkisini göstermiştir [5].

Tekrarlayan anestezi uygulamaları, klinik pratikte özellikle ameliyathane dışı gününbirlik işlemler sırasında sıkça kullanılmaktadır. Bu uygulamalar sırasında en yaygın kullanılan ilaçlardan ikisi propofol ve ketamindir. Ancak, bu ilaçların tekrarlayan dozlarda uygulanması sonucunda beyin dokusunda meydana gelen değişiklikler insan çalışmalarından elde edilememektedir. Hayvan çalışmalarında ise genellikle yenidoğan dönemine ait veriler vardır [4, 6, 8]. Ancak, günlük anestezi pratiğimizde en sık karşılaştığımız yaş grubu erişkin hastalardır.

Yenidoğan sıçanlarda propofole tekrar tekrar maruz kalma, maruz kalma süresine bağlı nöroapoptoz ve uzun süreli nörobilişsel eksikliklere neden olmuştur. Nörobilişsel eksiklikler, nöron kaybına ve korteks ve hipokampusta uyarıcı nörotransmitter salınımının azalmasına bağlanabilir. Hem nöroapoptoz hem de azalmış nörotransmitter, uzun vadeli davranış bozukluklarına katkıda bulunur [4]. Günlük propofol maruziyetinin CA1 bölgesinde nöronal hasara ve hipokampusta kaspaz-3 aktivasyonuna neden olduğu bulunmuştur. Tekrarlayan propofole maruz kalma, nükleer faktör kappa B (NF-κB) p65'in fosforilasyonunu teşvik edebilir ve IL-1β, IL-6 ve TNF-α'nın hem hipokampus hem de serum seviyelerini arttırabilir [9]. Anestezik ilaçların uygulanması, mikroglial aktivasyon ve nöroinflamasyonla ilişkili olan POKD için kritik bir risk faktörüdür [10].

Ameliyattan sonra hem MSS'de hem de sistemik dolaşımda proinflamatuvar sitokinlerin (Tümör Nekrozis Faktör (TNF-α), İnterlökin 1β (IL-1β), İnterlökin 6 (IL-6) vb.) yükselme derecesi bilişsel gerilemenin derecesi ile ilişkili olabilir [11]. Ketaminin antidepresan, antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkiler gösterdiği çalışmalarla kanıtlanmıştır. Çalışmalar ketaminin nöroprotektif etkiler sergileyebileceğini göstermektedir [12]. Normalde anestezik maddeler, TNF-α, IL-6 ve IL-1β seviyelerini artırırken ketamin, TNF-α, IL-6 seviyelerinin azalmasına yardımcı olur, bu da ketaminin anestezi sonrası hipokampustaki nöroinflamasyonu azaltabileceğini göstermektedir [13].

Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF), hipokampal nöronların önemli bir düzenleyicisidir ve anıların bilişini, oluşumunu ve depolanmasını düzenler [10].

Nükleer faktör kappa B (NF-κB), hücrenin hayatta kalması, farklılaşması ve çoğalmasında rol oynayan indüklenebilir bir transkripsiyon faktörüdür, hipokampusta apoptoz ve bilişsel işlev bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir [14]. Propofol tedavisi, kısmen NF-κB yolağının ve NOD benzeri reseptör protein 3 (NLRP3) inflamatuvarının aktivasyonu yoluyla yaşlı sıçanların bilişini bozabilir.

Son kanıtlar anesteziğin POKD patogeneğinde ikili rol oynayabileceğini göstermektedir [15]. Ketaminin anti-inflamatuvar etkilerini gösteren birçok kanıt bulunmaktadır [16] Ketamin hipokampusta TNF-α, IL-6, IL-1β düzeylerini azaltır, otofajiyi engelleyebilir böylece hipokampal nöronların kaybını koruyabilir [13, 16, 17]. Tekrarlayan propofol uygulamaları ise nöroinflamasyonu tetikleyerek nörobilişsel bozukluğa neden olabilir [9].

Yapılan çalışmalarda [18, 19] anestezi ilaçlarının nörokognitif fonksiyonlar üzerindeki etkileri incelenmiştir. Fakat bu çalışmalarda propofolün tekrarlayan kullanımları sonrasında görülebilecek nörokognitif bozuklukların ketaminle kombine kullanımları ile ne kadar engellenebileceğine dair veriler sınırlıdır. Çalışmamızın hipotezi, tekrarlayan propofol kullanımının yol açabileceği nörokognitif disfonksiyonun, ketamin ile birlikte kullanılarak azaltılabileceği düşüncesine dayanmaktadır.

Çalışmamızda; ratlarda deneysel model oluşturularak, insanlarda sedasyon anestezisi sağlayabilen propofol, ketamin ve ketamin+propofol kombinasyonu tekrarlayan dozlarda kullanılmıştır. Bu çalışmada birincil amacımız tekrarlayan dozlarda propofol, ketamin ve ketamin+propofol uygulamalarının ratlarda nörokognitif fonksiyonlar, uzaysal öğrenme ve hafıza değişiklikleri üzerine etkilerini incelemektir. İkincil amacımız ise bu uygulamaların öğrenme (BDNF, NF-κB) ve inflamasyon (TNF-α, IL-1β, IL-6) belirteçleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Sedasyon

Şuur ve uyanıklık, retiküler aktive edici sistem olarak adlandırılan beyin sapı ve hipotalamik bölgelerden santral hemisfere uzanan impuls akışına bağlı bir durumdur. Sedasyon; anestezi ajanlarının MSS'yi baskılaması sonucu bir hastanın hoş olmayan veya ağrılı prosedürleri tolere etmesine yardımcı olurken bu tür prosedürlerle ilişkili istenmeyen anıları önlemek için hastanın bilincinin ve çevreyle olan ilişkisinin azaltılması olarak tanımlanabilir [20].

Gelişmiş farmakolojik ajanlar, uygulama araçları, monitörler ve teknolojik gelişmeler, sedasyonun, genel anestezi gerektirmeyen birçok günübirlik işlemlerde tercih edilmesine olanak tanımıştır. Endoskopi ve girişimsel radyolojide uygulanan işlemler sıklıkla sedasyon tercih edilen işlemlere örnek verilebilir [21, 22].

2.1.1. Sedasyonun sınıflandırılması

Sedasyon teknikleri ile hastanın anksiyetesi, huzursuzluğu ve ağrısı azaltılabilir veya tamamen yok edilebilir. Bununla birlikte yetersiz sedasyon uygulaması hastanın huzursuz olmasına, psikolojik ve fiziksel zarar görmesine, kardiyak ve solunumsal depresyon gelişmesine neden olabilir. Amerikan Anesteziyolojistleri Derneği (ASA) genel anestezi ve sedasyon/analjezi düzeylerinin tanımını ilk olarak 1999 yılında 'Continuum of depth in sedation' başlığı altında yayımlamış, 2019 yılında güncellemiştir ve sedasyonu minimal sedasyondan genel anesteziye kadar 4 düzeyde sınıflamaktadır (**Tablo 2-1**) [23].

1. Minimal Sedasyon (Anksiyoliz)
2. Orta Seviyeli Sedasyon/Analjezi (Bilinçli Sedasyon)
3. Derin Sedasyon/Analjezi
4. Genel Anestezi

Tablo 2-1 Sedasyon sınıflaması

	Yanıt verme	Havayolu	Spontan solunum	Kardiyovasküler fonksiyonlar
Minimal sedasyon (anksiyoliz)	Sözlü uyarılara normal yanıt	Etkilenmemiş	Etkilenmemiş	Etkilenmemiş
Orta sedasyon/analjezi (bilinçli sedasyon)	Sözlü-taktil uyarılara istemli yanıt	2. Müdahale gerektirmiyor	Yeterli	Genellikle korunuyor
Derin sedasyon/analjezi	Tekrarlayan-ağrılı uyarılara istemli yanıt	Müdahale gerekebilir	Yetersiz olabilir	Genellikle korunuyor
Genel anestezi	Ağrılı uyarılara yanıt yok	Sıklıkla müdahale gerekir	Sıklıkla yetersiz	Bozulmuş olabilir

Genel anestezi ve sedasyon/analjezi düzeylerinin tanımında kantitatif sedasyon skalası da sıklıkla kullanılmaktadır (**Tablo 2-2**). Sedatif/analjeziklerin oluşturacağı etkiler önceden kestirilemeyebilir ve uygulama sırasında hedeflenen sedasyon düzeyinin ötesinde derin sedasyon hatta genel anesteziye geçiş olabilir. Bu yüzden sedasyon düzeyleri arasındaki sınırı belirlemek için kantitatif sedasyon skalasının kullanımı yarar sağlayacaktır [23].

Tablo 2-2 Kantitatif sedasyon skalası

Sedasyon Sınıflaması	Sedasyon Skoru	Tanımlama
Yetersiz	6	Gergin, ajite veya ağrılı
Minimal-Bilinçli	5	Spontan olarak uyarısız uyanık
Orta Düzeyde-Bilinçli	4	Uykulu, gözler açık veya kapalı, kolayca uyandırılıyor.
Orta-Derin	3	Orta derecede taktil veya yüksek sesli uyarılarla bilinçli uyandırılabilir.
Derin	2	Devamlı ağrılı uyarılarla bilinci yerinde uyandırılabilir.
	1	Ağrılı uyarılarla uyanıyor, ancak bilinci yerinde değil.
Genel Anestezi	0	Ağrılı uyarılara yanıtız

2.1.1.1. Minimal sedasyon (Anksiyoliz)

Hastaların ilaç uygulanmasına rağmen sözlü komutlara normal şekilde yanıt verdiği durum olarak tanımlanır. Bilişsel fonksiyon ve kooperasyon bozulabilse de havayolu, spontan solunum ve kardiyovasküler fonksiyonlar korunur [24].

2.1.1.2. Orta derecede sedasyon/analjezi (Bilinçli sedasyon)

Hastaların sözlü uyarılara ya da hafif dokunsal uyarılara amaca yönelik (ağrılı uyarana karşı oluşan refleks yanıt amaca yönelik yanıt olarak kabul edilmez) yanıt verdiği ilaca bağlı bilinç korunması durumudur. Havayolu açıklığının korunması için herhangi bir müdahaleye gerek yoktur ve spontan ventilasyon yeterlidir. Kardiyovasküler fonksiyon genellikle korunur [24].

2.1.1.3. Derin sedasyon/analjezi

Hastaların kolayca uyandırılmadığı ancak tekrarlanan veya ağrılı uyarılara maruz kaldığında amaca yönelik yanıt verdiği ilaca bağlı bilinç azalması olarak tanımlanır. Solunum fonksiyonunun bağımsız olarak sürdürülebilmesi bozulabilir. Hastalar havayolu açıklığını korumak için yardıma ihtiyaç duyabilir ve spontan ventilasyon yetersiz olabilir. Kardiyovasküler fonksiyonlar genellikle korunur [24].

2.1.1.4. Genel anestezi

Hastaların ağrılı uyarılarla bile uyandırılmadığı ilaca bağlı bilinç kaybı durumudur. Solunum fonksiyonunu bağımsız olarak sürdürme yeteneği sıklıkla bozulur. Hastalar genellikle havayolu açıklığının korunmasında yardıma ihtiyaç duyar ve spontan ventilasyonun baskılanması veya nöromüsküler fonksiyonun ilaca bağlı olarak depresyonu nedeniyle pozitif basınçlı ventilasyon gerekebilir. Kardiyovasküler fonksiyon bozulabilir [24].

2.2 İlaçlar

2.2.1. Propofol

1970'lerde fenol türevi bileşikler üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda, kimyasal olarak 2,6-diizopropil fenol olan propofol keşfedilmiş ve 1977'de klinik uygulamalara başlanmıştır. Bu süre zarfında yaygınlaşan ilaç, günümüzde ameliyathanede, ameliyathane dışında ve yoğun bakımlarda sedasyon amacıyla, sedasyon haricinde anestezi indüksiyonu ve idamesi için sıklıkla tercih edilmektedir.

2.2.1.1. Farmakokinetiği

Propofolün etkisi hızlı bir şekilde başlar ve 2-2,5 mg/kg dozunda verilen bir bolus uygulamayla hemen bilinç kaybı geçişine yol açar. Dağılım yarı ömrü son derece kısadır, bu yüzden propofolün vücuttan atılımı hızlı, derlenme süresi ise kısadır. İlk dağılım yarı ömrü 2-8 dakikadır. Propofolün karaciğer dışında da metabolize olduğu düşünülmektedir çünkü klirensi karaciğer kan akışından fazladır. Karaciğerde, böbreklerle atılabilen suda çözünebilen glukuronid ve sülfat formlarına dönüşmek üzere konjuge edilirken, %1'i değişmeden idrarla atılır. Propofolün farmakokinetiği birçok faktörden etkilenebilir. Yaş, cinsiyet, kullanılan ilaçlar, eşlik eden hastalıklar gibi etkenler farmakokinetiğini değiştiren faktörlere örnek verilebilir [25-27].

2.2.1.2. Kimyasal yapısı

Alkifenol olması nedeniyle su içinde çözünmez ancak lipidlerde yüksek oranda çözünür. Sulu çözünmeme özelliğinden dolayı önceleri Chremporlu formülasyonla kullanılmış ancak hipersensitivite reaksiyonlarının ortaya çıkmasıyla bu formülasyon terkedilmiştir. Günümüzde gliserol, yumurta lesitini ve soya fasulyesi yağı içeren suda çözünür %1 ve %2'lik preparatlar şeklinde bulunmaktadır. Mikroorganizma üremesi endişesiyle, preparatlara %0.005 disodyum edetate veya %0.025 sodyum metabisülfite eklenmiştir. Tüm propofol formları oda sıcaklığında stabil olup ışıktan etkilenmez. Hafif viskoz, beyaz bir sıvı kıvamındadır [27].

2.2.1.3. Merkezi sinir sistemi üzerine etkisi

Propofolün MSS üzerinde çeşitli etkileri olduğuna inanılmaktadır. Etkisi genellikle GABA_A reseptörünün beta alt birimine bağlanması sonucu klor akışını potansiyelize etmesiyle ortaya çıkar. Sedasyonu, bu etki sayesinde hipokampus ve prefrontal kortekste asetilkolin salınımını inhibe ederek oluşturduğu düşünülmektedir. Propofol ayrıca NMDA reseptörlerini de yaygın bir şekilde inhibe ederek MSS'yi etkilemektedir. Area postrema'daki serotonin azaltıcı etkisinden dolayı antiemetik özelliklere sahiptir. Propofol ayrıca elektroensefalogram (EEG) dalgalarında baskılayıcı etkiye sahiptir. Bispektral İndeks (BİS) değerlerinde doza bağlı olarak baskılayıcı etki gösterir. Epileptojenik EEG dalgaları üzerindeki etkileri konusunda bir uzlaşma yoktur. Bazı yayınlarda grand mal nöbetlerle ilişkili olduğunu gösteren veriler bulunurken, epileptik nöbet bastırılması için kullanımını destekleyen yayınlar da vardır. İntrakraniyal basıncı ve serebral kan akımını azaltmasına rağmen, periferik vazodilatasyonla birlikte ortalama arter basıncında belirgin bir düşüşe neden olduğu için serebral perfüzyon basıncını çok düşük seviyelere indirebilir [27, 28].

2.2.1.4. Kardiyovasküler sistem üzerine etkisi

Kardiyovasküler sistem üzerinde baskılayıcı etkisi bulunmaktadır. Vazodilatasyon ve miyokardiyal baskılanma sonucunda kan basıncı düşer. Yaşlılık, yüksek dozlar ve hızlı enjeksiyon bu etkinin daha belirgin hale gelmesine neden olabilir. Vazodilatasyon etkisinin, sempatik aktiviteyi azaltması, hücre içi kalsiyum üzerine doğrudan etkisi, endotel hücrelerinde prostasiklin sentezini inhibe etmesi, K-ATP kanallarını aktive etmesi ve NO salınımını uyarması sonucu oluştuğu düşünülmektedir. İndüksiyon sırasında ani bir prekordiyal basınç düşüşü nadiren vagal uyarıya bağlı bradikardiye neden olabilir, ancak kalp hızındaki değişiklikler genellikle geçicidir. Bununla birlikte, ventriküler fonksiyon bozukluğu olan ileri yaşlı hastalarda bu durum önemli sonuçlara yol açabilir [26, 27].

2.2.1.5. Solunum sistemi üzerine etkisi

Propofol, solunum hızını ve tidal volümü azaltır. Genellikle indüksiyon dozlarıyla beraber apneye neden olur. Bu etkiler, premedikasyonla ve doza bağlı olarak artar. Hipoksinin tetiklediği solunum dürtüsünü ve yüksek karbondioksit (CO₂) seviyelerine verilen normal yanıtı engellediği için tecrübeli kişiler tarafından uygulanmalıdır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlarda bronkodilatasyon etkisi vardır. Tiyopentalle karşılaştırıldığında havayolu reflekslerini daha fazla baskılar. Bu da, supraglottik hava yolu araç kullanımında daha fazla kolaylık sağlar [27, 28].

2.2.1.6. Uygulama şekli ve dozu

Propofol, anestezi indüksiyonunda 1-2,5 mg/kg dozlarında kullanılır. Gereksinimi benzodiazepin ve opioid kullanımıyla birlikte oldukça azalır. Yaş, doz ayarı için oldukça önemli bir parametredir. Geriatrik hastalarda premedikasyon uygulanmayanlarda 1,75 mg/kg, premedikasyon uygulananlarda ise 1 mg/kg doz uygulaması önerilir [27]. Çocuklarda intravenöz. kullanımda 2,5-3,5 mg/kg gibi daha yüksek dozlara ihtiyaç duyulur. Propofolün idame dozu 6-10 mg/kg/saat şeklindedir [26].

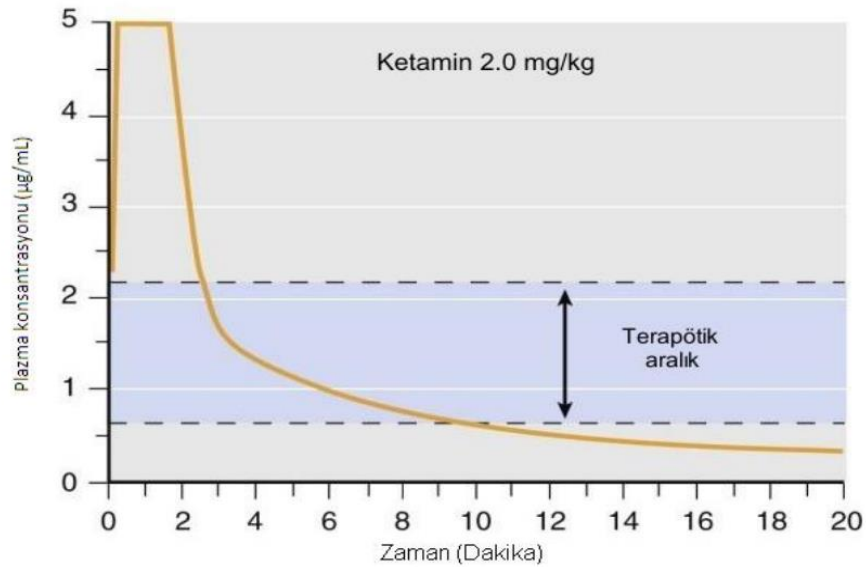
2.2.2. Ketamin

Ketamin bir fensiklidin türevidir. 1962'de Stevens tarafından sentezlenmiş ve insanlar üzerinde ilk olarak 1965'te Corssen ve Domino tarafından insanlar üzerinde kullanılmıştır [29]. Fensiklidin kadar güçlü olmasa da psikomimetik etkilere sahiptir. Asidik bir formda bulunur (pH 3.5-5.5). Steril solüsyonları genellikle 10-50 veya 100 mg/ml konsantrasyonlarına sahiptir. Bileşime koruyucu olarak benzetonium klorid eklenmiştir. Ketamin, suda çözünebilen ve pKa değeri 7.5 olan bir bileşiktir [30]. Belirgin analjezik etkisinin olması ketamini diğer indüksiyon ajanlarından ayırır.

2.2.2.1. Farmakokinetiği

Ketamin, farmakokinetik açıdan diğer intravenöz (iv) anestezi ajanları kadar anlaşılabilir değildir. Dozdan bağımsız olarak, ketaminin farmakokinetiği iki farklı modelle tanımlanabilir. Hızlı dağılımı, kısa yarılanma ömrüyle ilişkilidir ve yaklaşık 3 L/kg olan geniş dağılım hacmi de yağda çözünürlüğünün fazla olmasıyla bağlantılıdır. Ketaminin iv bolus anestezi dozu erişkinde 1,5-2 mg/kg, yenidoğan ve bebeklerde 0,5-1 mg/kg arasında değişirken, subanestezi dozu ise 0,25 mg/kg'dır [26]. Ketaminin klirensi 890 ml/dk ile 1227 ml/dk arasında değişir ve oldukça hızlı olduğundan eliminasyon yarı ömrü kısadır [27]. İndüksiyonda 2 mg/kg dozunda kullanıldığı takdirde pik etkisine 2-3 dk'da ulaşır. Ketaminin dağılım yarı ömrü 8-9 dk olup, eliminasyon yarı ömrü ise 2,2-2,9 saat arasındadır [26].

Ketaminin plazma düzeyi 0,7 ile 2,2 mcg/ml arasındayken hipnoz ve amnezi oluşur. Plazma konsantrasyonu 0,5 mcg/ml'in altına düştüğünde ise uyanma meydana gelir. Kişiler arasında değişiklikler olmasına rağmen, ketaminin genel anestezi için plazma düzeyinin 0,6-2 mcg/ml aralığında olması genellikle yeterlidir (**Şekil 2-1**). Çocuklar için daha fazla plazma konsantrasyonuna ihtiyaç duyulabilir (0,8-4 mcg/ml) [31].

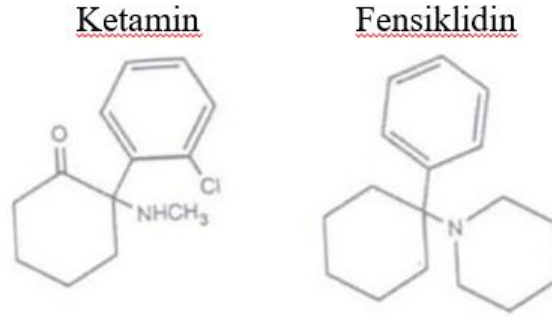


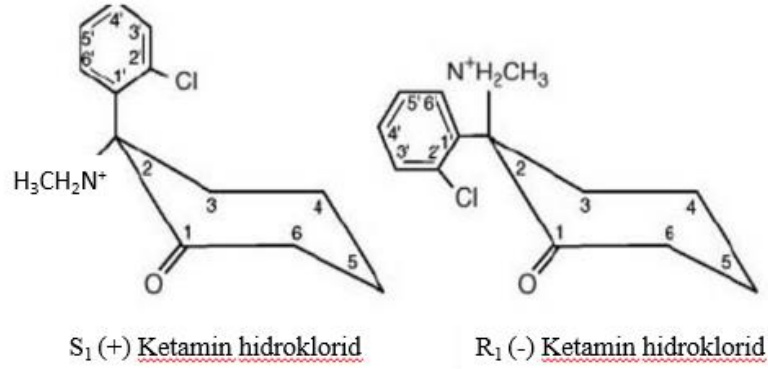
Şekil 2-1 İndüksiyon sonrası ketaminin plazma düzeyi [27]

Ketamin karaciğerde metabolize edilerek bir dizi metabolite dönüştürülür. Bu metabolitler arasında en önemlisi, sitokrom p-450 enzimleri aracılığıyla N-demetilasyon sonucu oluşan norketamindir. Norketamin, ketamin potensinin yaklaşık üçte biri kadardır. Ketaminin karaciğerde yüksek oranda metabolize edilmesi (hepatik ekstraksiyon oranı 0.9), kısa eliminasyon yarı ömrünü göreceli olarak açıklar. Ketaminin %80'i renal yolla glukuronid olarak atılırken, %2,5'i metabolize edilmeden kalır [25]. Ketaminin tekrarlanan dozlarda uygulanmasıyla gelişen tolerans, hepatik enzim indüksiyonu ile kısmen açıklanabilir.

2.2.2.2. Kimyasal yapısı

Ketamin, suda çözünebilen ve pKa değeri 7.5 olan fensiklidin türevi bir bileşiktir (**Şekil 2-2**) [30]. Ketamin, iki stereoisomerden oluşur: S-(+) ve R-(-) (**Şekil 3**). S izomeri daha güçlüdür ve daha az yan etkiye sahiptir. Ketamin HCl, bu iki izomerin bir karışımını içerir (**Şekil 2-3**).





Şekil 2-3 Ketaminin kimyasal formülü

Tiyopentale kıyasla yağda çözünürlüğü daha fazla, proteine bağlanması daha azdır. Fizyolojik pH'da eşit oranda iyonize olur [32]. Karaciğerdeki mikrozomal enzimler, norketamin adı verilen bir bileşiğe dönüşmesine neden olan N-demetilasyonu gerçekleştirir, bu da anestetik etkiyi sağlar. Norketamin daha sonra hidroksilasyon yoluyla hidroksinorketamine dönüştürülür ve ardından glukuronidasyon işlemiyle idrar yoluyla vücuttan atılır [25].

2.2.2.3. Merkezi sinir sistemi üzerine etkisi

Ketamin uygulanan hastalarda gözlemlenen disosiyatif anestetik durum, MSS üzerindeki en önemli etkisidir. Hastaların bilinci yerindeymiş gibi görünür ancak sensöriyel uyarıları değerlendiremez ve cevap veremezler [33].

Subanestetik dozlarda analjezik etkisi başlar. Ketamin, etkili bir postoperatif ağrı kesici olabilir [34]. Analjezik etkisi, nosiseptif santral hipersensitizasyonun inhibisyonu sonucu ortaya çıkar. Beyin ve spinal korddaki opioid reseptörlerine bağlanır. S enantiyomer, mü reseptör aktivitesi gösterir. Operasyon sonrası opioid ihtiyacını azaltabilir [35]. Beyinde talamoneokortikal projeksiyon sistemi üzerinden etkisini gösterir. Özellikle hipokampus olmak üzere limbik sistemi stimüle ederken, korteks ve talamus aktivitesini deprese eder. Ketaminin beyindeki etkisinin sodyum kanal blokajıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir. NMDA reseptörlerini inhibe ettiği bilinmektedir [36].

Ketamin, serebral kan akımını, serebral metabolizmayı ve intrakraniyal basıncı artırır. MSS stimüle edici etkisiyle, EEG'de yaygın teta dalgaları üreterek hipokampus bölgesinde petit mal nöbet benzeri etkiler oluşturur [37]. Serebral kan dolaşımındaki artış, serebral metabolizma hızındaki artışa göre daha fazladır. Serebral kan akımındaki artış ve buna bağlı artan sempatik yanıt sonucunda intrakraniyal basınç artar. Ketamin sonrası artan intrakraniyal basıncı dengelemek için beyin parsiyel karbondioksit basıncı düşürülür [38].

Ketamin anestezisinin derlenme sürecinde istenmeyen reaksiyonlar görülebilir. Bu reaksiyonların yaygın belirtileri genellikle heyecan, korku ve öfori ile ilişkilendirilen halüsinasyonlardır. Görsel ve işitsel yanılsamalara neden olabilen bu halüsinasyonlar ilk uygulamada daha sık görülür. Ketamin uygulanan yetişkin hastaların yaklaşık %10-30'unun bu halüsinasyonları gördüğü rapor edilmiştir. Yaş, doz ve psikolojik duyarlılık psikişik etkilenmeyi değiştiren faktörlerdir. Yetişkin hastalar, pediatrik hastalara göre, kadın hastalarda ise erkek hastalara göre daha fazla etkilenme gözlenmiştir. Psikişik etki görülme olasılığı uygulanan doz arttıkça artar. Bu yan etkileri azaltmak ve tedavi etmek amacıyla benzodiazepinlerin eşzamanlı kullanımını giderek yaygınlaşmıştır [39, 40].

2.2.2.4. Kardiyovasküler sistem üzerine etkisi

Ketamin, anesteziik maddeler içerisinde kardiyovasküler sistemde uyarıcı etkiler oluşturan tek anesteziik ajandır. Kalp atış hızını ve arteriyel kan basıncını arttırarak kalp debisiyle birlikte miyokardiyal oksijen tüketimini artırır. Kalp atış hızını ve kan basıncını arttırmasının bir diğere nedeni de sempatik sinir sistemini santral yolla uyarması sonucu norepinefrin geri alımını engellemesidir [41, 42]. Bu değişiklikler sonucunda miyokardiyal iş yükü ve pulmoner arter basıncı artar. Bu nedenlerle ketamin kullanımı, koroner arter hastalığı, kontrolsüz hipertansiyon ve arteriyel anevrizma hastalığı olanlarda risklidir [33].

Ketamin kaynaklı ortaya çıkan hemodinamik değişiklikler doz bağımlı değildir. İlk uygulamada yüksek olan kan basıncı ve kardiyak indeks tekrarlayan uygulamalarda azalır [43]. Ketaminin neden olduğu hipertansiyon ve taşikardi gibi

etkiler istenmiyorsa vazodilatörler, α ve β adrenerjik antagonistler, benzodiazepinler, propofol ve inhalasyon anesteziikleri gibi ilaçlar kullanılabilir [33].

2.2.2.5. Solunum sistemi üzerine etkisi

Ketaminin solunum merkezine olan etkisi oldukça sınırlıdır. 2 mg/kg iv bolus uygulamasının ardından solunum frekansında kısa süreli bir azalma gözlenebilse de apne durumu enjeksiyon hızına, doza ve beraberinde kullanılan diğer ilaçların etkisine bağlı olarak nadiren ortaya çıkabilir. Ketamin, hem anestezi hem de analjezi amaçlarıyla tek başına kullanıldığında arteriyel kan gazını etkilemez, yani solunum cevabı CO₂ seviyelerine karşı korunur [27].

Ketamin, bronşial düz kasları gevşeterek bronkodilatasyon yapar. Bu etki, ketaminin sempatomimetik özelliklerinden kaynaklanır. Astım gibi reaktif hava yolu hastalıklarında veya bronkospazm durumunda, ketamin kullanımı akciğerlerin kompliyansını artırır. Ketamin, bronkospazmı olan hastalarda halotan ve enfluran kadar etkili olabilir. Laboratuvar çalışmalarında, ketaminin karbakol ve histaminin spazmojenik etkilerini antagonize ettiği gösterilmiştir [44].

Ketamin anestezisi sırasında, yutma, öksürme, hapsirme ve hıçkırma gibi doğal refleksler görülebilmemesine rağmen aspirasyon her zaman risk oluşturur. Özellikle çocuklarda ketamin kullanımı, solunum yollarında tükürük ve sekresyon artışına neden olabilir, bu da üst solunum yollarında obstrüksiyona yol açabilir. Olası bir laringospazmı önlemek için atropin veya glikopirolat gibi vagolitik ilaçlarla birlikte kullanılması tavsiye edilir [33].

2.2.2.6. Uygulama şekli ve dozu

Ketaminin iv bolus anesteziik dozu erişkinde 1,5-2 mg/kg, yenidoğan ve bebeklerde 0,5-1 mg/kg arasında değişirken, subanesteziik dozu ise 0,25 mg/kg'dır (Şekil 2-3) [26]. Ketaminin alternatif kullanım yolları arasında oral veya intranazal sprey formu bulunmaktadır. Ancak, bu formlarda biyoyararlanımı oral için yaklaşık %20-30 aralığında iken, intranazal kullanımda %40-50 oranlarındadır [45]. Genel anestezi süresi, doza bağlı olarak değişkenlik gösterir. Yüksek dozlar, uzun süreli

anestetik etkiye yol açabilir. Ketaminle birlikte diğer anestezi ajanlarının kullanılması (özellikle benzodiazepinler) etki süresini uzatabilir [46].

Tablo 2-3 Ketaminin dozları [27]

Genel anestezi indüksiyonu	0,5-2 mg/kg iv; 4-6 mg/kg im
Genel anestezi idamesi	1-1,5 mg/kg iv 0,5 mg/kg iv %50 O ₂ + N ₂ O 15-45 mcg/kg/dk iv %50-70 O ₂ + N ₂ O 30-90 mcg/kg/dk iv (N ₂ O olmadan) 8-10 mg/kg im
Sedasyon ve analjezi	0,2-0,8 mg/kg iv 2-3 dk'da 2-4 mg/kg im

2.3 Öğrenme ve Bellek

Canlıların yaşamlarını sürdürebilmek için çevresel değişimlere uyum sağlama yetenekleri büyük önem taşır. Bu uyum yeteneği, hem kalıtsal olarak aktarılan biyolojik özelliklerle ilişkili hem de bireyin kendi yaşamı boyunca değişen koşullara uyum sağlamak için geliştirdiği davranışlar ve stratejilerle ilişkilidir ve canlının geçmiş deneyimlerinden öğrendiği bilgileri kullanarak gelecekteki kararları şekillendirme kapasitesiyle doğru orantılıdır. Dolayısıyla, canlıların çevreye uyum sağlaması için anıları oluşturma, koruma ve kullanma yeteneği oldukça önemlidir [47]. Bilginin saklanması ve tekrar kullanılması, genelleme, öngörme, farklı bilgileri bir araya getirme ve sonuç çıkarma gibi çeşitli adaptif davranışların gelişmesine olanak tanır [48].

Hem davranışsal hem de biyolojik açıdan yapılan modern araştırmalar, öğrenme ve belleğin tek bir süreçten oluşmadığını göstermektedir [49]. Öğrenme, bilgi edinme süreci olarak kabul edilir ya da deneyimler ve tekrarlanan pratikler sonucunda elde edilen bilgiye davranışsal yanıt olarak tanımlanabilir [50]. Bellek, bir durum ya da uyarının neden olduğu tetikleme sonrası sinir sisteminin aktivite veya bağlantılarındaki uzun süreli veya kalıcı değişikliklerdir [48]. Bilindiği üzere,

hipokampus ve prefrontal korteksteki değişiklikler, nörokognitif disfonksiyona ve hafıza ile ilgili sorunlara yol açmaktadır [51]. Hayvan deneylerinde de, farmakolojik ilaçların uygulanmasıyla öğrenme kabiliyetinin azalabileceği ve bellek kaybı olabileceği gösterilmiştir [52, 53].

2.3.1. Öğrenme

Öğrenme, edinilen tecrübelerle davranışı değiştirme yeteneği veya canlının çevresiyle etkileşimi sonucu deneyim kazanması ya da daha geniş anlamıyla yaşantılar ve tekrarlamalarla davranıştaki kalıcı değişiklikler gibi farklı şekillerde tanımlanabilir [54]. Canlıların ve özellikle insanların davranışlarını deneyimlerine dayanarak değiştirebilme yetisi, temel özelliklerinden biridir [55]. Davranışsal öğrenme, bir canlının çevresinde gerçekleşen olaylara tepki vermesi olarak tanımlanabilir [56].

Öğrenme nörofizyolojik olarak, bir deneyim sonucunda sinir sisteminde meydana gelen elektriksel, kimyasal ve yapısal değişiklikler ile yeni sinaptik bağlantıların oluşumu olarak tanımlanır. Yeni deneyimlerin, nöronlar arasında yeni bağlantıların oluşumunu sağladığı, tekrarlar ve egzersizlerin ise bu bağlantıları güçlendirerek bellek izleri oluşturduğu öne sürülmektedir [57].

2.3.1.1 Öğrenme çeşitleri

Öğrenmenin Sınıflandırılması [55]

1. Non-asosiyatif Öğrenme
 - a. Habitüasyon (Alışma)
 - b. Sensitizasyon (Hassaslaştırma)
2. Asosiyatif Öğrenme
 - a. Şartlı refleks
 - b. Operan koşullanma

1. Non-asosiyatif öğrenme

Tek bir uyararla meydana gelen öğrenmeye non-asosiyatif öğrenme denir, habitüasyon ve sensitizasyon olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır [55].

a.Habitüasyon (Alışma): Bir canlıda ilk kez uygulandığında normalden farklı bir tepki oluşturan sinirsel uyarının, tekrarlanmasıyla giderek azalan bir elektriksel yanıt meydana getirmesi ve organizmanın bu uyarana adapte olması olarak tanımlanır.

b. Sensitizasyon (Hassaslaştırma): Tekrarlanan uyarının başka bir uyararla bir veya daha fazla birlikte verilmesiyle daha güçlü bir tepki oluşturmalarıdır. Bir anne gürtlülü bir ortamda uyuyabiliyorken bebeğinin ağlamasıyla hemen uyanması bu tür öğrenmenin bir örneğidir [55].

2. Asosiyatif öğrenme

Canlı tarafından uyarıların birbiriyle ilişkilendirildiği bir öğrenme çeşidi olmakla birlikte şartlı refleks ve operan koşullanma şeklinde iki alt başlıkta incelenir [55].

a. Şartlı refleks: Tek başına bir tepki oluşturmayan veya çok hafif bir yanıt oluşturan bir uyarının, tepki oluşturan başka bir uyarıyla birlikte tekrarlanması sonrasında ilk uyarının tek başına da bir tepki oluşturmaları şeklinde tanımlanan refleks cevaptır. Şartlı refleks, Ivan Pavlov adındaki Rus fizyolog tarafından yapılan deneylerle açıklanmıştır. Pavlov, köpeklerin sindirim sistemi üzerine yaptığı çalışmalarında, köpeğin salya salgısının hangi durumlarda oluştuğunu araştırmıştır. Bu çalışmalar sırasında köpeğin ağzına yiyecek alması haricinde yiyeceği gördüğünde ve hatta sahibinin ayak seslerini duyduğunda bile salya salgısının arttığını gözlemlemiştir. Pavlov, doğal tepkilerin zamanla başka uyarıcılara bağlanabileceğini ve şartlanabileceğini gözlemlemiştir. Pavlov'un klasik deneylerinde, normalde et konulduğunda tükürük salgısını artıran köpeklerin, ağızlarına et konulmadan önce zil çalınması ve bu işlemi birkaç kez tekrar etmek suretiyle, zil çaldıktan sonra ağızlarına et konulması dahi tükürük salgısının arttığı gözlenmiştir. Bu deneyde ağza konulan et özel bir yanıt oluşturan koşulsuz uyaranken (Unconditional stimulus, US), zilin çalınması koşullu uyarandır (Conditional stimulus, CS). US ve CS yeteri kadar birlikte tekrarlandıktan sonra CS

başlangıçta sadece US tarafından ortaya çıkarılan yanıtı oluşturur. CS her zaman US'den önce gelir [55].

b. Operan koşullanma: Bir canlının ödül kazanmak veya cezadan kaçınmak amacıyla belirli görevleri yerine getirmeyi öğrendiği bir koşullanma biçimidir. US, hoş olan veya olmayan bir uyaranken; CS canlının belirli bir görevi yapması için sunulan bir işaret veya sinyaldir. Örnek olarak yiyecekten iğrenme koşullanması verilebilir. Bu koşullamada tat alma, mide bulantısı veya rahatsızlık hissi yaratan bir ilacın kullanılmasıyla birlikte olursa, yiyeceğin tadını alan canlıda yiyeceğe karşı güçlü bir iğrenme tepkisi beklenir [55].

2.3.2. Bellek

Bellek, öğrenilen bilgilerin saklanması ve saklanan bilgilerin istemli veya istemsiz olarak tekrar hatırlanmasıdır [56]. Bilinç ise sürekli olarak çevrenin veya birbirini takip eden düşüncelerin farkında olma durumudur [57].

2.3.2.1. Bellek çeşitleri

Literatürdeki araştırmalar, belleğin içeriğine (episodik, semantik vs.), türüne (klasik koşullanma, prosedürel vs.), zamansal özelliklerine (kısa süreli, uzun süreli) ve işlem düzeyine (kodlama, geri çağırma) bağlı olarak çeşitli şekillerde sınıflandırılabileceğini göstermiştir. Ayrıca, belleğin tek bir anatomik yapıda lokalize olmadığı, farklı bellek fonksiyonlarının beyinde farklı yolları içerebileceği düşünülmektedir [49]. Bellek tipleri, ilkel türlerden insanlardaki daha karmaşık ve bilinçli belleklere doğru uzanan bir yelpazede değişkenlik göstermektedir [55]. Bazı anılar birkaç saniyeyle sınırlıyken, bazıları saatler, günler, aylar hatta yıllar boyunca zihinde kalabilir.

Bellek, zaman açısından üç alt başlıkta incelenir [58].

1. Kısa Süreli Bellek
2. Orta Süreli Bellek
3. Uzun Süreli Bellek

1) Kısa süreli (erimli, vadeli) bellek

Geçici bellek olarak da bilinen kısa süreli bellek, uzun vadeli belleğe dönüştürülmediği sürece, genellikle sadece saniyeler veya en fazla dakikalarla ölçülen bellektir [58].

Bir telefon numarasındaki 7 ila 10 rakamı (veya 7 ile 10 belirlenmiş ögeyi), birkaç saniye ile birkaç dakika arasında değişen bir süre boyunca, kişinin devamlı bunları düşünmesi veya tekrar etmesi şartıyla zihninde tutabilmesi olarak tanımlanır [58].

Çoğu fizyolog, kısa süreli belleğin; geçici bir bellek iziyle ilişkili sinyallerin, sinaps gruplarındaki sürekli dolaşımının sonucu olarak oluşabileceğini öne sürmüştür. Ancak bu henüz doğrulanmamış bir kuramdır. Kısa süreli bellek için bir başka açıklama da presinaptik fasilasyon ve/veya inhibisyonudur. Presinaptik etki, bu kuramda bir sinir lifinin sonlandığı terminalde bir başka nöronun presinaptik lif üzerinde sinaps yapmasıyla açıklanır. Bu sinapslarda salgılanan nörotransmitterler, genellikle saniyeler ile birkaç dakika arasında süren fasilasyon veya inhibisyona neden olur. Bu tür devreler, kısa süreli belleğin temelini oluşturur [58].

2) Orta süreli bellek

Orta süreli bellek, dakikalar, günler hatta haftalarla ölçülebilir. Bu anılar, uzun süreli belleğe dönüşmedikçe zamanla zayıflayarak yok olur. Hayvan deneylerinde, orta süreli belleğin presinaptik sonlanma veya post-sinaptik terminalde meydana gelen, birkaç dakikadan birkaç haftaya kadar devam edebilen kimyasal ve/veya fiziksel değişikliklerle ilgili olduğunu gösterilmiştir [58].

Kandel ve arkadaşları, aplysia adlı büyük bir salyangoz türünde, birkaç dakikadan 3 haftaya kadar sürebilen belleğin nasıl oluştuğunu göstermiştir [59]. Duyusal ve kolaylaştırıcı sonlanma adında iki çeşit sinaptik sonlanma mevcuttur. Duyusal sonlanma, bir duyusal girdi nöronuna aittir ve uyarılacak nöron üzerinde sonlanmaktadır. Kolaylaştırıcı (fasilitatör) sonlanma ise presinaptiktir ve duyusal sonlanma ile sinaps yapmaktadır. Kolaylaştırıcı sonlanma uyarılmaksızın duyusal sonlanmanın tekrar tekrar uyarılmasıyla çok güçlü bir sinyal iletimi gerçekleştirir; ancak,

bu uyarılma tekrarlandıkça, sinyal iletimi git gide azalır ve sonunda durur, buna kanıksama (habitüasyon) denmektedir. Aksine duyuşal sonlanmanın uyarılması sırasında, kolaylaştırıcı sonlanma da ağırlı bir uyarı ile uyarılırsa; postsinaptik nörondaki etki, sinaptik geçişin daha güçlü ve daha hızlı hale gelmesiyle artar. Bu şekilde oluşun etki, kolaylaştırıcı uyarana ihtiyaç duymadan dakikalar, saatler, günler hatta 3 haftaya varan süre zarfında kalıcı olur. Başka bir ifadeyle, ağırlı uyarun, duyuşal sonlanma aracılığı ile iletiyi bellek yolağında günler veya haftalar boyunca kolaylaştırmaktadır. Kanıksama oluşsa dahi, birkaç ağırlı uyarun ile bu yolak yeniden kolaylaştırılmış bir yolağa dönüşebilmektedir [58].

3) Uzun süreli bellek

Oluştuğu takdirde yıllarca canlılığını koruyabilen belleğe uzun süreli bellek denir. Gerçek uzun süreli bellek ile uzamış tipteki orta süreli belleğin keskin bir ayrımı yoktur. Ayırım derece bağlamında ve görecelidir. Uzun süreli belleğin oluşumu genellikle sadece sinaptik kimyasal değişikliklerle değil, aynı zamanda gerçek yapısal değişikliklerle de ilişkilendirilir; bu değişiklikler sinyal iletimini artırabilir veya baskılayabilir [58]. Omurgasız hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, uzun süreli belleğin oluşumu sürecinde sinaptik yapıda birçok fiziksel değişiklik olduğunu göstermektedir [55]. Bu değişiklikler arasında, ileti salgılanması için vezikül boşaltma bölgelerinin artması, transmitter içeren vezikül ve presinaptik uç sayısındaki artış ve dendritlerdeki yapısal değişiklikler yer alabilir. Uzun süreli bellek türünde, anılar ve bilgiler, travmalar ve ilaçlarla bozulmaya oldukça dayanıklıdır [58].

Omurgasızlardan alınan elektron mikroskopik görüntüler, uzun süreli belleğin gelişimi sürecinde çeşitli yapısal değişikliklerin olduğunu ortaya koymuştur [57]. Protein kopyalanmasını sağlayan DNA etkisini inhibe eden bir ilaç verildiğinde, presinaptik nörondaki yapısal değişiklikler ortaya çıkamaz ve kalıcı bellek izi oluşumu engellenir. Bu yüzden, gerçek uzun süreli belleğin oluşması, sinapsların sinirsel sinyalleri tekrardan iletebilir hale gelmesi için fiziksel olarak yeniden yapılanmaları gerekir. Bu yapısal değişikliklerin en önemlileri şunlardır:

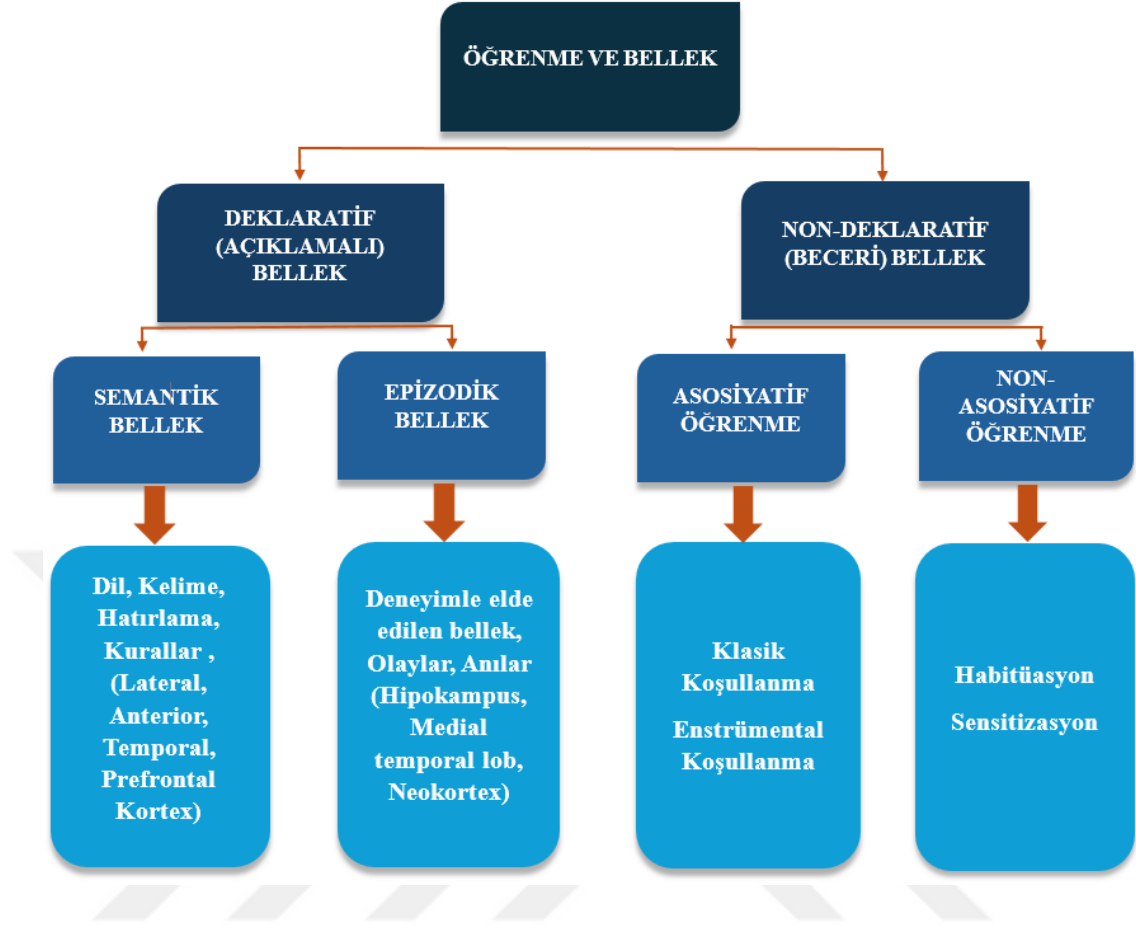
1. Nörotransmitter salınımını artırmak için, vezikül bölge sayısının artırılması
2. Nörotransmitter salıveren vezikül sayısının artırılması.
3. Presinaptik sonlanma sayısının artırılması.
4. Daha güçlü sinyal iletimi sağlamak için dendrit dikenlerinin yapısında değişikliklerin oluşması [57].

Farklı bir sınıflandırmaya göre bellek;

1.Eksplisit bellek (açık/deklaratif hafıza): Bilinç ve farkındalık ile ilişkilidir ve hipokampus ve medial temporal loblarla bağlantılıdır. Genellikle kişiler, deneyimler, yerler, olaylar ve çıkarımları içerir. Kelimeler ve dil gibi gerçeklere dair “anlamsal bellek”, olaylara dair “epizodik bellek” olmak üzere iki alt kategoriye ayrılır.

2.İmplicit bellek (örtük/nondeklaratif hafıza): Beceri belleği olup, vücudun motor etkinlikleri ile ilişkili bellek türüdür. Hipokampusun işlemlerini gerektirmez ve farkındalığı içermez. Alışkanlıklar (işlemsel hafıza), önceki maruziyetle tanımayı kolaylaştırma (hazırlanma), tek uyarana yönelik öğrenme (non-asosiyatif öğrenme) ve eşleştirilmiş uyarana ilişkin öğrenme (asosiyatif öğrenme) olmak üzere dört alt türe ayrılır. Bisiklete binmek gibi başlangıçta açık bellek tarafından hatırlanan anılar zamanla örtülü hale gelebilir [60, 61].

Tablo 2-4 Öğrenme ve bellek türlerinin sınıflandırılması



2.3.3. Öğrenme ve belleğin değerlendirilmesi ve kullanılan testler

Davranış deneyleri, hayvan ve insan beyin işleyişinin kavranması ve insanlardaki davranış sorunlarının çözülmesi açısından son derece önemlidir. Farklı memeli türlerinde beyin morfolojik yapılarının ve işlevlerinin temel olarak benzer olduğu, yapılan karşılaştırmalı çalışmalarla gösterilmiştir. Davranışsal açıdan da benzerlikler mevcuttur. Bu yüzden hayvan çalışmalarından elde edilen bilgiler, insanlar için de önemli ipuçları sunmaktadır. Fareler ve primatlar, laboratuvar ortamında yapılan nörolojik ve davranış testlerinde en sık başvurulan deney hayvanlarıdır. Sıçanlar, üretimin ve bakımın daha pratik ve maliyet açısından daha uygun olması sebebiyle bilimsel araştırmalarda en yaygın olarak tercih edilen deney hayvanlarıdır [62].

Farelerin kognitif ve hareket fonksiyonlarının ölçülmesinde çeşitli hayvan davranış deneyi (HDD) modelleri bulunmaktadır. Bu modeller aracılığıyla, farelerde anksiyete, otomatik işlevler, öğrenme ve bellek gibi birçok özellik değerlendirilmektedir. HDD modellerinin çoğu tam kesinlik sağlamamaktadır, ancak bilimsel gelişmelerle birlikte, HDD'ler günümüzde daha ideal standartlarda gerçekleştirilebilmektedir [62].

Hayvan davranış deneyleri, $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında ve 12 saatlik gece-gündüz döngüsü olan bir odada gerçekleştirilmelidir; ses, ışık, sıcaklık ve bekleme şartlarının standart hale getirilmesi oldukça önemlidir. Bu standartlaştırmanın sağlanması için tüm hayvan gruplarının deney alanına deney gününden birkaç gün önce getirilmesi ve deneylere başlamadan önce tek tek bekleme kaplarına yerleştirilmesi gerekmektedir. Deney hayvanlarının tamamının daha önce doğum yapmış, tek bir gebelikte benzer sayıda yavru doğuran annelerin yavrularından seçilmesi, doğumdan hemen sonra aynı gün sütten kesilerek anneden ayrılması ve sonra da aynı kafeslerde eşit sayıda barındırılması, standart yemle beslenmesi gibi temel gereksinimlerin sağlanması önerilir. Bu uygulamalar sıçanların deney gününde ağırlık ve nöromotor gelişim açısından eşit seviyede olmasını amaçlamaktadır. Deneyin dış etken maruziyetini en aza indirmek için sıçanların her zaman aynı araştırmacı tarafından, benzer bir yöntemle cihazlara yerleştirilmesi, araştırmacının her zaman odada aynı pozisyonda durması, aynı renk giysileri giymesi ve hatta deneyler boyunca parfümünü değiştirmemesi önerilir [63].

Sıçanlardaki zihinsel ve hareket yeteneklerinin değerlendirilmesi için çeşitli deney yöntemleri bulunmaktadır. Bunlar arasında rotarod cihazı, sekiz kollu radyal labirent, T şeklindeki labirent, yükseltilmiş artı labirent, açık alan ve Morris su labirenti (MSL) yer almaktadır. Anksiyete, korku, tekrarlayan eylemlerle öğrenme ve kısa süreli bellek performansının değerlendirilmesi için artı labirent deneyi yapılması tavsiye edilmektedir. Sıçanların duygusal durumunu, uyuşukluğunu ve hareket aktivitesini ölçmek için açık alan testi kullanılması önerilmektedir [64]. Öğrenme ve bellek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde ise genellikle MSL testi kullanılmaktadır [65, 66].

2.3.3.1. Hayvan deneylerinde kullanılan davranış testleri

Fare ve sıçan gibi deney hayvanlarının uzaysal öğrenme ve bellek gelişimini değerlendirmede kullanılan birçok davranış testi mevcuttur [67].

2.3.3.1.1. Anksiyete modelleri

1. Merdiven testi
2. Açık alan testi
3. Delikli kutu testi
4. Sosyal izolasyon testi
5. Yükseltilmiş artı labirent testi
6. Yükseltilmiş T labirent testi
7. Yabancı kokuya maruz bırakma testi

2.3.3.1.2. Öğrenme ve bellek modelleri

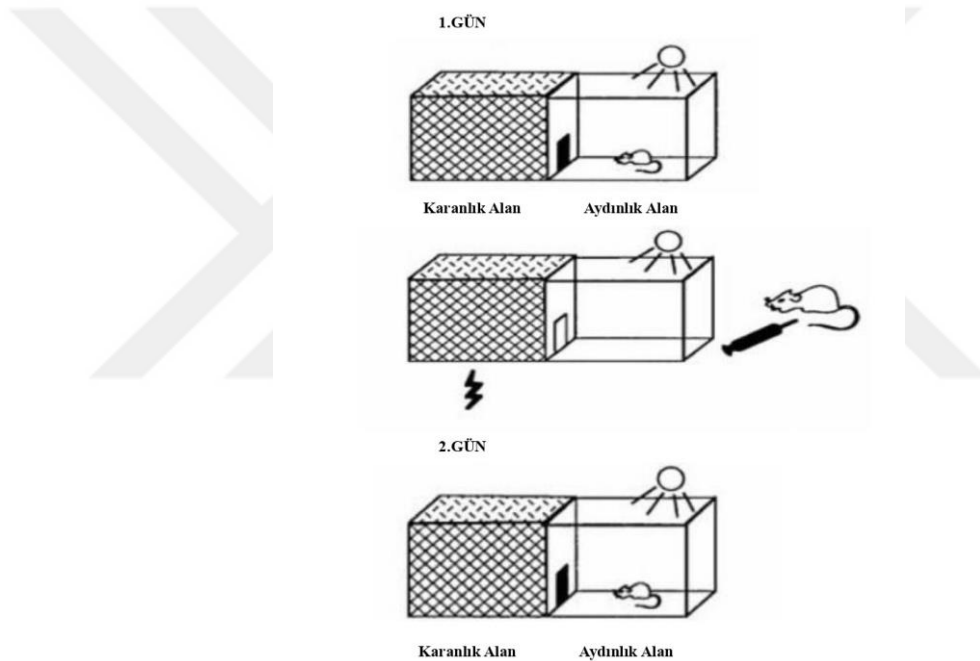
1. Pasif sakınma testi
2. Aktif sakınma testi
3. Barnes labirenti
4. Morris su labirenti testi
5. Diğer labirentler (Y-maze, T-maze, radial arm maze)

2.3.3.1.2.a. Pasif sakınma testi

Belleği değerlendirme yöntemlerinden birisi olan pasif sakınma testi, negatif güçlendirme ilkesine dayanır. Test sırasında deney hayvanı hoş olmayan bir uyarana maruz bırakılarak hareket etmesi ve ortamı keşfetmesi engellenir. Bu sayede bilişsel fonksiyonlardan duygusal öğrenme ve bellek test edilebilir [68].

Test cihazı, ızgara tabanlı aydınlık ve karanlık iki bölmeden oluşur ve bu iki bölme küçük bir kapıyla ayrılmıştır. Bölmelerden biri küçük ve aydınlık olup, elektrik şoku verilmezken, diğeri daha büyük ve karanlıktır ayrıca bu bölme deneğe elektrik şoku uygulanabilir şekilde tasarlanmıştır [69]. Testin ilk aşamasında öğrenme

periyodu uygulanır ve deney hayvanı iki bölme arasındaki otomatik kapı kapalıyken aydınlık bölmeye konularak ortama adaptasyonunu sağlamak için 20 sn'lik bir süre tanınır. Süre sonunda kapı otomatik olarak açılır ve hayvanın karanlık ortama geçmesiyle birlikte kapı kapanarak 2 saniye süreyle 1 mA elektrik şoku uygulanır. Bu periyotta sıçanın aydınlık taraftan karanlık tarafa geçtiğinde geçen süre kaydedilecektir. İkinci aşama öğrenme periyodundan 24 saat sonra aynı şekilde tekrarlanarak gerçekleştirilir. Bu periyotta deney hayvanının kapı açıldıktan sonra aydınlık alandan karanlık alana geçip geçmediği gözlenir. Testin sonlandırılma süresi 300 saniyedir. Bu süre içerisinde karanlık tarafa geçmeyen deney hayvanlarının öğrenmesinde bir bozukluk olmadığı kabul edilir (Şekil 2-4).



Şekil 2-4 Pasif sakınma test düzeneğinin şematik gösterimi

2.3.3.1.2.b. Morris su labirenti testi

Prof. Richard Morris tarafından, 1980–1982 yıllarında geliştirilen bu test deney hayvanlarında en sık kullanılan hipokampus temelli uzaysal öğrenme ve bellek değerlendirme testidir [70, 71]. Bu test sayesinde yakın hafıza, uzak hafıza ve öğrenme değerlendirilebilir [72].

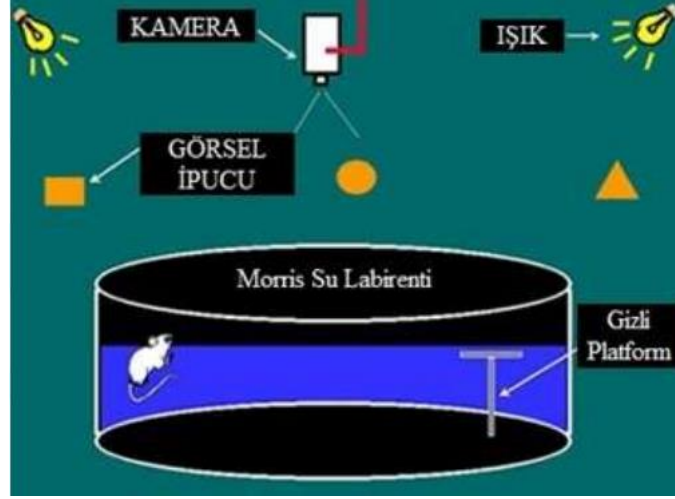
Morris su tankı, çapı 140 cm, derinliği ve yerden yüksekliği 75 cm olan yuvarlak bir havuzdan oluşur. Havuz, 60 cm derinliğinde 26°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) suyla doldurulmuş ve ışığı yansıtmayan malzemeden yapılmıştır. İçinde, çapı 10 cm olan gizlenmiş bir kaçış platformu bulunur. Su seviyesi, deney hayvanının kuyruğu aracılığıyla havuz dibindeki ipuçlarından yön tayinini engellemek için deneyin kuyruğu zemine değmeyecek şekilde ayarlanır. Aksi takdirde bu durum yanıltıcı deney verilerine sebep olabilir. Deney hayvanlarının yönlerini belirlemeleri için havuzun bulunduğu odanın duvarlarına farklı şekil ve renkleri içeren görsel ipuçları yerleştirilir. Deney hayvanlarının, bu görsel ipuçları sayesinde yönlerini bulup kaçış platformuna ulaşmaları ve sudan kurtulmaları hedeflenir. Deney hayvanlarının suya bırakıldığı andan platforma ulaşmalarına kadar geçen süre, bu süre zarfında katettikleri mesafe, yüzme hızları ve sergiledikleri davranışlar, tankın merkezinden yaklaşık iki metre yükseklikte kurulan bir video kamera sistemi ile izlenir ve kaydedilir [63, 71, 72].

Öğrenme sürecinin sonunda, öğrenmenin derecesini değerlendirmek amacıyla, kaçış platformu havuzdan çıkarılarak prob deneyi uygulanır. Bu deney, genellikle 4-5 günlük ardışık öğrenme eğitiminden bir gün sonra gerçekleştirilir. Bu deneyde, deney hayvanının 30-60 saniye süre zarfında daha önce platformun bulunduğu çeyrek kadranda diğer bölgelere kıyasla ne kadar vakit geçirdiği kaydedilir. Öğrenme eğitimlerinde platformun yerini iyi öğrenmiş deney hayvanının, harcadığı sürenin veya kat ettiği yolun en az %30'unu platformun bulunduğu çeyrek kadranda geçirmesi beklenir.

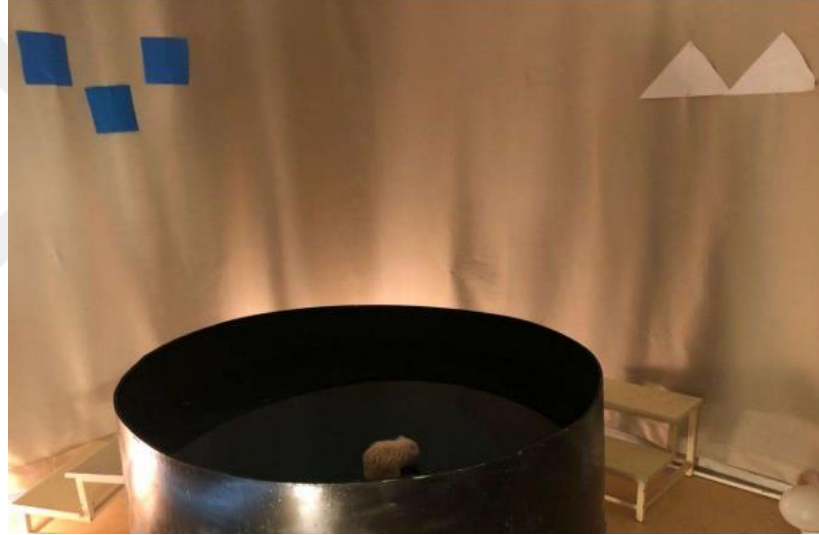
Davranış deneylerinde veriler, bilgisayar programları aracılığıyla veya kronometre kullanarak hayvanın gözle takibi olmak üzere iki farklı şekilde kaydedilebilir [64].

MSL diğer labirentlere göre iki belirgin üstünlük sağlar:

- Sudan rahatsız olan deney hayvanı dışarı çıkmak isteyeceğinden güvenli bir yer bulmak için etrafı araştırır.
- Diğer labirentlerden farklı olarak, havuzun içerisinde kullanıma bağlı olarak oluşabilecek ipuçları bulunmaz.



Şekil 2-5 Morris su labirenti şeması



Şekil 2-6 Çevresindeki görsel ipuçlarıyla birlikte Morris su labirenti örneği

2.4 Nörokognitif Fonksiyonlar

Latince "Cognita" kelimesinden türetilen kognitif terimi kişinin kendini ve dünyayı anlaması, öğrenmesi ve çevresi hakkında kazandığı bilgi ve kanıyı içeren zihinsel süreçleri ifade eder. Bilinç, öğrenme, bellek, dikkat, algılama, yargılama, oryantasyon, zeka, eylem, duygu, hayal kurma, karar verme, sorun çözme, konuşma, okuma, yazma ve hesaplama gibi karmaşık beyin işlevlerini kapsar [73, 74].

2.4.1. Anatomi-Fizyoloji

Dış dünyadan gelen veriler duyular aracılığıyla, iç dünyadan gelenler ise hipotalamus yoluyla alınır. Limbik kortikal bölgeler hipotalamusun işlevleriyle uyumlu olarak bellek, emosyonlar, hormonal denge ve otonom fonksiyonlarda temel roller üstlenirler. Dış dünya ile iç ortam ilişkisi, primer duyuşal ve motor kortekslerin yanı sıra sırasıyla modaliteye özgü asosiasyon kortekslerinden, üst düzey asosiasyon kortekslerine, paralimbik kortikal bölgelere ve hipotalamusa doğru gerçekleşir [75].

Kognitif fonksiyonların gelişiminde belirli beyin bölgelerinin öncelikli olduğu laboratuvar çalışmalarıyla kanıtlanmıştır. Hipokampus, bellek fonksiyonlarında önemli bir rol oynar [76]. Otoradyolojik araştırmalar, hipokampusta alfa 7 ve alfa 4 nikotinik reseptörlerin bulunduğunu ortaya koymuştur (Alfa 7 nikotinik asetilkolin reseptörleri, merkezi ve periferik sinir sisteminde yaygın şekilde bulunur ve sinaptik iletimde hem presinaptik hem de postsinaptik düzeylerde önemli bir işlev üstlenir) [77, 78]. Ratlarda alfa 4, alfa 7 ve beta 2 nikotinik agonistler işleyen bellek üzerinde oldukça etkilidir [79]. Amigdala uzak bellek oluşmasında nikotinik etkilerde çok önemli rol oynar [80]. Basolateral amigdala, korku belleği üzerinde ön plana çıkmaktadır [81]. Frontal korteks ve talamik nükleus gibi diğer beyin alanlarının, nikotin içeriği açısından belleğe etkisi de önem arz etmektedir [76].

Genel anestezi ilaçlar, beynin işlevlerini nöronal membranlar, reseptörler, nörotransmitterler, iyon kanalları, beyin kan akışı ve metabolizması üzerinden her düzeyde etkiler.

Nikotinik asetilkolin reseptörleri, çeşitli türdeki anesteziyelere karşı duyarlıdır. Barbitüratlar, ketamin ve volatil anesteziyelere nöronal nikotinerjik asetilkolin

reseptörlerini (nAChRs) deprese ederler. Ancak barbitüratların bu etkisi anestezi etkisiyle uyumlu değildir. Hafıza veya kognitif yetersizliğin nedeni santral nAChRs'lere yansıyan bu ikincil etki olabilir [82].

North American Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4th edition (DSM-IV) sınıflamasına göre kognitif bozukluklar 4 gruba ayrılmaktadır [83].

1. Deliryum, anlık bilinç bozukluğu ve kognitif değişiklikler (bellek, oryantasyon, dil) ile tanımlanan, dikkati bir konuya odaklama, sürdürme veya başka bir konuya kaydırma yeteneğinde azalma gösteren, gün içerisinde dalgalı seyir gösterebilen bir sendromdur.

2. Demans, dil, yönetim becerileri ve bellek dahil olmak üzere çoklu kognitif yetersizliklerle karakterizedir. Bu kognitif bozukluklar, sosyal ve mesleki işlevselliği belirgin şekilde etkiler ve önceki işlevsellik seviyesinde belirgin bir düşüşe yol açar.

3. Amnestik bozukluklar, yeni bilgileri öğrenme güçlüğü veya eskiden öğrenilmiş bilgileri ya da geçmiş olayları hatırlama yetilerinde bozulma ile karakterizedir. Diğer kognitif fonksiyonlarda net bir bozukluk görülmez.

4. Nörokognitif bozukluk, iki veya daha fazla kognitif fonksiyon bozukluğunu içeren bir durumdur ve genellikle iki haftadan daha kısa bir sürede düzelme görülmez. Bellek, yönetim becerileri (planlama, organizasyon, sıralama, soyut düşünme), dikkat, konsantrasyon ve dil gibi kognitif alanlarda bozukluklar gözlenir. Nöropsikolojik testler sayesinde kognitif fonksiyon bozuklukları kanıtlanır. Bu tür kognitif yetersizlikler, sosyal ve mesleki alanlarda ve diğer önemli yaşam alanlarında dikkat çeken sorunlara neden olabilir [84].

Anestezinin kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi birçok klinik ve hayvan deneyi araştırmalarına konu olmaktadır. Anestezi sonrası bilişsel fonksiyonlarda bozulmaya yol açan etkenlerin ve değerlendirme yöntemlerinin bilinmesi, kognitif bozukluklar hakkında daha güvenilir bilgilere ulaşmamızı ve alınacak önlemlerle sıklığının ve şiddetinin azaltılmasını sağlayacaktır. Anestezi uygulamalarında amaç, uygulanan ilaçlarla vücut fonksiyonları korunurken geçici olarak bilinç kaybı, refleks aktivitesinde azalma ve farklı derecelerde kas gevşemesinin sağlanmasıdır. İlk iki etki, anestezi ajanlarının MSS'de yaptığı depresyonun bir sonucudur [85].

Genel anesteziğin bilinç ve beyindeki kognitif fonksiyonlar üzerinde doza ve süreye bağlı olarak etkisi olduğu bilinmektedir. Anestezi altında yapılan bir cerrahi müdahalenin ardından kognitif fonksiyonların değerlendirilme amacı; genel anesteziğin ve kullanılan ilaçların etkilerinin azalmasıyla azalmadığını belirleyerek derlenme düzeyini saptamak, bununla birlikte anestezi ve cerrahi müdahalenin sebep olduğu kognitif fonksiyon bozukluğunu araştırmaktır [86]. Postoperatif kognitif bozukluklar, postoperatif deliryum ve POKD olmak üzere iki ana başlık altında incelenir [83]. POKD, konsantrasyon güçlüğünden, deliryuma kadar değişen geniş bir klinik yelpazede ortaya çıkabilir [87].

2.4.2. Postoperatif kognitif disfonksiyon (POKD)

Anestezi sonrası günler veya haftalar sonra başlayan, haftalar hatta aylarca devam edebilen, bazen kalıcı olabilen kognitif fonksiyon bozuklukları olarak tanımlanır [88]. Başka bir ifadeyle anestezi sonrası, kavrama yeteneği ve hafızada meydana gelen zayıflamadır [89, 90]. Özellikle belirli cerrahi türlerinin uygulandığı, bazı komorbid hastalıkların eşlik ettiği, önceden kognitif disfonksiyonu bulunan ve ileri yaş hastalar, POKD gelişimi açısından yüksek risk altındadır. Bu hastalarda uzun süreli kognitif bozukluklar ortaya çıkabilir [90, 91].

Özellikle ileri yaş, POKD gelişmesinde temel risk faktörlerinin başında gelmektedir [89-93]. Birçok merkezde eş zamanlı yapılan ve 60 yaşın üzerinde 1200 hastayı kapsayan bir araştırma göstermiştir ki, POKD, ameliyattan sonraki ilk haftada hastaların % 25,8'inde görülürken, 3. ayda bu oran % 9,9'a kadar düşmüştür [7]. Yapılan başka bir araştırmada ise ameliyat olmamış kontrol grubuyla, ameliyat olan orta yaş grubu hastalar karşılaştırıldığında ameliyattan sonraki birinci haftada yüksek oranda POKD geliştiği saptanmıştır [94]. Bununla birlikte kardiyak veya kalça kırığı cerrahisi gibi büyük cerrahi operasyonlar, alkol bağımlılığı, düşük eğitim seviyesi, serebrovasküler hastalık öyküsü, preoperatif kognitif fonksiyon bozukluğunun olması, cerrahi ve anestezi süresi, postoperatif solunum komplikasyonları, infeksiyonlar, ağrı ve çok sayıda cerrahi girişime maruz kalma POKD için diğer risk faktörleridir [95, 96].

Postoperatif kognitif disfonksiyonun etiyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte multifaktöryel olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir. Bunlardan en popöler olanı, nörotransmitter sistemindeki (asetil kolin ve serotonin) perioperatif imbalanstır. Ayrıca, GABA, glutamat, dopamin gibi diğer nörotransmitterler de POKD gelişimine etki edebilirler. Daha çok yaşlılarda görölebilen nörofizyolojik rezervin azalması da POKD oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca sitokinler gibi inflamatuvar mediatörler de bu fonksiyon bozukluğunun gelişmesinde rol oynar. Sitokinler (interlökinleri içerirler) infeksiyon, sepsis ve cerrahi gibi stresli durumlarda salgılanırlar ve hormon regülâsyonunda ve nörotransmitter aktivitede etkilidirler. [89, 90].

Özetle, POKD gelişimi için öne sürölen hipotezler, normal nörotransmitter aktivitenin bozulması, inflamatuvar mediatörlerin salgılanması ve hormonal dengesizliktir. Bu faktörlerin hepsi de POKD gelişmesinde etkin rol alabilir.

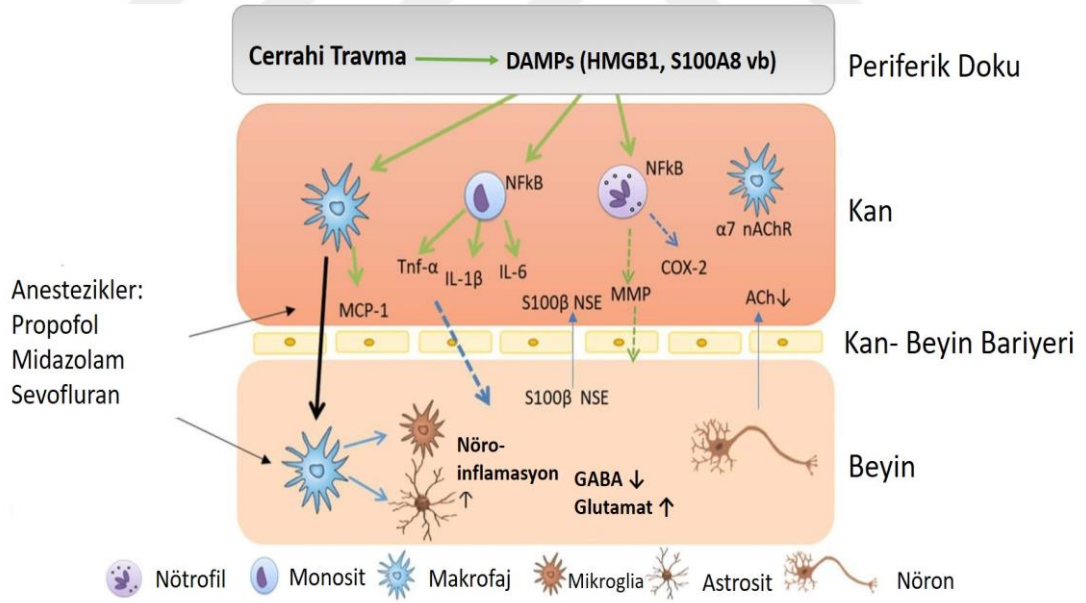
Tablo 2-5 Postoperatif kognitif disfonksiyon için risk faktörleri [96]

POKD İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ	Değerlendirme zamanı	POKD insidansı (%)
Hasta bağımlı faktörler	İleri yaş	≤ 1 hafta 41.4 1 hafta-3 ay 12.7-14 > 1yıl 16
	Eğitim seviyesi (Yüksekokuldan daha düşük)	≤ 1 hafta 27 1 hafta-3 ay 9 > 1yıl 10
	Erkek cinsiyet	≤ 1 hafta Yetersiz veri
	Menopoz	≤ 1 hafta Yetersiz veri
	Apolipoprotein E4	≤ 1 hafta 11.7 1 hafta-3 ay 10.3
	Komorbiditeler	Ameliyat öncesi depresyon
Metabolik sendrom		Değişken veriler
Ameliyat öncesi kognitif bozukluk		Değişken veriler
Diğer komorbiditeler		Değişken veriler
Cerrahi ve anestezi bağımlı faktörler	İkinci ameliyat	≤ 1 hafta 43 1 hafta-3 ay 20
	Uzun süreli ameliyat / anestezi	≤ 1 hafta 33 1 hafta-3 ay 9 > 1yıl 11
	Ameliyat sonrası enfeksiyon	≤ 1 hafta 39 1 hafta-3 ay 14-19 > 1yıl 19
	Solunum komplikasyonu	≤ 1 hafta 59 1 hafta-3 ay 14-15 > 1yıl 14
	Anestezik tip	Değişken veriler
	Ağrı yönetimi	Değişken veriler
	Tütün kullanımı	Değişken veriler
	Diğer faktörler	Alkol veya uyuşturucu kullanımı geçmişi ≤ 1 hafta 26.8

2.5 Biyokimyasal Belirteçler

2.5.1 İnflamasyon belirteçleri

Nükleer faktör kappa B'nin artışı nötrofiller, monositler ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinde, aktif hale gelmesine neden olan hasar ile ilişkili moleküler faktörlerin kana salınmasına yol açar. Bu hücreler, sitokin ve kemokin salgılar (Şekil 2-7) [97]. Matriks metalloproteinazlar ve siklooksijenaz 2'nin (COX-2) salınması, kan-beyin bariyerinin geçirgenliğini artırır ve proinflamatuvar sitokinler ile makrofajların beyne girmesine olanak tanır. Beyne giren bu hücreler mikroglia ve astrositlerde nöronal immün yanıtı tetikler [98, 99]. Bu immün yanıtın amacı iyileşme sağlamak olsa da, ileri düzeyde doku hasarı, sinaptik disfonksiyon, nörogenezin inhibisyonu ve nöronal ölüm meydana gelebilir. Bu süreçte etkili olan moleküller arasında özellikle TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve IL-10 gibi proinflamatuvar sitokinler yer alır [100-103].



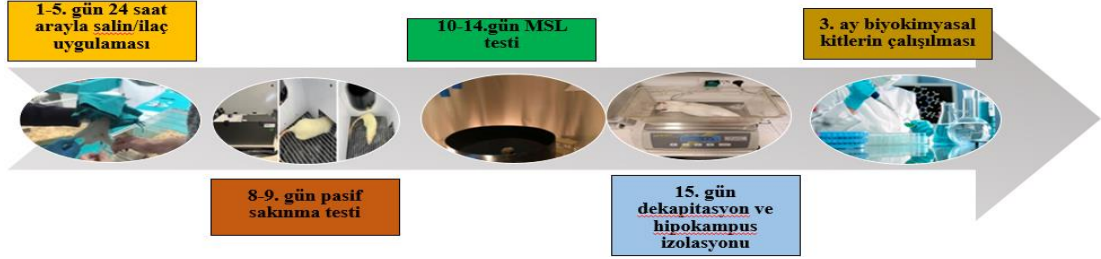
Şekil 2-7 Anestezi ilaçlarının inflamasyon belirteçleri üzerine etkilerinin şematik gösterimi.

2.5.2 Öğrenme belirteçleri

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör, yüksek afiniteli protein kinaz reseptörleri (Trk) ve seçici olmayan p75 NGFR reseptörü ile etkileşime giren nörotrofin ailesine aittir . BDNF geni, merkezi veya periferik dokuda farklı şekilde eksprese edilen çoklu düzenleyici elementler ve dört promoterden oluşan karmaşık bir yapıya sahiptir. BDNF, hipokampal nöronların önemli bir düzenleyicisidir ve anıların bilişini, oluşumunu ve depolanmasını düzenler [10]. BDNF ve onun intranöronal yolu, nöroinflamasyon ile nöronal disfonksiyon (azalmış nörogenез, sinaptik plastisite ve LTP gibi) arasında aracı rol oynayarak bilişsel bozukluğa yol açar [98].

Nükleer faktör kappa B, hücrenin hayatta kalması, farklılaşması ve çoğalmasında rol oynayan indüklenabilir bir transkripsiyon faktörüdür, hipokampusta apoptoz ve bilişsel işlev bozukluğu ile ilişkilendirilmiştir [14]. NF-κB yolu ve NLRP3 inflamatuvar aktivasyonu, nöroinflamasyonun anahtar olaylarıdır ve birbiriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tekrarlayan propofole maruz kalma, NF-κB p65'in fosforilasyonunu teşvik edebilir ve IL-1β, IL-6 ve TNF-α'nın hem hipokampal hem de serum seviyelerini artırabilir [9].

3 GEREÇ ve YÖNTEM



Şekil 3-1 Deneyin zaman çizelgesi

Çalışma için Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır (Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Kararları/Tarih ve Sayı: 31.10.2023-E.127856). Helsinki Deklerasyonu'na uygun olarak yürütülen araştırmada kullanılan deney hayvanları, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi bünyesinden temin edildi ve araştırmanın tüm aşamaları aynı merkezde gerçekleştirildi.

Çalışmada, her biri 12 haftalık, ağırlıkları 410-570 gr arasında değişen 32 adet erkek Sprague Dawley cinsi rat kullanılmıştır (Şekil 3-2). Denekler, deney öncesinde ve deney sırasında kontrollü çevresel koşullar altında (22-24°C, %40-60 nem oranı, arıtılmış şebeke suyu ve ad libitum pelet yem ile beslenme), 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüde takip edildi.



Şekil 3-2 Denek olarak kullanılan Sprague Dawley cinsi ratlar

3.1 Güç Analizi

Water maze değişkeni için, %95 güven düzeyinde (1- α), %80 test gücü (1- β) ile gruplar arasında öngörülen 19,2 ortalama farka (ortalamalar 53,2 ve 72,4, standart sapma 12,1 ve 11,6) önem atfedildiğinde her bir grupta alınması gereken örnek sayısı 8 olarak belirlenmiştir [104].

3.2 Deney Gruplarının Oluşturulması

Denekler tabakalı rastgele dağıtım yöntemiyle dört gruba ayrıldı ve gruplar isimlendirildi.

Grup K: Kontrol grubu (n=8, intraperitoneal (i.p.) 4 ml salin uygulandı.)

Grup P: Propofol grubu (n= 8, i.p. 150 mg/kg propofol uygulandı.)

Grup Ke: Ketamin grubu (n= 8, i.p. 120 mg/kg ketamin uygulandı.)

Grup KeP: Ketamin+Propofol grubu (n=8, i.p. 60 mg/kg ketamin ve 75 mg/kg propofol uygulandı.)

Ratlar, her kafeste 4 adet olmak üzere 8 ayrı kafes içinde barındırıldı. Kafeslerine göre K1, K2, P1, P2, Ke1, Ke2, KeP1, KeP2 olarak; her kafesteki hayvan da 1, 2, 3, 4 olmak üzere isim ve sayı ile kodlanarak kimlik oluşturuldu ve bu kimliklerine uygun şekilde kuyruklarına kalem ile kod belirten işaretler konuldu (**Şekil 3-3**)



Şekil 3-3 Ratların grup ve numara metoduyla kimliklendirilmiş halleri

3.3 Deney Protokolü

Araştırmamızda tekrarlayan anestezi uygulamalarında sıkça kullanılan propofol ve ketaminin nörokognitif fonksiyonlar üzerine etkisini değerlendirmek için 5 gün ard arda tekrarlayan anestezi sonrası, önce davranış deneyleri, ardından biyokimyasal analizler yapmak üzere bir protokol oluşturuldu. Deneye başlamadan önce etik kuruldan onay alınarak yapılan ön çalışmada gruplara uygulanacak ilaç dozları belirlendi. Güç analizi sonucunda belirlenen 32 deney hayvanı tabakalı rastgele örnekleme yöntemiyle Grup K (n=8), Grup P (n=8), Grup Ke (n=8), Grup KeP (n=8) olmak üzere 4 eşit (grup içi heterojen, gruplar arası homojen) gruba ayrıldı. Hangi gruba hangi ilacın verileceği kura ile belirlendi. Her deneğe eşit stres oluşturmak için toplam 4 ml salin/ilâç i.p. olarak enjekte edildi. İlk etapta tekrarlayan anesteziyi taklit etmek amacıyla ratlara 5 gün boyunca 24 saat arayla belirlenen ilaç ve dozları uygulandı. İki gün dinlendirilen deney hayvanları ikinci etapta önce pasif sakınma testine, ardından MSL testine tabi tutuldu.

Davranış deneylerinin sonlandırılmasının ardından gruplara sırasıyla anestezi uygulandı (Her gruba daha önce kendi grubunda kullanılan anestezik ilaç ve dozları uygulandı.). Ratlara anestezi uygulandıktan sonra dekapitasyonun yapılacağı bölüme alındı. Projede bu işlemden sorumlu kişi tarafından çalışma laboratuvarı bünyesinde bulunan giyotin yardımıyla dekapitasyon gerçekleştirildi. Dekapitasyon sonrası cerrahi aletler ile kafatası açılması işlemi yapıldı ve başka bir yardımcıya verildi. Beyin dokusu hızlı bir şekilde çıkarılarak ince bilateral diseksiyon yapılarak hipokampusların izolasyonu gerçekleştirildi. Hipokampuslar serum fizyolojik ile yıkanarak biyokimyasal kitlelere (YL Biotech, Shanghai, Çin) uygun izolasyon medyumuna alındı. Alınan materyaller hızlı bir şekilde önceden hazırlanmış buz kutularının içine konularak işlem bitimine kadar muhafaza edildi. Deney sonunda numaralandırılarak izole edilen hipokampus örnekleri, ölçüm yapılacak kitler hazırlanıncaya kadar -80 °C'da saklamak için fakülte bünyesinde bulunan dolaplara transfer edildi. Biyokimya laboratuvarında, uygun araştırma kitleri ile inflamasyon belirteçleri (TNF-a, IL-1 β , IL-6) ve öğrenme belirteçlerinin (BDNF, NF- κ B) düzeyleri ölçüldü ve kaydedildi.

3.3.1. İlaç enjeksiyonları

Deney gruplarına her gün aynı kişiler tarafından aynı ortam koşulları gözetilerek enjeksiyon yapıldı (**Şekil 3-4**).

Kontrol grubu (Grup K, n=8): Öğrenme-bellek işlevlerine yönelik davranış deneyleri öncesinde 5 gün ard arda 24 saat arayla olmak üzere 4 ml salin i.p. olarak enjekte edildi.

Propofol grubu (Grup P, n=8): Öğrenme-bellek işlevlerine yönelik davranış deneyleri öncesinde 5 gün ard arda 24 saat arayla olmak üzere 150 mg/kg propofol (i.p. %2 1000 mg/50 ml, Propofol-PF MCT, Polifarma, Terkirdağ/Türkiye) toplam volüm 4 ml olacak şekilde i.p. olarak enjekte edildi.

Ketamin grubu (Grup Ke, n=8): Öğrenme-bellek işlevlerine yönelik davranış deneyleri öncesinde 5 gün ard arda 24 saat arayla olmak üzere 120 mg/kg ketamin (i.p. 500 mg/10 ml, Ketax, Vem ilaç, Tekirdağ/Türkiye) toplam volüm 4 ml olacak şekilde i.p. olarak enjekte edildi.

Ketamin+Propofol grubu (Grup KeP, n=8): Öğrenme-bellek işlevlerine yönelik davranış deneyleri öncesinde 5 gün ard arda 24 saat arayla olmak üzere 60 mg/kg ketamin + 75 mg/kg propofol toplam volüm 4 ml olacak şekilde i.p. olarak enjekte edildi.



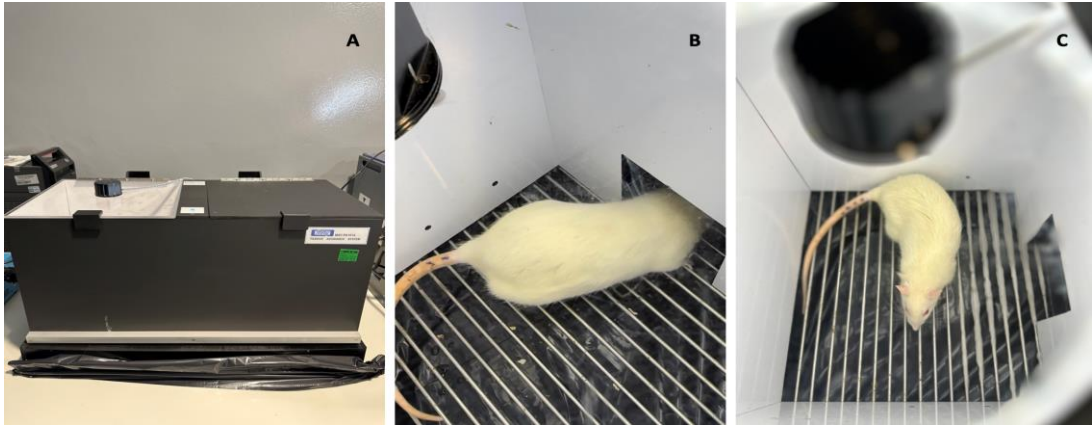
Şekil 3-4 Ratlara intraperitoneal yoldan ilaç uygulaması

3.4 Öğrenme ve Bellek İşlevlerini Değerlendirmeye Yönelik Testler

3.4.1. Pasif sakınma testi

Izgara tabanlı aydınlık ve karanlık iki bölmeden oluşan bir test cihazı kullanıldı. Bu iki bölme otomatik küçük bir kapı yardımıyla birbirinden ayrılıyordu. Bölmelerden biri küçük ve aydınlık olup, elektrik şoku verilmezken, diğeri daha büyük ve karanlıktır ayrıca bu bölme deneye elektrik şoku uygulanabilir şekilde tasarlanmıştır. Testin ilk aşamasında öğrenme periyodu uygulandı ve ratlar iki bölme arasındaki otomatik kapı kapalıyken sırasıyla aydınlık bölmeye konularak ortama adaptasyonunu sağlamak için 20 sn'lik bir süre tanındı. Süre sonunda kapı otomatik olarak açıldı ve hayvanın karanlık ortama geçmesiyle birlikte kapı kapanarak 2 saniye süreyle 1 mA elektrik şoku uygulandı. Bu periyotta sıçanın aydınlık taraftan karanlık tarafa geçme süresi kaydedildi. İkinci aşama, öğrenme periyodundan 24 saat sonra aynı şekilde testin tekrarlanmasıyla gerçekleştirildi. Bu periyotta deney hayvanının kapı açıldıktan sonra aydınlık alandan karanlık alana geçip geçmediği gözlemlendi. Testin sonlandırılma süresi 300 saniye olarak belirlendi (Şekil 3-5).

Davranış deneylerinin 1. ve 2. günlerinde bu test iki aşamalı olarak gerçekleştirildi. Test bitiminde denekler aynı odada normal ortam koşullarında takip edildi.



Şekil 3-5 A: Deneyde kullanılan pasif sakınma testi düzeneği B: Aydınlık bölmeden karanlık bölmeye geçen rat C: Kapı açıldığında aydınlık bölmede kalma eğilimi gösteren bir denek.

3.4.2. Morris su labirenti testi

Morris su labirenti testi için 150 cm çapında, 60 cm derinliğinde polikarbondan yapılmış silindir şeklinde siyah boyalı bir su tankı kullanıldı. Tank 45 cm yükseklikte, 23 ± 1 °C sıcaklığında su ile dolduruldu. Tankın etrafındaki duvarlara, sıçanın görüş alanında olacak şekilde farklı sayıda (1, 2, 3), çeşitli geometrik şekillerde (üçgen, kare, daire vb.) ve renklerde (mavi, kahverengi, beyaz) karton ipuçları asıldı (**Şekil 3-6**).



Şekil 3-6 Deneyde kullanılan Morris su tankı ve ipuçlarını kullanarak platformu bulmaya çalışan bir deney hayvanı.

Su tankı, tankın ortasından geçen iki dikey çizgi ile dört çeyreğe (doğu, batı, kuzey, güney kadrantları) ayrıldı ve güney kadrantının merkezine şeffaf pleksiglastan yapılmış kaçış platformu (10 cm X 28 cm) su yüzeyinin 2 cm altına yerleştirildi (Doğal yüzücü olan ratlar tankın içerisine bırakıldıklarında yüzebilir fakat su içerisinde bir platform bulduklarında platformda kalmayı tercih ederler). Suyu opaklaştırmak ve platformun görünmesini önlemek amacıyla bilinen bir olumsuz etkisi olmayan mavi ve mor renkli gıda boya kullanıldı. Deneyler; sirkadyen ritm açısından her gün aynı saatlerde (12.00-16.00) olacak şekilde yürütüldü. Ratlar günde dört kez (dört farklı yönden, her gün farklı sıra ile suya bırakılarak) ardışık 4 gün boyunca yüzdürüldü. Ratlar, yüzleri tankın duvarına dönük olacak şekilde sıfır noktasından su yüzeyine

bırakıldı. Uygulayıcı tarafından ilk gün deneye başlarken çevrede yer alan ipuçlarının ratlara tanıtılmasının yanı sıra 60 saniye yüzdürme sonunda ratlar yönlendirilerek platformu bulmalarına yardım edildi. Ratların kaçış platformunda kalma süresi, çevre ipuçlarını tanımaları için 10 saniye olarak belirlendi. Yüzdürme işlemi sonrasında sıçanlar havlu ile kurutuldu ve ısıtıldı.

5. gün prob deneyi yapıldı. Bu deneyde, kaçış platformu kaldırıldı. Havuz 4 eşit kadrana bölünerek sıçanlar rastgele belirlenen bir yönden (kuzeydoğu) havuza bırakıldı. Daha önceden kaçış platformunun bulunduğu kadranda (hedef kadrana) geçirdikleri süre, hedef kadrana ilk giriş zamanı kaydedildi.

Çalışmanın sonucunu etkilememesi amacıyla; ortam koşulları (sıcaklık, renk, nem, koku, ses vb.) standardize edildi ve deneyler her gün aynı araştırmacılar tarafından yürütüldü. Her bir sıçanın suya bırakıldıktan sonra kaçış platformunu bulma süresi, yüzme yolunun uzunluğu ve kaçış platformunun olduğu kadranda geçirdiği süre (Prob Deneyi), kamera aracılığıyla kaydedildi.

Morris su labirenti testinin tüm aşamalarında, "EthoVision XT" adlı kayıt ve analiz sistemi kullanıldı. Bu sistem, bir CCD kamera (AXIS M1 145, Axis Communications, Kanada) ile görüntülerin analizini gerçekleştiren bir yazılım içermektedir (Şekil 3-7). Elde edilen veriler Excel formatında kaydedildi.



Şekil 3-7 EthoVision sisteminden deney verilerinin kayıt edilmesi ve takibi.

3.4.3. Biyokimyasal analizler

Dekapitasyondan hemen sonra beyin dokusu çıkarılarak, ince disseksiyon ile bilateral hipokampuslar çıkarıldı. Doku homojenizasyonu, pH:7.4 Phosphate Buffer Saline çözeltisi içinde mikro boncuklu 2 ml hacimli kapaklı tüpler içerisinde, homojenizatör (Rethsch, Haan, Germany) ile yapıldı. Daha sonra elde edilen homojenatlar, mikrotüplere alınarak +4 °C'de, 15.000xg'de 20 dakika santrifüjlenerek, pelet ve süpernatant olmak üzere 2 farklı fraksiyon elde edildi. Bikinkoninik Asit (BCA) yöntemi ile homojenatlardaki total protein miktarları hesaplandı. Biyokimyasal analizler, uygun kitler kullanılarak Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemiyle yapıldı. İnflamasyon belirteçleri TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve öğrenme belirteci olan BDNF ile NF- κ B düzeyleri hipokampus dokusunda ölçüldü. Doku homojenatı örneklerinde NF- κ B, BDNF düzeyleri bakıldı. Tüm analizler, 450 nm dalga boyundaki mikroplak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, ABD) gerçekleştirildi. Bu değerler, sıçanların biyokimyasal profilini ve moleküler düzeydeki değişiklikleri değerlendirmek amacıyla kullanıldı. Biyokimyasal çalışmalar aşağıda belirtilen prosedürler doğrultusunda gerçekleştirildi.

i.Total protein tayini; Deneyde, total protein miktarının belirlenmesi için BCA yöntemi kullanıldı. Öncelikle BCA çözeltisine Bakır Sülfat Pentahidrat eklenerek protein belirleme reaktifi hazırlandı ve 1 mg/ml olacak şekilde hazırlanan standart bir bovin serum albumin (BSA) çözeltisi kullanıldı. Standartlar 96 kuyucuklu mikroplağa 25 μ l hacimde ölçülerek pipetlendi.

ii.ELISA Protokolü; Çalışma, örneklerin ve kitlerin (YL Biotech, Shanghai, Çin) oda sıcaklığına getirilmesiyle başladı. Beş standart kiti kullanarak BDNF için 6.4 ng/ml, NF- κ B için 12 ng/ml, TNF- α için 640 ng/L, IL-6 için 24 ng/L, IL-1 β için 4800 pg/L konsantrasyonları elde edildi. Mikroplaktaki örnek kuyucuklarına 40 μ l örnek ve 10 μ l ilgili antikor eklenip 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. Ardından 3 defa yıkama yapıldı ve solüsyon adımlarıyla devam edildi. Mikroplaklar, ışık almayacak şekilde 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Son olarak, Stop Solüsyonu eklenip 450 nm

absorbansla mikropalak okuyucuda ölçüldü; konsantrasyonlar lineer standart grafiği kullanılarak hesaplandı.

3.5 İstatistiksel Değerlendirme

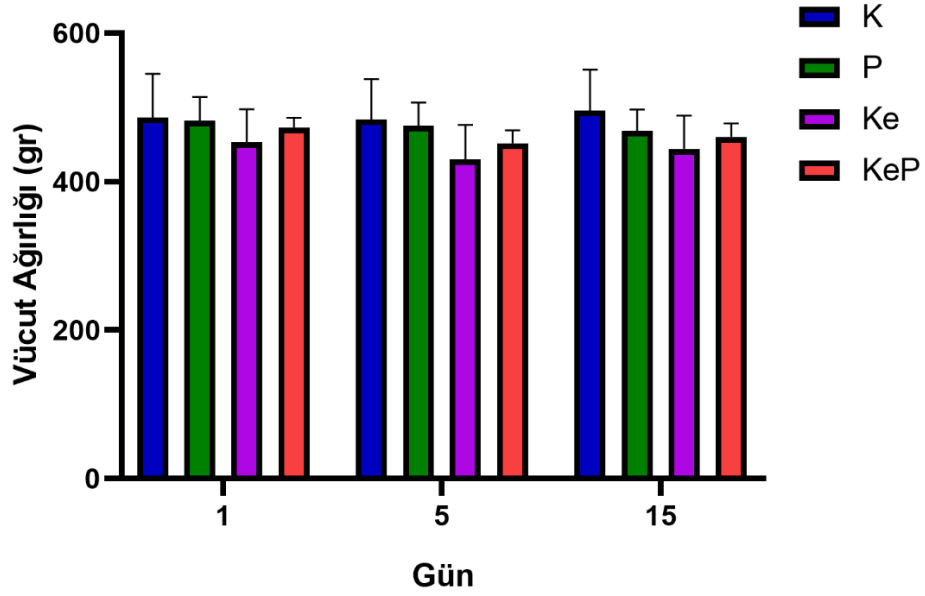
Elde edilen tüm veriler Instat İstatistiksel Paket Programı (Instat Graphad Software 8.0.1, San Diago, CA, USA) aracılığı ile analiz edildi. Grupların dağılımu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uygunluğunun test edilmesini takiben, normal dağılıma sahip bağımsız grup karđılađtırması One-Way ANOVA testi ile, normal dağılıma sahip olmayan bağımsız grup karđılađtırması Kruskal Wallis testi ile yapıldı. Anlamlı çıkan değişkenlerin post-hoc karđılađtırmaları Bonferroni ve Dunn testi ile yapıldı. Bağımlı grup karđılađtırmalarında Two-Way ANOVA analizi uygulanarak Bonferroni'nin çoklu karđılađtırma testi ile değerlendirildi. Verilerin tamamlayıcı istatistikleri ortalama \pm standart sapma ile verildi ve tüm analizlerde $p < 0.05$ değerini istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4 BULGULAR

Çalışmaya 32 adet 12 haftalık erkek Sprague Dawley rat dahil edilmiştir. K, P, Ke, KeP olarak 4 gruba ayrılmış ve her grupta 8 hayvan bulunmaktadır. Hayvanların birinci, beşinci ve on beşinci günlerde bakılan vücut ağırlıklarının (Şekil 4-1) ortalamaları arasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Şekil 4-2)

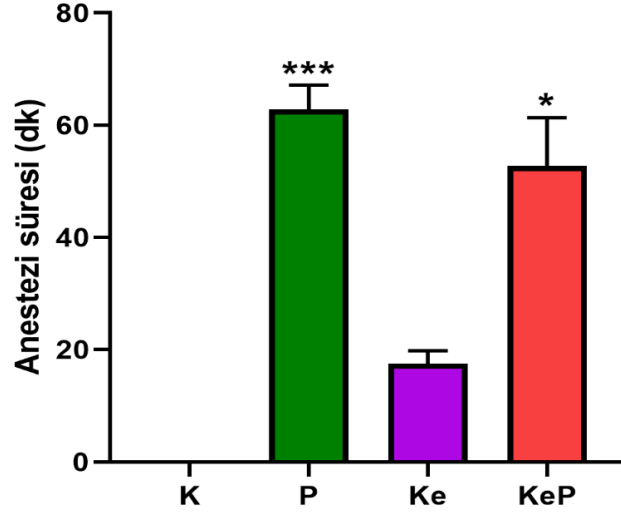


Şekil 4-1 Sedasyon altında, spontan solunumdayken tartılan bir deney hayvanı.



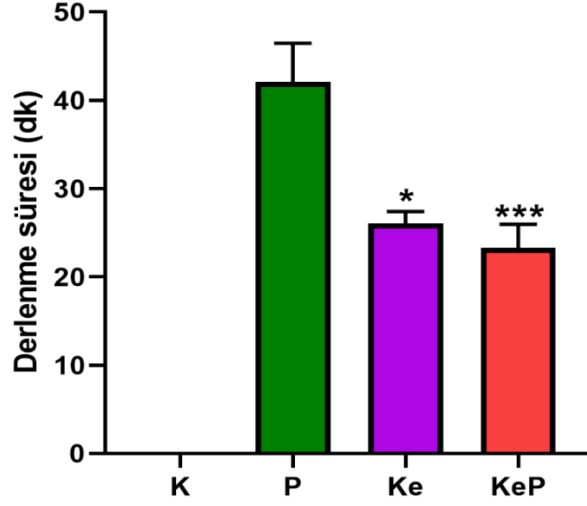
Şekil 4-2 Deney gruplarının günlere göre ortalama ağırlıkları ($p > 0.05$). (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) Two-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.

Anestezi süresi, doğrulma ve plantar reflekslerin olmadığı buna karşılık spontan solunumun devam ettiği ve hipoksik belirtilerin görülmediği zaman zarfı olarak kabul edildi. Derlenme süresi, deney hayvanlarında doğrulma ve plantar reflekslerin görüldüğü andan itibaren besine ve karanlığa yönelme eğiliminin başlangıcına kadar geçen süre olarak kabul edildi. K, P, Ke ve KeP gruplarının anestezi süreleri (sırasıyla ortalama \pm ss; 0 ± 0 ; $62,78 \pm 4,39$; $17,48 \pm 2,33$; $52,72 \pm 8,59$) ve derlenme süreleri (sırasıyla ortalama \pm ss; 0 ± 0 ; $42,12 \pm 4,35$; $26,05 \pm 1,37$; $23,28 \pm 2,68$) karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0.05$; $p < 0.001$).



Şekil 4-3 Deney gruplarının 5 günlük ortalama anestezi süreleri. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ Ke grubuna göre anlamlılık. Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

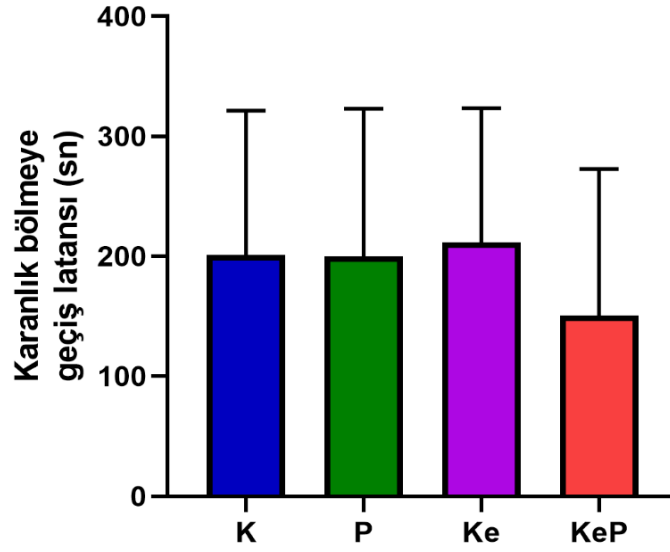
Gruplardaki ratların 5 günlük anestezi sürelerinin ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (**Şekil 4-3**). K grubunun anestezi süresinin sıfır olduğunu gözeterek diğer üç grubu karşılaştırdığımızda P ve KeP gruplarının anestezi sürelerinin ortalamaları Ke grubunun anestezi süresi ortalamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla bulundu (KeP için $p = 0.036$; $p < 0.05$, P için $p = 0.0001$; $p < 0.001$).



Şekil 4-4 Deney gruplarının 5 günlük ortalama derlenme süreleri. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ P grubuna göre anlamlılık. Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

Gruplardaki ratların 5 günlük derlenme sürelerinin ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (**Şekil 4-4**). K grubunun derlenme süresinin sıfır olduğunu gözetenek diğer üç grubu karşılaştırdığımızda Ke ve KeP grubunun 5 günlük derlenme süresinin ortalaması, P grubunun 5 günlük derlenme süresi ortalamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde kısa bulundu (Ke için $p = 0.019$; $p < 0.05$, KeP için $p = 0.0001$; $p < 0.001$).

4.1 Pasif Sakınma Testi

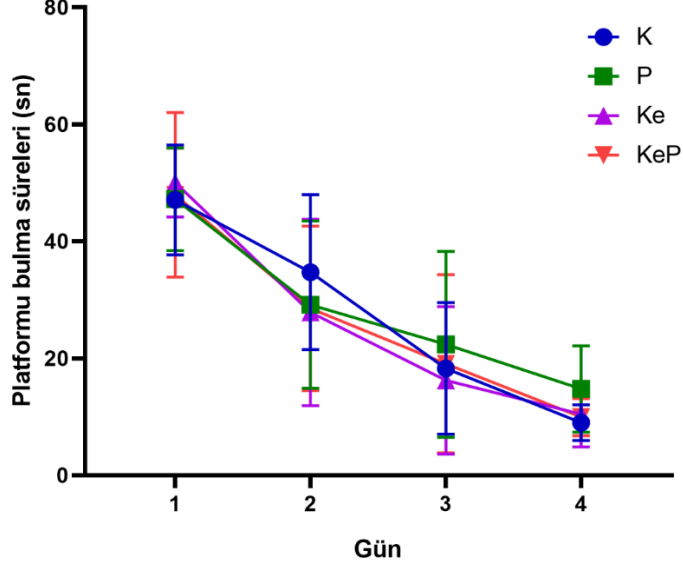


Şekil 4-5 Grupların pasif sakınma testi sırasında karanlık bölmeye geçiş latansı. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

Pasif sakınma testi ile gruplar karşılaştırıldığında, karanlık bölmeye geçiş latansında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). KeP grubunda karanlık bölmeye geçiş latansı diğer gruplara göre düşüktü fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (**Şekil 4-5**).

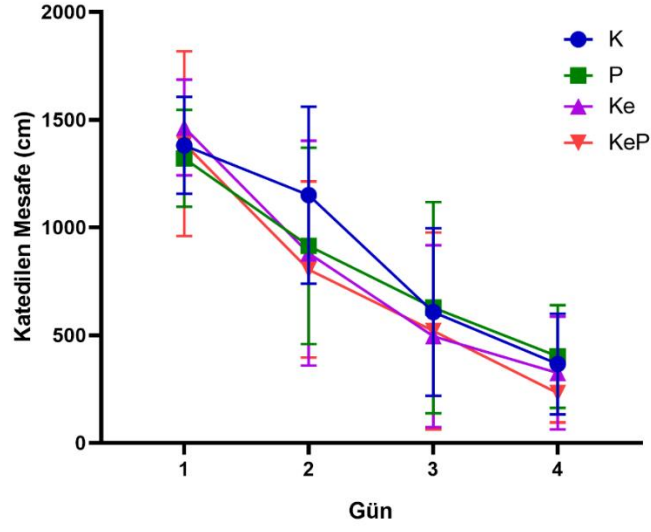
4.2 Morris Su Labirenti Testi

4.2.1. Öğrenme periyodu



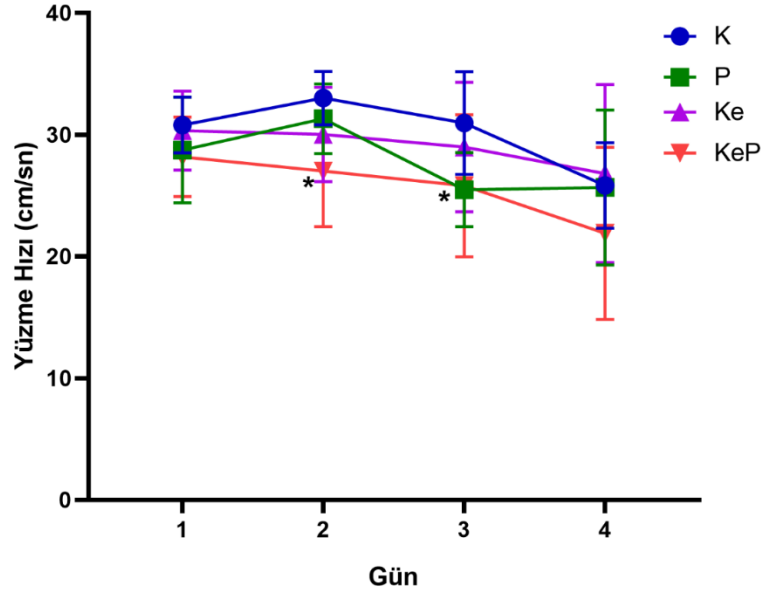
Şekil 4-6 Grupların günlere göre platformu bulma süreleri. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) Two-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.

Morris su labirentinin öğrenme periyodu süresince gruplara göre platformu bulma süreleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Her grup kendi içerisinde karşılaştırıldığında, birinci gün ve dördüncü gün arasında platformu bulma süreleri açısından grup içi anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.001$).



Şekil 4-7 Gruplarının günlere göre kat ettiği mesafe. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) Two-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.

Morris su labirenti öğrenme periyodu sırasında deney gruplarının günlere göre kat ettiği mesafe karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). Her dört grup, grup içinde karşılaştırıldığında birinci gün katedilen mesafe dördüncü gün katedilen mesafeden istatistiksel olarak anlamlı fazladır ($p < 0.001$).



Şekil 4-8 Grupların yüzme hızları. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık. Two-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.

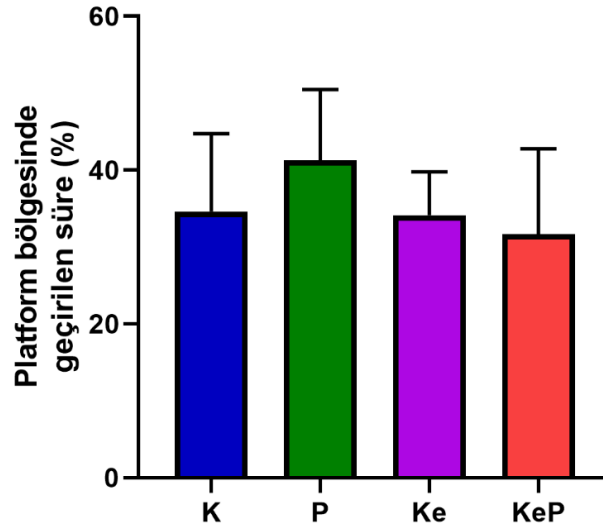
Morris su labirenti testinin öğrenme periyodu boyunca grupların günlere göre yüzme hızları karşılaştırıldığında grup içinde birinci ve dördüncü gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$). Gruplar arası karşılaştırmada ise KeP grubunda 2. gün, P grubunda ise 3. gün yüzme hızı K grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı az bulundu ($p < 0.05$).

4.2.2. Test periyodu

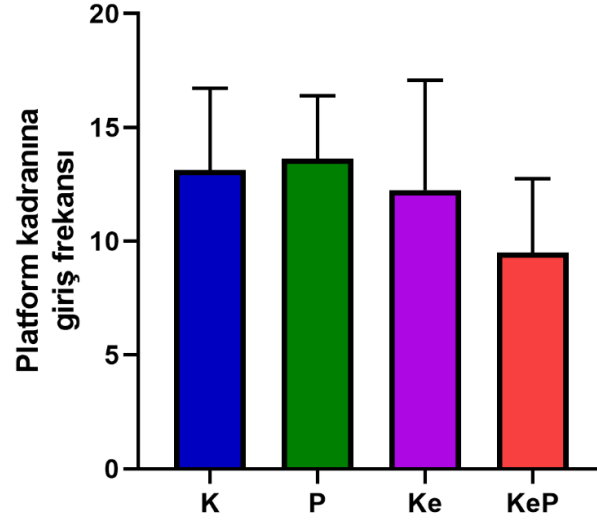
Tablo 4-1 Morris su labirenti prop testinde gruplara göre platform bölgesinde geçirilen süre, platform kadranına giriş frekansı ve platform bölgesine ulaşma latansı

	Grup K	Grup P	Grup Ke	Grup KeP	
	<i>Ort±SS</i>	<i>Ort±SS</i>	<i>Ort±SS</i>	<i>Ort±SS</i>	
Platform bölgesinde geçirilen süre	34,61±10,15	41,27±9,21	34,17±5,62	31,68±11,08	$p>0.05$
Platform kadranına giriş frekansı	13,13±3,60	13,63±2,77	12,25±4,83	9,5±3,25	$p>0.05$
Platform bölgesine ulaşma latansı	3,78±1,78	3,88±2,53	5,98±4,79	6,20±4,471	$p>0.05$

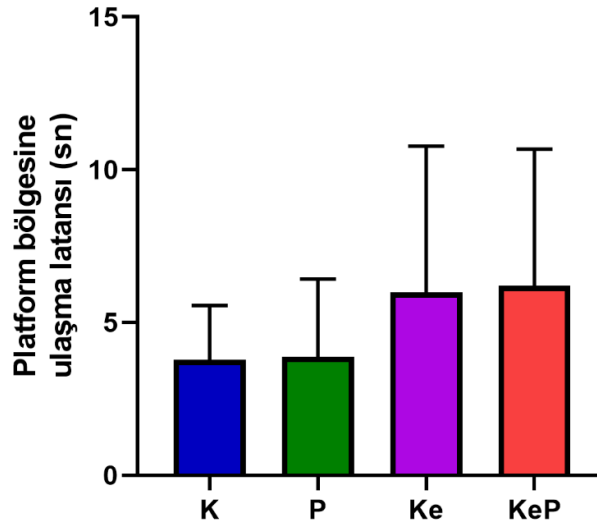
Ort±SS: Ortalama±Standart Sapma



Şekil 4-9 Grupların platform bölgesinde geçirdikleri süre. (Veriler ortalama ± SS olarak verilmiştir.) One-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.



Şekil 4-10 Grupların platform kadranına giriş frekansı. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) One-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.



Şekil 4-11 Grupların platform bölgesine ulaşma latansı. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

Morris su labirentinin 5. gününde yapılan test periyodunda bakılan platform bölgesinde geçirilen süre, platform kadranına giriş frekansı ve platform bölgesine ulaşma latansı gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

saptanmadı ($p>0.05$). Ke ve KeP grubunda platform bölgesinde geçirilen süre ve platform bölgesine giriş frekansı K ve P grubuna göre daha azdı. Bununla birlikte yine Ke ve KeP grubunda platform bölgesine ulaşma latansı K ve P grubuna göre daha uzundu. Ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

4.3 Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizlerde deney hayvanlarının dekapitasyonu sonrasında çıkarılan hipokampus dokusunda TNF- α , IL-1 β , IL-6, BDNF, NF- κ B düzeylerine bakılmıştır.

Tablo 4-2 Gruplara göre hipokampus dokusundaki TNF- α , IL-1 β , IL-6, BDNF, NF- κ B düzeyleri

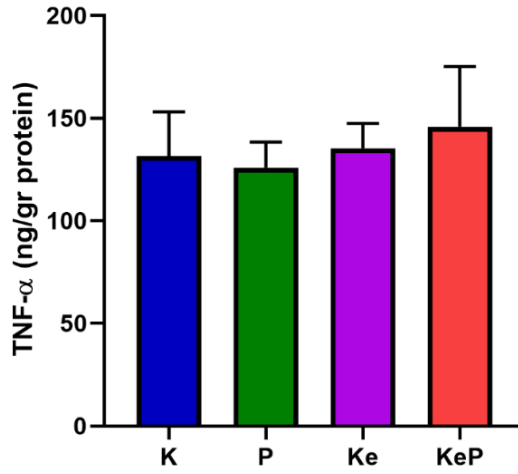
	Grup K	Grup P	Grup Ke	Grup KeP	
	<i>Ort\pmSS</i>	<i>Ort\pmSS</i>	<i>Ort\pmSS</i>	<i>Ort\pmSS</i>	
TNF- α (ng/gr protein)	131,6 \pm 21,45	125,9 \pm 12,5	135,3 \pm 12,06	145,9 \pm 29,37	$p>0.05$
IL-1β (pg/gr protein)	884,3 \pm 168,8	788,1 \pm 190,4	882,1 \pm 178,9	901,9 \pm 114,7	$p>0.05$
IL-6 (ng/gr protein)	1,89 \pm 0,58	0,7136 \pm 0,6 ⁺⁺⁺	1,467 \pm 0,70 ⁺	2,849 \pm 0,66	$p<0.05$
BDNF (ng/gr protein)	1,605 \pm 0,29	1,226 \pm 0,28 [*]	1,167 \pm 0,16 ^{**}	1,128 \pm 0,13 ^{**}	$p<0.05$
NF-κB (ng/gr protein)	2,432 \pm 0,26	2,224 \pm 0,11	2,268 \pm 0,11	2,44 \pm 0,34	$p>0.05$

⁺ $p<0.05$; ⁺⁺⁺ $p<0.001$ KeP grubuna göre istatistiksel anlamlılık. Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

^{*} $p<0.05$; ^{**} $p<0.01$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık One-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.

Ort \pm SS:Ortalama \pm Standart Sapma, TNF- α :Tümör nekroz faktör α , IL-1 β :İnterlökin 1 β , IL-6:İnterlökin 6, BDNF:Beyin kaynaklı nörotrofik faktör, NF- κ B:Nükleer faktör kabba B, ng/gr:nanogram/gram

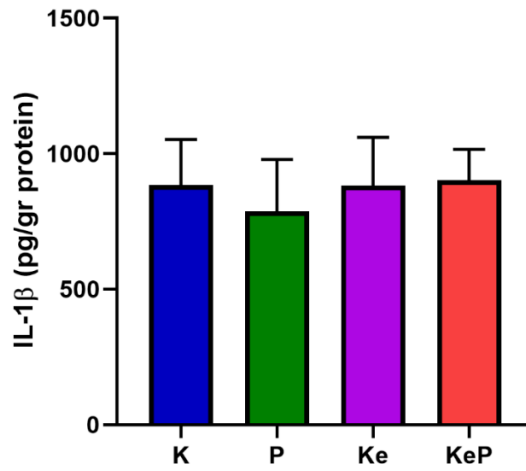
4.3.1 Tumor nekroz faktör- α (TNF- α)



Şekil 4-12 Hipokampus dokusundaki tumor nekroz faktör α (TNF- α) düzeyleri. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

Hipokampus dokusundaki TNF- α düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında, hipokampus dokusundaki TNF- α düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkı yoktu ($p > 0.05$).

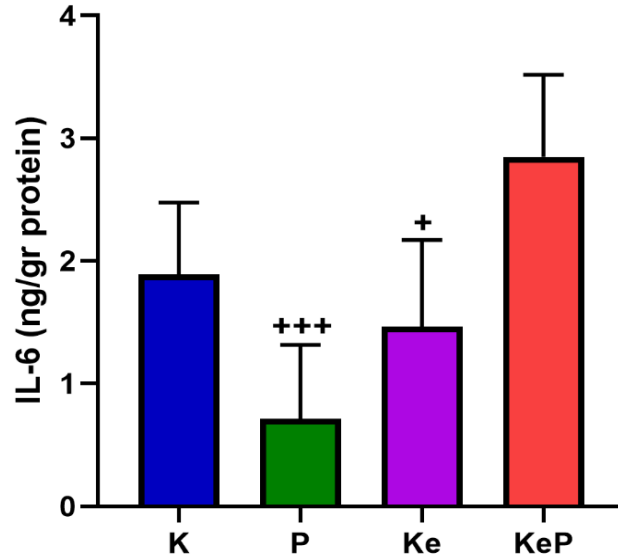
4.3.2. İnterlökin 1 β (IL-1 β)



Şekil 4-13 Hipokampus dokusundaki interlökin 1 β (IL-1 β) düzeyleri. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) One-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.

Hipokampus dokusundaki IL-1 β düzeyleri gruplara göre karşılaştırıldığında, hipokampus dokusundaki IL-1 β düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkı yoktu ($p>0.05$).

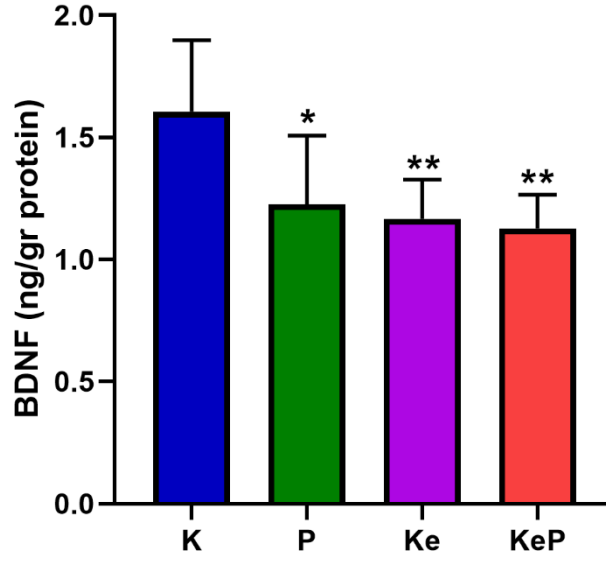
4.3.3. İnterlökin 6 (IL-6)



Şekil 4-14 Hipokampus dokusundaki interlökin 6 (IL-6) düzeyleri. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) + $p<0.05$; +++ $p<0.001$ KeP grubuna göre istatistiksel anlamlılık. Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

Hipokampus dokusundaki IL-6 düzeyleri gruplara göre karşılaştırıldığında, hipokampus dokusundaki IL-6 düzeyleri P grubunda KeP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha az bulundu ($p=0.0002$; $p<0.001$). Aynı şekilde IL-6 düzeyleri Ke grubunda da KeP grubuna göre istatistiksel anlamlı fark var ve daha az bulundu ($p=0.05$; $p\leq 0.05$).

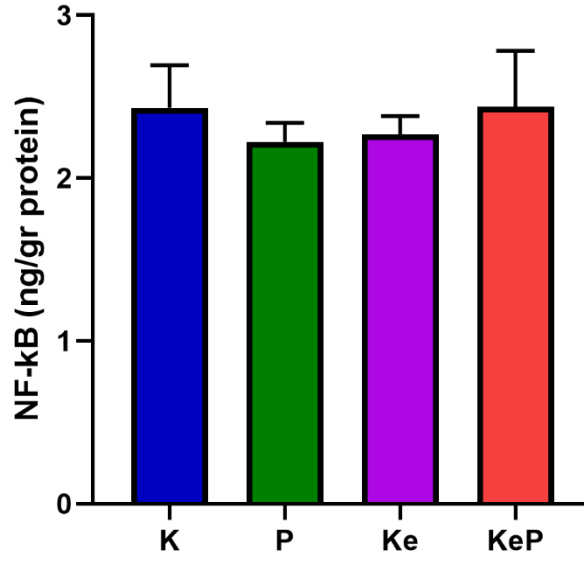
4.3.4. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)



Şekil 4-15 Hipokampus dokusundaki beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) düzeyleri. *p<0.05; **p<0.01 kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) One-Way ANOVA- Post hoc Tukey test.

Hipokampus dokusundaki BDNF seviyeleri gruplara göre karşılaştırıldığında, BDNF düzeyleri P, Ke ve KeP gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşüktü (P için $p=0.0129$; $p<0.05$, Ke için $p=0.0035$; $p<0.01$, KeP için $p=0.0014$; $p<0.01$).

4.3.5. Nükleer faktör kappa B (NF-κB)



Şekil 4-16 Hipokampus dokusundaki nükleer faktör kappa B (NF-κB) düzeyleri. (Veriler ortalama \pm SS olarak verilmiştir.) Kruskal Wallis- Post hoc Dunn testi.

Hipokampus dokusundaki NF-κB düzeyleri gruplara göre karşılaştırıldığında, hipokampus dokusundaki NF-κB düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkı yoktu ($p>0.05$).

5 TARTIŞMA

Anestezik ilaçların kognitif fonksiyonlar üzerindeki etkilerini araştıran birçok çalışma mevcuttur [2, 8, 9, 14, 15, 104-111], ancak özellikle öğrenme ve bellek fonksiyonları gibi görece uzun süreli etkilerini aydınlatmaya yönelik yapılan araştırmalar sınırlıdır. Literatürde nörokognitif disfonksiyon gelişimi konusunda inhalasyon anestezikleriyle yapılan araştırmalar [11, 109, 112-116] çoğunluğu oluştursa da günümüzde tekrarlayan anestezi uygulamalarında (gastroskopi, kolonoskopi, sistoskopi, transvajinal oosit toplanması vb.) en çok iv anestezik ilaçlar tercih edilir [21, 22, 117-121]. Çalışmalardaki seçilen ajanların yanı sıra yaş aralıkları, anestezi çeşitleri göz önüne alındığında elde edilen veriler çok daha kısıtlı hale gelmektedir. Bu nedenlerle, çalışmamızda tekrarlayan anestezi uygulamalarında kısa süreli işlemler için tercih edilen sedasyon anestezisinde sıkça kullanılan propofol ve ketaminin öğrenme ve bellek süreci üzerindeki etkisini erişkin sıçanlarda inceledik. Amacımız, günümüzde yaygın olarak kullanılan sedasyon uygulamasının daha bilinçli ve sağlıklı kullanımına yönelik deneysel veri elde etmektir.

Anestezik ilaçların uygulanması sonrası nörokognitif fonksiyonların değerlendirildiği davranış testlerinde deney hayvanı olarak genellikle sıçanlar kullanılmaktadır [3, 16, 122, 123]. Yapılan araştırmalarda sıçan ve insan hipotalamusunun öğrenme ve bellek fonksiyonlarında birbirine benzer özellikler gösterdiği bulunmuştur [62]. Bu yüzden, çalışmamızda anestezi kaynaklı nörokognitif değerlendirme yapmak amacıyla Sprague-Dawley türü ratlar kullandık.

Araştırmamız sırasında deney gruplarımıza 5 gün boyunca ilaç uygulaması yaptık ve bu süre zarfında anestezi ve derlenme süresini daha çok gözleme dayalı yöntemlerle ölçtük. **Şekil 4-3** ve **Şekil 4-4** birlikte değerlendirildiğinde P ve KeP gruplarının anestezi sürelerinin ortalamaları birbirine yakın olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yokken ($p>0.05$), derlenme sürelerinin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0.05$). Bu da bize deneyimiz

doğrultusunda ketaminin propofolle birlikte kullanılmasının anestezi süresini etkilemeye de derlenme süresini kısalttığını göstermektedir.

Hayvanlarda öğrenme ve bellek değerlendirme amacıyla aktif sakınma, pasif sakınma, barnes labirenti, Morris su labirenti, Y-maze, T-maze, radial arm maze labirent testleri kullanılmaktadır [67]. Biz de çalışmamızda pasif sakınma ve MSL testlerini tekrarlayan anestezi sonrasında kullanarak hayvanlardaki öğrenme ve bellek değerlendirmesini yaptık.

Deney hayvanlarımıza anestezi uygulaması sonrası öğrenme ve bellek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla ilk olarak davranış deneylerinden pasif sakınma testini uyguladık. Tüm deney grupları daha önce açıklandığı gibi [68, 69] pasif sakınma testiyle değerlendirildi. Gonzales EL ve ark. [123] 2015 yılında yaptıkları çalışmada; 47 yenidoğan sıçan üzerinde 7 gün boyunca günde 3 defa sırasıyla 40 mg/kg, 20 mg/kg, 20 mg/kg dozlarında tekrarlayan propofol uygulamasının öğrenme ve bellek fonksiyonlarına etkilerini incelemiş, tekrarlayan anestezi maruziyetinin cinsiyete özgü kognitif bozukluklarını 4-8. hafta arasında yaptıkları davranış testleriyle ve 9. hafta dekapitasyon sonrası yaptıkları biyokimyasal testlerle araştırmıştır. Bu çalışmada tekrarlayan propofol uygulamasının pasif sakınma testinde sıçanların sakınmayı öğrenmede ve hafızalarında bozulma olmadığı gösterilmiştir. Aynı zamanda tekrarlayan propofol uygulamasının ağırlık üzerine etkisini inceleyen araştırmacılar süttten kesilme dönemine kadar (7-24. gün) her iki cinsiyette, 56. günde ise erkek sıçanlarda kontrol gruplarına göre kilo kaybını istatistiksel olarak anlamlı saptamışlardır. Araştırma sonunda yenidoğan döneminde tekrarlayan propofol uygulamasının, ergenlik döneminde uzaysal öğrenme ve hafızayı, kilo değişimi ve cinsiyete bağlı değişiklikler aracılığıyla sıçanların büyümesini ve nörogelişimini etkilediği sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda da tekrarlayan propofol, ketamin, ketamin+propofol uygulaması sonrası yapılan pasif sakınma testinde gruplar arasında kaçış bölgesine geçiş süresinde (latans) istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmayıp, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tekrarlayan anestezi maruziyetinin, sakınmayı öğrenme ve hafızada tutmayı bozmadığını görmekteyiz. Çalışmamızdaki pasif sakınma testinin verileri bu deneydeki verileri destekler niteliktedir. Ancak çalışmamızdaki KeP grubunda latansın anlamlı olmasa da diğer

gruplara göre daha kısa olması, ketamin ve propofol kombinasyonunun tekrarlama ve/veya doz miktarının artması hafızanın olumsuz etkilenebileceği ihtimalini ortaya koymaktadır. Ayrıca deneyimizin 1. 5. ve 15. gününde bakılan ağırlıklar açısından gruplar arasında anlamlı fark olmaması bahsedilen çalışmanın aksine yetişkin ratlarda tekrarlayan anestezi uygulamalarının gelişimi etkilemediğini göstermektedir. Bu sonuç sayesinde yetersiz beslenmenin beyin gelişimini engelleme ve nöronal apoptozu tetikleme olasılığı dışlanmıştır [124].

Araştırmamızda ratlarda öğrenme ve bellek fonksiyonlarını değerlendirmek üzere ikinci davranış deneyi olarak MSL düzeneği tercih edildi. Bunun sebebi, MSL düzeneğinde 12 kollu labirent, T-labirent veya radyal kollu labirentler gibi diğer yöntemlerden farklı olarak sabit bir kaçış yolunun olmaması ve kullanımla orantılı şekilde küçük ipuçlarının oluşmamasıdır. Bu test, kemirgenlerde hipokampal işlevle doğrudan ilişkili olan öğrenme ve belleği değerlendirmek için uzaysal öğrenme ve hafızayı güvenilir bir şekilde ölçen bir yöntemdir [71, 125]. Düzeneğin temelini, doğal yüzücü oldukları için yüzmenin belirgin bir stres oluşturmadığı ratların platform bölgesine ulaştıklarında yüzmek yerine tüneme davranışını tercih etmeleri oluşturmaktadır. MSL testinin uygulama zamanlarıyla alakalı farklı görüşler mevcuttur [11, 14]. Biz, çalışmamızda erken dönem sonuçlarını görmek amacıyla son anestezi uygulamasından sonra 5-9. günlerde MSL testini uyguladık. Araştırmamızda, ratların öğrenme ve bellek fonksiyonları, MSL içine dört farklı yönden bırakılan ratların, platform bölgesine ulaşma latansı, platform kadranına giriş frekansı ve hedef kadranda kalış süreleri ile ölçüldü. Çalışmamızda öğrenme periyodu süresince deney hayvanlarının platformu bulma süreleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) bu da her grup için mekansal öğrenme yeteneğinin farklı olmadığını göstermektedir. Buna karşılık bütün deney gruplarında kaçış platformunu bulma süresi (latans) açısından öğrenme ve bellek performansının ilk günden itibaren geliştiği gözlemlendi ($p<0.001$). Bu anlamlı fark, testin öğrenme periyodunun başarı ile tamamlandığını göstermektedir. Ancak, deney grupları arasında kısa dönemli uzaysal öğrenme performansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. MSL testinin prop deneyinde deney hayvanının 60 saniye süre zarfında daha önce platformun bulunduğu çeyrek kadranda diğer bölgelere

kıyasla ne kadar vakit geçirdiği kaydedilir. Öğrenme eğitimlerinde platformun yerini iyi öğrenmiş deney hayvanının, harcadığı sürenin veya kat ettiği yolun en az %30'unu platformun bulunduğu çeyrek kadranda geçirmesi beklenir. Benzer şekilde önceden platformu barındıran hedef kadrana ilk ulaşma zamanının kısa olması veya bu kadrana uğrama frekansının fazla olması deney hayvanının öğrenme eğitimleri boyunca öğrendiklerini hafızada tutabildiğini göstermektedir. Araştırmamızda istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da Ke ve KeP grubunda platform bölgesinde geçirilen süre ve platform bölgesine giriş frekansı K ve P grubuna göre daha az, platform bölgesine ulaşma latansı K ve P grubuna göre daha uzun olması bu gruplardaki ilaç uygulama sayısının ve uygulanan dozun arttırımına bağlı olarak kognitif fonksiyonların olumsuz etkilenebileceğini düşündürmektedir.

Yan Li Cao ve ark'ları [104] 2014 yılında 7 günlük 80 tane sıçan üzerinde propofol ve ketamin anestezisinin bilişsel işlev ve bağışıklık işlevi üzerine yaptıkları çalışmada aynı gün 3 defa 2 saat aralıklarla homojen şekilde ayırdıkları gruplara sırayla toplam 1 ml olacak şekilde salin, 80 mg/kg ketamin, 80 mg/kg propofol ve 80 mg/kg ketamin+propofol uygulamıştır. Deney hayvanlarının yarısını dekapite edip serum sitokin seviyelerini ölçmüş, diğer yarısına 3 hafta sonra MSL testi yapmışlardır. Böylece ketamin ve propofolün bilişsel işleve etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada MSL testinde platformu bulma süreleri günlere göre kademeli olarak azalmış, 1. günle 3. gün arasında istatistiksel anlamlı fark ($p<0.05$) bulunmuş olup sonuçlar çalışmamızla benzerdi. Yan Li Cao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ketamin uygulanan grupta latans, propofol ve ketamin+propofol uygulanan gruplara göre istatistiksel anlamlı yüksek, platform bölgesinde geçirilen süre istatistiksel anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Bununla birlikte bu 3 grubun serum IL-2 seviyelerinde anlamlı fark yokken, IL-4 ve IL-10 seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı yüksek, IL-1 β anlamlı düşük bulunmuştur. Çalışmalarının neticesinde ketaminin genç sıçanlarda bilişsel işlevi engelleyebileceğine, hipokampal nöronlarda toksik etkiler yapacağına, propofolle kombine kullanılmasının bu nörotoksisiteyi azaltabileceğine ve beyin dokusunun bu şekilde korunabileceğine ulaşımlardır. Biz de kendi çalışmamızda ketamin kullanılan gruplarda platform bölgesine ulaşma latansını daha yüksek, platform bölgesinde geçirilen süreyi daha düşük bulduk ancak sonuçlar arasında

istatistiksel anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Ayrıca, hipokampal dokuda baktığımız TNF- α , IL-1 β , IL-6 sitokin seviyeleri ketamin kullanılan gruplarda propofolün tek başına kullanıldığı gruba göre daha yüksekti. Ancak bu verilerden sadece IL-6 seviyesi istatistiksel anlamlı bulundu. İki çalışma arasındaki istatistiksel anlamlılık farklarının sebebi çalışılan deney hayvanlarının yaşına, MSL testinin uygulanma zamanına ve çalışılan sitokin çeşitlerine bağlı olabilir. George K Istaphanous ve ark'larının [5] 2010 yılında yaptıkları çalışmada ketaminin nörotoksik etkilerinin dar yaş aralığında olduğu, sıçanlarda gelişmekte olan beyinlerde yalnızca 14 günlükten önce hasara neden olduğu, yaşlı hayvanlarda bu durumun söz konusu olmadığı savunulmuştur. Yan Li Cao ve ark'larının ketamin ve propofol kombine kullanımının nörokognitif disfonksiyonu azaltacağı sonucuna varmaları hipotezimizi kuvvetlendirse de çalışmamızın sonuçlarıyla uyuşmamaktadır. Fakat ketaminin nörobilişsel aktiviteye etkileri yönünden çalışmamız Yan Li Cao ve ark'larını destekler niteliktedir.

Minmin Chan ve ark'larının [13] 2022 yılında 18 aylık 30 yaşlı fare üzerinde subanestezi ketamin kullanımının bilişsel fonksiyon, nöroinflamasyon ve oksidatif stres üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada ketamini, cerrahi işlem uygulanan farelerde bir GABA_A agonisti olan izofluranla kombine ederek davranış deneyleri ve hipokampal sitokin seviyeleri (TNF- α , IL-6 ve IL-1 β) aracılığıyla nörobilişsel fonksiyonları ve nöroinflamasyonu incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada izofluranla kombine edilerek subanestezi dozda (10 mg/kg) ketamin kullanılan grubun, yalnızca izofluran kullanılan gruba kıyasla MSL testinde kaçış gecikmesini kısalttığını, hedef kadranda daha fazla zaman geçirilmesini sağladığını bununla birlikte TNF- α , IL-6 seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşürdüğünü saptamışlardır. Nöroinflamasyonun postoperatif nörobilişsel işlevi negatif yönde tetiklediğini savunan araştırmacılar, ketaminin subanestezi dozda kullanımının yaşlı fareler üzerinde nörobilişsel işlevi iyileştirdiği, nöroinflamasyonu engellediği sonucuna varmıştır. Ketaminin, bir GABA_A agonisti olan propofolün nörokognitif disfonksiyonunu azaltabileceği yönündeki hipotezimizi güçlendiren bu çalışma sonuçları itibarıyla çalışmamızla ters düşmektedir. Çalışmamızda MSL testinde ketamin veya ketamin+propofol kombinasyonunun, yalnızca propofol kullanılan gruba göre kaçış gecikmesini arttırdığı, hedef kadranda geçirilen süreyi azalttığı, hipokampus

dokusundaki TNF- α , IL-6 ve IL-1 β seviyelerini arttırdığı gözlenmiş ancak IL-6 haricinde istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Ketamin kullanılan gruplarda yalnızca propofol kullanılan gruba göre IL-6 düzeylerindeki bu anlamlı fazlalık bize, ketaminin propofole göre inflamasyonu daha fazla arttırdığını ve böylece nörokognitif disfonksiyona daha fazla sebep olabileceğini düşündürmektedir. Bu iki ilaç kombine kullanıldığında KeP grubunda IL-6 düzeylerinin Ke grubuna göre daha yüksek olması ayrıca göze çarpmaktadır. Ketaminin 10 mg/kg yerine 150 mg/kg dozunda kullanılması, uygulanan anestezinin 5 gün ard arda tekrarlanması bizim çalışmamızı bu çalışmadan ayıran temel farklardır. Bu iki çalışma bize farklı ketamin dozlarının, oluşturacağı etkiyi değiştirebileceğini göstermektedir.

Kiyofumi Yamada ve ark'larının [126] yaptıkları bir çalışmada BDNF'in uzamsal öğrenme ve hafıza süreçlerindeki rolü üzerinde durmuşlar, BDNF/TrkB sinyalizasyonu ile NMDA reseptörleri arasındaki etkileşimin mekansal hafıza için önemini öne sürmüşlerdir. Çalışmanın sonunda BDNF veya TrkB'nin genetik ve farmakolojik yoksunluğu öğrenmeyi ve hafızayı bozar sonucuna varmışlardır.

Jun-Shan Mu ve ark'larının [127] yaptıkları benzer bir çalışmada, yetişkin sıçan modelinde uzamsal öğrenme ve hafıza için endojen BDNF'nin gerekli olup olmadığı araştırılmıştır. Kontrol grubu ve BDNF antikoru verdikleri grubu MSL testiyle karşılaştıran araştırmacılar anti-BDNF grubunun kontrol grubuna göre ortalama gecikme kaçış sürelerinin daha fazla olduğunu, hedef kadranda geçirdikleri sürenin ve aldıkları mesafenin daha az olduğunu saptamışlar ve bu sonuçlar doğrultusunda uzamsal öğrenme ve hafıza için endojen BDNF'nin gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada BDNF'nin, hipokampustaki postsinaptik NMDA reseptörünün alt birimlerinin fosforilasyonunu arttırdığını ve asetilkolin salınımını kolaylaştırdığına değinilmiştir.

Yu Zhong ve ark'ları [128] 2018 yılında PKA-CREB-BDNF sinyal yolunun, propofolün sıçanların hipokampusunda neden olduğu uzamsal öğrenme ve hafıza bozukluğuna aracılık ettiğini savunmuştur. Kontrol grubuyla intralipid ve propofol uygulanan grupları MSL testi ve biyokimyasal testler sonucunda karşılaştıran araştırmacılar, propofolün yenidoğan sıçanların hipokampusunda nöronal hücre apoptozunu indüklediği, yetişkinlikte uzamsal öğrenme ve hafıza bozukluğuna neden

olduğu, yetişkin sıçanların hipokampusunda nöron kaybına neden olduğu sonuçlarına ulaşmışlardır. Yaptıkları Western blot analizinde propofol gruplarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha düşük PKA, CREB ve BDNF protein seviyeleri gösterilmiştir. Tüm bu sonuçlar doğrultusunda propofolün nöroapoptozu indükleyerek hem yenidoğan hem de yetişkin sıçanların hipokampusundaki PKA-CREB-BDNF sinyal yolunu inaktive ettiği ve böylece öğrenme ve hafızayı bozduğu kanısına varmışlardır.

Biz de yaptığımız çalışmada grupların hipokampus dokusundaki BDNF düzeylerini karşılaştırdığımızda P, Ke ve KeP gruplarının BDNF düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptadık ($p<0.05$; $p<0.01$). Ketamin kullanılan grupların, propofolün tek başına kullanıldığı gruba göre daha fazla anlamlılık içermesi ketaminin propofole göre BDNF ekspresyonunu daha fazla azalttığını göstermektedir. Ketamin ve propofolün nörokognitif disfonksiyon üzerine etkilerini incelediğimiz araştırmamızda kullandığımız anestezi ilaçlarının BDNF düzeyini azaltması, bu ilaçların öğrenme ve hafızayı negatif yönde etkilediğini ortaya koymaktadır. Çalışmamız, sonuçları itibariyle bahsedilen araştırmaların sonuçlarıyla uyumlu olup birbirini destekler niteliktedir.

Peng-fei Liu ve ark'larının [9] 2021 yılında yaşlı (18-20 aylık) 80 erkek sıçan üzerinde yaptıkları çalışmada tekrarlayan propofol uygulamasının NF- κ B yolu ve NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu yoluyla nöronal hasara ve bilişsel bozukluğa neden olması araştırılmıştır. Dört gruba ayırdıkları gruplara her birine 6 kere olmak üzere sırasıyla 24 saatte 1 intralipid, 24 saatte 1 200 mg/kg propofol, 9 günde 1 intralipid ve 9 günde 1 200 mg/kg propofol i.p. uygulandıktan sonra hipokampal dokularda NF- κ B, NLRP3, TNF- α , IL-6 ve IL-1 β düzeyleri gerekli yöntemler kullanılarak ölçülmüştür. Aynı zamanda ilaç uygulamaları öncesinde öğrenme periyoduna tabi tutulan deney hayvanlarının uygulanan ilaçlara bağlı hafıza değişikliklerini değerlendirmek için bağlamsal korku koşullandırma ve MSL testinin test periyodu uygulanmıştır. 8-9 sıçan gününün 0,5 yıllık insan yılına denk geldiğini önceki çalışmaları [129] referans alarak simüle eden araştırmacılar her gün tekrarlanan propofol uygulamasının NF- κ B düzeylerini değiştirmede ancak fosforile NF- κ B ve NLRP3 inflamazomlarını aktive ettiğini, inflamatuvar sitokin (TNF- α , IL-6 ve IL-

1β) düzeylerini arttırdığını ve bunların nöronal apoptozu ve hasarı arttırdığını, bunlarla birlikte yaptıkları davranış deneyleriyle hipokampal kaynaklı hafızanın etkilendiğini saptamışlardır. Ancak 9 günde 1 ilaç uygulanan gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark bulamayan araştırmacılar 6 ay ve daha fazla aralıklarla yapılan propofol uygulamalarının nörokognitif disfonksiyona neden olmayacağı sonucuna varmışlardır. Kendi çalışmamızda 5 gün boyunca 24 saat arayla P grubuna 150 mg/kg propofol, KeP grubuna 60 mg/kg ketamin+75 mg/kg uygulamamıza rağmen bakılan hipokampal NF-κB düzeylerinde anlamlı fark saptanmamıştır. Bahsedilen çalışmada NF-κB düzeyleri arasında anlamlı fark olmaması çalışmamızla benzer olsa da bizim parametrelerimiz arasında olmayan fosforile NF-κB düzeyleriyle birlikte TNF-α, IL-6 ve IL-1β düzeylerinin istatistiksel anlamlı artmış olması çalışmamızla ters düşen noktalar. Aynı şekilde davranış deneylerinde her gün propofol uygulama sonrasında hafızanın etkilendiğini ortaya koymaları da çalışmamızın sonuçlarıyla örtüşmemektedir. Ancak bu farklılığın sebebi davranış testlerinin öğrenme ve test periyotlarının farklı zamanlarda yapılmasına bağlı olabilir. Aynı zamanda uygulanan doz miktarları, uygulama olarak benzer iki çalışmanın farklı sonuçlara ulaşmasında etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte çalışmalardaki ratların yaş farkı da sonuç farklılıklarına sebep olabilir.

Çalışmamızda birtakım limitasyonlar mevcuttur. Çalışmayı anestezi uygulanan genel popülasyona uygun olması için sadece genç sağlıklı ratlarda yaptık. Çocukluk dönemi ve yaşlılık döneminde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla farklılığın bu seçimden dolayı olduğunu düşünüyoruz. Ratları davranış testleri sonrasında değerlendireceğimiz biyokimyasal parametreleri ölçebilmek için dekapite etmek zorunda kaldık. Uzun dönemde görülebilecek sonuçlar için denekleri daha uzun süre gözlemleyemedik. Ketaminin yaptığı nörodisosiyatif anestezi nedeniyle anestezi süresi normalden daha kısa ölçülmüş olabilir, bunu objektif olarak değerlendiremedik. Çalışmamızda uygulanan davranış testlerinin istatistiksel analizlerinde anlamlılık dikkate alındığında, daha fazla denek kullanarak yapılacak değerlendirmelerin farklılıkları ortaya koymada daha etkili olacağını düşünmekteyiz.

6 SONUÇ

Bu çalışmada, yapılan davranış testleri sonuçlarına bakıldığında grup Ke ve grup KeP'de grup K ve grup P'ye göre öğrenme ve bellek fonksiyonlarının olumsuz etkilendiği ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Bu olumsuz etkilenemeyi tetikleyen faktörlerden birisi ilaçların tekrarlayan anestezi uygulamalarında kombine olarak kullanılması olabilir. Çalışmamızda, tekrarlayan anestezi uygulamalarında propofol ve ketaminin kombine kullanılmasının hipokampus dokusunda bakılan IL-6 düzeylerini yükselttiği, BDNF düzeylerini ise düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda artan inflamasyon parametrelerinin ve düşük BDNF düzeyinin POKD gelişme riskini arttırabileceğini, bu ilaçların kombine kullanımlarında daha dikkatli olunması ve tekrarlayan anestezi uygulamalarında POKD gelişebileceğinin öngörülmesi gerektiğini düşünüyoruz. Çalışmamızın sonuçları, başlangıçtaki hipotezimizle uyumlu olmamasına rağmen, elde edilen veriler tekrarlayan propofol ve ketamin uygulamalarının insanlardaki nörokognitif etkilerine ilişkin yeni bakış açıları açarak bu alanda yapılacak çalışmaları destekleyecektir.

7 KAYNAKLAR

1. Lin, X., et al., *The potential mechanism of postoperative cognitive dysfunction in older people*. Exp Gerontol, 2020. **130**: p. 110791.
2. Qian, X.L., et al., *Dexmedetomidine improves early postoperative cognitive dysfunction in aged mice*. Eur J Pharmacol, 2015. **746**: p. 206-12.
3. Yang, N., et al., *Protective effect of dapsone on cognitive impairment induced by propofol involves hippocampal autophagy*. Neurosci Lett, 2017. **649**: p. 85-92.
4. Yu, D., et al., *Repeated exposure to propofol potentiates neuroapoptosis and long-term behavioral deficits in neonatal rats*. Neurosci Lett, 2013. **534**: p. 41-6.
5. Istaphanous, G.K., C.G. Ward, and A.W. Loepke, *The impact of the perioperative period on neurocognitive development, with a focus on pharmacological concerns*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2010. **24**(3): p. 433-49.
6. Man, Y.G., R.G. Zhou, and B. Zhao, *Efficacy of rutin in inhibiting neuronal apoptosis and cognitive disturbances in sevoflurane or propofol exposed neonatal mice*. Int J Clin Exp Med, 2015. **8**(8): p. 14397-409.
7. Moller, J.T., et al., *Long-term postoperative cognitive dysfunction in the elderly ISPOCD1 study. ISPOCD investigators. International Study of Post-Operative Cognitive Dysfunction*. Lancet, 1998. **351**(9106): p. 857-61.
8. Wang, Y., et al., *Dexmedetomidine attenuates repeated propofol exposure-induced hippocampal apoptosis, PI3K/Akt/Gsk-3 β signaling disruption, and juvenile cognitive deficits in neonatal rats*. Mol Med Rep, 2016. **14**(1): p. 769-75.
9. Liu, P.F., et al., *Repeated propofol exposure-induced neuronal damage and cognitive impairment in aged rats by activation of NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome*. Neurosci Lett, 2021. **740**: p. 135461.
10. Tapia-Arancibia, L., et al., *Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function*. Front Neuroendocrinol, 2004. **25**(2): p. 77-107.
11. Zhou, X., et al., *Multiple Anesthesia/Surgery Cannot Impair Reference Memory in Adult Mice*. Mediators Inflamm, 2020. **2020**: p. 3736912.
12. Wang, L., et al., *Neuroprotective effect of ketamine against TNF- α -induced necroptosis in hippocampal neurons*. J Cell Mol Med, 2021. **25**(7): p. 3449-3459.
13. Chen, M., et al., *Prophylactic Effects of Sub-anesthesia Ketamine on Cognitive Decline, Neuroinflammation, and Oxidative Stress in Elderly Mice*. Am J Alzheimers Dis Other Demen, 2022. **37**: p. 15333175221141531.
14. Guo, S., et al., *Repeated exposure to sevoflurane impairs the learning and memory of older male rats*. Life Sci, 2018. **192**: p. 75-83.
15. Zhang, M. and Y. Yin, *Dual roles of anesthetics in postoperative cognitive dysfunction: Regulation of microglial activation through inflammatory signaling pathways*. Front Immunol, 2023. **14**: p. 1102312.

16. Spencer, H.F., et al., *Effects of an intravenous ketamine infusion on inflammatory cytokine levels in male and female Sprague-Dawley rats*. J Neuroinflammation, 2022. **19**(1): p. 75.
17. Spencer, H.F., et al., *Effects of a Subanesthetic Ketamine Infusion on Inflammatory and Behavioral Outcomes after Closed Head Injury in Rats*. Bioengineering (Basel), 2023. **10**(8).
18. Bhushan, S., et al., *The impact of regional versus general anesthesia on postoperative neurocognitive outcomes in elderly patients undergoing hip fracture surgery: A systematic review and meta-analysis*. Int J Surg, 2022. **105**: p. 106854.
19. Evered, L.A. and B.S. Silbert, *Postoperative Cognitive Dysfunction and Noncardiac Surgery*. Anesth Analg, 2018. **127**(2): p. 496-505.
20. Cascella, M., et al., *Anesthetic dreaming, anesthesia awareness and patient satisfaction after deep sedation with propofol target controlled infusion: A prospective cohort study of patients undergoing day case breast surgery*. Oncotarget, 2017. **8**(45): p. 79248-79256.
21. Goudra, B., G. Gouda, and P. Mohinder, *Recent Developments in Drugs for GI Endoscopy Sedation*. Dig Dis Sci, 2020. **65**(10): p. 2781-2788.
22. Finlay, J.E. and K. Leslie, *Sedation/analgesia techniques for nonoperating room anesthesia: new drugs and devices*. Curr Opin Anaesthesiol, 2021. **34**(6): p. 678-682.
23. (TARD), T.A.v.R.D., *Ameliyathane Dışı Anestezi Uygulamaları TARD Kılavuzu*. Mart 2022. p. 17-19.
24. Sedation, A.U.R.b.t.A.S.o.A.T.F.o. and A.b. Non-Anesthesiologists, *Practice Guidelines for Sedation and Analgesia by Non-Anesthesiologists*. Anesthesiology, 2002. **96**(4): p. 1004-1017.
25. John F. Butterworth, D.C.M., John D. Wasnick,, *İntravenöz Anestezikler*. Morgan & Mikhail Klinik Anesteziyoloji 6. Baskı, ed. F.H. Cuhruk. 2021. 177-183.
26. Zeynep Kayhan, *İntravenöz Anestezi*. Klinik Anestezi 4. Baskı. 2019, Logos Yayıncılık. 126-132.
27. Reves JG, G.P., Lubarsky DA, McEvoy MD, Ruiz RM, , *Miller's Anesthesia. 7th Ed. , in Intravenous Anesthetics (26th chapter)*, Miller RD, Editor. 2009: Philadelphia: Churchill Livingstone (e-book version).
28. Robert K. Stoelting, R.D.M. Basics of Anesthesia Fifth edition. 2010: Churchill Livingstone.
29. Corssen, G. and E.F. Domino, *Dissociative anesthesia: further pharmacologic studies and first clinical experience with the phencyclidine derivative CI-581*. Anesth Analg, 1966. **45**(1): p. 29-40.
30. White, P.F., W.L. Way, and A.J. Trevor, *Ketamine--its pharmacology and therapeutic uses*. Anesthesiology, 1982. **56**(2): p. 119-36.
31. Grant, I.S., et al., *Ketamine disposition in children and adults*. Br J Anaesth, 1983. **55**(11): p. 1107-11.
32. Traynor, C. and G.M. Hall, *Endocrine and metabolic changes during surgery: anaesthetic implications*. Br J Anaesth, 1981. **53**(2): p. 153-60.

33. Keçik Y, A.N., Yörükoğlu D, Alanoğlu Z,. Temel Anestezi. 2012, İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi. 110-113.
34. Chapman, V. and A.H. Dickenson, *The combination of NMDA antagonism and morphine produces profound antinociception in the rat dorsal horn*. Brain Res, 1992. **573**(2): p. 321-3.
35. Menigaux, C., et al., *The benefits of intraoperative small-dose ketamine on postoperative pain after anterior cruciate ligament repair*. Anesth Analg, 2000. **90**(1): p. 129-35.
36. Irifune, M., et al., *Ketamine-induced anesthesia involves the N-methyl-D-aspartate receptor-channel complex in mice*. Brain Res, 1992. **596**(1-2): p. 1-9.
37. Kayama, Y. and K. Iwama, *The EEG, evoked potentials, and single-unit activity during ketamine anesthesia in cats*. Anesthesiology, 1972. **36**(4): p. 316-28.
38. Shaprio, H.M., S.R. Wyte, and A.B. Harris, *Ketamine anaesthesia in patients with intracranial pathology*. Br J Anaesth, 1972. **44**(11): p. 1200-4.
39. Breclj, J., T.K. Trop, and R. Orel, *Ketamine with and without midazolam for gastrointestinal endoscopies in children*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2012. **54**(6): p. 748-52.
40. Garfield, J.M., et al., *A comparison of psychologic responses to ketamine and thiopental--nitrous oxide--halothane anesthesia*. Anesthesiology, 1972. **36**(4): p. 329-38.
41. Cook, D.J., P.R. Housmans, and D.K. Rorie, *Effect of ketamine HCl on norepinephrine disposition in isolated ferret ventricular myocardium*. J Pharmacol Exp Ther, 1992. **261**(1): p. 101-7.
42. Kitagawa, H., et al., *Modulatory effects of ketamine on catecholamine efflux from in vivo cardiac sympathetic nerve endings in cats*. Neurosci Lett, 2002. **324**(3): p. 232-6.
43. Kaplan JA, R.D., Savino SS,, *Kaplan's Cardiac Anesthesia*, ed. J.A. Kaplan. 2006, Philadelphia: Elsevier Saunders.
44. Cabanas, A., J.F. Souhrada, and J.A. Aldrete, *Effects of ketamine and halothane on normal and asthmatic smooth muscle of the airway in guinea pigs*. Can Anaesth Soc J, 1980. **27**(1): p. 47-51.
45. Yanagihara, Y., et al., *Plasma concentration profiles of ketamine and norketamine after administration of various ketamine preparations to healthy Japanese volunteers*. Biopharm Drug Dispos, 2003. **24**(1): p. 37-43.
46. Okamoto, G.U., D.F. Duperon, and J.R. Jedrychowski, *Clinical evaluation of the effects of ketamine sedation on pediatric dental patients*. J Clin Pediatr Dent, 1992. **16**(4): p. 253-7.
47. Bruel-Jungerman, E., S. Davis, and S. Laroche, *Brain plasticity mechanisms and memory: a party of four*. Neuroscientist, 2007. **13**(5): p. 492-505.
48. Chaudhuri, R. and I. Fiete, *Computational principles of memory*. Nat Neurosci, 2016. **19**(3): p. 394-403.
49. Gasparini L, G.S., Battaini F., *A review on the neurobiological basis of memory*. Archives of Gerontology and Geriatrics., 1998(26:225-34.).

50. Milner, D., *Cognitive neuroscience: the biology of the mind and findings and current opinion in cognitive neuroscience*. Trends Cogn Sci, 1998. **2**(11): p. 463.
51. Kolosova, N.G., et al., *Rapamycin suppresses brain aging in senescence-accelerated OXYS rats*. Aging (Albany NY), 2013. **5**(6): p. 474-84.
52. D'Arcy, M.S., *Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy*. Cell Biol Int, 2019. **43**(6): p. 582-592.
53. Pastalkova, E., et al., *Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP*. Science, 2006. **313**(5790): p. 1141-4.
54. Özcan Köknel, K.Ö., Güler Aytar Bahadır,, *Öğrenme*. Davranış Bilimleri. 1989, İstanbul: Bayrak Matbaacılık. 84.
55. William F. Ganong, M., Review of Medical Physiology, 2001(0892-1253).
56. Y., B. Davranış Bilimlerine Giriş. 1998:83-153, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.
57. Guyton A, H.J. Tıbbi Fizyoloji 10. baskı, ed. Çavusoglu H. 2001, Nobel Kitapevi, Ankara.
58. John E, H.M. Guyton Tıbbi Fizyoloji 14. Baskı. 2021.
59. Kandel, E.R., *The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses*. Science, 2001. **294**(5544): p. 1030-8.
60. John E. Hall, M.E.H., *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 14th Edition*. April 16, 2020, Elsevier Health Sciences.
61. Kim Barrett, S.B., Jason Yuan, Heddwen Brooks, , *Ganong's Review of Medical Physiology, 26th Edition*. 2019: McGraw Hill Medical Books.
62. Kesner, R.P. and R.O. Hopkins, *Mnemonic functions of the hippocampus: a comparison between animals and humans*. Biol Psychol, 2006. **73**(1): p. 3-18.
63. D'Hooge, R. and P.P. De Deyn, *Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory*. Brain Res Brain Res Rev, 2001. **36**(1): p. 60-90.
64. Lieben, C.K., et al., *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): p. 53-64.
65. Pereira, L.O., 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**(1): p. 101-8.
66. Szyndler, 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): p. 75-82.
67. Quillfeldt, J.A., *Behavioral Methods to Study Learning and Memory in Rats, in Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*, M.L. Andersen and S. Tufik, Editors. 2016, Springer International Publishing: Cham. p. 271-311.
68. Jänicke, B. and H. Coper, *Tests in Rodents for Assessing Sensorimotor Performance During Aging*. Advances in psychology, 1996. **114**: p. 201-233.
69. D'Agata, V. and S. Cavallaro, *Hippocampal gene expression profiles in passive avoidance conditioning*. Eur J Neurosci, 2003. **18**(10): p. 2835-41.

70. van Groen, T., I. Kadish, and J.M. Wyss, *Old rats remember old tricks; memories of the water maze persist for 12 months*. Behav Brain Res, 2002. **136**(1): p. 247-55.
71. Vorhees, C.V. and M.T. Williams, *Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory*. Nat Protoc, 2006. **1**(2): p. 848-58.
72. Morris, R., *Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat*. J Neurosci Methods, 1984. **11**(1): p. 47-60.
73. Louge PE, S.F. Psychological assesment of intelligence and personality, ed. R.S. Wilkins R. Vol. Neurosurgery İkinci Baskı. 1996, New York: Churchill Livinstone. 59-66.
74. Özcan Köknel, K.Ö., Güler Aytar Bahadır, . Davranış Bilimleri (Ruh Bilim). 1989, İstanbul: Bayrak Matbaacılık. 60-63.
75. Howard S. Kirshner, K.A.G., *Intellectual and Memory Impairments*. Bradley and Daroff's Neurology in Clinical Practice, Eighth Edition. 2021: Elsevier. 58-66.
76. Levin, E.D., *Nicotinic receptor subtypes and cognitive function*. J Neurobiol, 2002. **53**(4): p. 633-40.
77. Fabian-Fine, R., et al., *Ultrastructural distribution of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit in rat hippocampus*. J Neurosci, 2001. **21**(20): p. 7993-8003.
78. Pamela F, K.M., *Sensitivity of the alpha 7 nicotinic ach reseptors*. Anaesth Analgesia 2002;95:83-7.
79. Kim, J.S. and E.D. Levin, *Nicotinic, muscarinic and dopaminergic actions in the ventral hippocampus and the nucleus accumbens: effects on spatial working memory in rats*. Brain Res, 1996. **725**(2): p. 231-40.
80. Addy, N.A., A. Nakijama, and E.D. Levin, *Nicotinic mechanisms of memory: effects of acute local DHbetaE and MLA infusions in the basolateral amygdala*. Brain Res Cogn Brain Res, 2003. **16**(1): p. 51-7.
81. Maren, S., *Neurotoxic basolateral amygdala lesions impair learning and memory but not the performance of conditional fear in rats*. J Neurosci, 1999. **19**(19): p. 8696-703.
82. Andoh, T., *[Effects of general anesthetics on neuronal nicotinic acetylcholine receptors and their roles in the mechanism of anesthesia]*. Masui, 2001. **50**(10): p. 1072-84.
83. Karaca S, *Postoperatif Kognitif Fonksiyon Bozuklukları*. TARK 2004 Özet Kitabı, 57.
84. WHO. Health of Eldery. Vol. Tec.Rep.Series N. 79. 1989, Geneva.
85. Zeynep Kayhan, *Giriş*. Klinik Anestezi 4. Baskı. 2019, İstanbul: Logos Yayıncılık. 1-15.
86. Drummond, G.B., *The assessment of postoperative mental function*. Br J Anaesth, 1975. **47**(2): p. 130-42.
87. Rasmussen, L.S. and J.T. Moller, *Cognitive dysfunction after anaesthesia*. Current Anaesthesia & Critical Care, 1998. **9**(6): p. 307-311.
88. Temur İ., Ş.İ., DİKMEN B., Deren S., ÜN C., Yılmaz A., Örnek D., Serhat Ö., *Postoperatif Erken Dönemdeki Deliryuma Yaklaşım*. 2010. **38**(5): p. 388-394.

89. Gao, L., et al., *Postoperative cognitive dysfunction after cardiac surgery*. Chest, 2005. **128**(5): p. 3664-70.
90. Wu, C.L., et al., *Postoperative cognitive function as an outcome of regional anesthesia and analgesia*. Reg Anesth Pain Med, 2004. **29**(3): p. 257-68.
91. Ahlgren, E., et al., *Neurocognitive impairment and driving performance after coronary artery bypass surgery*. Eur J Cardiothorac Surg, 2003. **23**(3): p. 334-40.
92. Canet, J., et al., *Cognitive dysfunction after minor surgery in the elderly*. Acta Anaesthesiol Scand, 2003. **47**(10): p. 1204-10.
93. Rohan, D., et al., *Increased incidence of postoperative cognitive dysfunction 24 hr after minor surgery in the elderly*. Can J Anaesth, 2005. **52**(2): p. 137-42.
94. Johnson, T., et al., *Postoperative cognitive dysfunction in middle-aged patients*. Anesthesiology, 2002. **96**(6): p. 1351-7.
95. Haller, C.S., W.S. Stone, and B. Walder, *Small but continuous progress in the research of preoperative and postoperative cognitive dysfunction*. Eur J Anaesthesiol, 2012. **29**(7): p. 307-8.
96. Bharadwaj, S. and S. Kamath, *Postoperative Cognitive Dysfunction*, in *Textbook of Neuroanesthesia and Neurocritical Care: Volume I - Neuroanesthesia*, H. Prabhakar and Z. Ali, Editors. 2019, Springer Singapore: Singapore. p. 483-491.
97. Rump, K. and M. Adamzik, *Epigenetic Mechanisms of Postoperative Cognitive Impairment Induced by Anesthesia and Neuroinflammation*. Cells, 2022. **11**(19).
98. Hovens, I.B., et al., *Postoperative cognitive dysfunction: Involvement of neuroinflammation and neuronal functioning*. Brain Behav Immun, 2014. **38**: p. 202-10.
99. van Harten, A.E., T.W. Scheeren, and A.R. Absalom, *A review of postoperative cognitive dysfunction and neuroinflammation associated with cardiac surgery and anaesthesia*. Anaesthesia, 2012. **67**(3): p. 280-93.
100. Cibelli, M., et al., *Role of interleukin-1beta in postoperative cognitive dysfunction*. Ann Neurol, 2010. **68**(3): p. 360-8.
101. Terrando, N., et al., *The impact of IL-1 modulation on the development of lipopolysaccharide-induced cognitive dysfunction*. Crit Care, 2010. **14**(3): p. R88.
102. Tang, J.X., et al., *Human Alzheimer and inflammation biomarkers after anesthesia and surgery*. Anesthesiology, 2011. **115**(4): p. 727-32.
103. Kline, R., et al., *Peri-Operative Inflammatory Cytokines in Plasma of the Elderly Correlate in Prospective Study with Postoperative Changes in Cognitive Test Scores*. Int J Anesthesiol Res, 2016. **4**(8): p. 313-321.
104. Cao, Y.L., et al., *Effect of propofol and ketamine anesthesia on cognitive function and immune function in young rats*. Asian Pac J Trop Med, 2014. **7**(5): p. 407-11.
105. Stratmann, G., et al., *Beyond anesthetic properties: the effects of isoflurane on brain cell death, neurogenesis, and long-term neurocognitive function*. Anesth Analg, 2010. **110**(2): p. 431-7.

106. Zhou, Y., et al., *Microglial pyroptosis in hippocampus mediates sevoflurane-induced cognitive impairment in aged mice via ROS-NLRP3 inflammasome pathway*. *Int Immunopharmacol*, 2023. **116**: p. 109725.
107. Wang, D.S., et al., *Crosstalk between GABA(A) receptors in astrocytes and neurons triggered by general anesthetic drugs*. *Transl Res*, 2024. **267**: p. 39-53.
108. Chung, W., et al., *GABA(A) Receptors in Astrocytes Are Targets for Commonly Used Intravenous and Inhalational General Anesthetic Drugs*. *Front Aging Neurosci*, 2021. **13**: p. 802582.
109. Villalobos, D., et al., *Perioperative changes in neurocognitive and Alzheimer's disease-related cerebrospinal fluid biomarkers in older patients randomised to isoflurane or propofol for anaesthetic maintenance*. *Br J Anaesth*, 2023. **131**(2): p. 328-337.
110. Miao, H.H., et al., *Neonatal Exposure to Propofol Interferes with the Proliferation and Differentiation of Hippocampal Neural Stem Cells and the Neurocognitive Function of Rats in Adulthood via the Akt/p27 Signaling Pathway*. *Biomed Environ Sci*, 2022. **35**(4): p. 283-295.
111. Huang, H., et al., *Neonatal Anesthesia by Ketamine in Neonatal Rats Inhibits the Proliferation and Differentiation of Hippocampal Neural Stem Cells and Decreases Neurocognitive Function in Adulthood via Inhibition of the Notch1 Signaling Pathway*. *Mol Neurobiol*, 2021. **58**(12): p. 6272-6289.
112. Sun, L., *Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development*. *Br J Anaesth*, 2010. **105 Suppl 1**(Suppl 1): p. i61-8.
113. Yon, J.H., et al., *Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways*. *Neuroscience*, 2005. **135**(3): p. 815-27.
114. Erkent, F.D., et al., *Effects of recurrent sevoflurane anesthesia on cognitive functions with streptozotocin induced Alzheimer disease*. *Bratisl Lek Listy*, 2019. **120**(12): p. 887-893.
115. Liang, X., 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): p. 4974-4983.
116. Woodward, T.J., T. Timic Stamenic, and S.M. Todorovic, *Neonatal general anesthesia causes lasting alterations in excitatory and inhibitory synaptic transmission in the ventrobasal thalamus of adolescent female rats*. *Neurobiol Dis*, 2019. **127**: p. 472-481.
117. Daud, Y.N. and D.W. Carlson, *Pediatric sedation*. *Pediatr Clin North Am*, 2014. **61**(4): p. 703-17.
118. Kim, D.K., *Nonoperating room anaesthesia for elderly patients*. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2020. **33**(4): p. 589-593.
119. Shah, P.S. and V.S. Shah, *Propofol for procedural sedation/anaesthesia in neonates*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011(3): p. Cd007248.
120. Sadove, M.S., et al., *Analgesic effects of ketamine administered in subdissociative doses*. *Anesth Analg*, 1971. **50**(3): p. 452-7.

121. Taylor, E., A.F. Ghouri, and P.F. White, *Midazolam in combination with propofol for sedation during local anesthesia*. J Clin Anesth, 1992. **4**(3): p. 213-6.
122. Gokcinar, D., et al., *Effects of ketamine, propofol, and ketofol on proinflammatory cytokines and markers of oxidative stress in a rat model of endotoxemia-induced acute lung injury*. Acta Biochim Pol, 2013. **60**(3): p. 451-6.
123. Gonzales, E.L., et al., *Repeated neonatal propofol administration induces sex-dependent long-term impairments on spatial and recognition memory in rats*. Biomol Ther (Seoul), 2015. **23**(3): p. 251-60.
124. Hayashi, H., P. Dikkes, and S.G. Soriano, *Repeated administration of ketamine may lead to neuronal degeneration in the developing rat brain*. Paediatr Anaesth, 2002. **12**(9): p. 770-4.
125. Vorhees, C.V. and M.T. Williams, *Assessing spatial learning and memory in rodents*. Ilar j, 2014. **55**(2): p. 310-32.
126. Yamada, K. and T. Nabeshima, *Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory processes*. J Pharmacol Sci, 2003. **91**(4): p. 267-70.
127. Mu, J.S., et al., *Deprivation of endogenous brain-derived neurotrophic factor results in impairment of spatial learning and memory in adult rats*. Brain Res, 1999. **835**(2): p. 259-65.
128. Zhong, Y., et al., *PKA-CREB-BDNF signaling pathway mediates propofol-induced long-term learning and memory impairment in hippocampus of rats*. Brain Res, 2018. **1691**: p. 64-74.
129. Quinn, R., *Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years?* Nutrition, 2005. **21**(6): p. 775-7.