

T. C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**GEBE RATLARDA TEKRARLAYAN KETAMİN ANESTEZİSİNİN
FETÜS SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FİGEN ATAK

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. BERRİN IŞIK

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2013-15
proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

ŞUBAT 2016

TEZ TUTANAĞI

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Figen Atak'ın **“Gebe Ratlarda Tekrarlayan Ketamin Anestezisinin Fetüs Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi”** başlıklı uzmanlık tezi anabilim dalımızda incelendiğinde 2 sayfa giriş, 24 sayfa genel bilgiler, 5 sayfa gereç ve yöntem, 11 sayfa bulgular, 13 sayfa tartışma ve sonuç, 3 sayfa özet saptanmıştır.

Adı geçen doktor tarafından 04/01/2016 tarihinde teslim edilen tez, tez danışmanı Prof. Dr. Berrin Işık ve sınav jüri üyeleri tarafından incelenerek oy birliği ile **“uzmanlık tezi olarak kabul edilmesine”** karar verilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Ömer KURTİPEK

Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Anabilim Dalı Başkanı

ÜYE

Prof. Dr. Berrin IŞIK

Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

ÜYE

Prof. Dr. Mustafa Kemal BAYAR

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Anesteziyoloji ve Reanimasyon

Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kısaltmalar	v
Tablolar	vii
Şekiller ve Resimler Listesi.....	viii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Anestezi tarihçesi.....	3
2.1.1. Genel anestezi.....	3
2.1.2. Genel anestezi yöntemleri	4
2.1.3. Genel anestezi ajanları.....	4
2.2. Anestezinin organ ve sistemler üzerine etkisi	5
2.2.1. İnhalasyon anesteziklerinin organ sistemlerine etkileri	5
2.2.2. İntravenöz anesteziklerinin organ sistemlerine etkileri.....	6
2.3. Ketamin	7
2.3.1. Ketaminin organ sistemlerine etkileri	8
2.3.1.1. Ketaminin santral sinir sistemi üzerine etkileri.....	8
2.3.1.2. Ketaminin solunum sistemi üzerine etkileri	9
2.3.1.3. Ketaminin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri	10
2.4. Anestezi ve apoptozis.....	10
2.4.1. Apoptozis	10
2.4.1.1. Apoptozisin mediatörleri	11
2.4.1.2. Apoptozisin aşamaları.....	14

2.4.1.3. Apoptozisin saptanmasında kullanılan yöntemler	15
2.4.1.4. TUNEL yöntemi	17
2.5. Kognitif fonksiyon ve anestezi ilişkisi.....	19
2.5.1. Kognitif fonksiyon	19
2.5.2. Kognitif fonksiyon bozuklukları	19
2.5.3. Postoperatif kognitif fonksiyon bozuklukları.....	20
2.5.3.1. Postoperatif deliryum	20
2.5.3.2. Postoperatif kognitif disfonksiyon	21
2.6. Ratlarda postoperatif kognitif fonksiyonları değerlendirmede	
kullanılan yöntemler	24
2.6.1. Ratlarda kognitif disfonksiyonları değerlendirmede kullanılan	
davranışsal yöntemler.....	24
2.6.1.1. Radial Arm Maze	25
2.6.1.2. Morris su tankı.....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Denek seçimi	28
3.2. Kullanılan yöntemler	28
3.3. İstatistiksel değerlendirme.....	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ	55
7. KAYNAKLAR.....	58
8. ÖZET	73

9. SUMMARY	78
10. EKLER	81
10.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu	
Onayı	81
11. ÖZGEÇMİŞ	82

KISALTMALAR

Ach: Asetilkolin

AIF: Apoptosis İndükleyici Faktör

ATP: Adenozin Tri Fosfat

BD: Bronkodilatasyon

Ca²⁺: Kalsiyum iyonu

dk: Dakika

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

DSM-IV: Delirium Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder's IV

EEG: Elektro-Ensefalo-Grafi

ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay

H&E: Hematoksilen Eozin

İKB: İntrakraniyal Basınç

GABA: Gama-aminobütirik asit

GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

GÜDAM: Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi

L: Litre

mg/kg: Miligram/kilogram

ng: Nanogram

NMDA: N-metil-D-aspartat

NSE: Nöron Spesifik Enolaz

O₂:	Oksijen
OAB:	Ortalama Arter Basıncı
PI:	Propidium İyodür
POD:	Postoperatif deliryum
POKD:	Postoperatif kognitif disfonksiyon
RAM:	Radial Arm Maze
SF:	Serum fizyolojik
SKA:	Serebral Kan Akımı
SMH:	Serebral Metabolik Hız
SOT:	Serebral Oksijen Tüketimi
SSS:	Santral Sinir Sistemi
SVR:	Sistemik Vasküler Rezistans
S100β:	S-100 β proteini
TdT:	Terminal Deoksinükleotidil Transferaz
TUNEL:	TdT-dUTP Nick-End-Labeling
VD:	Ventilatuar G$\ddot{u}$d$\ddot{u}$
WHO:	World Health Organization, D$\ddot{u}$nya Sağlık $\ddot{O}$rg$\ddot{u}$t$\ddot{u}$

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. İnhalasyon anesteziğlerinin organ sistemlerine etkileri	5
Tablo 2. İntravenöz anesteziğlerinin organ sistemlerine etkileri	6
Tablo 3. Postoperatif kognitif disfonksiyon risk faktörleri	23
Tablo 4. Ratlarda kognitif fonksiyonları değerdendirmede kullanılan yöntemler.....	24
Tablo 5. Grupların vücut ağırlığı ve cinsiyet değerdlerine ait veriler	33
Tablo 6. Grupların 1. gün Radial Arm Maze giriş çıkışa ait veriler	34
Tablo 7. Grupların 2. gün Radial Arm Maze giriş çıkışa ait veriler	35
Tablo 8. Grupların 3. gün Radial Arm Maze giriş çıkışa ait veriler	36
Tablo 9. Grupların 1. gün Radial Arm Maze 15 saniye altında giriş çıkışa ait veriler	37
Tablo 10. Grupların 2. gün Radial Arm Maze 15 saniye altında giriş çıkışa ait veriler	38
Tablo 11. Grupların 3. gün Radial Arm Maze 15 saniye altında giriş çıkışa ait veriler	39
Tablo 12. Ratların beyin dokusuna ait histopatolojik veriler	43

ŞEKİLLER ve RESİMLER LİSTESİ

Şekil 1. Ketaminin yapısı ve şekli.....	7
Şekil 2. Apoptozis kaskadının genel görünümü.....	14
Şekil 3. Beyin korteksinde TUNEL pozitif hücreler	18
Şekil 4. Tek gün tekrarlayan ketamin grubunun histopatolojik görünümleri	40
Şekil 5. Çok gün tekrarlayan ketamin grubunun histopatolojik görünümleri	41
Şekil 6. Kontrol grubunun histopatolojik görünümleri.....	42
Şekil 7. İnsan ve rat beyin yapılarını gösteren şematik çizimi	47
Resim 1. Çalışmamızda kullanılan Radial Arm Maze Düzeneği	25

1. GİRİŞ

Bilim ve teknolojide yaşanan gelişmeler, tetkik ve tedaviler ya da operasyonlar sırasında daha çok sayıda anestezi uygulaması yapılmasına yol açmıştır. Günümüzde giderek genişleyen bir yelpazedeki hasta grubuna anestezi uygulanmaktadır.

Kognitif fonksiyonları geçici olarak baskıladığı düşünülen anesteziden beyin fonksiyonlarının ne şekilde ve hangi sürede etkilendiği açık değildir. Yapılan deneysel çalışmalar ve klinik gözlemler özellikle gelişmekte olan beyin dokusunun anesteziden olumsuz yönde etkilendiğini telkin etmektedir. Ancak çalışmalardaki metodolojik farklar, seçilen anestezi ajanları ve yöntemleri, olgu grubunun özellikleri, bireysel farklılıklar farklı sonuçların bildirilmesine neden olmaktadır.

Ketamin intravenöz veya intramusküler olarak uygulanan genel anestezi ajanıdır ve doz bağımlı olarak bilinç kaybı ve analjezi sağlar. Ketamin santral sinir sistemi (SSS)’de yaygın depresyona değil talamokortikal ve limbik sistem arasında dissosiasyona neden olur. “Dissosiyatif anestezi” olarak tanımlanan bu anestezide hasta gözleri açık ve yavaş nistagmusun olduğu, iletişimin kurulamadığı ancak uyanık gibi görülebildiği, ağrılı uyarandan bağımsız iskelet kas hareketleri ve tonusun olduğu, amnezik ve derin analjezik etki altında olduğu kateleptik bir durumdadır. Ancak diğer fensiklidinlerde de olan kabus, ajitasyon, hallüsinasyon gibi derlenme özelliklerine sahiptir.

Ketamin NMDA reseptör antagonistidir. Giderek artan sayıda çalışma verisi NMDA reseptörlerinin hafıza ve diğer kognitif süreçlerle ilgili olduğunu göstermektedir.

Gerçekleştirilen bu deneysel araştırmada gebe ratlara fetal SSS gelişiminin olduğu dönemde ketamin anestezisi verilerek yavru ratların kognitif fonksiyonları ve beyin histopatolojileri değeriendirildi. Tekrarlayan anestezi uygulamasının apoptozise neden olup olmadığının histopatolojik olarak, fonksiyonel bir değışiklik yapıp yapmadığının da Radial Arm Maze (RAM) testi ile değeriendirilmesi amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Anestezi Tarihçesi

Yunan filozofu Dioscorides anestezi terimini ilk kez milattan sonra 1. yüzyılda Mandragora bitkisinin narkotik-benzeri etkilerini tanımlamak için kullanmıştır. Ağrısız cerrahiye olanak sağlamak için amnezi, analjezi ve narkozu kapsayan bir durumu simgeleyen anestezi deyimini ise ilk kez 1846'da Oliver Wendell Holmes önermiştir. Birleşik Devletler'de anestezi uygulamasını veya çalışmalarını ifade etmek için kullanılan anesteziyoloji terimi, artan ihtisaslaşmanın temelini vurgulamak amacı ile ilk kez 20. yy ikinci dekadında önerilmiştir. 1846'da Boston'da William T.G. Morton eter kullanarak ilk genel anestezi uygulamasını yapmıştır (1).

2.1.1.Genel Anestezi

Günümüzde, genel anestezi dışarıdan uygulanan farmakolojik ajanlarla vital fonksiyonlarda bir değişiklik olmadan geçici bilinç kaybı, refleks aktivitede azalma ve değişen derecelerde kas gevşemesi ile karakterize ve geri dönüşlü bir durum olarak tanımlanmaktadır. Bu durum genel anestezi ajanlarının kortikal merkezler, bazal ganglionlar, serebellum, medulla spinalis sırasıyla SSS'nde oluşturduğu inici bir depresyonun sonucudur (2).

2.1.2. Genel Anestezi Yöntemleri

Genel anestezi yöntemleri iki ana gruba ayrılır.

I-İnhalasyon anestezisi

II-İntravenöz anestezi

2.1.3. Genel Anestezi Ajanları

İnhalasyon Anestezikleri: Tarihte kullanılan ilk genel anestezi ajanı Dietil eterdir. İlk olarak 1540'da Valerius Cordus tarafından uygulanmıştır. Günümüzde kullanılan inhalasyon ajanları Nitröz Oksit (N₂O), Halotan, İzofluran, Desfluran, Sevofluran ve Zenon (Xenon)'dur (1).

İntravenöz Anestezikler: İntravenöz anestezi için hipodermik şırınga ve iğnenin 1855'te Alexander Wood tarafından bulunmasını takiben gelişmiştir. İntravenöz anestezide ilk denemeler kloral hidrat, kloroform ve eter ile morfin-skolopamin birlikte kullanımını içerir. Günümüzde kullanılan intravenöz ajanlar; Barbitüratlar, Opioidler, Benzodiazepinler, Ketamin, Etomidat ve Propofol'dur (1).

2.2. Anestezinin Organ ve Sistemler Üzerine Etkisi

2.2.1. İnhalasyon Anesteziklerinin Organ Sistemlerine Etkileri (1)

	N ₂ O	Halotan	İzofluran	Desfluran	Sevofluran
Kardiyovasküler					
Kan basıncı	D / Y	↓↓	↓↓	↓↓	↓
Kalp hızı	D / Y	↓	↑	D / Y veya ↑	D / Y
SVR	D / Y	D / Y	↓↓	↓↓	↓
Kardiak output	D / Y	↓	D / Y	D / Y veya ↓	↓
Solunum					
Tidal volüm	↓	↓↓	↓↓	↓	↓
Solunum hızı	↑	↑↑	↑	↑	↑
Serebral					
Kan akımı	↑	↑↑	↑	↑	↑
İKB	↑	↑↑	↑	↑	↑
SMH	↑	↓	↓↓	↓↓	↓↓
Nöbetler	↓	↓	↓	↓	↓
Nöromusküler					
Nondepolarizan blokaj	↑	↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑
Renal					
Renal kan akımı	↓↓	↓↓	↓↓	↓	↓
GFH	↓↓	↓↓	↓↓	↓	↓
İdrar debisi	↓↓	↓↓	↓↓	↓	↓
Hepatik					
Kan akımı	↓	↓↓	↓	↓	↓

D / Y : Değişiklik Yok

SVR : Sistemik Vasküler Rezistans

İKB : İntrakraniyal Basınç

SMH : Serebral Metabolik Hız

GFH : Glomerüler Filtrasyon Hızı

2.2.2 İntravenöz Anesteziklerinin Organ Sistemlerine Etkileri (1)

	Kardiyovasküler		Solunum		Serebral		
	Kalp hızı	OAB	VD	BD	SKA	SOT	İKB
Barbitüratlar							
Tiyopental	↑↑	↓↓	↓↓↓	↓	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
Tiamilal	↑↑	↓↓	↓↓↓	↓	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
Metohexital	↑↑	↓↓	↓↓↓	0	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
Benzodiazepinler							
Diazepam	0/↑	↓	↓↓	0	↓↓	↓↓	↓↓
Lorazepam	0/↑	↓	↓↓	0	↓↓	↓↓	↓↓
Midazolam	↑	↓↓	↓↓	0	↓↓	↓↓	↓↓
Ketamin	↑↑	↑↑	↓	↑↑↑	↑↑	↑	↑↑
Etomidat	0	↓	↓	0	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
Propofol	0	↓↓	↓↓↓	0	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓

OAB : Ortalama Arter Basıncı

VD : Ventilatuvar Gütü

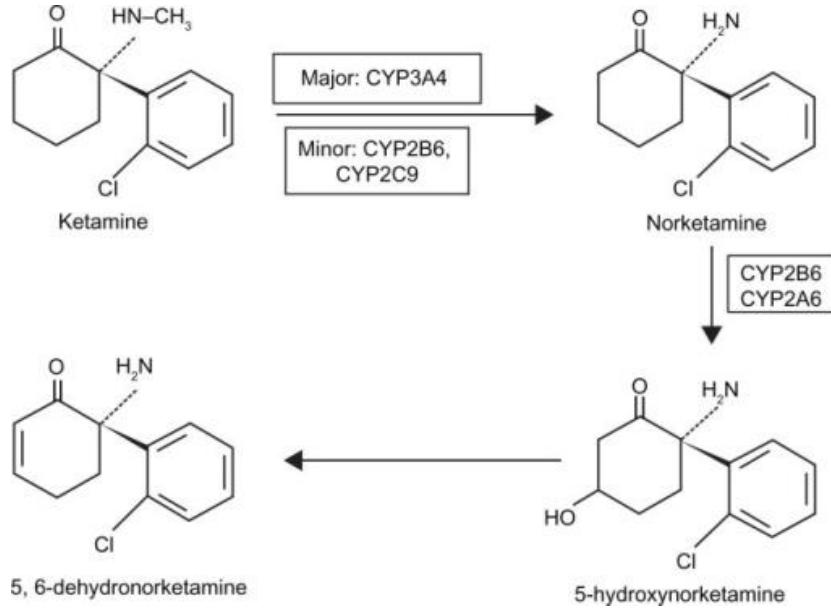
BD : Bronkodilatasyon

SKA : Serebral Kan Akımı

SOT : Serebral Oksijen Tüketimi

İKB : İntrakraniyal Basınç

2.3. Ketamin



Şekil.1. Ketaminin Yapısı ve Şekli (3)

Ketamin fensiklidinin yapısal analogudur. Ketamin 1962’de Stevens C. tarafından sentez edildi ve insanlarda ilk kez 1965’te Corssen ve Domino tarafından kullanıldı. Ketaminin tıbbi amaçlı kullanımı 1970 yılının ortalarında başladı ve pek çok klinik durumda halen kullanılmaktadır. Ketamin diğer anestezi indüksiyon ajanlarının çoğundan anlamlı analjezik etkisiyle farklıdır. Genellikle respiratuar ve kardiyovasküler sistemi deprese etmez, ancak diğer fensiklidinlerde de olan olumsuz fizyolojik yan etkilere sahiptir. Ketamin iki stereoizomerden meydana gelir: S-(+) ve R(-). S-(+) izomer daha potenttir ve daha az yan etkiye sahiptir (4).

Ketamin 238 kilodalton molekül ağırlığına sahiptir. Suda kısmen çözünür ve tiyopentalin 5-10 katı yağda çözünürlüğe sahiptir. Ketamin karaciğer mikrozomal enzimleri tarafından metabolize edilir. N-metilasyonla norketamine dönüşmesini takiben hidroksinorketamine hidroksilize olur. Norketamin ana bileşiğe göre anlamlı derecede az (%20-30 arasında) aktiviteye sahiptir.

Ketaminin farmakokinetiği anestezi doz bolus enjeksiyonundan (1-2 mg.kg⁻¹), subanestezi dozdan (0.25 mg.kg⁻¹) ve sürekli infüzyondan (kararlı durum plazma seviyesi 2000 ng/mL) sonra çalışılmıştır. Doza bakılmaksızın ketaminin plazmadan kaybolması iki kompartman modeliyle açıklanabilir. Hızlı distribüsyon, 11-16 dakikalık kısa yavaş distribüsyon yarı ömrünü yansıtır. Ketaminin lipid çözünürlüğünün yüksek olması dağılım hacminin geniş olmasıyla sonuçlanır. Klirensinin de göreceli olarak yüksek olması eliminasyon yarı ömrünün kısa olmasına neden olur (4).

Ketamin NMDA reseptör antagonistidir (1).

2.3.1. Ketaminin Organ Sistemleri Üzerine Etkileri

2.3.1.1. Santral Sinir Sistemine Etkileri

Ketamin doz bağımlı olarak bilinç kaybı ve analjezi sağlar. Ketamin SSS'nde yaygın depresyona değil Elektro-Ensefalo-Grafi (EEG)'de talamokortikal ve limbik sistem arasında dissosiasyona neden olur ve "Dissosiyatif anestezi" denilen hastanın gözleri açık ve yavaş nistagmusun olduğu, hasta ile iletişimin kurulamadığı ancak hastanın uyanık gibi görülebildiği, ağrılı uyarıdan bağımsız iskelet kas hareketleri ve tonusun olduğu, hastanın

amnezik ve derin analjezik etki altında olduğu kateleptik bir duruma neden olur. Ayrıca diğerk fensiklidinlerde de olan kabus, ajitasyon, hallüsinasyon gibi derlenme özelliklerine sahiptir.

Ketamin serebral oksijen tüketimi (SOT)'ni, serebral kan akımı (SKA)'nı ve kafa içi basıncını artırır. Bu etkiler ilacın, kafa travmalarında olduğu gibi kafa içinde yer kaplayan lezyonları olan hastalarda kullanımını kısıtlar (1).

Ketaminin deneysel inkomplet serebral iskemi yapılan hayvan çalışmalarında nekrozu azalttığı ve nörolojik sonucu iyileştirdiğı gösterilmiştir (5). Sempatik tonusun azaltılması ve NMDA reseptör aracılı iyon kanallarının inhibisyonunun, nekrotik hücre ölümünde azalmaya yol açtığına inanılmaktadır. S-(+) ketaminin rat beyinde, iskemi/reperfüzyondan dört saat sonra apoptozisi regüle eden proteinlerin ekspresyonunu etkilediğı gösterilmiştir (6). Bu nedenle ketaminin nöroprotektif etkisinde, anti-apoptotik mekanizmaları da içeren nekrotik hücre ölümünü azaltması da bir faktör olabilir.

2.3.1.2. Solunum Sistemi Üzerine Etkileri

Ketaminin karbondioksite değişmeyen yanıtla da neticelenen santral respiratuar dürtü üzerine minimal etkisi vardır (7). Ketaminin indüksiyon dozunun bolus uygulamasından sonra dakika ventilasyonunda geçici bir azalma olabilir. Yüksek dozlar apneye neden olabilir, ancak bu etki çok nadirdir.

Ketamin düz kasları gevşetir. Reaktif hava yolu ve bronkospazmı olan hastalarda verilirse pulmoner kompliyansı artırır (8). Özellikle çocuklarda

ketamin uygulamasını takiben tükürük sekresyonundaki artış üst hava yolunda obstrüksiyona neden olabilir ve daha sonra laringospazmla komplike olabilir.

2.3.1.3. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Diğer anestezi ajanlarının aksine ketamin, özellikle hızlı bolus uygulamadan sonra arteriyal kan basıncı, kalp hızı ve kalp debisini artırır. Bu indirekt kardiyovasküler etkiler SSS'nin santral yolla uyarılması ve norepinefrinin sinir uçlarında salınımından sonra tekrar alınımının inhibisyonu nedeniyle. Bu değişikliklere pulmoner arter basıncında ve miyokard işindeki artış eşlik eder. Yüksek dozlarda ketaminin direkt miyokard depresyonu etkileri, muhtemelen Ca^{++} geçişinin inhibisyonu yüzünden, sempatik blokaj veya katekolamin depolarının tükenmesi ile maskelenemez. Diğer taraftan ketaminin indirekt uyarıcı etkileri akut hipovolemik şoktaki hastalar için çoğu kez yararlıdır (1).

2.4. Anestezi ve Apoptozis

2.4.1. Apoptozis

Ökaryotik organizmadaki hücreler doğarlar, belirli bir süre yaşarlar ve sonra ölürlər (9). Yaşam süreleri hücre tipine göre değişmektedir. Örneğin, barsak hücreleri 3-5 günlük bir yaşam süresini takiben ölürlərken, derinin epidermal hücreleri 20-25 günlük bir süre sonunda ölmektedirler. Fakat miyokard kası hücreleri veya nöronlar ömür boyu yaşarlar. Nöronların çok sayıda ölmesi ancak sinapsların tam olarak oluşmadığı dönemden önce olur. Bu dönemde, doğumda aşırı sayıda olan nöronların sayısı uygun sinaptik ağın sağlanabilmesi için azalır.

Optimum sayıda nöronun optimum sayıda sinaptik bağlantı içinde olabilmesi için bu nöron kayıpları gereklidir. Bahsedilen bu hücre ölümleri apoptozisle gerçekleşir. Zamanı gelince ölen bu hücreler daha önceden programlanmış bir şekilde ölürlür. Tüm bu ölümler fizyolojik şartlarda meydana geldiği için bu ölüm şekli fizyolojik hücre ölümü olarak da adlandırılır. Ayrıca, bir şekilde Deoksiribo Nükleik Asit (DNA)'sı hasarlanmış (virüs etkisi veya çevresel nedenlerle) hücreler organizmanın zarar görmemesi için kendilerini öldürürler ve bunu organizmanın yararı için yaparlar. Doku homeostazı için (örneğin yara iyileşmesi veya barsak hücrelerinin “turnover”ında olduğu gibi) hücreler ortamdan ölümler kaybolur. İşte, tüm bu kavramlar (programlanmış hücre ölümü, fizyolojik hücre ölümü, hücre intiharı, hücre kaybı) apoptozisle eş anlamlı olarak kullanılabilen ve literatürde yer alan ifadelerdir (10,11).

2.4.1.1. Apoptozisin Mediatörleri

Apoptozis çok sayıda ve çeşitte mediatör tarafından düzenlenir. Bunlar arasında, bazı iyonlar (kalsiyum), moleküller (seramid), genler (c-myc), proteinler (p53) ve hatta organeller (mitokondri) bulunmaktadır. Bazı mediatörler hücre tipine özgüdür, bazıları da apoptotik stimulusun çeşidine göre farklılık gösterebilirler. Apoptotik süreç boyunca hücre içine sürekli kalsiyum girişi olur.

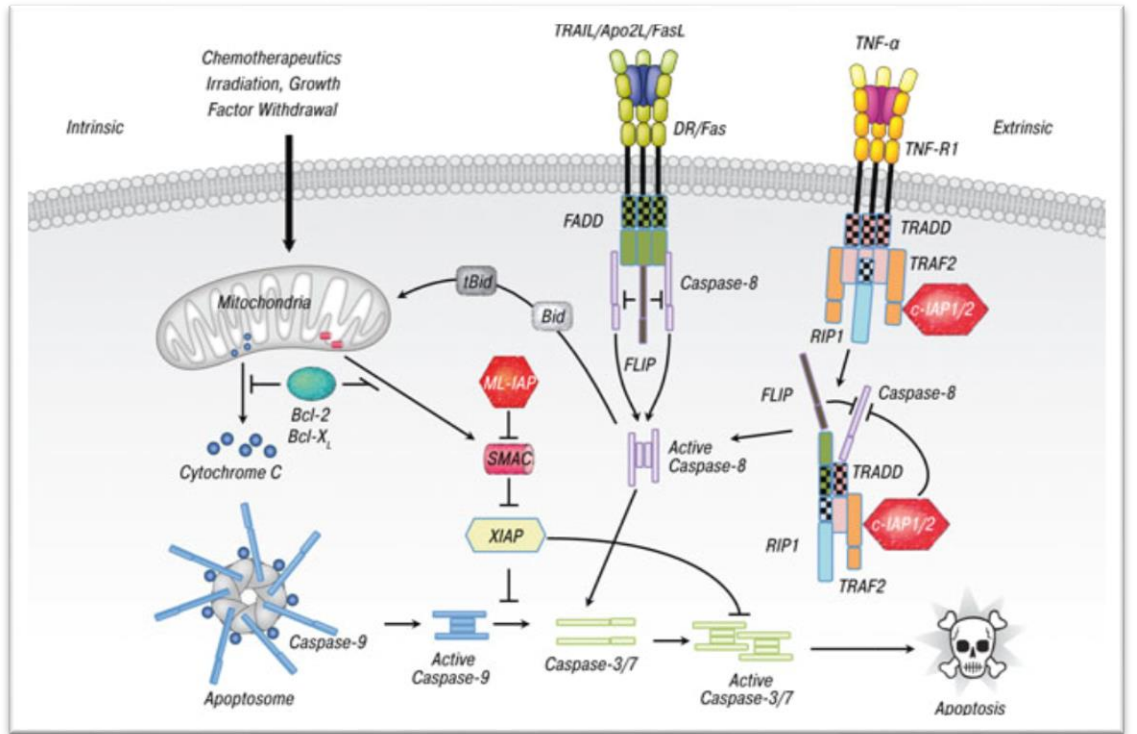
Kalsiyum iyonları endonükleaz aktivasyonunda, doku transglutaminaz aktivasyonunda, gen regülasyonunda, proteazların aktivasyonunda ve hücre iskeleti organizasyonunda rol alabilirler. Fakat hücreye kalsiyum girişi apoptozisin gerçekleşmesi için esansiyel değildir. **Bcl-2 ailesi**, üyelerinin bir

kısının apoptozisi indüklediği (Bax, Bad, Bid, Bcl-Xs), bir kısmının ise inhibe ettiği (Bcl-2, Bcl-Xl) geniş bir ailedir. Hücrenin yaşayabilirlik durumu bu ailenin pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerinin rölatif oranına bağlıdır. **Bax** sitozolde bulunur ve apoptotik uyarı alınması halinde mitokondri membranına bağlanır, burada küçük delikçikler oluşumunu indükler, böylece selektif iyon permeabilitesi kaybolur, sonuçta sitokrom c ve apoptozis-indükleyici faktör (AIF) olarak bilinen AIF'ün mitokondriden sitozole çıkmasını sağlar. **Seramid**, membrana bağlı asid sfingomyelinaz aktivasyonunun bir ürünüdür. Plasma membran hasarına karşı bir sinyal olduğu düşünülmektedir. **p53**, hücrede bir şekilde (radyasyon, kemoterapi etkisiyle) DNA hasarı oluştuğunda, eğer hasar onarılabilecek düzeyde ise hücre siklusunu G1 fazında durdurur ve hücreye DNA'sını tamir edebilmesi için zaman kazandırır. Eğer DNA hasarı tamir edilemeyecek kadar büyükse bu durumda p53 apoptozisi indükler. **Sitokrom c**, mitokondri iç membranında bulunan elektron transport zincirinin bir proteinidir. Son yıllarda anlaşılan önemiyle apoptozis sürecinde merkezi bir konuma oturmuştur. Bu yüzden de sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya salıverilmesi apoptozis yoluna girmiş bir hücrede irreversibl bir döneme girildiğini işaret eder. Sitokrom c sitoplazmik protein olan *Apoptotic protease activating factor-1* (Apaf-1)'e bağlanır ve onu aktive eder, ardından ATP'nin de katılımıyla apoptozom adı verilen bir kompleks oluşur. Bu kompleks inaktif olan prokaspaz-9'un aktif kaspaz-9 haline dönüşmesini sağlar. Aktif kaspaz-9 ise efektör kaspazlardan prokaspaz 3'ü aktive eder. Aktif kaspaz 3, kaspazla aktiveleşen deoksiribonükleaz inhibitörünü (ICAD, *inhibitor of caspase-activated deoxyribonuclease*) inaktifleştirir, böylece ICAD'ünün bağladığı

kaspazla-aktifleşen deoksiribonükleaz (CAD, *caspase activated deoxyribonuclease*) serbestleşir ve bu da apoptozisin karakteristik bulgularından biri olan kromatin kondensasyonuna ve oligonükleozomal DNA fragmentasyonuna neden olur. Buraya kadar olan mekanizma kaspaz-bağımlı apoptozisi gösterir, oysa kaspaz-bağımsız apoptozisin varlığı da bilinmektedir (10). Kaspaz-bağımsız apoptozis yine mitokondriden salıverilen bir faktör olan AIF'ün etkisiyle gerçekleştirilir. Fakat AIF'ün etkilediği nükleazın ne olduğu henüz bilinmemektedir (12). **Kaspaz (“caspase”)’lar**, zimojen (inaktif prekürsör) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından sistein proteazlar olarak adlandırılan bir grup enzimlerdir. Şu ana kadar 14 tanesi tanımlanmıştır ve çoğu apoptozisde rol almaktadır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek preteolitik bir kaskada neden olurlar. Bazıları (Kaspaz 2, 8, 9, 10) başlatıcı kaspazlar olarak bilinirken bazıları da (Kaspaz 3, 6, 7) efektör kaspazlar olarak bilinir. Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara naklederler. Efektör kaspazlar ise ilgili proteinleri parçalayarak apoptotik hücre morfolojisinin meydana gelmesine neden olurlar. İlk tanımlanan enzim ICE (interlökin 1- β dönüştürücü enzim)’dir ve prokaspaz 1 olarak bilinir. Kaspaz kaskadı, sitokrom c’nin sitoplazmaya salıverilmesiyle prokaspaz 9’un aktivasyonu yoluyla aktifleştirildiği gibi, kaspazlar da sitokrom c’nin salıverilmesine neden olabilirler. Kaspazlardaki defektler otoimmün hastalıklara, kansere ve bazı nörolojik bozuklukların oluşumuna katkıda bulunabilir (13). Hatta kaspaz 8’in nöroblastomada tümör süpressörü olarak işlev gördüğü bulunmuştur (14). **Granzimler**, patojenle enfekte edilmiş hücrelerin veya tümör hücrelerinin

ortadan kaldırılmasında etkin rol alırlar. Perforinler ve granzimler normal olarak sitotoksik lenfositlerin ve natural killer (NK)'lerin sitoplazmik granüllerinde bulunurlar.

2.4.1.2 Apoptozisin Aşamaları (15)



Şekil 2. Apoptozis Kaskadının Genel Görünümü

- Apoptozisin indüksiyonu
- Hücre yüzey ölüm reseptörlerinin uyarılması
- Sitokrom c'nin salıverilmesi
- Apoptozom oluşumu (sitokrom c + Apaf-1 + kaspaz-9)
- Mitokondriyal transmembran potansiyelin değişmesi

- Kaspazların aktivasyonu
- Fosfatidilserinin hücre membranının iç yüzünden dış yüzüne transloke olması
- DNaz'ın aktivasyonu sonucu DNA'nın fragmentasyonu (internukleozomal DNA fragmentasyonu)
- Yapısal proteinlerin yıkılmasına bağlı olarak apoptozise özgü morfolojik değişikliklerin meydana gelmesi

2.4.1.3. Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Apoptozisi saptamak için çok çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. 1972 yılında, apoptozis terimi ilk kez kullanıldığında hücrenin morfolojik görünümüne göre karar verilmişti. Oysa günümüzde morfolojik değerlendirmenin yanı sıra apoptozise özgü olduğu bilinen bazı aktivasyonların (Örn. aktif kaspaz-3 tayini) moleküler düzeyde belirlenmesiyle de saptanabilmektedir. Apoptozisin belirlenmesine yönelik geliştirilen tüm metodları, 2000'li yılların başlarında, sadece apoptotik epitelyal hücrelerde olmak üzere kaspaz aktivitesiyle kırılan bir protein olan keratin 18'in kırıldıktan sonraki özgün formunu saptayan antikorların kullanılarak daha spesifik olarak saptanması takip etmiştir.

Apoptozisin belirlenmesinde kullanılan yöntemler aşağıda sıralanmıştır:

- **Morfolojik görüntüleme yöntemleri (16)**

1. Işık Mikroskobu

- Hematoksilen Eosin (H&E) Boyama

- Giemsa Boyama

2. Floresan Mikroskobu / Lazerli Konfokal Mikroskop

- Propidium İyodür (PI)

- *Hoechst Dye*

3. Elektron Mikroskobu

4. Faz Kontrast Mikroskobu

- **İmmunohistokimyasal yöntemler**

1. Anneksin V Yöntemi

2. *TdT-dUTP Nick-End-Labeling* (TUNEL) Yöntemi

3. M30 Yöntemi

4. Kaspaz-3 Yöntemi

- **Biyokimyasal yöntemler**

1. Agaroz Jel Elektroforezi

- DNA fragmentasyonu

2. “*Western Blotting*”

- Substrat kırılmaları

- Aktif kaspaz’ın belirlenmesi

- Sitokrom c salıverilmesi

3. “Flow” Sitometri

- DNA azalması
- *Annexin*

• **İmmunolojik yöntemler**

1. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

- DNA Fragmentasyonu
- M30 Düzeyi

2. Fluorimetrik yöntem

- Kaspaz Aktivasyonu (Hücre kültürü)

• **Moleküler biyoloji yöntemleri**

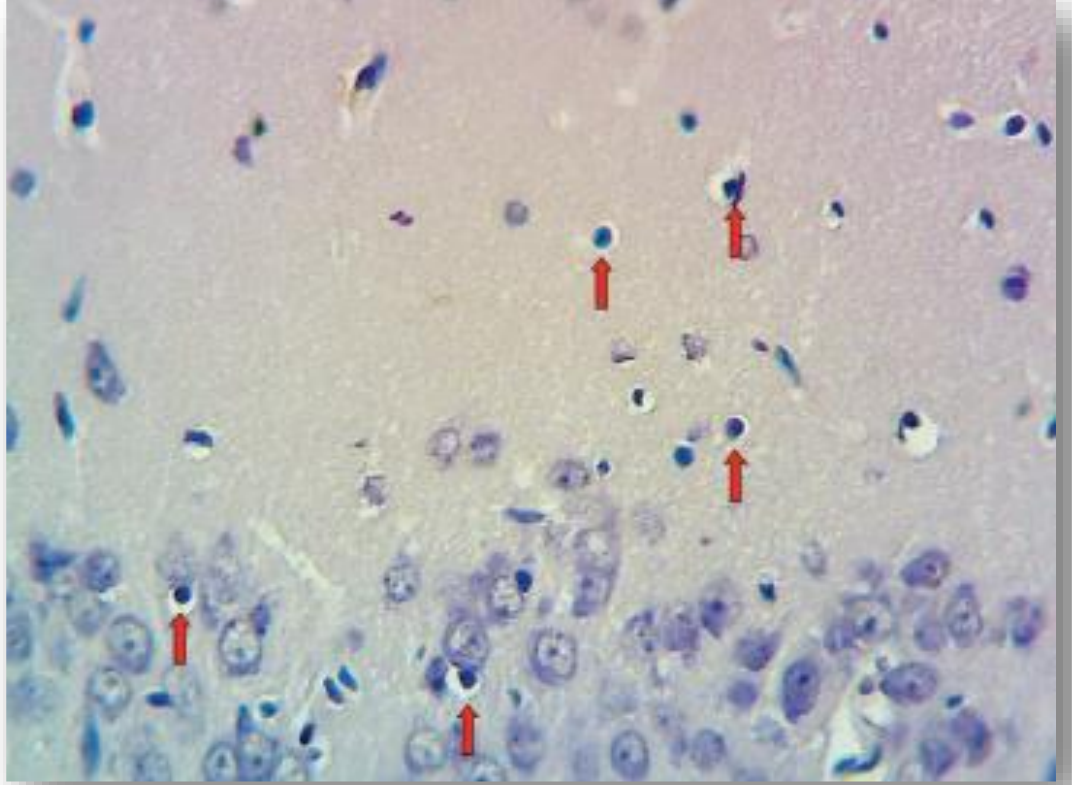
1. “DNA *Microarrays*” Gen ekspresyon dereceleri (mRNA)

- Hücre ölüm reseptörleri
- Kaspazlar

2.4.1.4. TUNEL Yöntemi

DNA kırıklarının in-situ olarak tanınmasını sağlar (17-19). Apoptotik parçalanma sonucu DNA uçları, DNA polimeraz veya Klenow fragmenti kullanılarak işaretlenebilmektedir. Ancak terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) kullanılarak yapılan işaretleme göreceli olarak daha duyarlı bir yöntem olarak bulunmuştur. Konvansiyonel parafin kesitleri, TdT ve nonizotopik işaretli nükleotidler (sıklıkla biyotinli dUTP) kullanılarak yapılan in situ işaretleme ardından floresan veya enzimatik görüntüleme, apoptotik hücreleri diğerlerinden ayırmada yeterli olmaktadır. Bu yöntem yaygın olarak “TdT-dUTP nick-end-

labelling” sözcüklerinin kısaltılması olan “TUNEL” yöntemi adıyla anılmaktadır (18,20,21).



Şekil 3. Beyin korteksinde TUNEL pozitif hücreler (22)

2.5. Kognitif Fonksiyon ve Anestezi İlişkisi

2.5.1. Kognitif Fonksiyon

Kognitif terimi Latince “cognita” sözcüğünden gelmektedir. Bilinç, öğrenme, algılama, zeka, dikkat, hafıza, oryantasyon, eylem, duygu, karar verme, konuşma, düş kurma, sorun çözme, okuma-yazma ve hesaplama gibi yüksek beyin işlevlerini kapsar (23). Beyindeki bu işlevlerinin sağlanması için SSS’de bulunan glutamat ve aspartat gibi eksitatör aminoasitler ana nörotransmitterler olarak yer alır (24-26).

2.5.2. Kognitif Fonksiyon Bozuklukları

North American Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) sınıflamasına göre kognitif bozukluklar 4 gruba ayrılmaktadır (23).

1. Deliryum; dikkati belirli bir konu üzerinde odaklama, sürdürme ya da yeni bir konuya kaydırma yetisinde azalma ile seyreden akut bilinç bozukluğu ve kognitif değişiklik (bellek, yönelim, dil bozukluğu) ile karakterize ve gün içinde dalgalanmalar gösteren bir sendromdur.
2. Demans; çoklu kognitif yetersizlik (dil, yönetsel işlev ve bellek bozukluğu) ile karakterizedir.
3. Amnestik bozukluk; yeni bilgileri öğrenme ya da daha önceden öğrenilmiş bilgileri ya da geçmişteki olayları anımsama yetilerinde bozulma olur.
4. Nörokognitif bozukluk; iki veya daha fazla kognitif fonksiyon bozukluk ile karakterize olup, iki haftadan önce düzelme göstermez.

2.5.3. Postoperatif Kognitif Fonksiyon Bozuklukları

Postoperatif kognitif hastalıklar ise, postoperatif deliryum (POD) ve postoperatif kognitif disfonksiyon (POKD) olarak 2 alt başlıkta incelenmektedir. POKD anesteziiden günler, haftalar sonra başlayan, haftalar veya aylarca sürebilen, bazen kalıcı olabilen nörokognitif bozukluklara verilen addır (23). Anestezik ajanların tüm organ ve sistemler üzerine etkileri olmakla beraber asıl etkileri sinir sistemi üzerinedir. Kognitif fonksiyonlar bu nedenle anestezi sonrası değişen derecelerde etkilenir. Postoperatif kognitif fonksiyonlar anestezi ve cerrahi girişimin neden olduğu mental değişiklikleri araştırmak ya da anesteziklerin artık etkilerini belirleyerek derlenme düzeyini saptamak amacıyla değerlendirilmektedir (27,28).

2.5.3.1. Postoperatif Deliryum

Postoperatif deliryum, hastalarda iyileşmeyi geciktiren, hastanede kalma süresini uzatan, morbidite ve mortaliteyi artıran bir sendromdur (23). Deliryum DSM IV tanımına göre bilinç ve kognitif fonksiyonlarda akut bozukluklar ile karakterizedir (23). Kognitif fonksiyonlardan oryantasyon, konuşma, öğrenme ve hafıza da bozukluklar görülür. Emosyonel rahatsızlıklar, anksiyete, hiddet ve depresyon görülebilir. Postoperatif deliryum gün içinde dalgalanmalar gösterir. Deliryumun insidansı tıbbi nedenlerle hastaneye yatırılan hastalarda %10–30, son dönem hastalarda %80’dir (29). Tüm yaş grupları için POD %5–10 görülürken yaşlı hastalarda insidans %10–15 olarak bulunmuştur. Deliryumun görülme oranı cerrahi tipine bağlı olarak da değişebilmektedir. Katarakt cerrahisi için görülme

oranı %1–3, genel cerrahi sonrası için %10, major ortopedik cerrahi sonrası için %28–61 ve kardiyak cerrahi sonrası için %3–47 olarak bildirilmiştir (27,28).

Deliryum; varsanılar, hezeyanlar, ajitasyon, yönelim bozukluğunun ön planda olduğu “**hiperaktif deliryum**” ve konfüzyon ile sedasyonun ön planda olduğu “**hipoaktif deliryum**” olmak üzere ikiye ayrılır. Bu iki tip dışında her iki tipin özelliklerini taşıyan “**karışık tipte deliryum**” da tanımlanmıştır (29,30).

Deliryum başlangıç durumuna göre acil deliryum ve POD olarak da ikiye ayrılır. Acil deliryum çocuklarda sık görülen anestezi sırasında veya hemen bitiminde ortaya çıkan ve genelde dakikalar veya saatler içinde düzelme gösteren tablodur. Postoperatif deliryum ise postoperatif 1. ve 3. günlerde ortaya çıkmakta ve genellikle saatler veya günler içinde gerilemektedir. Ancak birkaç hafta veya ay devam edebildiği de görülmüştür. Postoperatif deliryumun diğer deliryum tipleriyle kıyaslandığında daha fazla iyileşme gösterdiği belirtilmiştir (23).

2.5.3.2. Postoperatif Kognitif Disfonksiyon (POKD)

Postoperatif kognitif disfonksiyon kişinin hafıza, konsantrasyon, dil kullanımı ve sosyal iletişimde bozukluk ile karakterize bir tablodur ve cerrahi sonrasında özellikle ileri yaş hastalarda sık olarak görülmektedir. Postoperatif dönemde haftalarca sürebildiği gibi, kalıcı bir bozukluğa da neden olabilmektedir (31,32).

DSM IV'e göre tanı kriterleri:

- 1.Öğrenme yeteneğinin veya hatırlamanın azalması ile ortaya çıkan bellek zayıflaması
- 2.Yönetmel fonksiyonlarda bozukluk (planlama, sıralama, soyut düşünme, organizasyon)
- 3.Dikkat ve bilgi işlem hızında bozukluk, psikomotor yetilerde zayıflama
- 4.Anlama, kelime bulma gibi dil fonksiyonlarında zayıflama

Postoperatif kognitif disfonksiyonun etyolojisi tam olarak netlik kazanmamış olup preoperatif, intraoperatif ve postoperatif dönemde etkili olduğu düşünülen pek çok faktör bu konuda suçlanmaktadır (Tablo 3).

Son dönemde en çok üzerinde durulan etken, azalmış nörofizyolojik rezerve sahip hastalarda peroperatif dönemde meydana gelen asetilkolin (Ach), serotonin, glutamat ve aspartat gibi nörotransmitter sistemlerdeki dengesizliklerdir. Ayrıca sitokinler gibi inflamatuvar mediyatörlerin de POKD gelişiminde rolü olabileceği düşünülmektedir (33,34). Nörotransmitterlerden Ach bilinç üzerine önemli etkilere sahiptir. Postoperatif kognitif disfonksiyonun santral antikolinerjik defekt veya yetersiz Ach yapımı nedeniyle olabileceği düşünülmektedir (35). Serotonin miktarının POKD ile ilişkili olduğu ve serotonerjik fonksiyonlarda azalmanın POKD'ye neden olduğu düşünülmektedir (33). Nikotinik sistemin öğrenme, hafıza ve kognisyon üzerine etkileri insan ve hayvan deneyleriyle gösterilmiştir. Nikotin, nikotinerjik asetilkolin reseptör (nAChRs) agonistlerinin prototipidir. Dikkat üzerine doğrudan etkisiyle, öğrenme ve hafıza üzerine ise presinaptik nAChRs'den asetilkolin, glutamat,

dopamin, noradrenalin, serotonin ve Gama-aminobütirik asit (GABA) salınımını kolaylaştırarak etki eder (36). Dopamin, GABA ve glutamat da POKD ile ilişkili diğer nörotransmitterlerdir (34,37).

Tablo 3. Postoperatif Kognitif Disfonksiyon Risk Faktörleri (38-40)

Preoperatif	İntraoperatif	Postoperatif
İleri yaş	Ameliyat süresi	Respiratuar komplikasyonlar
Kognitif bozukluk	Cerrahi girişimler	Postoperatif enfeksiyon
Kötü sağlık durumu	Aort anevrizması ameliyatı	Psikoaktif medikasyon
Alkol bağımlılığı	Bilateral veya tek taraflı diz protezi	Postoperatif ağrı
Glukoz, Na ve K dengesizliği	Nonkardiyak toraks cerrahisi	%30'un altında hematokrit
	İntraoperatif kan kaybı	Kan transfüzyonu
		Elektrolit ve metabolik düzensizlikler

2.6. Ratlarda Postoperatif Kognitif Fonksiyonları Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler

Ratlarda kognitif fonksiyonları davranışsal yöntemler ile değerlendirilebilir ve kognitif fonksiyon ile ilişkisi bulunan biyokimyasal belirteçler bu amaçla kullanılabilir (Tablo 4).

Tablo 4. Ratlarda kognitif fonksiyonları değerlendirmede kullanılan yöntemler

Davranışsal yöntemler	Biyokimyasal belirteçler
Radial Arm Maze	Nöron Spesifik Enolaz (NSE)
Morris su tankı	S-100 β
Pasif sakınma	
Dört levha testi	

2.6.1. Ratlarda kognitif disfonksiyonları değerlendirmede kullanılan davranışsal yöntemler

Bellek bozukluğunu sınamak amacıyla en sık kullanılan yöntemler sekiz kollu labirent (Radial Arm Maze) ve Morris Su Tankı uygulamalarıdır (41,42). Radial Arm Maze ve Morris su tankı haricinde pasif sakınma, şartlı zıtlasma testi, dört levha testi, merdiven testi gibi testlerde bu amaçla kullanılabilir (43,44). Bunlar bellek bozukluğunun düzeyini saptamak amacıyla kullanılan davranışsal yöntemlerdir. Özellikle nöroproteksiyon çalışmalarında yapılan davranışsal çalışmaların morfolojik çalışmaları tamamladığı gösterilmiştir (41,42). Ek olarak kognitif fonksiyonların nörotransmitterlerle olan ilişkisinin saptanması amacıyla da bu düzenekler kullanılmaktadır (45-47).

2.6.1.1. Radial Arm Maze Düzenegi ve Testi

Radial Arm Maze düzenegi, 30 cm çapındaki merkezi bir platformdan ışınsal olarak yayılan sekiz koldan oluşmaktadır. Her kol koridor şeklinde olup, 50 cm uzunluğunda ve 10 cm genişliğinde yapılmıştır (Resim 1). Bu düzenek ilk

kez 1976 yılında Olton ve Samuelson tarafından ratlarda uzaysal hafızayı değerlendirmek amacıyla geliştirilmiştir. Günümüzde de ratlarda hafıza fonksiyonun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (48). Uzak ve yakın bellek bu yöntemle sınanabilir (49).



Resim 1. Çalışmamızda kullanılan RAM düzeneği

Radial Arm Maze Performansının Değerlendirilmesi:

David Olton ve arkadaşları tarafından geliştirilen RAM testi, deklaratif belleğin bir bileşeni olarak uzaysal bellek performansının ölçümü amacıyla sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Normal bir sıçan böyle bir RAM düzeneğine konulduğu zaman her bir kolun sonuna yerleştirilen yemleri buluncaya kadar

aygıtta dolaşır. Yapılan denemelerle birlikte, sıçan tüm yemleri bulmayı öğrendiği zaman, RAM'nin her bir kolunu sadece bir kez ziyaret eder. Sıçan, kolların her birine yeniden girmemeyi yani girmek üzere olduğu kolun daha önce ziyaret ettiği kol olduğuna aygıt etrafındaki başta görsel olmak üzere bir takım ipuçları kullanarak karar verir. Normal bir sıçanın RAM performansı böyle iken deklaratif bellek oluşturmada bir kusuru bulunan örneğin hipokampusu zedelenmiş bir sıçan RAM düzeneğine konulduğu zaman farklı bir performans gösterir. Öyle ki, normal bir sıçanın aksine, girdiği kola birden fazla girer ve de girdiği kolda, ziyaret etmediği diğer kollar varken anormal bir şekilde uzun zaman geçirir. Böyle bir davranış açıkça uzaysal bellekteki bir sorunun yansıması olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle RAM performansları, sıçanların girdiği kola tekrar girmesinin hata olarak değerlendirilmesiyle ölçülür (50,51).

Radial Arm Maze testinin birçok ilginç versiyonu geliştirilmiştir (49), ancak RAM halen büyük ölçüde orjinal dizaynında kullanılmaktadır (52). Her kola yem konulan yöntemde daha önce girdiği kola tekrar girmesi yakın bellek bozukluğunu gösterirken, her kola yem konulmayan yöntemde ise hayvan yem konulmamış kola girerse uzak bellek bozukluğunu gösterir (44). Radial Arm Maze ile hipokampal lezyonların sonucunda oluşan veya belirli bir gen ya da proteinin kalıtımı nedeni ile oluşan hafıza bozukluğunu (53,54) ya da cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik dalgalar nedeniyle oluşan hafıza bozukluklarını tespit etmekte kullanılır (55-57).

2.6.1.2. Morris Su Tankı Testi

Bu test içi zararsız beyaz boya ile opaklaştırılan yuvarlak bir yüzme havuzunun içine bırakılan deney hayvanının, su altına gizlenmiş kaçma platformunu bulması ve bu sayede sudan kurtulması esasına dayanır (43,44).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna yapılan başvuru sonucunda G. Ü. ET. 13.034 kod numarası ile Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'da 06.01.2014-25.02.2014 tarihleri arasında gerçekleştirilen çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri başkanlığı tarafından 01/2013-15 proje kodu ile desteklenmeye uygun bulunmuştur.

3.1. Denek Seçimi

Çalışmada 240-285 g ağırlığında 6 adet Wistar cinsi erişkin dişi rat kullanıldı. Dişi ratların östrus evresinde erkek ratı kabul döneminde çiftleşmeleri sağlandı. Araştırmada dişi ratların gebelik tanısı abdominal palpasyonla teşhis edildi. Dişi ratlarda abdominal palpasyonla gebelik tanısı gebeliğin 10-12. gününde mümkün olmaktadır (58).

3.2. Kullanılan Yöntemler

Çalışmaya başlamadan önce ratlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Ratlar randomize 3 gruba (n=2) ayrıldı. Gebeliklerinin yaklaşık olarak 13-19. günlerinde fetal SSS gelişiminin olduğu dönemde çalışmamıza başlandı (59). Her gebe rat ayrı kafeslere alınarak bakımları sağlandı.

Grup 1 (K) : Gebe Kontrol grubu (n=2): Bu gruptaki gebe ratlara 1. rata bir kez yalnızca serum fizyolojik (SF) intramuskuler (im) olarak uygulandı. 2. rata birer gün ara ile 3 kez tekrarlayan SF im uygulandı.

Grup 2 (TK) : Gebe Ketamin (Ketalar®) tek gün tekrarlayan doz grubu (n=2): Bu gruptaki gebe ratlara aynı gün içinde tek doz ketamin 50 mg.kg⁻¹ im olarak uygulandı ve 2 saat derlenmesi beklenerek tekrar ketamin uygulandı ve bu döngü 3 kez tekrarlandı.

Grup 3 (ÇK) : Gebe Ketamin farklı günlerde tekrarlayan doz grubu (n=2): Bu gruptaki ratlara pazartesi – çarşamba – cuma olmak üzere birer gün ara ile ve günde 2 saat derlenmeleri beklenerek 3 kez ketamin 50 mg.kg⁻¹ uygulandı.

Ratlarda gebelik kopulasyondan doğuma kadar ortalama 21-23 gün sürmektedir (60). Gebe ratların doğumu beklendi.

Grup 1 Gebe Kontrol grubundaki 1. Rat bir kez SF im uygulanan rat işlemiden 3 gün sonra abort yaptı.

Grup 1 Gebe Kontrol grubundaki 2. Rat birer gün ara ile 3 kez tekrarlayan SF im uygulanan rat son uygulamadan 1 gün sonra doğum yaptı.

Grup 2 Gebe Ketamin tek gün tekrarlayan doz grubu 1. Rat ketamin uygulamasından 4 gün sonra doğum yaptı.

Grup 2 Gebe Ketamin tek gün tekrarlayan doz grubu 2. Rat ketamin uygulamasından 3 gün sonra abort yaptı.

Grup 3 Gebe Ketamin farklı günlerde tekrarlayan doz grubundaki 1. Rat çarşamba günü olan ikinci gün uygulamasından 1 gün sonra abort yaptı.

Grup 3 Gebe Ketamin farklı günlerde tekrarlayan doz grubundaki 2. Rat cuma günü olan üçüncü uygulaması yapıldıktan sonra doğum yaptı.

Sonuç olarak 3 gebe rat grubunda her gruptaki bir rat abort yaptı ve bir rat doğum yaptı. Yavru sayılarını belirlemek için 10 gün beklenildi.10 gün sonra yavru sayımı yapıldı.

Grup 1 Gebe Kontrol grubunda 12 yavru rat,

Grup 2 Gebe Ketamin tek gün tekrarlayan doz grubunda 4 yavru rat,

Grup 3 Gebe Ketamin farklı günlerde tekrarlayan doz grubunda 5 yavru rat sayıldı.

Çalışmamız için gerekli olan her gruptan 6 yavru rat sayısı elde edilemediği için Grup 2 için 2 rat ve Grup 3 için 1 rat elde etmek için, yeni erişkin 2 dişi rat çiftleştirilerek aynı süreçler tekrarlandı.

Yavru ratlara anneleriyle birlikte aynı kafeste bakıldı ve 21 gün anne sütü alma dönemleri beklenildi. Yavru ratların anne sütünden katı gıdaya geçtikleri dönemde yavru ratlar anne ratlardan ayırılarak RAM performansları değerlendirildi.

Her gruptaki 6 yavru ratın cinsiyeti belirlendi ve RAM düzeneğine konulmadan önce vücut ağırlıkları takibi yapıldı. 8 kollu RAM düzeneğinin her kolunun sonuna pelet yemler konuldu. Ratların RAM performansı 0.- 1.- 2.- 3. saat başlarında toplam 300 saniye olmak üzere kollara giriş çıkış süreleri ve sayıları kaydedildi.

RAM performansı değerlendirilirken ratlar önce RAM merkezine konuldu ve kollarda 15 saniyeden fazla hareketsiz kalan rat alınıp tekrar RAM merkezine konuldu. Ratların RAM performansı 3 gün arka arkaya 0.-1.-2.-3. saatler olarak tekrarlandı. 3. günün sonunda RAM uygulaması bittikten sonra ratlar ketamin

anestezisi altında aortadan kan alınarak ötenazi uygulandı. Daha sonra beyin dokuları bütünlük bozulmayacak ve travmatize edilmeyecek şekilde alınarak % 10'luk formol içine konuldu. Beyin dokuları histopatolojik inceleme için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalına teslim edildi.

Histopatolojik incelemede; kontrol, tek gün tekrarlayan ketamin ve çok gün tekrarlayan ketamin kodlu 6'şar denekten oluşan beyin eksizyon örnekleri %10'luk formalinde 24 saat fiske edildikten sonra koronal düzlemde, talamus ve hipokampusü içerecek şekilde her birinden iki adet doku örneği alındı. Rutin takip sonrası 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler hematoxilen-eozin (H&E) ve TUNEL yöntemleri ile boyandı. Işık mikroskopik değerlendirmede özellikle talamus, bazal ganglionlar ve hipokampüste cornu ammoniste nöron kaybı, nöron zedelenme bulguları, gliosis, iskemi bulgusu yönünden değerlendirildi. Nöron zedelenme bulguları olarak; sitoplazmik şişme, vakuolizasyon, kromatolizis ve yapısal bozukluk (displastik görünüm) olup olmadığı değerlendirildi. TUNEL yöntemi ile pozitif hücre indeksi 10 büyük büyütmede apoptotik hücre sayıldı.

3.3. İstatiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20,0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analiz verileri [ortalama $\pm$ standart sapma (SS), (En az-En çok), n (%)] olarak sunuldu. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Ölçülebilen parametrelere **Shapiro-Wilk** testi uygulanarak dağılımın normal ya da anormal olup olmadığı belirlendi. Gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemede bağımsız gruplarda tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirildi. Farklılık olması durumunda gruplar arası Bonferroni testi ile karşılaştırılma yapıldı.

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

Cinsiyet verisi değerlendirmesi Chi-square veya Fisher'in kesin Chi-square testleri ile yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan bebek ratların ağırlıkları üç ölçüm zamanında da gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulundu. Ağırlıklar Grup ÇK' da Grup K' ya göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.001$, $p=0.005$, $p=0.002$, sırasıyla). Cinsiyet gruplar arasında benzerdi ($p>0.05$), (Tablo 5).

Tablo 5. Grupların vücut ağırlığı ve cinsiyet değerlerine ait veriler [Ort $\pm$ SS, n (%), (En az-En çok)].

	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)	P
Ağırlık 1. gün	23,28 $\pm$ 0,60 (22,60-24)	35,50 $\pm$ 11,43 (20,50-45,30)	44,27 $\pm$ 11,32* (21,20-50)	0,005
Ağırlık 2. gün	26,07 $\pm$ 0,47 (25,20-26,50)	36,62 $\pm$ 11,38 (21,80-46,90)	47,25 $\pm$ 11,87* (23,10-53,20)	0,006
Ağırlık 3. gün	27,70 $\pm$ 1,10 (26,50-29,50)	39,35 $\pm$ 12,02 (23,80-50,30)	50,38 $\pm$ 12,82* (24,30-57,70)	0,006
Cinsiyet (D/E)	5(83,3)/1(16,7)	5(66,7)/1(33,3)	5(66,7)/1(33,3)	0,746

p değeri: Çoklu karşılaştırmalarda

***:** $p<0,05$ (Grup K ile karşılaştırıldığında)

Doğum sonrası 21 gün beklendikten sonra RAM testi uygulandı. İlk ve ikinci gün ölçümlerinde giriş-çıkışlar gruplar arasında benzer bulundu (Tablo 6,7). Üçüncü gün üçüncü saat ölçümlerinde kontrol grubuna göre TK grubunda giriş-çıkışlar belirgin olarak artmış olarak tespit edildi ($p=0.011$), (Tablo 8). Grup içi değerlendirmede; Gruplarda ilk ölçüm zamanı ile diğer ölçüm zamanları karşılaştırıldığında giriş-çıkışlar benzer bulundu.

Tablo 6. Grupların 1. gün RAM giriş çıkışa ait veriler [Ort $\pm$ SS, (En az-En çok)].

	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)	P
Saat 0 (giriş-çıkış)	10,50 $\pm$ 3,50 (7-17)	11,50 $\pm$ 5,47 (3-19)	9,83 $\pm$ 3,66 (4-14)	0,799
Saat 1 (giriş-çıkış)	10,83 $\pm$ 5,11 (4-18)	10,33 $\pm$ 8,23 (2-23)	8,17 $\pm$ 3,31 (3-13)	0,714
Saat 2 (giriş-çıkış)	11,83 $\pm$ 3,13 (8-15)	12,00 $\pm$ 5,21 (7-21)	10,17 $\pm$ 5,34 (5-17)	0,758
Saat 3 (giriş-çıkış)	13,33 $\pm$ 5,00 (7-21)	12,33 $\pm$ 5,39 (5-20)	9,17 $\pm$ 3,86 (2-13)	0,319

Tablo 7. Grupların 2. gün RAM giriş çıkışa ait veriler [Ort $\pm$ SS, (En az-En çok)].

	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)	P
Saat 0 (giriş-çıkış)	15,67 $\pm$ 6,57 (7-25)	13,83 $\pm$ 8,23 (3-22)	9,00 $\pm$ 3,52 (5-13)	0,210
Saat 1 (giriş-çıkış)	10,33 $\pm$ 5,75 (4-21)	15,00 $\pm$ 9,21 (3-25)	8,83 $\pm$ 4,49 (2-16)	0,289
Saat 2 (giriş-çıkış)	10,17 $\pm$ 5,77 (1-17)	19,67 $\pm$ 9,93 (8-29)	12,33 $\pm$ 5,12 (5-20)	0,093
Saat 3 (giriş-çıkış)	11,83 $\pm$ 4,75 (5-17)	17,33 $\pm$ 9,73 (3-25)	8,66 $\pm$ 6,43 (4-21)	0,147

Tablo 8. Grupların 3. gün RAM giriş çıkışa ait veriler [Ort $\pm$ SS, (En az-En çok)].

	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)	P
Saat 0 (giriş-çıkış)	16,00 $\pm$ 4,52 (9-21)	18,50 $\pm$ 9,56 (4-27)	12,17 $\pm$ 5,11 (6-17)	0,295
Saat 1 (giriş-çıkış)	10,33 $\pm$ 6,95 (2-23)	18,00 $\pm$ 8,98 (9-31)	19,17 $\pm$ 6,88 (11-30)	0,130
Saat 2 (giriş-çıkış)	12,17 $\pm$ 2,64 (9-16)	17,17 $\pm$ 6,58 (10-25)	17,50 $\pm$ 6,85 (8-26)	0,218
Saat 3 (giriş-çıkış)	11,50 $\pm$ 4,76 (6-17)	24,00 $\pm$ 10,50* (9-33)	16,33 $\pm$ 5,72 (9-23)	0,033

p değeri: Çoklu karşılaştırmalarda

***:** p<0,05 (grup K ile karşılaştırıldığında)

Doğum sonrası 21 gün beklendikten sonra RAM düzeneğinde; ilk gün ölçümlerinde 15 saniyenin altında olan giriş-çıkışlar gruplar arasında benzer bulundu (Tablo 9). İkinci gün ikinci saat ölçümlerinde; kontrol grubuna göre TK grubunda 15 saniyenin altında giriş-çıkışlar belirgin olarak artmış olarak tespit edildi [(p=0.03), Tablo 10]. Üçüncü gün üçüncü saat ölçümlerinde kontrol grubuna göre TK grubunda 15 saniyenin altında giriş-çıkışlar belirgin olarak artmış olarak tespit edildi (p=0.007), (Tablo 11).

Grup içi değerlendirmede; Gruplarda ilk ölçüm zamanı ile diğer ölçüm zamanları karşılaştırıldığında giriş-çıkışlar benzer bulundu.

Tablo 9. Grupların 1. gün RAM 15 saniye altında giriş çıkışa ait veriler [Ort $\pm$ SS, (En az-En çok)].

	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)	P
Saat 0 (giriş-çıkış)	5,50 $\pm$ 4,59 (0-13)	6,83 $\pm$ 5,74 (0-14)	4,17 $\pm$ 3,92 (0-9)	0,639
Saat 1 (giriş-çıkış)	5,50 $\pm$ 4,41 (0-13)	7,33 $\pm$ 8,43 (0-21)	2,67 $\pm$ 2,80 (0-8)	0,387
Saat 2 (giriş-çıkış)	4,00 $\pm$ 3,68 (1-11)	7,67 $\pm$ 6,50 (1-20)	5,17 $\pm$ 4,40 (1-11)	0,451
Saat 3 (giriş-çıkış)	7,17 $\pm$ 5,94 (1-17)	8,50 $\pm$ 7,49 (0-19)	5,33 $\pm$ 3,50 (0-8)	0,651

Tablo 10. Grupların 2. gün RAM 15 saniye altında giriş çıkışa ait veriler
[Ort $\pm$ SS, (En az-En çok)].

	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)	P
Saat 0 (giriş-çıkış)	12,00 $\pm$ 8,05 (3-24)	10,83 $\pm$ 10,26 (0-22)	4,67 $\pm$ 4,17 (0-11)	0,257
Saat 1 (giriş-çıkış)	4,00 $\pm$ 5,58 (0-15)	12,83 $\pm$ 10,07 (0-24)	5,17 $\pm$ 6,04 (0-15)	0,120
Saat 2 (giriş-çıkış)	5,33 $\pm$ 5,24 (0-15)	17,67 $\pm$ 10,90* (3-28)	7,17 $\pm$ 5,07 (1-16)	0,028
Saat 3 (giriş-çıkış)	6,83 $\pm$ 3,97 (3-13)	15,50 $\pm$ 11,65 (0-24)	4,17 $\pm$ 7,41 (0-19)	0,077

p değeri: Çoklu karşılaştırmalarda

***:** p<0,05 (grup K ile karşılaştırıldığında)

Tablo 11. Grupların 3. gün RAM 15 saniye altında giriş çıkışa ait veriler [Ort ± SS, (En az-En çok)].

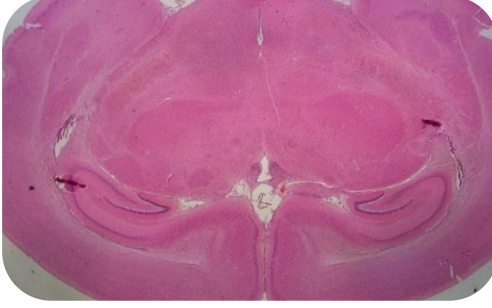
	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)	P
Saat 0 (giriş-çıkış)	10,17±5,19 (5-19)	16,67±10,78 (1-26)	7,67±4,41 (2-13)	0,126
Saat 1 (giriş-çıkış)	3,83±6,08 (0-16)	13,17±10,61 (1-27)	14,17±8,25 (4-28)	0,101
Saat 2 (giriş-çıkış)	3,33±2,66 (1-8)	13,50±10,33 (0-23)	13,17±8,13 (1-23)	0,063
Saat 3 (giriş-çıkış)	3,67±2,94 (0-7)	20,67±13,35* (1-32)	11,50±8,96 (1-22)	0,023

p değeri: Çoklu karşılaştırmalarda

***:** p<0,05 (grup K ile karşılaştırıldığında)

Işık mikroskopik değerlendirmede özellikle talamus, bazal ganglionlar ve hipokampüste cornu ammoniste nöron kaybı, nöron zedelenme bulguları, gliozis, iskemi bulgusu görülmemiştir. Nöron zedelenme bulguları olarak; sitoplazmik şişme, vakuolizasyon, kromatolizis ve yapısal bozukluk (displastik görünüm) saptanmamıştır. TUNEL yöntemi ile pozitif hücre indeksi 10 büyük büyütmede apoptotik hücreye rastlanmamıştır.

Şekil 4. Tek gün tekrarlayan ketamin grubunun histopatolojik görünüşleri



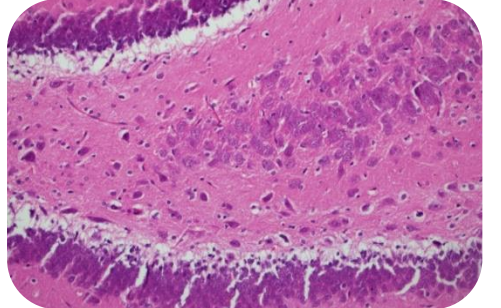
12.5x H&E tüm beyin alanları



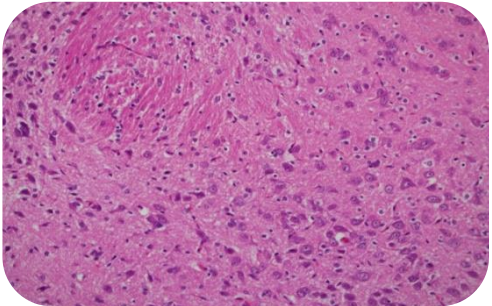
40x H&E hipokampus



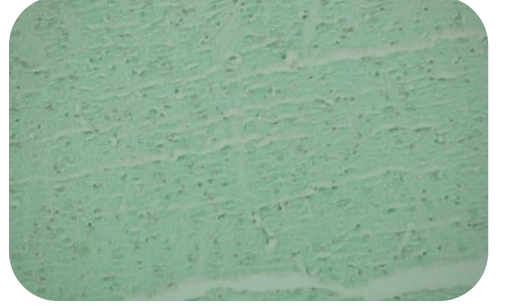
40x H&E bazal ganglionlar



200x H&E hipokampus



200x H&E bazal ganglionlar



200x TUNEL yöntemi

Şekil 5. Çok gün tekrarlayan ketamin grubunun histopatolojik görünümüleri



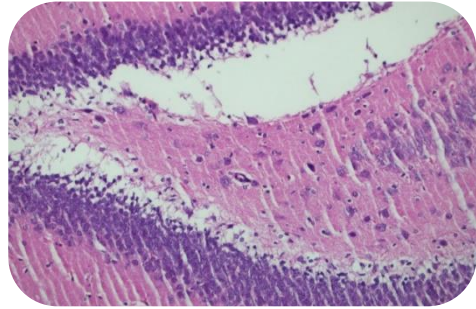
12.5x H&E tüm beyin alanları



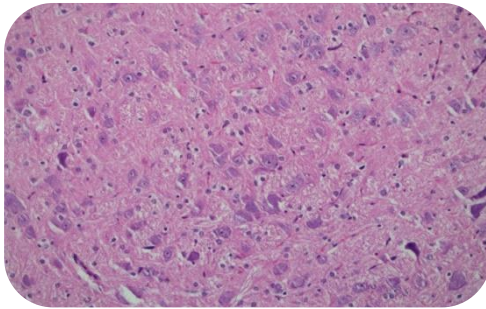
40x H&E hipokampus



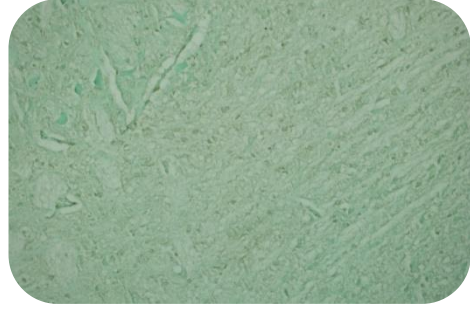
40x H&E bazal ganglionlar



200x H&E hipokampus

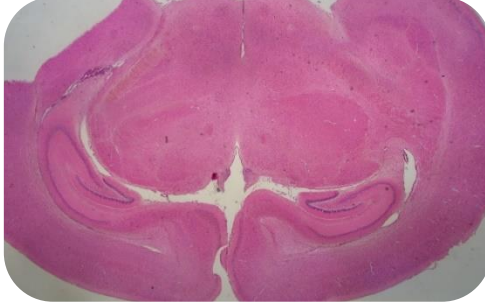


200x H&E bazal ganglionlar



200x TUNEL yöntemi

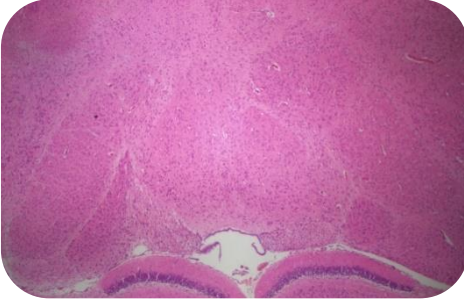
Şekil 6. Kontrol grubunun histopatolojik görünümüleri



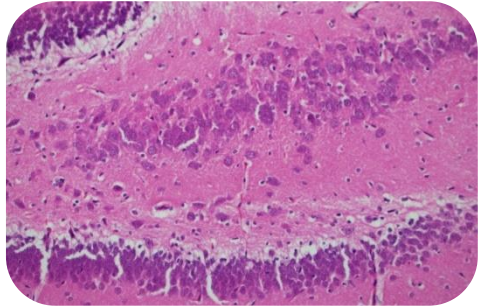
12.5x H&E tüm beyin alanları



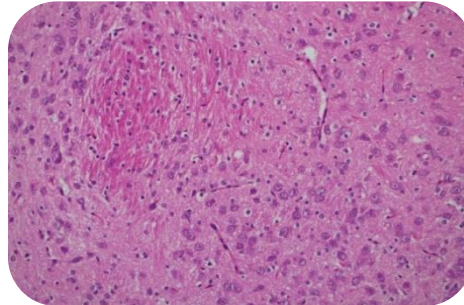
40x H&E hipokampus



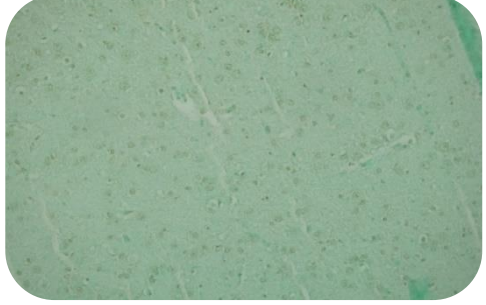
40x H&E bazal ganglionlar



200x H&E hipokampus



200x H&E bazal ganglionlar



200x TUNEL yöntemi

Beyin dokusunun histopatolojik özellikleri incelendiğinde gruplar birbirine benzer bulundu (Tablo 12).

Tablo 12. Ratların beyin dokusuna ait histopatolojik veriler

	Grup K (n=6)	Grup TK (n=6)	Grup ÇK (n=6)
Nöron kaybı	Yok	Yok	Yok
Nöron zedelenme bulgusu	Yok	Yok	Yok
Gliozis	Yok	Yok	Yok
İskemi bulgusu	Yok	Yok	Yok
TUNEL pozitif hücre	0	0	0

5. TARTIŞMA

Gebe ratlarda tekrarlayan ketamin anestezisinin fetüs SSS üzerine etkilerini araştırdığımız bu deneysel çalışmada; tek gün tekrarlayan ketamin anestezisi verilen rat grubunun yavrularında RAM düzeneğinde hareketlilik artışı olduğunu gözlemledik.

Günümüzde tıp ve teknolojide yaşanan gelişmelere paralel olarak daha küçük yaştaki çocuklarda daha karmaşık operasyonlar yapılabilmektedir. Bu nedenle preterm ve yenidoğanlara hatta anne karnında operasyon geçiren bebeklere anestezi uygulanmaktadır. Öte yandan annenin gebelik döneminde tetkik veya tedavi amaçlı girişimler nedeniyle anesteziye maruziyeti de artmaktadır. Bebeklerin anne karnında beyin gelişiminin hassas olduğu dönemde anesteziye veya tekrarlayan anestezi uygulamalarına maruz kalması kaçınılmaz olmaktadır.

Genel anestezi, dışarıdan uygulanan farmakolojik ajanlarla vital fonksiyonlar korunurken geçici bilinç kaybı, refleks aktivitede azalma ve değişen derecelerde kas gevşemesi ile karakterize ve geri dönüşlü bir durumdur. Genel anestezi ajanların çok sayıda moleküler yapı ile etkileşimi sonucu potansiyel zararlı etkileri olabileceği kabul edilmiş ve yapılan laboratuvar çalışmaları ile genel anestezinin nörotoksik etkisi ortaya konulmuştur. Günlük anestezi uygulamalarında kullanılan volatil anestezi ajanları, ketamin, barbitüratlar, benzodiazepinler ve propofol gibi genel anestezi ajanlarının, tek başına veya

kombine kullanımlarının çeşitli memeli türlerinde gelişmekte olan nöronlarda nöroapoptotik dejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir (61-70).

Ratlar insan doku ve sistemlerine metabolik benzerlikleri, küçük olmaları, göreceli olarak uysal olmaları, ömürlerinin ve gebelik sürelerinin kısa olması nedeniyle deneysel araştırmalarda tercih edilirler. Pek çok fizyolojik benzerlikler ve anatomik karakteristiklerden dolayı ratlar toksikolojik çalışmalarda seçilmekle birlikte, bu hayvanlarla yapılan çalışmalarda farklılıkların olabileceği de bilinmelidir. Ratlarda plesanta dikkati çekecek kadar çok gözeneklidir. Bu farklılık fetüsün verilen test materyallerine veya fetüsün karşı karşıya kaldığı test materyalinin daha fazla olmasına neden olur. Laboratuvar hayvanlarında kas içi enjeksiyonlar *quadriceps*, *biceps femoris* ve *triceps* kaslarına yapılır. *Biceps femoris* kası laboratuvar hayvanlarında en az rahatsızlığa yol açan uygulamadır (58,71). Bu çalışmada ketamin uygulaması gebe ratlara biceps femoris kasından yapılmıştır.

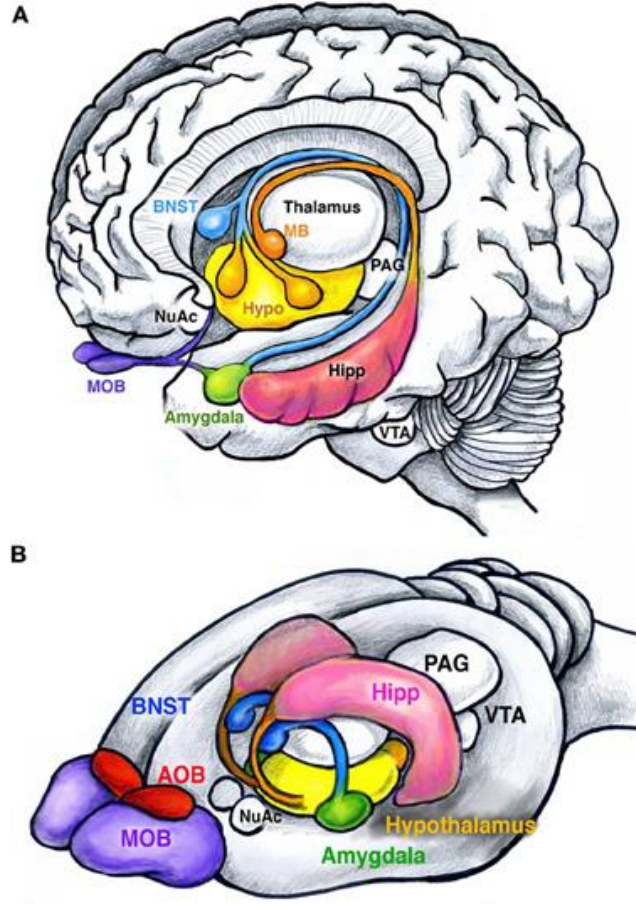
Ratlarda gebeliğin tanı yöntemlerinden biri abdominal palpasyondur. Ratlarda gebelik abdominal palpasyonla gebeliğin 10. gününden itibaren saptanabilir (58). Gebelik kopulasyondan doğuma kadar ortalama 21-23 gün sürmektedir (60). Sinaptogenezis embriyonik dönemin 13-19. günlerinde gerçekleşmektedir (59). Sütten kesilme 21 günlükken başlar ve yavru ratlar katı gıda tüketip, su içebilecek hale gelirler (72). Bu çalışmada ratlar gebe bırakıldıktan sonra gebeliklerinin teşhisi 10-12. günlerde GÜDAM veteriner hekimleri tarafından abdominal palpasyonla yapılmıştır. Gebe olduğu teşhis

edilen 6 anne rat randomize olarak 3 gruba ayrılmıştır. Tek gün tekrarlayan ve çok gün tekrarlayan ketamin uygulaması gebeliklerinin 13. gününden başlayarak uygulanmıştır. Her gebe rat ayrı kafeslerde bakılmıştır. Yavru rat sayımı anne ratları etkilememek için doğumdan 10 gün sonra yapılmıştır. Yavru ratların 21 günlük sütten kesilme süreleri beklenip katı gıdaya geçmeleri beklenilmiştir. Katı gıda yemeye başlayan ratlara RAM testi yapılmıştır.

Ratların ve insanların embriyonik gelişimi arasındaki en önemli fark gebelik süresidir. Bu süre ratlarda 21–22 gün, insanlarda ise yaklaşık 267 gündür. Fertilizasyon ve blastula safhası benzerlik gösterir (73). Ratlarda intrauterin hayatın 8-14. günleri organogenez dönemi olarak bildirilmiştir (74). Ratlarda somit oluşumu 9. günün sonunda ve 10. günde başlar ve her gün yeni somitlerin ilave olmasıyla artarak 16. günde tamamlanır. Rat embriyosunun 12,5 günlük iken bütün organlarının belirgin olduğu belirtilmiştir (75). Ratlarda da insanlarda olduğu gibi beyin; ön beyin (prosencefalon-forebrain), orta beyin (mesencefalon-midbrain) ve arka beyin (rhombensefalon-hindbrain) oluşturacak şekilde bölümlere ayrılır. Beyin ventrikülleri insandakine benzer özelliktedir. İnsanlarda olduğu gibi 12 çift kranial sinirleri vardır (76). Ratlarda sinaptogenezis postnatal 7-30 günler arasında devam etmektedir (61,77).

Fetal sinir sistemi nöral plaktan gelişir. Notokord ve paraksiyal mezoderm, nöral plağa farklılaşmak üzere üzerindeki ektodermi uyarır. Nöral plaktan nöral katlantılar, nöral tüp ve nöral krista oluşur. Nöral tüp merkezi sinir sistemine farklılaşır. Nöral krista ise periferik sinir sistemi ve otonom sinir sisteminin büyük

kısmını yapan hücreleri oluşturur. Nöral plak ve nöral tüp oluşumu olarak bilinen nörulasyon süreci 4. haftanın başında (22–23. günler) başlar. Nöral kanal; beynin ventriküler sistemi ve medulla spinalisin kanalis sentralisini yapar (78). Beyin, 4. somit çiftinin kranialindeki nöral tüpten gelişir. Nöral katlantıların tamamen birleşmesinden önce; gelişen nöral tüpün rostral ucunda üç farklı kesecik görülür. Rostralden kaudale, 3 primer beyin keseciği ön beyin (prosensefalon-forebrain), orta beyin (mesensefalon-midbrain) ve arka beyin (rhombensefalon-hindbrain)'dir. 4. haftanın başlamasıyla ön beyin telensefalon ve diensefalon olmak üzere; iki sekonder beyin kesecikleri veziküllerine ayrılır. Arka beyin de 5. haftada metensefalon ve miyelensefalona ayrılır (79-81). İnsan beyinde; primer sensori motor korteks doğuma yakın, temporal korteks 9. aya kadar ve prefrontal kortekte 3 yaşa kadar sinaptogenezis devam etmektedir (82).



Şekil 7. İnsan ve rat beyin yapılarını gösteren şematik çizimi (83).

Genel anestezinin kognitif fonksiyonlardan biri olan hafızayı etkilemesinin ilk kez bildirilmesinden bu yana 200 yıldan fazla zaman geçmiştir (84). Ancak günümüzde de anestezi ile kognitif fonksiyonlar arası ilişki yoğun araştırmalara konu olmaktadır. Yapılan çalışmalarda kullanılan yöntem ve farklı yaş gruplarına göre değişen sıklık, süre ve şiddette postoperatif kognitif fonksiyon bozuklukları bildirilmektedir (85-95). Genel anestezi altında yapılan cerrahi bir girişim sonrası kognitif fonksiyonların değerlendirilmesindeki amaç; genel anestezik ajanların artık etkilerini belirleyerek derlenme düzeyini saptamak ya da anestezi ve cerrahi girişimin neden olduğu kognitif fonksiyonlardaki bozulmayı araştırmaktır (92).

Postoperatif kognitif bozukluklar konsantrasyon güçlüğünden, deliryuma kadar uzanan geniş bir klinik yelpazededir (96-98). Ratlarda kognitif fonksiyonlar davranışsal yöntemlerle değerlendirilebilir. Ratlarda bellek bozukluğunu sınamak amacıyla en sık kullanılan yöntemler sekiz kollu labirent (RAM) ve Morris Su Tankı uygulamalarıdır (41,42). Radial Arm Maze Testi ratlarda hafıza fonksiyonunun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (48). Uzak ve yakın bellek bu yöntemle sınanabilir (49). Bu çalışmada yavru ratların kognitif fonksiyonlarının henüz anne karnında iken uygulanan ketamin anestezisinden etkilenip etkilenmediği RAM testi ile değerlendirilmiştir.

Kognitif fonksiyonların ortaya çıkmasında bazı beyin alanlarının öncelikli olduğu laboratuvar çalışmaları ile ortaya konulmuştur. Hipokampus, spasyal öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında önemli bir role sahip olan beyin alanıdır (99). Bu çalışmada yavru ratların RAM testinin değerlendirilmesinden sonra ötenazi uygulanarak beyin dokuları alınmıştır. %10'luk formalin içine konulan beyin dokuları GÜTF Patoloji Anabilim Dalına teslim edilmiştir. Patolojide; kontrol, tek gün tekrarlayan ketamin ve çok gün tekrarlayan ketamin gruplarını ayıracak şekilde kodlanmış 6'şar denekten oluşan beyin eksizyon örnekleri %10'luk formalinde 24 saat fikse edildikten sonra koronal düzlemde, talamus ve hipokampusu içerecek şekilde her birinden iki adet doku örneği alınmıştır. Rutin takip sonrası 4 mikrometre kalınlığındaki kesitler H&E ve TUNEL yöntemleri ile boyanmıştır. Işık mikroskopik değerlendirmede özellikle talamus, bazal ganglionlar ve hipokampusta cornu ammoniste nöron kaybı, nöron zedelenme bulguları, gliozis, iskemi bulgusu yönünden değerlendirilmiştir. Nöron zedelenme

bulguları olarak; sitoplazmik şişme, vakuolizasyon, kromatolizis ve yapısal bozukluk (displastik görünüm) değerlendirilmiştir. TUNEL yöntemi ile pozitif hücre indeksi 10 büyük büyütmede apoptotik hücre sayılmıştır.

Jevtovic-Todorovic ve arkadaşlarının 7 günlük ratlarda yaptığı çalışmada; bir grup rata 6 saat izofluran, N₂O veya midazolam kontrol grubuna da 6 saat aynı ortam koşullarında hava verilmiş. Anestezi alan grup randomize 3 gruba ayrılmış; sırasıyla postmortem histopatolojik değerlendirme, 160 günlük periyotta RAM, Morris Water Maze ve Morris Maze testleri ile spasyal bellek kapasitelerinde değerlendirme ve üçüncü gruba da hipokampüsde uzun dönem potansiyalizasyon değerlendirmesi yapılmıştır. Anestezi alan gruplardan RAM grubunda öğrenmeyi gösteren kriterlere ulaşma süreleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna göre daha yavaş olduğu bulunmuş (61). Bu araştırmada seçilen anestezi ajanları izofluran, N₂O veya midazolam iken çalışmamızda ketamin kullanılmıştır.

Young ve ark. bir grup fareye ketamin, bir gruba midazolam ve bir gruba da ketamin ve midazolamı birlikte vererek 7 günlük farelerde yaptığı çalışma sonucunda; kaudat nukleus ve serebral kortekste oluşan nöroapoptozisin anestezik ajanlar birlikte kullanıldığında daha fazla olduğunu bildirmişlerdir (63). Çalışmamızda tek ajan olarak ketamin kullanmakla birlikte tek uygulama veya tekrarlayan uygulama olmak üzere kontrol grubu dışında iki grup oluşturulmuştur.

Zhao ve ark. gebe ratlarda yaptıkları çalışmada; gebeliklerinin 14. gününde bir gruba (n=6) ketamin anestezisi (40 mg.kg⁻¹ bolus im enjeksiyon sonrası 40-60 mg/kg/h iv infüzyon 2 saat) uygulamışlar ve bir grup (n=6) kontrol grubu olarak çalışılmış. 6 gebe ratın 3 tanesi gebeliklerinin 22. gününde sezaryenle yavru ratlar

alınıp nöroenezis çalışması için kullanılmış ve diğer 3 anne ratın normal doğumu beklenilmiş. Her gruptan 2 yavru ratın doğum sonrası 6. saatte histolojik olarak beyin dokusu incelenmiş, geri kalan yavru ratlara takip eden günlerde çeşitli davranış değerlendirme testleri uygulanmış. Çalışma sonucunda rat yavrularında hafıza kaybı, depresyon benzeri, anksiyete benzeri davranışsal bozukluklar ve düşük kilolu doğum izlenilmiş (100). Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak, farklı günlerde tekrarlayan ketamin uyguladığımız gebe rat grubunun yavru ratlarının vücut ağırlıkları kontrol grubundaki yavru ratlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kronik stresin yavru ratlarda düşük doğum ağırlığına neden olduğu bilinmektedir. Araştırmamızda ketamine maruz kalan ratların vücut ağırlığının neden yüksek olduğunu açıklayamıyoruz. Bu konuyla ilgili detaylı araştırmalar yapılması gerektiği kanısındayız.

Palanisamy ve ark. gebe ratlarla yaptıkları benzer çalışmada gebeliklerinin 14. gününde 4 saat % 4 izofluran ve %100 oksijen verilmiş. Daha sonra yavru ratların (n=26; 12 izofluran, 14 kontrol) spontan lokomotor aktiviteleri izlenmiş. Yavruların dolaşma mesafesi, ortalama hızı, dolaşma frekansı, girdikleri kol sayısı ve hareketsiz durma süreleri arasında anlamlı fark izlenmemiş. Ayrıca yavruların fiziksel özellikleri (kilo, boy gibi) açısından her iki grup arasında fark izlenmemiş (101). Bizim çalışmamızda ise tek gün tekrarlayan ketamin grubunun yavru ratlarında kontrol grubuna göre sekiz kollu RAM düzeneğinin kollarına giriş çıkış sayıları 3. gün 3.saatte belirgin olarak artmış bulunmuştur. Ayrıca RAM testinde 15 saniyenin altında kollara giriş çıkışa bakıldığında 2. gün 2.saat ve 3.gün

3.saatte tek gün tekrarlayan ketamin grubunda kontrol grubuna göre belirgin artış görülmüştür.

Anestezik ajanlarla yapılan diğer çalışmalarda anestezik madde genellikle gestasyonel dönemin 14. gününde (G14) verilmektedir. Verilen anestezik ajanların GABA ve NMDA reseptörleri üzerine etkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda G14 de anne karnındaki ratların beyinde bu dönemde GABA reseptörlerinin fonksiyonel olduğu ancak NMDA reseptörlerin non-fonksiyonel olduğu görülmüştür ve bu önemli bir durumdur (102-104). Bu nedenle bu dönemde verilen anestezik maddenin NMDA reseptörleri üzerine baskılayıcı etkisi yok sayılıp, GABA reseptörleri üzerine situmulan etkisi olduğu düşünülmektedir. GABA reseptörlerin beyin gelişimi üzerine etkisinin baskılayıcı olduğu bilinmektedir. Öte yandan gestasyonel dönemde GABA'nın beyinde trofik etkisi olduğu; hücre proliferasyonda, progenitor hücre sayısında, hücre farklılaşmasında ve hücre migrasyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir (105,106). Bizim çalışmamızda kullandığımız anestezik ajan ketamin; bir NMDA reseptör antagonistidir. Çalışmamızda ketamin gebe ratlara 13-19. günlerde uygulandı ve bu dönemde NMDA reseptörlerinin non-fonksiyonel olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bizim çalışmamızda, benzer çalışmalarda olan ketaminin beyin üzerine baskılayıcı etkisinin NMDA reseptör üzerinden değil, total nöron kaybına bağlı olduğu fikrini desteklemektedir.

Zheng ve ark. gebe farelerde yaptığı çalışmada gebeliklerinin 14. gününde % 2.5 sevofluran ve %100 oksijen 2 saat boyunca uygulanmış. Yavru farelere postnatal 31-37. günlerde Morris Water Maze Testi uygulanmış. Yavrular

arasında; yavruların platformda geçiş zamanı ve yüzme zamanı arasında fark saptanmazken öğrenme ve hafıza açısından sevofluran grubunda kayıp olduğu izlenmiştir. Aynı çalışmada sevofluran anestezisi alan yavru ratlarda proinflatuar sitokin olan interlökin (IL)-6 ve apoptotik süreçte etkili olan Caspase-3 aktivasyonunda artış, postsinaptik marker olan PSD-95 ve sinaptofizinde azalma izlenmiştir (107). Zheng ve ark yaptığı bu çalışmada anestezik ajanların nöron gelişimi ve buna bağlı öğrenme güçlüğü ortaya çıkması proinflatuar sitokin artışına bağlanmıştır. Bilindiği gibi IL-6, proinflatuar sitokin artışına neden olmakta ve proinflatuar sitokin deşarşı da çeşitli kademelerde apoptozise doğru olan yolu hızlandırmaktadır (108-110). Bu süreç akla anestezi esnasında verilebilen SSS'ye etki eden antiinflatuar ajanların bu nöron dejenerasyonu sürecinde yavaşlama ve duraklama açısından yararlı olabileceği hipotezini getirmektedir (107). Ancak antiinflatuar ajanların etkinliğiyle ilgili yapılmış çalışmalar bulunmamaktadır. Çocuklarda çevresel uyaranların artırılmasının da tüm nöron gelişimi basamaklarında etkili rolü bulunmaktadır. Antiinflatuar ilaçların kullanılması, yine benzer düşünce ile çevresel uyaranların zenginleştirilmesi de anestezik ilaçların nörotoksitesini geri döndürülebileceği düşünülmektedir (111-114).

Slikker ve ark. yaptıkları diğer bir çalışmada ketamin de dahil olmak üzere bütün genel anesteziklerin plesantayı geçtiği ve bunların sinaptogenezis esnasında apoptozise yol açtığını göstermiştir (65). Ketaminin hayvan modellerinde beyin gelişimi döneminde tekrarlayan dozlarda verilmesi sonucunda nörodejenerasyona neden olduğu görülmüştür (115,116). Postpartum ilk haftada 24 saat ketamin

anestezisi uygulanan maymunlarda kalıcı kognitif bozukluklar görülmüştür (117). Postpartum 5. günde 8 saat süreyle izofluran ve N₂O anestezisi verilen maymunların beyin dokuları incelendiğinde neokortikal alanlarda, frontal korteks, temporal girus ve hipokampuslerinde nöroapoptozis bulguları görülmüştür (118).

Subiculum hipokampal-kortikal ve hipokampal-subkortikal bağlantılarında önemli pozisyonda yer alan hipokampal formasyonun bir parçasıdır. Daha önce yapılan çalışmalarda genel anesteziğin özellikle subiculum gelişimde rol oynayan genç nöronlarda ve sinaptogenezis aşamasında çeşitli hasarlara yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca bunlara ek olarak nöropil hasarı, mitokondri dejenerasyonu ve sinapslarda volumetrik gelişimde duraklamaya neden olduğu izlenmiştir (119). Özellikle Morris ve Galaninin yaptığı çalışmalarda; subicular bölgede oluşan hasarların uzun dönem öğrenme güçlüğü ve hafıza kaybına yol açtığı ortaya konulmuştur (120,121).

Patolojik bulgular ve kognitif fonksiyonlar arasında ilişki olduğu düşünülmese de rağmen Loepke ve ark. izofluran ile yaptığı çalışmada; erken dönemde apoptotik nörodejenerasyon izlendiğini, ancak nöron kaybına ve nörokognitif fonksiyon kaybına neden olmadığını bildirmiştir (62). En hızlı masif nöron harabiyeti yapan nedenler hipoksi ve iskemidir. Indeed ve ark. ise yaptıkları çalışmada hipoksiye maruz kalan ratlarda hipoksi sonrası 4. günde hızlı yenilenme ile nöropillerin normal görünümde olduğunu gözlemiştir (122). Benzer şekilde kafa travmasına maruz bırakılan ratlarda travma sonrası 5. günde ölü hücrelerin ortadan kalktığı ve normal görünümde dokular izlendiği kaydedilmiştir (123). Bunun tersini savunan benzer metodolojideki çalışmalarda etken sonrası 14.

günde hastalıklı nöropillerin izlendiği kaydedilmiştir (124,125). Çalışmamızda ise gruplar arasında nöron kaybı, nöron zedelenme bulgusu, gliosis, iskemi bulgusu ve TUNEL pozitif hücre açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir.

Anestezik kullanımı ve beyin gelişimi açısından insanlar üzerinde yapılan çalışmalar da vardır. Rocehster Minesota'da 1976 ve 1982 yılları arasında doğan 8548 çocuk incelenmiş, bunlardan 2 yaşından önce anestezi alan 350 çocuk ile, rastgele seçilmiş 700 çocuk kontrol grubu olarak karşılaştırılmıştır. Genel karşılaştırmada LDs testi (okuma, yazı dili, matematik) açısından fark bulunmazken, spesifik seçilmiş grup olan birden fazla anestezi uygulamasına maruz kalan çocuklar ile kontrol grubu olan çocuklar arasında matematik puanı açısından anlamlı fark izlenmiştir (126). Yine Dimaggio ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fitik nedeni ameliyat olan çocuklar ile anestezi almamış çocukları karşılaştırmış ve anestezi alan çocuklarda davranışsal bozukluklarda artış izlenmiştir (127). Tüm bunların aksine Bartels ve arkadaşlarının anestezik ajanlara maruz kalan ve kalmayan tek yumurta ikizleri üzerine yaptığı çalışmada yapılan mental testlerde anlamlı fark bulunmamıştır (128). Pilot bir çalışma olan Kalkman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da 2 yaşından önce anestezik maddeye maruz kalan çocuklarda davranışsal olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (129).

Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu Amerika ve Avrupa ülkelerinde doğan çocukların yaklaşık %5 inde görülen ve çeşitli etkenler nedeni ile giderek artan oranda görülen hastalıklardır (130). Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu tedavisinde kullanılan amfetamin ve metilamfetamin benzeri ilaçlar postsinaptik bölgede bulunan dopamin reseptör duyarlılığını

arttırarak fonksiyon sağlarlar (131). Yapılan çalışmalarda gelişmekte olan beyin üzerinde glutamat reseptörü antagonize eden etkenler, hiperaktivite ve dikkat eksikliğine neden olmaktadır (132). Frederiksson ve Archer'ın yaptığı çalışmada doğum sonrası 10. günde 50 mg.kg⁻¹ subkutan ketamin enjeksiyonu yapılmış, yavrular 4 haftalık olduktan sonra bazal motor aktivitelerine bakılmış. Çalışmada ketaminin SSS'de NMDA reseptör blokajı ile farelerde ilerleyen dönemde hiperaktivite ve dikkat eksikliği görüldüğü izlenmiştir. Yine aynı çalışmanın devamında fareleri düşük doz (0.25 mg.kg⁻¹) D-amfetamin verilmiş, ve ketamine bağlı olan bu yan etkilerin ortadan kalktığı izlenmiştir (133). Bizim alışmamızda da ketamin uygulaması yapılan gebe ratların yavrularında histopatolojik olarak bir değişiklik saptanmamakla birlikte aktivite artışı şeklinde davranış değişikliği gözlemlenmiştir.

6. SONUÇ

Bu deneysel çalışmanın sonucunda; intrauterin 13-19. Günlerde ketamin anestezisine maruz kalan ratlarda doğum sonrası 21 gün beklendikten sonra RAM testi ilk gün ölçümlerinde 15 saniyenin altında olan giriş-çıkışlar gruplar arasında kontrol grubuna benzer iken, ikinci gün ikinci saat ve üçüncü gün üçüncü saat ölçümlerinde tekrarlayan ketamin grubunda giriş-çıkışlar belirgin olarak artmış olarak tespit edildi. Sonuç olarak; gebe ratlara tekrarlayan ketamin anestezisi uygulamasının yavru rat beyin dokusunda histopatolojik olarak fark gözlenmese de RAM testinde aktivite artışına neden olduğu gözlemlendi. Bu nedenle gebelere uygulanan tekrarlayan ketamin anestezisinin yavrularda hiperaktivite yaratabileceği kanısındayız. Bu konuda geniş serilerde gözlemsel çalışmalar yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ. *Lange Klinik Anesteziyoloji* 5. baskı, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara 2015.
2. Kayhan Z. *Klinik Anestezi*. Logos Yayınevi, 1997;1-12.
3. Li JH, Vicknasingam B, Cheung YW, Zhou W. *Subst Abuse Rehabil* 2011.
4. Miller RD. *Miller's Anesthesia*. Reves JG, Peter SA. Glass, David A. Lubarsky, Matthew D. McEvoy, Martinez-Ruiz R, editors. USA 2009.
5. Reeker W, Werner C, Möllenberg O, Mielke L, Kochs E. High dose S(+)-ketamine improves neurological outcome following incomplete cerebral ischemia in rats. *Can J Anaesth* 2000;47: 572-578.
6. Engelhard K, Werner C, Eberspacher E, Bachl M, Blobner M. The effect of the alpha 2-agonist dexmedetomidine and N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Anesth Analg* 2003;96: 524-531.
7. Soliman MG, Brinale GF, Kuster G. Response to hypercapni under ketamine anaesthesia. *Can Anaesth Soc J* 1975;22: 486-494.
8. Corssen G, Gutierrez J, Reves JG, Huber FC Jr. Ketamine in the anesthetic management of asthmatic patients. *Anesth Analg* 1972;51: 588-596.
9. Cai Bowen, Sarah Spiegel, Edward P. Radiation-induced apoptosis mediated by retinoblastome protein. *Cancer Research* 1998; 58: 3275-3281.
10. Rastogi RP, Sinha R.P, Sinha R. Apoptosis: molecular mechanisms and pathogenicity. *EXCLI Journal* 2009; 8:155-181.

11. Higami Y, Shimokawa I. Apoptosis in the aging process. *Cell Tissue Res* 2000; 301:125- 32.
12. Hunot S, Flavell RA. Apoptosis Death of a monopoly. *Science* 2001;4,292(5518):865-6.
13. Kidd VJ, Lahti JM, Teitz T. Proteolytic regulation of apoptosis. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11(3):191-201.
14. Teitz T, Wei T, Valentine MB, Vanin EF. Caspase 8 is deleted or silenced preferentially in childhood neuroblastomas with amplification of MYCN. *Nat Med*. 2000; 6(5):529-35.
15. Fulda S, Debatin KM. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene* 2006; 25: 4798–811.
16. Güleş Ö, Eren Ü. Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi* 2008; 2: 73-78.
17. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson S. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol* 1992; 119: 493-501.
18. Kressel M, Groscurth P. Distinction of apoptotic and necrotic cell death by in situ labelling of fragmented DNA. *Cell Tissue Res* 1994; 278: 549–56.
19. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: An overview of cell death. *Am. J. Pathol* 1995; 146: 3-15.
20. Aral H. Apoptotik hücrelerin tanınma yöntemleri. *Sendrom*. 1996; 38-42.
21. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol* 2007; 35(4): 495–516.

22. Özdemir H.H, Demir C.F. Deneyisel serebral iskemi-reperfüzyon oluşturulmuş ratlarda memantinin koruyucu etkilerinin incelenmesi. *TJN* 2013; 19: 3.
23. Deren S, Ün C, Temur İ, Örnek D, Şen İ, Yılmaz A. Postoperatif erken dönemdeki deliryuma yaklaşım. *Türk Anest Rean Der Dergisi* 2010; 38: 388-94.
24. Beal MF. Does impairment of energy metabolism result in excitotoxic neuronal death in neurodegenerative illnesses. *Ann Neurol*. 1992; 31: 119-30.
25. Choi DW. Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. *TINS* 1988; 11: 465-9.
26. Nishizawa Y. Glutamate release and neuronal damage in ischemia. *Life Sci* 2001; 69: 369-81.
27. Işık B, Pamukçu Z, Alagöl A. Sevofluran ve izofluran anestezisinin postoperatif erken dönemde kognitif fonksiyonlara etkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2007; 14: 149–55.
28. Hanning C. Postoperative cognitive dysfunction. *Br J Anaesth* 2005; 95: 82–7.
29. Türkcan A. Deliryum. *Psikiyatri Dünyası* 2001; 5: 15–23.
30. Silverstein JH, Timberger M, Reich DL, Uysal S. Central nervous system dysfunction after noncardiac surgery and anesthesia in the elderly. *Anesthesiology* 2007; 106: 622–8.

31. Ward B, Imarengiaye C, Peirovy J, Chung F. Cognitive function is minimally impaired after ambulatory surgery. *Can J Anesth* 2005; 52: 1017–21.
32. Selwood A, Orrell M. Long term cognitive dysfunction in older people after non-cardiac surgery. *BMJ* 2004; 328: 120–1.
33. Wu CL, Hsu W, Richman JM, Raja SN. Postoperative cognitive function as an outcome of regional anesthesia and analgesia. *Reg Anesth Pain Med* 2004; 29: 257–68.
34. Selnes OA, McKhann GM. Cognitive changes after coronary artery bypass surgery. *Current Opinion in Pscychiatry* 2002; 15: 285–90.
35. Dodds C, Allison J. Postoperatif cognitive deficit in the elderly surgical patients. *Br J Anaesth* 1998; 81: 449–62.
36. Işık B. Anestezinin kognitif fonksiyonlarla ilişkisi. *T Klin J Anest Reanim* 2004; 2: 94–102.
37. Rasmussen LS, O'Brien JT, Silverstein JH, Johnson TW. Is peri-operative cortisol secretion related to post-operative cognitive dysfunction? *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 1225–31.
38. Tüzüner Filiz, Alkış Neslihan, Aşık İbrahim, Yılmaz Ali Abbas. Anestezi Yoğun Bakım Ağrı. *MN Medikal & Nobel* 2010; 1087-120.
39. Deiner S, Silverstein J. H. Postoperative delirium and cognitive dysfunction. *Br J Anaesth* 2009; 103: 41–6.

40. Breslin DS, Reid JE, Mirakhur RK, Hayes AH, Mc Brien ME. Sevoflurane-Nitrous Oxide Anaesthesia Supplemented With Remifentanyl: Effect On Recovery And Cognitive Function. *Anaesthesia* 2001; 56: 114-9.
41. Poucet B, Benhamou S. The neuropsychology of spatial cognition in the rat. *Crit Rev Neurobiol* 1997; 11: 101-20.
42. Block F. Global ischemia and behavioral deficits. *Prog Neurobiol*.1999; 58: 279-95.
43. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Rev* 2001; 36: 60-90.
44. Schimanski LA, Nguyen PV. Multidisciplinary approaches for investigating the mechanisms of hippocampus-dependent memory: a focus on inbred Mouse strains. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28: 463-83.
45. Belotti M, Galey D. Consequences of selective blockade of septal noradrenergic afferents on anxiety and spatial working memory performance in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53: 541-7
46. Sara SJ, Przybylski J, Roulet P. Consolidation of memory for odor-reward association: beta-adrenergic receptor involvement in the late phase. *Learn Mem* 1999; 6: 88-96.
47. Przybylski J, Sara SJ. Reconsolidation of memory after its reactivation. *Behav Brain Res* 1997 Mar; 84: 241-6

48. Levin ED. *Learning about cognition risk with the radial-arm maze in the developmental neurotoxicology battery. Neurotoxicol Teratol* 2015; 52: 88-92.
49. Mahmmoud RR, Sase S, Aher YD, Sase A. *Spatial and Working Memory Is Linked to Spine Density and Mushroom Spines. PLOS One* 2015; 10.
50. Amano M, Hasegawa M, Hasegawa T, Nobeshima T. *Characteristics of transient cerebral ischemia-induced deficits on various learning and memory tasks in male morgolian gerbils. J.Pharmacol* 1993; 63: 469-77.
51. Bustos G, Basoalto E, Hamuy TP. *Spatial memory in Long Evans and Rattus Norvegicus rats. Biol Res* 2003; 36: 193-9.
52. Lavenex P, Schenk F. *Influence of local enviromental olfactory cues on place learning in rats. Phsiol Behav* 1995; 58: 1059-66.
53. Davis S, Rodger J, Hicks A, Mallet J, Laroche S. *Brain structure and task-specific increase in expression of the gene encoding syntaxin 1B during learning in the rat: a potential molecular marker for learning-induced synaptic plasticity in neural networks. Eur J Neurosci* 1996; 8: 2068-74.
54. Nogues X, Micheau J, Jaffard R. *Protein kinase C activity in the hippocampus following spatial learning tasks in mice. Hippocampus* 1994; 4: 71-7.
55. Dubreuil D, Jay T, Edeline JM. *Does head-only exposure to GSM-900 electromagnetic fields affect the performance of rats in spatial learning tasks ?. Behav Brain Res* 2002; 129: 203-10.

56. Lai H, Horita A, Guy AW. Microwave irradiation affects radial-arm maze performance in the rat. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 95-104.
57. Sienkiewicz ZJ, Blackwell RP, Haylock RG, Saunders RD, Cobb BL. Low-level exposure to pulsed 900 MHz microwave radiation does not cause deficits in the performance of a spatial learning task in mice. *Bioelectromagnetics* 2000; 21: 151-8.
58. Baker DEJ. Reproduction and breeding. In Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH editors. *The Laboratory Rat*, volume 1, New York: Academic press, 1979; 153-168.
59. Lopez-Bendito G, Molnar Z. Thalamocortical development: how are we going to get there? *Nat Rev Neurosci* 2003; 4: 276-289.
60. Bennett JP, Vickery BH. Rats and Mice. In: Hafez ESE, editor. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*, Philadelphia, Lea and Febiger, 1970; 299-315.
61. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci* 2003; 23: 876 – 882.
62. Loepke AW, Istaphanous GK, McAuliffe JJ 3rd, et al. The effects of neonatal isoflurane exposure in mice on brain cell viability, adult behavior, learning, and memory. *Anesth Analg* 2009; 108: 90–104.

63. Young C, Jevtovic-Todorovic V, Qin YQ, Tenkova T, Wang H. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain. *Br J Pharmacol* 2005; 146:189–197.
64. Rizzi S, Carter LB, Ori C, Jevtovic-Todorovic V. Clinical anesthesia causes permanent damage to the fetal guinea pig brain. *Brain Pathol* 2008; 18: 198–210.
65. Slikker W Jr, Zou X, Hotchkiss CE, Divine RL, Sadovova N. Ketamine-induced neuronal cell death in the perinatal rhesus monkey. *Toxicol Sci* 2007; 98: 145–158.
66. Fredriksson A, Ponte'n E, Gordh T, Eriksson P. Neonatal exposure to a combination of N-methyl-D-aspartate and gamma-aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits. *Anesthesiology* 2007; 107:427–436.
67. Fredriksson A, Archer T, Alm H, Gordh T, Sadovova N. Neurofunctional deficits and potentiated apoptosis by neonatal NMDA antagonist administration. *Behav Brain Res* 2004; 153:367–376.
68. Pesic V, Milanovic D, Tanic N, Popic J, Kanaziv S. Potential mechanism of cell death in the developing rat brain induced by propofol anesthesia. *Int J Dev Neurosci* 2009; 27: 279 – 287.

69. Satomoto M, Satoh Y, Terui K, Miyao H, Takishimo K. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Anesthesiology* 2009; 110:628-638.
70. Viberg H, Pontén E, Eriksson P, Gordh T, Fredriksson A. Neonatal ketamine exposure results in changes in biochemical substrates of neuronal growth and synaptogenesis, and alters adult behavior irreversibly. *Toxicology* 2008; 49: 153– 159.
71. Sharp PE, La Regina MC. *The Laboratory Rat*. Boca Raton. FL CRC Press. 1998.
72. Lohmiller JL, Swing SP. Reproduction and breeding. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. *The Laboratory Rat*. Academic Press. 2006; 148-153.
73. Hacıaloğulları M. Interleukin-12'nin Embriyonik Vitellus Kesesi Damarlanması Üzerine Etkileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2005;14 (3) 221-244.
74. Skosyreva A.M. Comparative evaluation of the embryotoxic effect of various antibiotics. *Antibiot Khimioter* 1989; 34: 779–782.
75. Soysal H. Sıçan fetuslarında fenitoin, folik asit ve vitamin E'nin kemik gelişimi üzerine etkileri. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2010; 19(1): I-XXV.
76. Bayramiçli M. *Deneyel Mikrocerrahi (1. bs.)*. İstanbul: Argos 2005.

77. Briner A, Nikonenko I, De Roo M, Dayer A, Muller D, Vutskits L. Developmental Stage dependent persistent impact of propofol anesthesia on dendritic spines in the rat medial prefrontal cortex. *Anesthesiology* 2011; 115(2): 282–293.
78. Moore K. L. Persaud, T.V.N. *The developing human: clinically oriented embryology*. Philadelphia: Saunders 1998.
79. Moore K. L. Persaud, T.V.N. *Embriyoloji ve Doğum Defetlerinin Temelleri* (7. Baskı). (S. Müftüoğlu, P. Atilla, F. Kaymaz, Çev.). İstanbul: Güneş Kitabevi 2009.
80. Carlson B.M. *Human Embryology and Developmental Biology* (4th ed.). Philadelphia: Churchill Livingstone 2009.
81. Bleyl S.B, Braver P.R, Francis West, P.H. *Lanser's Human Embryology* (4 th ed.). Philadelphia: Churchill Livingstone 2009.
82. Huttenlocher PR, Dabholkar AS. Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. *J Comp Neurol* 1997;387(2):167–178.
83. Sokolowski K and Corbin JG (2012) Wired for behaviors: from development to function of innate limbic system circuitry. *Front. Mol. Neurosci.* 2012 5:55. doi: 10.3389

84. Ancelin ML, De Roquefeuil, Ritchie K. Anesthesia and postoperative cognitive dysfunction in the elderly: a review of clinical and epidemiological observations. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2000; 48 (5): 459-72.
85. Abildstroom H, Rasmussen LS, Rentowl P, Hanning CD, et all. Cognitive dysfunction 1-2 years after non-cardiac surgery in the elderly. International study of postoperative cognitive dysfunction. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2000; 44 (10):1246-51.
86. Dijkstra JB, Houx PJ, Jolles J. Cognition after major surgery in the elderly: test performance and complaints. *Br J Anaesth* 1999; 82 (6): 867-74.
87. Rasmussen LS, Larsen K, Houx P, Skovgaard LT, Hanning CD, Moller JT; ISPOCD group. The international study of postoperative cognitive dysfunction. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2001; 45 (3): 275-89.
88. Goldstein MZ, Young BL, Fogel BS, Benedict RH. Occurance and predictors of short-term mental and functional changes in older adults under general anesthesia. *Am J Geriatr Psychiatry* 1998; 6 (1) :42-52.
89. Ritchie K, Polge C, de Roquefeuil G, Djakovic M, Ledesert B. Impact of anesthesia on the cognitive functioning of the elderly. *Int Psychogeriatr* 1997;9 (3): 309-26.
90. Smith RJ, Roberts NM, Rodgers RJ, Bennett S. Adverse cognitive effects of general anaesthesia in young and alderly patients. *Int Clin Psychopharmacol* 1986;1(3) 253- 9.

91. Chung F, Seyone C, Dyck B, Chung A, Ong D. Age related cognitive recovery after general anesthesia. *Anesth Analg* 1990; 71(3):217-24.
92. Tzabar Y, Asbury AJ, Millar K. Cognitive failures after general anaesthesia for day-case surgery. *Br J Anaesth* 1996; 76(2):194-7.
93. Johnson T, Monk T, Rasmussen LS, Abilstrom H, Houx P, Korttila K. Postoperative cognitive dysfunction in middle-aged patients. *Anesthesiology* 2002; 96 (6):1351- 7.
94. Ancelin ML, de Roquefeuil G, Ledesert B, Bonnel F, Cheminal JC, Ritchie K. Exposure to anaesthetic agents, cognitive functioning and depressive symptomatology in the elderly. *Br J Psychiatry* 2001; 178:360-6.
95. Kubitz J, Eppler J, Bach A, Motsch J, Martin E. Psychomotor recovery in very old patient after total intravenous or balanced anaesthesia for cataract surgery. *Br J Anaesth* 2001; 86(2):203-208.
96. Drummond GB. The Assessment of postoperative mental function. *Br J Anaesth* 1975; 47: 130-42.
97. Moller JT. Cognitive dysfunction after anaesthesia. *ESA European Society of Anaesthesiologists. 6th ESA Annual Meeting Barcelona* 1998; 77-80.
98. Kirsner HS. Approaches to intellectual and memory impairments. In: Bradley WG, Daroff BD, Ferichel GM, Marshden CD, eds. *Neurology in clinical practice principles of diagnosis and management. Butterworth- Heinemann.* 2000; 71-81.
99. Levin ED. Nicotinic receptors subtypes and cognitive function. *J Neurobiol.*

2002; 53(4):633-40.

100. Tianyun Z, Li Y, Wei W, Savage S. Ketamine administered to pregnant rats in the second trimester causes long-lasting behavioral disorders in offspring. *Neurobiology of Disease*. 2014; 68: 145-155.

101. Palanisamy A, Baxter M.G, Keel P.K, Xie Z. Rats exposed to isoflurane in utero during early gestation are behaviorally abnormal as adults. *Anesthesiology*. 2011; 114: 521-528.

102. Haberny KA, Paule MG, Scallet AC, Sistare FD. Ontogeny of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor system and susceptibility to neurotoxicity. *Toxicol Sci*. 2002; 68: 9–17.

103. Cobas A, Fairen A, Alvarez-Bolado G, Sanchez MP. Prenatal development of the intrinsic neurons of the rat neocortex: a comparative study of the distribution of GABA-immunoreactive cells and the GABAA receptor. *Neuroscience*. 1991; 40: 375–397.

104. Laurie DJ, Wisden W, Seeburg PH. The distribution of thirteen GABAA receptor subunit mRNAs in the rat brain. III. Embryonic and postnatal development. *J Neurosci*. 1992; 12: 4151–4172.

105. Wang DD, Kriegstein AR. Defining the role of GABA in cortical development. *J Physiol*. 2009; 587:1873–1879.

106. Ben-Ari Y. Excitatory actions of GABA during development: The nature of the nurture. *Nat Rev Neurosci*. 2002; 3: 728–739.

107. Zheng H, Dong Y, Xu Z, Crosby G. Sevoflurane anesthesia in pregnant mice induces neurotoxicity in fetal and offspring mice. *Anesthesiology*. 2013;118: 516-526.
108. Teeling JL, Perry VH. Systemic infection and inflammation in acute CNS injury and chronic neurodegeneration: Underlying mechanisms. *Neuroscience*. 2009; 158:1062–1073.
109. van Gool WA, van de Beek D, Eikelenboom P. Systemic infection and delirium: When cytokines and acetylcholine collide. *Lancet*. 2010; 375: 773–775.
110. Willard LB, Hauss-Wegrzyniak B, Wenk GL. Pathological and biochemical consequences of acute and chronic neuroinflammation within the basal forebrain cholinergic system of rats. *Neuroscience*. 1999; 88: 193–200.
111. Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*. 1997; 386:493–495.
112. Leggio MG, Mandolesi L, Federico F, Spirito F, Ricci B, Gelfo F, Petrosini L. Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behav Brain Res*. 2005; 163: 78–90.
113. Olson AK, Eadie BD, Ernst C, Christie BR. Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus*. 2006; 16: 250–260.
114. Torasdotter M, Metsis M, Henriksson BG, Winblad B, Mohammed AH. Environmental enrichment results in higher levels of nerve growth factor mRNA

- in the rat visual cortex and hippocampus. Behav Brain Res. 1998; 93: 83–90.*
115. Ikonomidou C, Bosch F, Miksa M, Bittigau P. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science* 1999; 283: 70–74.
116. Wang C, Sadovova N, Fu X, Scallet A, Hanig J. The role of NMDA receptors in ketamine-induced apoptosis in rat forebrain culture. *Neuroscience* 2005; 132: 967–977.
117. Paule MG, Li M, Allen RR, Liu F, Zou X. Ketamine anesthesia during the first week of life can cause long-lasting cognitive deficits in rhesus monkey. *Neurotox Teratol* 2011; 33: 220-30.
118. Zou X, Liu F, Zhang X, Patterson T.A. Inhalation anesthetic-induced neuronal damage in the developing rhesus monkey. *Neurotox and Teratology* 2011; 33: 592-597.
119. O'Mara SM, Commins S, Anderson M, Gigg J. The subiculum: a review of form, physiology and function. *Prog Neurobiol.* 2001; 64: 129–155.
120. Morris RG, Schenk F, Tweedie F, Jarrard LE. Ibotenate lesions of hippocampus and/or subiculum: dissociating components of allocentric spatial learning. *Eur J Neurosci.* 1990; 2: 1016–1028.
121. Galani R, Weiss I, Cassel JC, Kelche C. Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. *Behav Brain Res.* 1998; 96: 1–12.

122. Oo TF, Henchcliffe C, Burke RE. Apoptosis in substantia nigra following developmental hypoxicischemic injury. *Neuroscience*. 1995; 69: 893–901.
123. Bittigau P, Sifringer M, Pohl D, Stadthaus D, Ishimaru M. Apoptotic neurodegeneration following trauma is markedly enhanced in the immature brain. *Ann Neurol*. 1999; 45: 724–735.
124. Yon J-H, Daniel-Johnson J, Carter LB, Jevtovic-Todorovic V. Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways. *Neuroscience*. 2005; 35: 815–827.
125. Yon J-H, Carter LB, Reiter RJ, Jevtovic-Todorovic V. Melatonin reduces the severity of anesthesia-induced apoptotic neurodegeneration in the developing rat brain. *Neurobiol Dis*. 2006; 21: 522–530.
126. Flick RP, Katusic S K, Colligan RC, Wilder RT. Cognitive and Behavioral Outcomes After Early Exposure to Anesthesia and Surgery. *Pediatrics*. 2011; 128: 1053-1061.
127. DiMaggio C, Sun LS, Kakavouli A, Byrne MW, Li G. A retrospective cohort study of the association of anesthesia and hernia repair surgery with behavioral and developmental disorders in young children. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2009; 21(4): 286 –291.
- 128 Bartels M, Althoff RR, Boomsma DI. Anesthesia and cognitive performance in children: no evidence for a causal relationship. *Twin Res Hum Genet*. 2009; 12(3): 246 –253.

129. Kalkman CJ, Peelen L, Moons KG, et al. Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure. *Anesthesiology*. 2009; 110(4): 805– 812.
130. Kalat JW. *Biological Psychology* (Wadsworth / Thomson Learning, Belmont CA) 2001.
131. Volkow ND, Wang G, Fowler J, Logan M. Therapeutic doses of oral methylphenidate significantly increase extracellular dopamine in the human brain. *J Neurosci*. 2001; 121:1-5.
132. Fredriksson A, Archer T. Functional alteration by NMDA antagonist: effects of L-Dopa, neuroleptic drugs and postnatal administration. *Amino Acids* 2002; 23: 11-132.
133. Fredriksson A, Archer T. Hyperactivity following postnatal NMDA antagonist treatment: reversal by D-amphetamine. *Neurotoxicity Research*. 2003; 5: 549-564.

8. ÖZET

GEBE RATLARDA TEKRARLAYAN KETAMİN ANESTEZİSİNİN FETUS SANTRAL SİNİR SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Günümüzde cerrahi ya da tetkik ve tedaviler sırasında giderek artan sayıda anestezi uygulaması yapılmaktadır. Kognitif fonksiyonları geçici olarak baskıladığı düşünülen anesteziden beyin fonksiyonlarının ne şekilde ve hangi sürede etkilendiği ise yeterince açık değildir.

Ketamin intavenöz veya intramusküler olarak uygulanan genel anestezi ajanıdır. Ketamin santral sinir sisteminde “dissosiyatif anestezi” denilen, hasta ile iletişimin kurulamadığı ancak hastanın uyanık gibi görülebildiği, ağrılı uyarandan bağımsız iskelet kas hareketleri ve tonusun olduğu, hastanın amnezik ve derin analjezik etki altında olduğu kateleptik bir duruma neden olmaktadır.

Bu deneysel araştırmada gebe ratlara fetal santral sinir sisteminin gelişiminin olduğu dönemde ketamin anestezisi verilerek yavru ratların kognitif fonksiyonlarında gerileme olup olmadığı RAM testi ile değerlendirildi. RAM testi uygulamasından sonra yavru ratların beyin doku örnekleri histopatolojik olarak nöron hasarı ve apoptozis yönünden değerlendirildi.

Ratlar her grupta 2’şer gebe rat olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Grup 1 Gebe Kontrol grubu (n=2): Bu gruptaki gebe ratlara 1. rata bir kez yalnızca serum fizyolojik (SF) intramusküler (im) olarak uygulandı. 2. rata birer gün ara ile 3 kez tekrarlayan SF im uygulandı. Grup 2 Gebe Ketamin tek gün tekrarlayan doz grubu (TK) (n=2): Bu gruptaki gebe ratlara aynı gün içinde tek

doz ketamin 50 mg.kg⁻¹ im olarak uygulandı ve 2 saat derlenmesi beklenerek tekrar ketamin uygulandı ve bu döngü 3 kez tekrarlandı. Grup 3 Gebe Ketamin farklı günlerde tekrarlayan doz grubu (ÇK) (n=2): Bu gruptaki ratlara pazartesi – çarşamba – cuma olmak üzere birer gün ara ile ve günde 2 saat derlenmeleri beklenerek 3 kez ketamin 50 mg.kg⁻¹ uygulandı.

Çalışmaya alınan ratların ağırlıkları üç ölçüm zamanında da gruplar arasında anlamlı olarak farklı bulundu. Ağırlıklar Grup ÇK' da grup K' ya göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.001, p=0.005, p=0.002, sırasıyla). Cinsiyet gruplar arasında benzerdi (p>0.05). Doğum sonrası 21 gün beklendikten sonra; ilk ve ikinci gün ölçümlerinde giriş-çıkışlar gruplar arasında benzer bulundu. Üçüncü gün üçüncü saat ölçümlerinde kontrol grubuna göre TK grubunda giriş-çıkışlar belirgin olarak artmış olarak tespit edildi (p=0.011). Doğum sonrası 21 gün beklendikten sonra; ilk gün ölçümlerinde 15 saniyenin altında olan giriş-çıkışlar gruplar arasında benzer bulundu. İkinci gün ikinci saat ölçümlerinde kontrol grubuna göre TK grubunda 15 saniyenin altında giriş-çıkışlar belirgin olarak artmış olarak tespit edildi (p=0.03). Üçüncü gün üçüncü saat ölçümlerinde kontrol grubuna göre TK grubunda 15 saniyenin altında giriş-çıkışlar belirgin olarak artmış olarak tespit edildi (p=0.007).

Işık mikroskopik değerlendirmede özellikle talamus, bazal ganglionlar ve hipokampüste cornu ammoniste nöron kaybı, nöron zedelenme bulguları, gliozis, iskemi bulgusu görülmemiştir. Nöron zedelenme bulguları olarak; sitoplazmik şişme, vakuolizasyon, kromatolizis ve yapısal bozukluğa (displastik görünüme)

saptanmamıştır. TUNEL yöntemi ile pozitif hücre indeksi 10 büyük büyütmede apoptotik hücreye rastlanmamıştır.

9. SUMMARY

EVALUATION of THE EFFECTS of REPEATED KETAMINE ANESTHESIA on CENTRAL NERVOUS SYSTEM of THE FETUS in PREGNANT RATS

Nowadays, an increasing number of anesthesia applications are carried out during surgeries, tests or treatments. While anesthesia is thought to suppress cognitive functions, it is not clear how and how long brain functions are affected from it.

Ketamine is a general anesthetic agent which administered intravenously or intramuscularly. Ketamine leads to a cataleptic situation, which is called “dissociative anesthesia”, in central nervous system where communication cannot be established with the patient but the patient can be seen awake, painful stimuli-independent skeletal and muscle movements and tone exist, and the patient is under amnesic and deep analgesic influence.

Ketamine is an NMDA receptor antagonist. A rapidly growing body of research have implicated the glutamatergic N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor in memory and other cognitive processes.

In this experimental study, pregnant rats were administered ketamine anesthesia during development of fetal central nervous system, and it was assessed with RAM test whether or not a decline in the cognitive functions of the baby rats was observed. After the application of RAM test, the brain tissue samples of the baby rat's tissue were evaluated histopathologically in terms of neuronal damage and apoptosis.

The rats were divided into 3 groups, 2 pregnant rats in each group.

Group 1 Pregnant Control Group (C) (n=2): The pregnant rats in this group; the 1st rat was administered only physiological saline solution (FS) once, the 2nd rat was administered FS 3 times every other day. Group 2 Pregnant Ketamine Group for single day dosage (Single Ketamine-SK) (n=2): The rats in this group were administered ketamine 50 mg.kg⁻¹ then it was waited 2 hours for recovery and ketamine was administered again; this cycle was repeated 3 times. Group 3 Pregnant Ketamine Group for repeated doses on different days (Multiple Ketamine-MK) (n=2): The rats in this group were administered ketamine 50 mg.kg⁻¹ 3 times by waiting 2 hours for recovery every other day, on Monday – Wednesday – Friday.

The weights of the rats included in the study were found to be significantly different between the groups on each of the three measurements. The weights was found significantly higher in the Group MK than the group C (p=0.001, p=0.005, p=0.002, respectively). The gender was similar among all groups (p>0.05). After waiting for 21 days after birth; the measurements for the first and the second days, the inputs-outputs were similar. In the measurement of the third day, the third hour, the inputs-outputs in the SK group was observed to be significantly higher than the control group (p=0.011). After waiting for 21 days after birth; the inputs-outputs, which were below 15 seconds in the measurements on the first day, were similar between the groups. On the second day, the second hour measurement, the inputs-outputs, which were below 15 seconds, were found to be significantly higher in the SK group as compared to the control group (p=0.03). On the third day, the third hour measurement, the inputs-

outputs, which were below 15 seconds, were found to be significantly higher in the SK group as compared to the control group ($p=0.007$).

In the light microscopic evaluation, no loss of neurons, neuron injury findings, gliosis, ischemia findings were observed particularly in the thalamus, basal ganglia and cornu ammonis in the hippocampus. As neuron injury findings, cytoplasmic swelling, vacuolation, kromatolizis and structural disorder (a dysplastic appearance) were not observed. No apoptotic cells were observed in 10 major enlargement of positive cell index by TUNEL method.

10. EKLER

10.1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : 66332047-604.01.02/ 86-8908
KONU :

19. / 04 / 2013

Sayın

Doç.Dr.Berrin IŞIK
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Berrin IŞIK, Figen ATAĞ, Mustafa ARSLAN ve Özgür EKİNCİ'den oluşan, G.Ü.ET-13.034 kod numaralı ve "**Gebe Ratlarda Tekrarlayan Ketamin Anestezisinin Fetüs Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi**" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-13.034 and entitled "**Evaluation of the Effects of Repeated Ketamine Anesthesia on Central Nervous System of the Fetus in Pregnant Rats**" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste

Prof.Dr. Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

T.C.Gazi Üniversitesi Rektörlüğü, 06500 Teknikokullar, Ankara
tel : 0 312 202 20 57 Faks: 0 312 202 20 63

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Figen ATAK

Doğum Tarihi: 22.01.1983

Doğum Yeri: Polatlı / ANKARA

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

E-mail: drfigen83@hotmail.com

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	FEN BİLİMLERİ	POLATLI ANADOLU LİSESİ	2001
Lisans	TIP FAKÜLTESİ	GAZİ ÜNİVERSİTESİ	2009

Tıpta Uzmanlık Tezi Başlığı ve Danışman(lar)ı:

Uzmanlık Tezi: Ankara 2016

“Gebe Ratlarda Tekrarlayan Ketamin Anestezisinin Fetüs Santral Sinir Sistemi Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi”

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Berrin IŞIK

Görev Yeri ve Ünvanlar:

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl
Arş. Gör. Dr.	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı	2010- halen

ESERLER

A.Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitabında Basılan

Bildiriler:

A1. İnan G, Gungor İ, Bedirli N, **Atak F**, Çelebi H, Retrospective analysis of caudal block under sevoflurane anaesthesia for paediatric surgery: Results of 2014-2015, 461 children, ESPA Congress İstanbul, 17-19 September 2015.

B.Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

B1. Günaydın B, Tuna A, Dayanır H, **Atak F**, Sezaryende oksitosin infüzyonundan sonra gözlenen anaflaksi gerçekten oksitosine mi bağlı? GKDA ve Yoğun Bakım Derneği Dergisi 21(1):67-68,2015.

B2. **Atak F**, Işık B, Obez hastalarda genel anestezi, Türkiye Klinikleri J Anestezi Reanimasyon Special Topcis 2015:8(2).

C. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan

Bildiriler:

C1. Hoşgören G, **Atak F**, Işık B, Fındıkçioğlu K. Beklenmedik bir yanık komplikasyonu, bir olgu nedeniyle. 49. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, Antalya, 2-6 Aralık 2015.

C2. İnan G, **Atak F**, Yeğen M, Özköse Z, Doğulu F. İntrakranial by-pass cerrahisi geçirilen iki hastada anestezi yönetimi. 49. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, Antalya, 2-6 Aralık 2015

D. Sertifikalar:

D1. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Sertifikası VIII; Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi, 2010, Ankara

D2. ALS Provider Course, Eurpean Resustasyon Council, October 2014, Ankara

D3. II. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Asistan Okulu; Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği, Nisan 2015, İzmir

E. Katıldığı Kurslar:

E1. Sinir Stimülatörü ve Ultrason Uygulamalı Periferik Sinir Blokları Kursu, 2013, Ankara

E2. Mekanik Ventilasyon Kursu, 2013, Antalya

E3. Tıpta İletişim Becerileri Temel Eğitimi 2014, Ankara

F. Katıldığı Kongreler:

F1. 47. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, 20-24 Kasım 2013, Antalya

F2. 48. Ulusal Türk anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Kongresi, 25-29 Ekim 2014, Ankara