

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SEVOFLURAN İLİŞKİLİ NÖROTOKSİSİTEDE NEAT1'in ROLÜ

ELVAN ÖÇMEN  
ORCID: 0000-0003-1188-0667

SİNİRBİLİMLER ANABİLİM DALI  
Temel Sinirbilimler Doktora Programı

DOKTORA TEZİ

İZMİR  
ARALIK 2024

TEZ KODU: DEU.HSI. PhD-2019970154

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## SEVOFLURAN İLİŞKİLİ NÖROTOKSİSİTEDE NEAT1'in ROLÜ

Elvan ÖÇMEN

ORCID: 0000-0003-1188-0667

SİNİRBİLİMLER ANABİLİM DALI

Temel Sinirbilimler Doktora Programı

DOKTORA TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şermin GENÇ

ORCID: 0000-0001-6126-7460

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon  
birimince TSA-2022-2661 proje numarası ile desteklenmiştir.

İZMİR

ARALIK 2024

## TEZ KABUL ONAYI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilimler Anabilim Dalı/Temel Sinirbilimler Doktora programı öğrencisi Elvan ÖÇMEN tarafından hazırlanan ‘Sevofluran İlişkili Nörotoksistide NEAT1’ in Rolü’ başlıklı tez çalışması 26/12/2024 günü, 13/30 saatinde yapılan tez savunda sınavında aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile DOKTORA TEZİ olarak kabul/red edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** Prof. Dr. Şermin GENÇ

DEÜ SBE Sinirbilimler AD

Izmir Biomedicine and Genome Center

Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum

ORCID: 0000-0001-6126-7460

İMZA

**Üye:** Prof. Dr. Necati GÖKMEN  
DEÜ Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD

Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum

ORCID: 0000-0002-3225-7666

İMZA

**Üye:** Prof. Dr. Pınar AKAN  
DEÜ Tıbbi Biyokimya AD

Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum

ORCID: 0000-0001-9211-1944

İMZA

**Üye:** Prof. Dr. Mehmet UYAR  
Ege Üniversitesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD

Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum

ORCID: 0000-0001-9292-2616

İMZA

**Üye:** Doç. Dr. Kemal Uğur TÜFEKÇİ  
İzmir Demokrasi Üniversitesi SHMYO

Tezi onaylıyorum/onaylamıyorum

ORCID: 0000-0003-0935-1360

İMZA

Tez hakkında alınan jüri kararı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

**T.C.**  
**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ' NE**  
**ETİK BEYANI**

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum “Sevofluran İlişkili Nörotoksisitede NEAT1’in Rolü” başlıklı Doktora tezimin için elde ettiğim verileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Elvan ÖÇMEN

Tarih: Aralık 2024

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince ve tez araştırmamı yapmaya başladığım ilk günlerden itibaren özverili destekleriyle yanımda olan, katkılarıyla çalışmalarına değer katan, saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. şermin Genç'e,

Tez araştırmamın başlangıcından tamamlanma aşamasına kadar gösterdiği ilgi ve yardımı asla esirgemeyen, her soruda ve karşılaştığım sorunlarda yardımcı olan Prof. Dr. Necati Gökmen'e,

Tezimin hazırlıktan itibaren her aşamasında bana yardımcı olan Sayın Bilge Karaçipek'e,

Tezimin deney aşamasında bana destek olan tüm Genç Lab üyelerine,

Her zaman yanımda olan dostum Doç. Dr. Hale Aksu' ya,

Onlardan çaldığım zamana rağmen desteklerini benden esirgemeyen sevgili eşim ve çocuklarıma sonsuz teşekkür ederim.

Elvan Öçmen

## İÇİNDEKİLER

<b>Tablolar Dizini.....</b>	<b>VII</b>
<b>Şekiller Dizini.....</b>	<b>VIII</b>
<b>Kısaltmalar.....</b>	<b>IX</b>
<b>Özet.....</b>	<b>X</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>XII</b>
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1.Sevofluran.....	3
2.2.Uzun kodlamayan RNA (Long non-coding RNA).....	3
2.3. miR-124.....	5
2.4. NEAT1'in nörotoksisitedeki genetik yönü.....	5
<b>3.GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>7</b>
3.1.Araştırmanın Tipi.....	7
3.2.Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı.....	7
3.3. Çalışma Materyali.....	7
3.3.Araştırmanın Değişkenleri.....	7
3.5. Nörotoksisitenin modellenmesi için farelere sevofluran anestezisi uygulanması.....	7
3.6.Çalışma grupları.....	8
3.7. Farelere anestezi uygulaması.....	8
3.8. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1 seviyesinin ölçülmesi.....	8
3.9. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1'in hedefi olan miR- 124'ün ölçülmesi.....	9
3.10. NEAT1 FISH (fluorescence in situ hybridization) ve SFPQ İmmün Boyaması ile Paraspeckle formasyonunun belirlenmesi.....	9
3.11. Sevofluran anestezisi uygulanan fare beyninin histolojik olarak incelenmesi.....	10
3.11.1. Rutin Işık Mikroskopik İnceleme Yöntemi.....	10
3.11.2. İmmunohistokimyasal İnceleme.....	11
3.11.3 Sevofluran nörotoksisitesinde NEAT1'in rolünün anlaşılması.....	12
<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>13</b>

4.1. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1 seviyesinin ölçülmesi.....	13
4.2. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1'in hedefi olan miR-124'ün ölçülmesi.....	13
4.3.NEAT1 FISH ve SFPQ İmmün Boyaması ile Paraspeckle formasyonunun belirlenmesi..	14
4.4. Sevofluran anestezisi uygulanan rat beyнинin histolojik olarak incelenmesi.....	15
4.4.1. Rutin Işık Mikroskopik İnceleme Yöntemi.....	15
4.4.2. İmmunohistokimyasal İnceleme.....	16
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>20</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>23</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>24</b>



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Araştırmanın planlanması .....	<b>7</b>
--	----------



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. LncRNA'lar .....	4
Şekil 2. NEAT1 ve paraspeckle yapısı .....	5
Şekil 3. NEAT1 ve hedefi miR-124'ün ekspresyon değişimi .....	13
Şekil 4. KO farelerde NEAT1 ekspresyonları .....	14
Şekil 5. FISH boyaması.....	14
Şekil 6. Kresil viyole boyaması.....	15
Şekil 7. Bcl-2 boyaması .....	16
Şekil 8. <i>Cleaved-caspase 3</i> boyaması .....	17
Şekil 9. NeuN boyaması.....	18

## **KISALTMALAR**

NEAT1: Nuclear Enriched Abundant Transcript 1

FISH: fluorescence in situ hybridization

KO: Knockout

WT: Wild Type

lncRNA: Long noncoding RNA

miRNA: MikroRNA



# SEVOFLURAN İLİŞKİLİ NÖROTOKSİSİTEDE NEAT1'İN ROLÜ

**Doktora Tezi**

**Elvan ÖÇMEN**

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ  
ENSTİTÜSÜ**

**Sinirbilimler Anabilim Dalı**

## **ÖZET**

Sevofluran, pediyatrik anestezide en sık kullanılan anestezik ajanlardan biridir. Sevofluran ilişkili nörotoksitenin (SİN) ve bununla ilişkili kognitif disfonksiyonun kesin mekanizması hala bilinmemektedir. *Nuclear Enriched Abundant Transcript 1* (NEAT1), LncRNA molekülünden birisidir. NEAT1'in embriyonik kök hücre gelişimi, nöronal eksitabilite ve immun yanıt gibi pek çok fizyolojik fonksiyonda rol aldığı gösterilmiştir. miR-124, NEAT1'in valide edilmiş hedeflerinden birisidir.

Bu çalışmada postnatal 7.günde olan BALB/c yavru farelerin sevofluran anestezisi sonrası NEAT1 ve hedefi olan miR-124'ün ekspresyonunun değerlendirilmesi ve olası ekspresyon değişikliğinin hipokampal apoptoz ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, postnatal 7.günde olan BALB/c (WT) ve NEAT1 Knockout (KO) fareler Kontrol WT grubu (n=5), Sevofluran WT grubu (n=5), Kontrol KO grubu (n=5) ve Sevofluran KO grubu (n=5) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Sevofluran gruplarına 6 saat boyunca 6 L. dk<sup>-1</sup> akım hızında oksijen içinde % 2,5 sevofluran solutulmuş, altı saatin sonunda fareler sakrifiye edilerek hipokampusları çıkarılmış NEAT1 ve miR-124 ekspresyon değişiminin belirlenmesi için Real Time PCR yöntemi kullanılmıştır. Sevofluran toksisitesinin paraspekl oluşumuna etkisinin belirlenmesi NEAT1 FISH (*fluorescence in situ hybridization*) ve SFPQ İmmün Boyamasının birlikte yapılması ile değerlendirilmiştir. Ekspresyon farklılığı  $\Delta\Delta C_t$  yöntemi ile analiz edilmiştir.

NEAT1 ekspresyonunun sevofluran uygulanan farelerde kontrol grubuna göre anlamlı ( $p < 0.001$ ) şekilde arttığı, miR124 ekspresyonunun ise anlamlı ( $p < 0.01$ ) şekilde azaldığı saptanmıştır. Kresil violet boyamalarına göre nöronal dansitenin sevofluran grubunda prefrontal kortekste anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır ( $p < 0.001$ ). Sevofluran grubunda CA1 bölgesinde kontrole göre Bcl-2 pozitif hücre sayısında azalma saptanmıştır. KO gruplarda ise, Bcl-2 immün boyamasında azalma gözlenirken sevofluran grubunda artış gözlenmiştir. Sevofluran grubunda kontrole göre prefrontal kortekste ve hipokampüste *cleaved-caspase 3* ile boyanan hücrelerde artış saptanmıştır. Kontrol ve sevofluran grubu farelerde yapılan NeuN boyamasında hipokampus (CA1) bölgesinde anlamlı azalma saptanmıştır. KO gruplarında NeuN boyamasında sevofluran grubunda artış gözlenmiştir.

Sonuç olarak, immün boyamalarda NEAT1 KO farelerde geri dönüşün saptanması sevofluran ilişkili nörotoksisitede NEAT1'in rolü olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** NEAT1, Nörotoksisite, Sevofluran

**Tezin Sayfa Sayısı:** 28

**Danışman:** Prof. Dr. Şermin GENÇ



# **ROLE OF NEAT1 IN SEVOFLURANE INDUCED NEUROTOXICITY**

**Master Thesis**

**Elvan ÖÇMEN**

**DOKUZ EYLÜL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE**

**Department of Neuroscience**

## **ABSTRACT**

Sevoflurane is one of the most commonly used anesthetic agents in pediatric anesthesia. The exact mechanism of sevoflurane-associated neurotoxicity (SIN) and associated cognitive dysfunction is still unknown. Nuclear Enriched Abundant Transcript 1 (NEAT1) is one of the LncRNA molecules discovered in 2007. NEAT1 has been shown to be involved in many physiological functions such as breast development, corpus luteum formation, embryonic stem cell development, neuronal excitability and immune response. miR-124 is one of the validated targets of NEAT1. The aim of this study was to evaluate the expression of NEAT1 and its target miR- 124 after sevoflurane anesthesia in postnatal day 7 BALB/c mice and to investigate the relationship between possible expression changes and hippocampal apoptosis. A total of 10 BALB/c and NEAT1 Knockout mice, Control WT group (n=5), Sevoflurane WT group (n=5), Control KO group (n=5) and Sevoflurane KO group (n=5) were included in the study on postnatal day 7. Mice were inhaled with 2.5% sevoflurane in oxygen at a flow rate of 6 L min<sup>-1</sup> for 6 hours. At the end of 6 hours, mice were sacrificed by decapitation method and their hippocampuses were removed and Real Time PCR method was used to determine NEAT1 and miR- 124 expression changes. The effect of sevoflurane toxicity on paraspecule formation was evaluated by NEAT1 FISH (fluorescence in situ hybridization) and NONO/SFPQ Immunostaining. Whether sevoflurane toxicity is mediated by NEAT1 was examined by functional experiments using NEAT1 KO mice.

It was determined that NEAT1 expression increased significantly ( $p < 0.001$ ) in sevoflurane-treated mice compared to the control group, while miR124 expression decreased significantly ( $p < 0.01$ ). According to cresyl violet staining, neuronal density was found to decrease significantly in the prefrontal cortex in the sevoflurane group ( $p < 0.001$ ). A decrease in the number of Bcl-2 positive cells was detected in the CA1 region in the sevoflurane group compared to the control. In the KO groups, a decrease in Bcl-2 immunostaining was observed, while an increase was observed in the sevoflurane group. An increase in cells stained with cleaved-caspase 3 was detected in the prefrontal cortex and hippocampus in the sevoflurane group compared to the control group. A significant decrease was detected in the hippocampus (CA1) region in NeuN staining in control and sevoflurane group mice. In the KO groups, an increase in NeuN staining was observed in the sevoflurane group.

In conclusion, detection of reversal in NEAT1 KO mice in immunostainings showed that NEAT1 has a role in sevoflurane-related neurotoxicity.

**Keywords:** NEAT1, Neurotoxicity, Sevoflurane

**Page Count:** 28

**Thesis Advisor:** Prof. Dr. Şermin GENÇ



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Pediyatrik hastalarda anestezi/cerrahi ilişkili kognitif disfonksiyon olabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (1-3). Sevofluran, pediyatrik anestezide en sık kullanılan anestezi-ajanlardan biridir. Çocuklarda anestezi sırasında sevofluran kullanımında EEG değişiklikleri ve postoperatif dönemde uyku düzensizlikleri ve iştah kaybı gibi davranış değişiklikleri bildirilmiştir (4).

Sevofluran ilişkili nörotoksitenin (SİN) ve bununla ilişkili kognitif disfonksiyonun kesin mekanizması hala bilinmemektedir. Mikro RNA (miRNA) ve *long noncoding* RNA (lncRNA)' lar gibi yakın zamanda varlığı gösterilen ve birçok hücre işlevinde yer aldığı saptanan kodlamayan RNA'ların son yıllarda SİN ve kognitif disfonksiyonun mekanizmasında rolü olabileceğini gösteren ön veriler söz konusudur.

*Nuclear Enriched Abundant Transcript 1* (NEAT1), 2007'de keşfedilmiş lncRNA molekülünden birisidir. Kısa ve uzun olmak üzere 2 izoformu vardır. Uzun izoformu (NEAT1\_2) nükleusta paraspeckles adı verilen ribonükleoprotein komplekslerin bir parçasıdır. NEAT1\_2'nin üç alt domaini vardır. Paraspeckle yapıda, 5' ve 3' uçları periferde, orta bölgesi ise merkezde konumlanmıştır. Bu yapılar, adenosin-inozin dönüşümü olan mRNA'ların nükleusta kalması yoluyla gen ekspresyonunu düzenler. Diğer lncRNA'lar gibi NEAT1'de proteinlerle kompleks yapılar oluşturur. Bu kompleksler aracılığı ile pri-miRNA işlenmesinde de regülatör rol üstlenir (5).

NEAT1'in meme gelişimi, korpus luteum formasyonu, embriyonik kök hücre gelişimi nöronal eksitabilite ve immun yanıt gibi pek çok fizyolojik fonksiyonda rol aldığı gösterilmiştir. Post-mortem insan çalışmaları, deneysel in vivo ve in vitro çalışmalar, Amyotrofik Lateral Skleroz, Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı, Frontotemporal demans, Epilepsi ve Travmatik beyin hasarı gibi nörodejeneratif hastalıkların pek çoğunda NEAT1 ekspresyonunun değiştiğini göstermiştir (6). MiRNA (miR)-124, hipofiz bezi dışındaki tüm beyin bölgelerinde yüksek oranda eksprese edilen miRNA'dır (7,8). Matür miR-124, farelerde, sıçanlarda ve insanlarda homologdur (9). Yapılan çalışmalar, miR-124'ün kronik stres, nörodejenerasyon, nöro gelişim, sinaps morfolojisi, myeloid hücre fonksiyonu ve nörotransmisyon

üzerinde etkilerini göstermiştir. MiR-124 NEAT1'in valide edilmiş hedeflerinden birisidir.

Hem gelişmekte olan hem de yetişkin beyinde bu kadar görev alan NEAT1' in sevofluran ilişkili nörotoksisitede de rol alması muhtemeldir. Yaptığımız literatür araştırmasında sevofluran anestezisi ile NEAT1 ekspresyonunda meydana gelen değişikliği araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Planladığımız bu çalışmada yeni doğan döneminde uygulanan sevofluran anestezisi ile ilişkili nörotoksisitenin mekanizmasını aydınlatılmak için farelerde sevofluran anestezisi sonrası NEAT1 ve hedefi olan miR-124'ün ekspresyonun değerlendirilmesi ve olası ekspresyon değişikliğinin hipokampal apoptoz ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

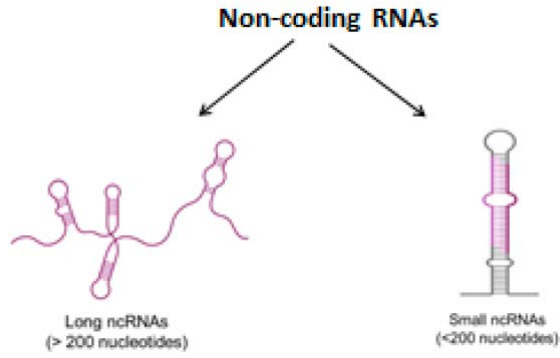
Her yıl milyonlarca çocuğa çeşitli medikal nedenlerle anestezi uygulanmaktadır. Pediyatrik hastalarda anestezi/cerrahi ilişkili kognitif disfonksiyon olabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (1-3). Sevofluran, pediyatrik anestezide en sık kullanılan anestezik-ajanlardan biridir. Çocuklarda anestezi sırasında sevofluran kullanımında EEG değişiklikleri ve postoperatif dönemde uyku düzensizlikleri ve iştah kaybı gibi davranış değişiklikleri bildirilmiştir (4). Sevofluran ilişkili nörotoksitenin (SİN) ve bununla ilişkili kognitif disfonksiyonun kesin mekanizması hala bilinmemektedir. Mikro RNA (miRNA) ve long noncoding RNA (lncRNA)'lar gibi yakın zamanda varlığı gösterilen ve birçok hücre işlevinde yer aldığı saptanan kodlamayan RNA'ların son yıllarda SİN ve kognitif disfonksiyonun mekanizmasında rolü olabileceğini gösteren ön veriler söz konusudur.

### 2.1. Sevofluran

Sevofluran, metil propil eterdir. Minimum alveolar konsantrasyonu 1,8' dir. Çözünürlüğü düşük, kan:gaz partisyon katsayısı 0,65' tir. Belirgin bir kokusunun olmaması ve solunum yollarına iritan olmaması nedeniyle maske anestezisine olanak tanır. Tüm bu özellikleri sayesinde özellikle pediyatrik yaş grubunda inhalasyon indüksiyonu için ideal bir inhalasyon anestezisidir.

### 2.2. Uzun kodlamayan RNA (*Long non-coding RNA*)

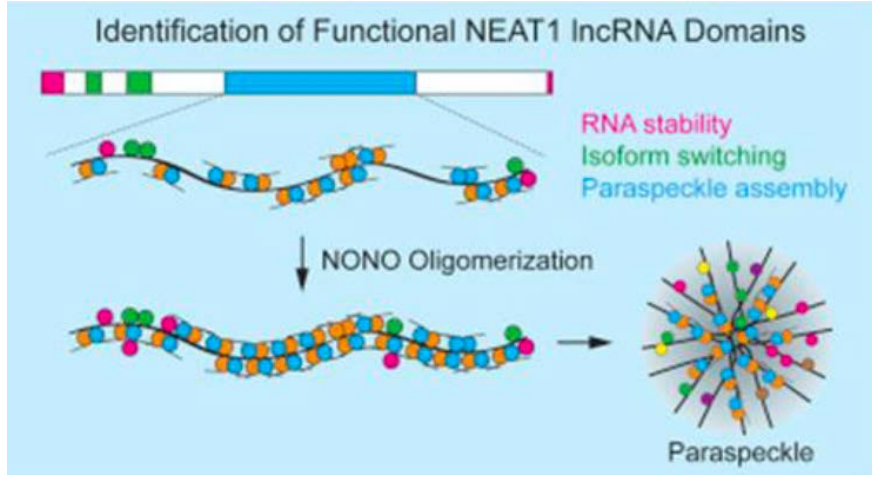
Genomun %2'sinden daha az bir kısmı translasyon ile fonksiyonel proteinlere çevrilirken, yaklaşık %80'i aktif bir şekilde RNA olarak transkripsiyona uğramaktadır (10). Kodlamayan RNA'ların (*noncoding RNAs*) transkriptomun oldukça büyük bir kısmını oluşturduğu bilinmektedir. Uzun kodlamayan RNA'lar (Lnc RNA) 200 nükleotidden uzun kodlamayan RNA'lar (Şekil 1) olup proteine translasyonu gerçekleşmeyen RNA'lardır (11).



**Şekil 1:** Kodlamayan RNA'lardan olan LncRNA'lar

LncRNA'ların hücre içindeki dağılımına bakıldığında sitoplazmada (%15), çekirdekte (%30) ve hem sitoplazma hem de çekirdekte bulunabildikleri gösterilmiştir (12). LncRNA'ların hücredeki lokasyonuna göre üstlendikleri fonksiyonların oldukça çeşitli olduğu saptanmıştır. Buna göre sitoplazmada bulunanlar transkripte olmuş mRNA'ları hedefleyerek onların stabilitesini ve translasyonunu sağlarken çekirdekte bulunanlar transkripsiyonel ve epigenetik modifikasyonları gerçekleştirmektedirler (13). NEAT1 ise kodlamayan RNA'lardan LncRNA sınıfına ait olan 2007'de bulunan bir lncRNA'dır (5). Kısa ve uzun olmak üzere 2 izoformu mevcuttur. (NEAT1\_2), uzun izoformu, çekirdekte "paraspeckles" adı verilen ribonükleoprotein komplekslerin bir parçasıdır. NEAT1\_2'nin üç alt domaini vardır. Paraspeckle yapıda 5' ve 3' uçları periferde, orta bölgesi ise merkezde konumlanmıştır. Bu yapılar, adenosin-inozin dönüşümü olan mRNA'ları çekirdekte tutarak gen ekspresyonunu düzenlemektedirler. Diğer LncRNA'lar gibi NEAT1 de proteinlerle kompleks yapılar oluşturmaktadır (Şekil 2). Bu kompleksler aracılığı ile pri-miRNA'ların işlenmesinde de regülatör görevi üstlenmektedir (5).

NEAT1'in meme gelişimi, korpus luteum formasyonu, embriyonik kök hücre gelişimi, nöronal eksitabilite ve immun yanıt gibi pek çok fizyolojik fonksiyonda rol aldığı gösterilmiştir. Fizyolojik fonksiyonların yanısıra özellikle enfeksiyon ve otoimmün hastalıklar başta olmak üzere pek çok hastalığın patogeneğinde de yer aldığı bildirilmiştir (5). Post-mortem insan çalışmaları, deneysel in vivo ve in



**Şekil 2:** NEAT1 ve paraspeckle yapısı (18)

vitro çalışmalar Amyotrofik Lateral Skleroz, Alzheimer Hastalığı, Parkinson Hastalığı, Frontotemporal demans, Epilepsi ve Travmatik beyin hasarı gibi nörodejeneratif hastalıkların pek çoğunda NEAT1 ekspresyonunun değiştiğini göstermiştir (6). LncRNA'ların regülasyon mekanizmasının miRNA'lar üzerinden olabileceği düşünülmektedir. Bu yüzden çeşitli biyolojik süreçlerdeki LncRNA miRNA etkileşimi regülasyonda önemli yere sahiptir.

### 2.3. miR-124

MiRNA miR-124, hipofiz bezi dışındaki tüm beyin bölgelerinde yüksek oranda eksprese edilen bir miRNA'dır (7,8). Yapılan birçok çalışmada nörogenezde kritik rolünün olduğu gösterilmiştir (14). Matür miR-124'ün, farelerde, sıçanlarda ve insanlarda homolog olduğu gösterilmiştir (1). Yapılan çalışmalar, miR-124'ün kronik stres, nörogelişim, sinaps morfolojisi, myeloid hücre fonksiyonu ve nörotransmisyon üzerinde etkilerini göstermiştir. MiR-124 NEAT1'in valide edilmiş hedeflerindedir.

### 2.4. NEAT1'in nörotoksisitedeki genetik yönü

Sıklıkla kullanılan bir anestetik olan sevofluranın, uzun süreli nörotoksisiteye ve öğrenme-hafıza güçlüklerine yol açtığı bilinmektedir. Uzun kodlamayan RNA'ların nörotoksisitede aracı moleküllerden olduğu gösterilmiştir. HT-22 hücreleri (fare

hippocampal nöronal hücre hattı) ile yapılan çalışmada sevofluran uygulanan HT-22 hücrelerinde NEAT1'in ekspresyonunda artış saptanmıştır. NEAT1'in *knockdown* edildiği koşullarda ise sevofluran aracılı nörotoksisiteyi iyileştirildiği gözlemlenmiştir (15).



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Araştırmanın Tipi

Bu çalışma deneysel bir çalışmadır.

#### 3.2. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı

Ocak 2021-nisan 2021	Tez önerisi hazırlanması
Mayıs 2021	Etik kurul onayı
Ekim 2021-Şubat 2022	BAP Proje Başvuru süreci
Mart 2022- Haziran 2022	Malzeme Temini
Mayıs 2022- Haziran 2022	Yavru ratlar ile ön çalışma yapılması
Temmuz 2022- ağustos 2022	Balb/c ve NEAT1 KO fareler için etik kurul onayı alınması
Kasım 2022-Ağustos 2024	Deneyleerin yapılması Sonuçların alınması ve istatistiksel analiz
Eylül 2024- Kasım 2024	Tezin yazılması

**Tablo1:** Araştırmanın planlanması ve yapılması süreçleri

#### 3.3. Çalışma Materyali

Çalışmaya 10 adet 7 günlük Balb/c fare ve 10 adet NEAT1 Knockout fare dahil edilmiştir. Balb/c fareler DEÜ Deney Hayvanları Laboratuvarından, NEAT1 Knockout fareler ise İBG deney hayvanları laboratuvarından temin edilmiştir.

#### 3.3. Araştırmanın Değişkenleri:

NEAT1 ve miR-124 bağımlı değişkenlerdir.

#### 3.5. Nörotoksisitenin modellenmesi için farelere sevofluran anestezisi uygulanması

Hayvan deneyleri için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan çalışma için gerekli onay (31/2021 protokol nolu DEÜ HADYEK etik kurul kararı) alınmıştır. Çalışmaya postnatal yedinci günde olan, BALB/c suşu ve NEAT1 KO, ağırlıkları 4-6 gr arasında değişen, 10' ar adet yavru fare

alınmıştır. Annelerinin yavru fareleri emzirdikleri göz önüne alınarak, kanibalizmi önlemek amacıyla, farelere mümkün olduğu kadar dokunulmamaya çalışılmış ve eğer dokunulacaksa pamuk ile dokunulmuştur. Yavru fareler doğumlarından itibaren standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz- 12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20-22°C oda ısısı, % 50-60 nem) izlenmiştir.

### 3.6. Çalışma grupları

Kontrol WT grubu (n=5): Yavru fareler 6 saat boyunca oda havasında solutulmuştur.

Sevofluran WT grubu akut (n=5): Yavru farelere 6 saat boyunca 6 L. dk<sup>-1</sup> akım hızında oksijen içinde % 2,5 sevofluran solutulmuştur.

Kontrol KO grubu (n=5): KO fareler 6 saat boyunca oda havasında solutulmuştur.

Sevofluran KO grubu (n=5): 6 saat boyunca 6 L. dk<sup>-1</sup> akım hızında oksijen içinde % 2,5 sevofluran solutulmuştur.

Altı saatin sonunda yavru fareler dekapitasyon yöntemiyle kurban edilerek beyinleri çıkarılmış ve histopatolojik inceleme yapılmıştır (16).

### 3.7. Farelere anestezi uygulaması

Her fare için ayrı olmak üzere 450 mL hacimli gaz giriş ve çıkış sistemi bulunan plastik kaplar 37°C sabit sıcaklıkta su banyosuna yerleştirilmiş, vaporizatör (Sevofluran, Vapor 19.1, Abbott Lab, Almanya) ile 6 L. dk<sup>-1</sup> akım hızında oksijen içinde sevofluran (Sevorane, Abbott Lab. England) % 2.5 konsantrasyonda bu kavanozlara girişi sağlanarak yavru fareler 6 saat süreyle solutulmuştur. İnspire edilen oksijen, karbondioksit ve uygulanan volatil ajanın konsantrasyon düzeyleri, çıkış hattına bağlanan anestezi gaz monitörü (Anesthesia Gas Monitoring 1304, Danimarka) ile izlenerek sabit tutulmuştur.

### 3.8. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1 seviyesinin ölçülmesi

Farelerden izole edilen beyin dokusundan total RNA, "RNeasy mini kit" ile elde edilmiştir (Qiagen). Çıkarılan beyinler kullanıma kadar -80°C'de saklanmıştır. Kitin protokolüne göre (30mg kadar olan beyin dokusu için) beyin dokusu RLT

tamponu kullanılarak parçalanarak homojenize edilmiştir. Daha sonra bu lizata etanol eklenerek RNA'nın RNeasy membranına bağlanması sağlanmıştır. Sonrasında örnek RNeasy mini spin kolona yüklenmiştir. Sonuç olarak total RNA membrana bağlanmış ve RNase-free water ile RNA'nın elüsyonu sağlanmıştır. Elde edilen RNA'nın saflığı ve konsantrasyonu Nanodrop ile ölçülmüştür. Komplemental DNA (cDNA) sentezi için 1 µg RNA kullanılmıştır. Örnekler 'termal cyclers' aletinde 25°C'de 10 dakika, 37°C'de 120 dakika ve 85°C'de 5 dakika enkübe edilerek cDNA elde edilmiştir. cDNA elde edildikten sonra kantitatif PCR Roche Lightcycler 480 kantitatif PCR cihazında qPCR Master Mix (Promega; ABD) kullanılarak üretici talimatlarına göre yapılmıştır. Ekspresyon farklılığı  $\Delta\Delta Ct$  yöntemi ile analiz edilmiştir (Zhang ve ark., 2019). NEAT1 ekspresyonu için  $|\log_2 \text{fold change}| > 1$  ve FDR (False Discovery Rate)  $> 0,05$  ile tanımlanan RT-PCR'daki ekspresyon değişimi (kat değişimi) anlamlı olarak kabul edilmiştir (17).

### 3.9. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1'in hedefi olan miR- 124'ün ölçülmesi

İzole edilen beyin dokusundan miR-124'ün ekspresyonunun belirlenmesinde, miRNA izolasyonu, miRNeasy Mini Kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çıkarılan beyinler kullanıma kadar -80°C'de saklanmıştır. RNA'nın saflığı ve konsantrasyonu Nanodrop ile ölçülmüştür. Complementary DNA (cDNA) sentezi miScript RT kit kullanılarak yapılmıştır. miScript SYBR Green PCR Kiti ile housekeeping gen olan U6 ve miR- 124'e özgü primerler ile SYBR green içeren qPCR mastermix kullanılarak real-time PCR yapılmıştır (Roche Lightcycler 480, Almanya). Ekspresyon farklılığı  $\Delta\Delta Ct$  yöntemi ile analiz edilmiştir. miR124 ekspresyonu için  $|\log_2 \text{fold change}| > 1$  ve FDR (False Discovery Rate)  $> 0,05$  ile tanımlanan RT-PCR'daki ekspresyon değişimi (kat değişimi) anlamlı olarak kabul edilmiştir (17).

### 3.10. NEAT1 FISH (*fluorescence in situ hybridization*) ve SFPQ İmmün Boyaması ile Paraspeckle formasyonunun belirlenmesi

NEAT1, nükleusta, NONO, SFPQ vb. proteinlerle "paraspeckle" adı verilen kompleks yapılar oluşturmaktadır. Paraspeckle formasyonunun oluştuğunu göstermek için SFPQ antikorları kullanılarak immünfloresan boyama gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, yavru fare beyin dokularından alınan kesitlerde SFPQ ve nükleus boyaması

için HOECST kullanılmıştır. NEAT1\_2 ve SFPQ kolokalizasyonunu göstermek RNA *fluorescence in situ hybridization* (FISH) yapılmıştır. Bu sayede paraspeckle formasyonu ve NEAT1 ile SFPQ kolokalizasyonu gösterilmiştir. RNA FISH için, RNA problr DIG RNA Labeling Kit (Roche) kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla, yavru fare beyin dokularından alınan kesitler %4 paraformaldehit ile 10 dakika fikse edilerek daha sonra PBS ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra PBS ile hazırlanmış %0.5 Triton X-100/PBS ile 5 dakika permeabilize edilerek ve 3 kere PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra %100 etanol 5 dakika boyunca batırılarak ve çıkartılarak kurutulmuştur. Dehidre dokular pre-hibridizasyon solüsyonu ile (50% formamide, 1x Denhardt's salt, 2x SSC, 100 mM EDTA, 100 mg/ml yeast tRNA ve 0.01% Tween 20) 5 dk boyunca inkübe edilmiştir. Sonra hibridizasyon solüsyonu ile (50% formamide, 1x Denhardt's salt, 2xSSC, 100 mM EDTA, 100 mg/ml yeast tRNA, 0.01% Tween 20, 5% Dextran sulfate ve DIG veya FITC ile işaretli RNA problr [final konsantrasyon: 100ng/ örnek]) 55°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Hibridizasyon sonrasında, örnekler önceden ısıtılmış yıkama solüsyonu ile (50% formamide, 2x SSC ve 0.1% Tween 20) 55°C'de 15 dakika boyunca yıkanmıştır. Fazla RNA problr uzaklaştırmak için, örnekler 10 mg/ml RNase A/ NTET tamponu ile 37°C'de 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Örnekler, tekrar tampon solüsyonu ile (2x SSC ve 0.01% Tween 20) 55°C'de 15 dakika boyunca yıkandı ve daha sonra son olarak ikinci bir tampon solüsyonu ile (0.1xSSC ve 0.01% Tween 20) ile 55°C'de 15 dakika boyunca 2 kere yıkanmıştır (18). Örnekler daha sonra TBST/bloklama solüsyonu ile oda sıcaklığında 1 saat boyunca bloklandı ve sonra bloklama solüsyonu içerisinde primer antikolar ile (SFPQ) oda sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. Örnekler, TBST ile her biri 5 dakika olacak şekilde 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra bloklama solüsyonu içerisinde Alexa flour 488 veya Alexa flour 594 konjuge ikincil antikolar ile yarım saat inkübe edilerek ve yine TBST ile 3 kez 5 dakika boyunca yıkanarak saf su ile durulanacaktır. İşlem bitiminde örnekler HOECST (1:1000) ile 5 dakika boyunca boyanmıştır. Deney bitiminde örnekler Zeiss LSM880 Konfokal Mikroskop ile görüntülenmiştir.

### 3.11. Sevofluran anestezisi uygulanan fare beyninin histolojik olarak incelenmesi

#### 3.11.1. Rutin Işık Mikroskopik İnceleme Yöntemi

Beyin dokuları %10'luk tamponlu formaldehit ile tespit edildikten sonra doku örnekleri, fiksatifin uzaklaştırılmaları amacıyla 1 gece akarsu altında yıkanmıştır. Rutin doku takibindeki tüm işlemler 60°C etüvde gerçekleştirilmiştir. Dehidrasyon amacıyla 20'şer dakika %70'ten %96'ya artan etil alkol serilerinden geçirilmiştir. Ardından 20'şer dakika 4 değişim aseton solüsyonlarından geçirilecektir. 60°C'lik etüv içerisinde 2 değişim parafin uygulanıp 1'er saat parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisinde gömülmüştür. Parafin bloklardan inceleme yapmak amacıyla mikrotom aracılığı ile 5µm'lik kesitler alınmıştır. Paxinos'un atlasına göre Plate 8-9 (prefrontal korteks), Plate 20-22'den (hipokampus) alınan kesitler sırası ile incelenmiştir (19). Elde edilen kesitlerden rutin ışık mikroskopik incelemeler ve nöron sayımı için Cresyl Violet boyaması yapılmıştır. Prefrontal korteks ve hipokampusta (CA1, CA2, CA3 ve DG) nöronal dansitenin hesaplanması için kresil violet ile boyanan kesitlerden her deneğe ait 4 preparattan, rasgele 5'er alanda Image J programında nöronal dansite hesaplanmıştır.

### 3.11.2. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunohistokimyasal inceleme için 60°C lik etüvde 1 gece ve de 3 değişim 20'şer dakika deparafinize edilen doku kesitleri, azalan alkol serilerinde rehidrate edildikten sonra 10 dakika distile su ile yıkanmıştır. Dokuya zarar vermeden kurulanıp dakopen (Dako, Glostrup, Denmark) ile çevreleri sınırlanmıştır. Diğer antikorlar için tripsin solüsyonu içinde 37°C etüvde 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük Hidrojen peroksit uygulanmıştır. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler 1 saat oda ısısında bloklama solüsyonu ile inkübe edilmiş ve ardından yıkama yapılmadan: Bcl-2/Caspase-3 (apoptoz yolağı), NeuN (nöronal hasar), antikorları ile bir gece +4°C'de inkübe edilmiştir. Ardından fosfatlı tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor ile 30 dk inkübe edilmiştir. PBS solüsyonu ile yıkama yapıldıktan sonra enzimle işaretli (peroksidaz) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) 30 dakika uygulanmıştır. Reaksiyonun görünür hale getirilmesi için Diaminobenzidin (DAB) kullanılmıştır. Deccialolereehiraasyon işlemi gerçekleştirilen kesitler ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatılmıştır. Boyanan kesitlerden her deneğe ait belirlenen alanlara ait 4 preparattan, rasgele 5'er alanda ImageJ programında immunpozitif hücreler hesaplanmıştır.

### 3.11.3 Sevofluran nörotoksisitesinde NEAT1'in rolünün anlaşılması

Sevofluran anestezisinin fare beyinindeki nörotoksisitenin NEAT1 üzerine etkisinin incelenmesi için NEAT1 *Knockout* (KO) fareler kullanılmıştır (2022-022 protokol nolu İBG-HADYEK etik kurul kararı). Postnatal 7.gündeki NEAT1 KO farelerde (kontrol ve sevofluran grubu) sevofluran nörotoksisitesinin NEAT1 üzerine etkilerinin incelenmesi nöron sayımı (3.11.1) ve immunohistokimya (3.11.2) ile gerçekleştirilmiştir.

#### ***İstatistik***

Sonuçlar SPSS programı ile değerlendirildi. NEAT1 ve miR-124 sonuçları Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Neun, Bcl-2 ve cleaved-caspase 3 boyamalarının gruplar arası değerlendirilmesi ise iki yönlü Anova ile değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1 seviyesinin ölçülmesi

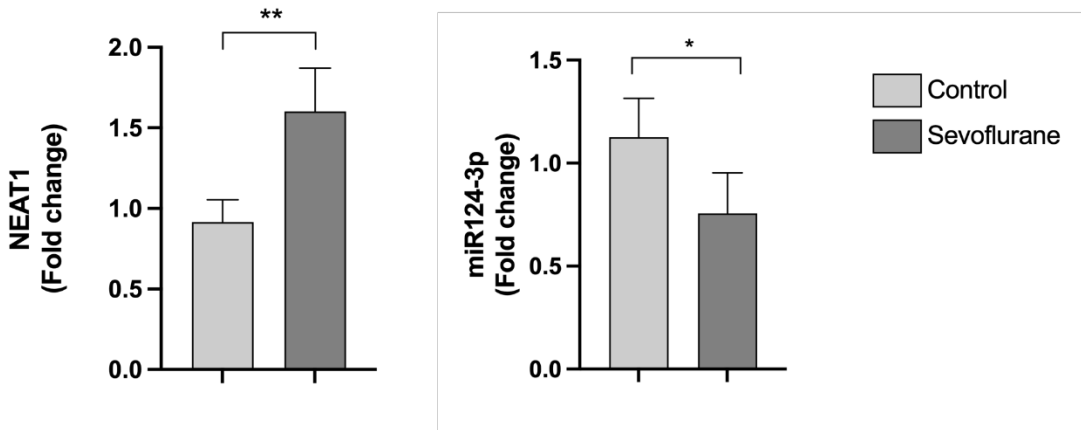
Kontrol ve Sevofluran grubundaki NEAT1 ekspresyon düzeyindeki değişiklik Şekil 3’de verilmiştir. NEAT1 ekspresyonunun sevofluran uygulanan farelerde kontrol grubuna göre anlamlı ( $p<0.001$ ) şekilde artış gösterdiği saptanmıştır.

KO kontrol ve sevofluran gruplarının NEAT1 ekspresyonları Şekil 4’de gösterilmiştir. NEAT1 ekspresyonları açısından iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

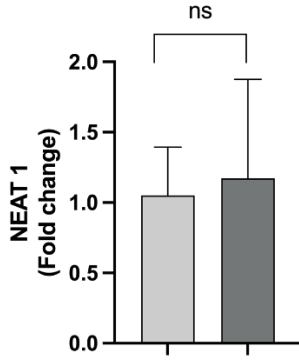
### 4.2. Sevofluran anestezisi uygulanan farelerde Real Time PCR yöntemiyle NEAT1’in hedefi olan miR-124’ün ölçülmesi

Kontrol ve Sevofluran grubundaki NEAT1 ekspresyon düzeyindeki değişiklik Şekil 3’de verilmiştir.

miR-124 ekspresyonunun sevofluran uygulanan farelerde kontrol grubuna göre anlamlı ( $p<0.05$ ) şekilde azalma gösterdiği saptanmıştır.



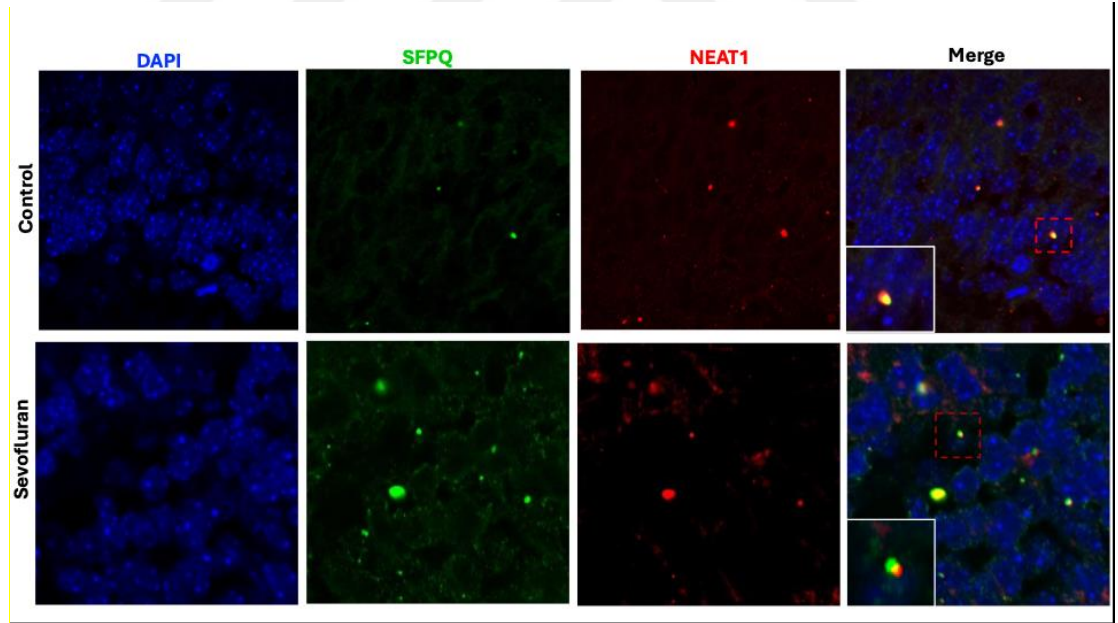
Şekil 3. P7 Balb/c farelerde NEAT1 ve hedefi miR-124’ün ekspresyon değişimi (Data ortalama  $\pm$  S.E.M, n = 5, \* $p<0.05$ , \*\* $p < 0.001$ )



**Şekil 4.** KO kontrol ve sevofluran gruplarının NEAT1 ekspresyonları (Data ortalama±SEM,  $p>0.05$ ).

#### 4.3.NEAT1 FISH ve SFPQ İmmün Boyaması ile Paraspeckle formasyonunun belirlenmesi

Şekil 5’de konfokal mikroskop görüntüleri verilmektedir. Sevofluran grubunda kontrol grubuna göre NEAT1 FISH sinyalinde anlamlı bir artış saptanmıştır.

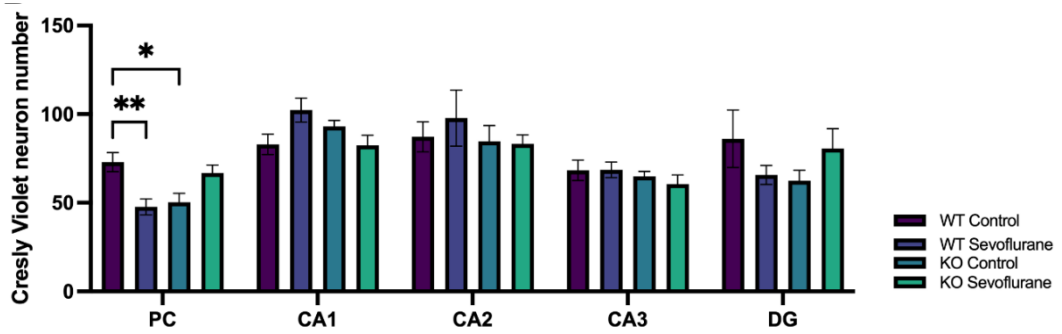


**Şekil 5.** Kontrol WT ve Sevofluran WT gruplarında hipokampusta NEAT1 ve SFPQ immünboyaması için yapılan *fluorescence in-situ hybridization* (FISH). Son resimdeki beyaz kutu aynı resimdeki NEAT1 ve SFPQ kolokalizasyonunu gösteren kırmızı kutunun büyütülmüş görüntüsüdür. Mavi DAPI ile boyanan hücre çekirdeğini, kırmızı NEAT1’ ı ve yeşil SFPQ’ yu göstermektedir. (Büyütme 40x, Zeiss LSM880 konfokal mikroskop).

#### 4.4. Sevofluran anestezisi uygulanan rat beyninin histolojik olarak incelenmesi

##### 4.4.1. Rutin Işık Mikroskopik İnceleme Yöntemi

Kresil viyole boyama, nöronal yoğunluğun prefrontal kortekste Kontrol KO grubunda, Kontrol WT grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı saptanmıştır. Ayrıca Sevofluran WT grubunda Kontrol WT grubuna göre nöronal yoğunluğun prefrontal kortekste anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (Şekil 6, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

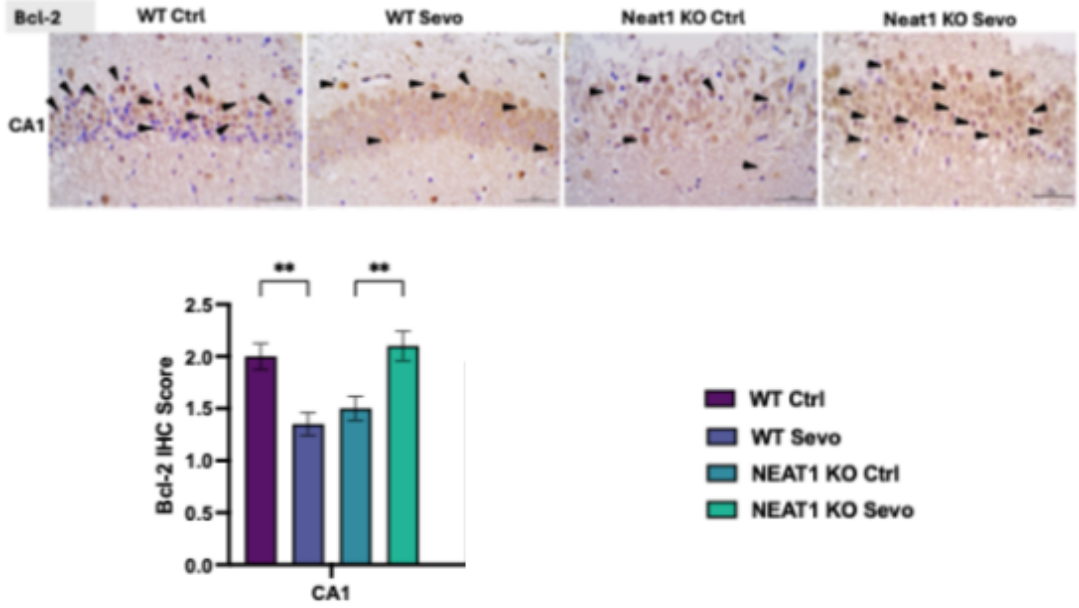


**Şekil 6.** Prefrontal korteks ve hipokampusta kresil viyole boyaması ile nöronal yoğunluğu her deneğe ait 4 preparattan rastgele seçilen 5 alanda sayım yapıp Image J programı kullanılarak hesaplanmıştır. Görüntüler ışık mikroskopunda 40X büyütme ile alınmıştır (Data ortalama  $\pm$  S.E.M,  $n = 5$ , \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ). PC; Scale bar 200  $\mu\text{m}$ , CA1, CA2, C3 ve GD; Scale bar 50 $\mu\text{m}$ .

##### 4.4.2. İmmunohistokimyasal İnceleme

Sevofluran nörotoksitesinin fare beynini nasıl etkilediğini anlayabilmek için beyin dokuları apoptozu değerlendirebilmek için Bcl-2 ve *cleaved-caspase 3* ile, nöronal hasarı değerlendirebilmek içinse NeuN boyası ile boyanmıştır.

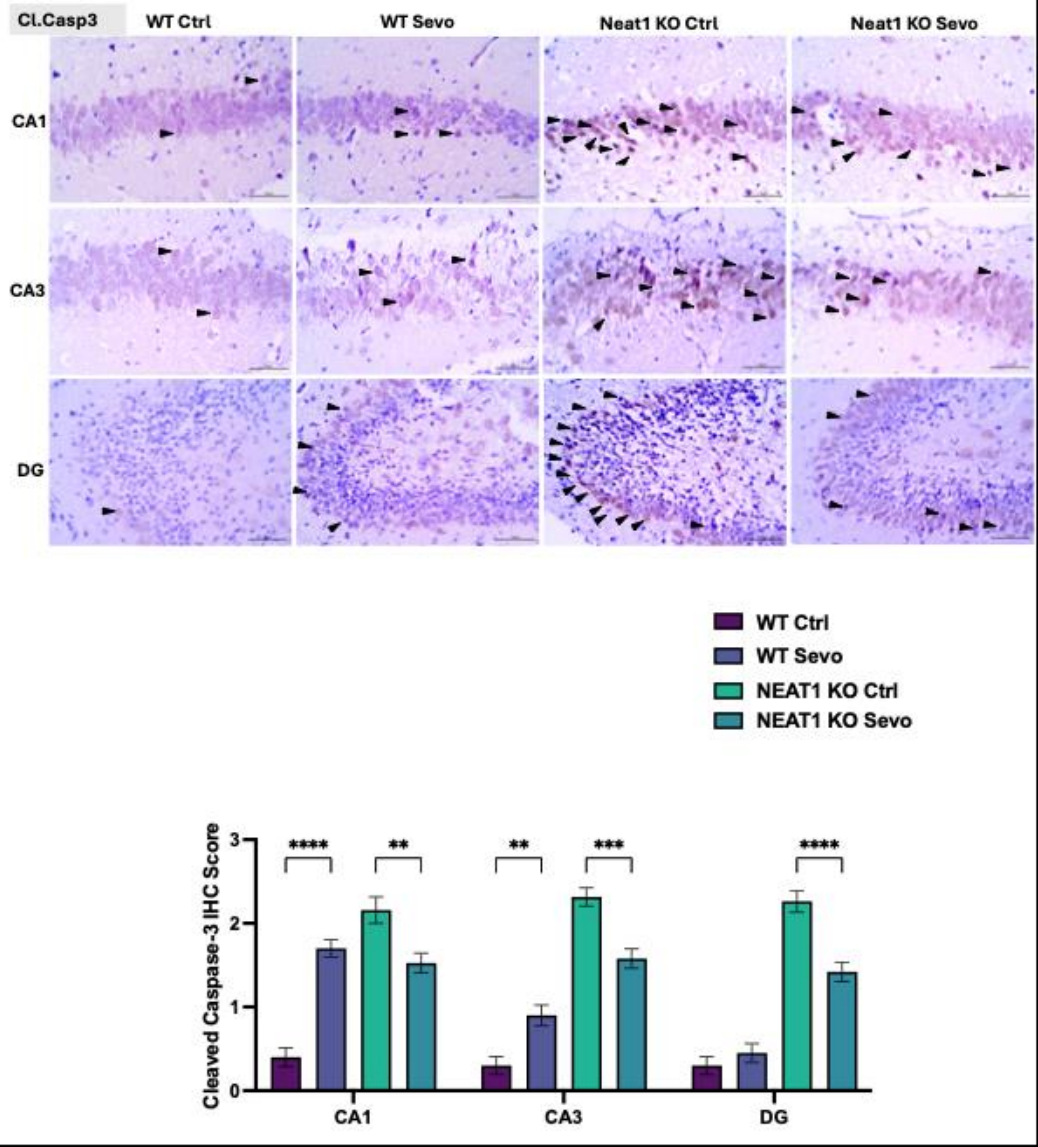
Sevofluran anestezisi, değerlendirilen diğer beyin bölgelerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmazken, hipokampusun CA1 bölgesinde kontrol WT grubuna göre Bcl-2 düzeyini anlamlı olarak azaltmıştır. NEAT1 KO farelerde ise kontrol grubunda düşük olan Bcl-2 seviyeleri sevofluran uygulaması ile artmıştır (Şekil 7A). Boyanan kesitlerden her deneğe ait belirlenen alanlara ait 4 preparattan, rasgele 5'er alanda Image J programında immunpozitif hücreler hesaplanmıştır (Şekil 7B).



**Şekil 7. A)** Kontrol ve Sevofluran gruplarında hipokampus CA1 bölgesinde Bcl-2 boyaması. Görüntüler ışık mikroskopunda 40x büyütme ile alınmıştır. Scale bar 50µm. **B)** Hipokampus CA1 bölgesinde kontrol ve sevofluran gruplarının Bcl-2 boyaması ile saptanan immunpozitif hücrelerin grafik şeklinde sunumu (Data ortalama ± S.E.M, n = 5, \*\*p < 0.01).

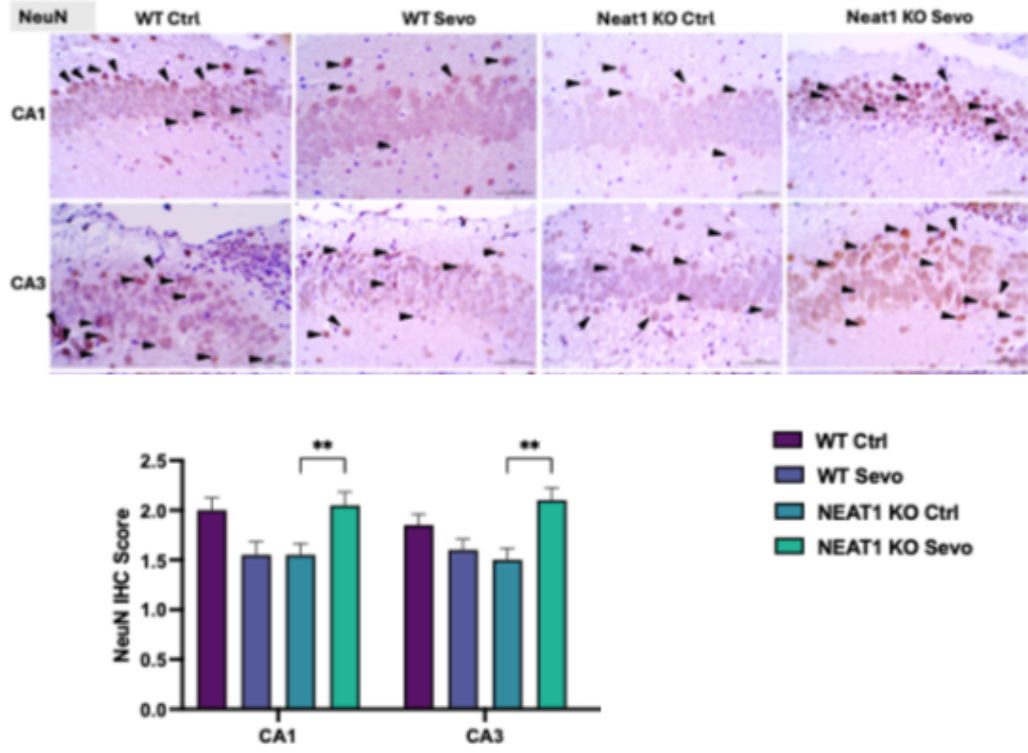
İmmünohistokimyasal Skoring: İmmün boyanma yoğunluğu 0 (boyama yok), 1 (zayıf ancak saptanabilir boyanma), 2 (orta boyanma) ve 3 (yoğun boyanma) olarak skorlandı ve grupların ortalamaları alındı (20).

Sevofluran WT grubunda, Kontrol WT grubuna göre *cleaved caspase 3* seviyeleri hipokampus CA1, CA3 ve DG bölgelerinde yükselmiştir. Bu bulgunun NEAT1 KO farelerde tersine döndüğü, sevofluran maruziyetinin kontrol grubuna göre *cleaved caspase 3* düzeylerini azalttığı saptanmıştır.



**Şekil 8.** A) Kontrol ve Sevofluran gruplarının hipokampus CA1, CA3 ve DG bölgelerinde cleaved-caspase 3 boyaması. Görüntüler ışık mikroskopunda 40x büyütmede alınmıştır. Scale bar 50µm B) Kontrol ve sevofluran grubunda cleaved-caspase 3 boyaması yapılan dokularda immunpozitif hücrelerin grafik gösterimi (Data ortalama ± S.E.M, n = 5, \*\*p < 0.01 , \*\*\*p < 0.001, \*\*\*\*p < 0.0001)

Nöronal hasarı saptamak için yapılan NeuN boyamasında hipokampusun CA1 ve CA3 bölgelerinde Sevofluran WT grubunda kontrol WT grubuna göre azalma saptanmıştır. NEAT1 KO farelerde bu bulgu tersine dönmüş ve sevofluran grubunda kontrol grubuna göre NeuN boyanmasında artış saptanmıştır.



**Şekil 9.** A) Wild type ve Knock-out deneklerde hipokampusta (CA1, CA3) yapılan NeuN boyaması. Görüntüler ışık mikroskobunda 40x büyütmede alınmıştır. Scale bar 50µm. B) Kontrol ve sevofluran grubunda hipokampusta (CA1, CA3) NeuN boyaması yapılan dokularda immunpozitif hücrelerin grafik gösterimi (Data ortalama ± S.E.M, n = 5, \*\*p < 0.01)

## 5. TARTIŞMA

Çok sayıda bebek doğumdan sonra erken bir dönemde genel anestezi altında ameliyat, müdahale veya muayene olmaktadır (21). FDA 2016'da yaygın olarak kullanılan 11 sedatif ve anestezi ilaçlarının üçüncü trimesterdeki hamile kadınlarda ve 3 yaşın altındaki çocuklarda potansiyel nörotoksik etkileri olduğunu belirten bir ilaç güvenliği uyarısı yayınlamıştır. Bu bakımdan genel anestezinin nörotoksitesisi giderek daha fazla dikkat çekmektedir. Bu çalışmamızda da sevofluranın yenidoğan farelerde nörotoksik etkileri olabileceği gösterilmiştir.

Sevofluran inhalasyon indüksiyonunda düşük kan gazı çözünürlüğü sayesinde hızlı indüksiyon ve uyanma sağladığı için pediatrik anestezide sıklıkla tercih edilen anestezi ajandır (21). Hayvan çalışmalarında sevoflurana uzun süreli veya tekrarlanan maruz kalmalarda gelişmekte olan beyinde nörotoksik etkileri gösterilmiştir. Farelerde yapılan deneylerde, maternal sevofluran anestezisinin yavrularda sosyal etkileşim eksikliklerine neden olduğu gösterilirken (22) başka bir çalışmada neonatal dönemde sevofluran anestezisi uygulanan farelerde erişkin dönemde bilişsel işlev bozukluğu riskini artırabileceği (23) ve tekrarlanan sevofluran maruziyetlerinde yine erişkin dönemde dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu benzeri davranışlara yol açabileceği gösterilmiştir (24). Literatürle uyumlu olarak bizim çalışmamızda da Bcl-2 ve cleaved-caspase 3 boyamalarıyla sevofluranın yenidoğan farelerde apoptoza neden olduğunu gösterdik.

NEAT1 (Nuclear Enriched Abundant Transcript 1) uzun kodlamayan RNA'lardandır (lncRNA) ve yaklaşık 200 nükleotidden oluşmaktadır. NEAT1 çok çeşitli biyolojik fonksiyonlarda önemli bir regülatör molekül olarak görev almaktadır (15). miR-124 NEAT1'in valide edilmiş hedeflerinden birisidir (25). Beyinde miRNA'lar nöral gelişimin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Özellikle miR-124'ün nöral gelişim, farklılaşma ve olgunlaşmanın çeşitli aşamalarında aktif olarak yer aldığı gösterilmiştir (26). Bu çalışmada postnatal 7.günde olan BALB/c yavru farelerin sevofluran anestezisi sonrası NEAT1 ekspresyonunda artış saptanırken hedefi olan miR-124-3p ekspresyonunda azalma gözlenmiştir. Hipokampal apoptozda ise artış saptanması sevofluran anestezisinin nörotoksik etkileri olduğunu göstermiştir.

Sevofluran anestezisi postnatal 7.günde olan BALB/c yavru farelere uygulandıktan sonra NEAT1 ve hedefi olan miR-124-3p ekspresyonu değerlendirildiğinde NEAT1 ekspresyonunda anlamlı artış saptanırken hedefi olan miR-124-3p'nin ekspresyonunda anlamlı azalma saptanmıştır. Sonrasında NEAT1 paraspeckle yapısını oluşturan SFPQ proteinlerinin incelenmesi için NEAT1 FISH ve SFPQ immün boyaması yapılarak paraspeckle formasyonu belirlenmiştir. NEAT1 ekspresyonuna benzer şekilde NEAT1'in Sevofluran grubunda kontrol grubuna göre fazla olduğu görülmektedir. SFPQ immün boyamalarında kontrol ve sevofluran grubu arasında herhangi bir fark gözlemlenmemiştir. Sevofluranın hipokampustaki nörotoksik etkilerinin incelenmesi için nöronal dansite hesaplaması, Bcl-2, cleaved caspase-3, NeuN, immunohistokimyasal boyamaları yapılmıştır. Hipokampusta kontrol grubuna göre sevofluran grubunda prefrontal kortekste ve DG (gyrus dentatus) nöronal dansitenin azaldığı görülmüştür. Bcl-2 boyaması incelendiğinde hipokampüste incelen tüm bölgelerde kontrole göre sevofluran grubunda Bcl-2 pozitif hücre sayısında azalma olduğu görülse de anlamlı azalmanın olduğu iki bölgenin prefrontal korteks ve CA1 olduğu görülmüştür. Cleaved caspase-3 için ise tam tersi bir durum söz konusudur, incelenen tüm bölgelerde kontrol grubuna göre sevofluran grubunda cleaved caspase-3 pozitif hücre sayısında anlamlı artış (DG bölgesi hariç) saptanmıştır. Son olarak NeuN boyaması incelendiğinde incelenen tüm bölgelerde kontrole göre sevofluran grubunda NeuN pozitif hücre sayısında azalma görülse de anlamlı azalmanın olduğu tek bölge CA1 bölgesi olmuştur. KO Kontrol ve KO sevofluran grubu ile yaptığımız çalışmalarda kontrol grubunda Bcl-2 immün boyamasında azalma gözlenirken sevofluran grubunda artış gözlenmiştir. Benzer şekilde KO kontrol grubunda NeuN immün boyamasında azalma gözlenirken KO sevofluran grubunda artış gözlenmiştir. KO kontrol grubunda cleaved-caspase 3 immün boyamasında artış gözlenirken KO sevofluran grubunda azalma gözlenmiştir. Sunduğumuz çalışmamız sevofluran nörotoksitesinin NEAT1 aracılığı ile olabileceği yönünde sonuçlar içermektedir. Zhao ve ark., 2021 yılında yapılan bir çalışmada bizim sonuçlarımızı destekler şekilde 6 saat sevofluran uygulaması sonrası sevofluran grubunda kontrole göre miR-124 ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır (27).

Maternal sıçanlara sevofluran anestezisi yapıldıktan sonra postnatal 28. gündeki yavrularda CA1 bölgesinde yapılan nöronal dansite hesaplamasında sevofluran grubunda azalma saptanmıştır (28). Bizim çalışmamızda ise sadece prefrontal korteks bölgesinde benzer şekilde sevo grubunda pozitif hücre sayısında azalma, CA1 bölgesinde ise anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. CA1 bölgesinde nöronal dansite açısından farklılık olmasının nedeni sıçan olması ve yavruların postnatal 28. günde olması (nöronal gelişim açısından) farklılık yaratmış olabilir. Yapılan çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde postnatal 7. günde sevofluran uygulaması yapılan sıçan yavrularında CA1 ve CA3 bölgelerinde nöronal dansitede azalma görülmüştür (29). Aynı şekilde Feng ve ark., 2012'deki postnatal 7. günde sevofluran uygulaması yapılan sıçan yavrularında da CA1 ve CA3 bölgelerinde nöronal dansitede azalma görülmüştür (30).

Sevofluranın hipokampüsteki nörotoksik etkilerinin incelenmesi için Bcl-2, cleaved caspase-3 ve NeuN, immunohistokimyasal boyamaları yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda bizim aksimize Bcl-2 değişimlerini western blot ile incelemiştir hipokampus bölgesinde kontrole göre sevofluran grubunda Bcl-2 pozitif hücrelerin anlamlı şekilde azaldığını gözlemlemişlerdir (29, 31,32). Çalışmamızda yapılan çalışmalardan farklı olarak IHC boyaması ile Bcl- 2'nin hipokampüste incelenmesinde, çalışmalarla benzer şekilde hipokampusün incelediğimiz tüm bölgelerinde (sadece PK ve CA1 bölgesinde pozitif hücre sayısında anlamlı azalma mevcut) sevofluran grubunda azalma bulunmuştur. Çalışmamızda cleaved caspase-3 bakımından nörotoksiste değerlendirmesi yapıldığında hipokampüsteki DG bölgesi haricinde PK, CA1 ve CA3 bölgelerinde sevofluran grubunda pozitif hücre sayısında anlamlı artış saptanmıştır. Postnatal 7 günlük sıçanlarda yapılan sevofluran uygulamasında bizim çalışmamıza benzer şekilde sevofluran grubunda CA1 ve CA3 bölgelerinde pozitif hücre sayısında artış saptanmıştır (33,34). Yapılan postnatal 7 günlük farelerde yapılan bir çalışmada sevofluran grubu CA1 bölgesinde caspase 3 pozitif hücre sayısında anlamlı artış gösterilmiştir (35). Çalışmamızda NeuN pozitif hücreler değerlendirildiğinde hipokampüste incelediğimiz tüm bölgelerde sevofluran grubundaki pozitif hücre sayısında azalma görülmüştür. Farelere postnatal 6.günde yapılan sevofluran uygulamasında kontrol grubu ve sevofluran grubu arasında tüm hipokampüsteki NeuN pozitif hücre sayısı bakımından fark görülemediği (36). Bu

çalışmada bizden farklı olarak 2 saat süre ile sevofluran uygulaması yapılmıştır. 18 aylık farelerde yapılan bir çalışmada sevofluran grubunun NeuN pozitif hücre sayısında azalma bulunmuştur (37). Yapılan başka bir çalışmada, postnatal 7 günlük sıçanlara sevofluran uygulamasında sevofluran grubunda anlamlı NeuN pozitif hücre sayısında azalma gözlemlenmiştir (38).

Wang ve ark. (39) tarafından yapılan çok yeni bir çalışmada, çalışmacılar bizim sonuçlarımıza benzer şekilde sevofluran anestezisi sonrası NEAT1 ekspresyonunda artış olduğunu göstermişlerdir. Sevofluran ilişkili nörotoksistide NEAT1/Nrf2 yolağını araştırdıkları çalışmalarında NEAT1' in Nrf2 yolağını inhibe ederek apoptoz ve öğrenme-bellek kusurlarına yol açtığını bulmuşlardır. İntraventiküler lentivirüs enjeksiyonu ile NEAT1' i susturdıkları gruplarda bizim sonuçlarımıza benzer şekilde hipokampusta apoptozun azaldığını göstermişlerdir.

## **6. SONUÇ VE ÖNERİLER**

Sonuç olarak, sunduğumuz çalışmamızda kontrol grubuna göre sevofluran grubunda NEAT1 ve hedefi olan miR-124'te artış saptanmıştır. Ayrıca sevofluran anestezisi uygulanan fare beyni histolojik olarak incelendiğinde Bcl-2 boyaması yapılan beyin kesitlerinde sevofluran grubunda prefrontal korteks ve CA1 bölgesinde kontrole göre Bcl-2 pozitif hücre sayısında azalma saptanmıştır. Apoptoz yolağı ile ilgili olan bir diğer immun boyaması cleaved-caspase 3 ile yapılmıştır. Sevofluran grubunda kontrole göre prefrontal kortekste ve hipokampüste artış saptanmıştır. Sevofluranın nöronlar üzerindeki etkisini incelemek için NeuN immun boyaması yapılmıştır. Kontrol ve sevofluran grubu farelerde yapılan NeuN boyamasında hipokampus (CA1) bölgesinde anlamlı azalma saptanmıştır. Aynı immun boyamalar NEAT1 KO farelerle yapılmıştır. NEAT1 KO farelerde sevofluran anestezisi sonrası apoptozun pro-survival ailesinin bir üyesi olan Bcl2' nin arttığı ve bununla uyumlu olarak da sevofluran ile apoptoz boyamalarında azalma ve NeuN immun boyamasında artış olduğu saptanmıştır. Özetle immun boyamalarda NEAT1 KO farelerde geri dönüşün saptanması sevofluran ilişkili nörotoksistide NEAT1'in rolü olduğunu göstermiştir. SİN' de görülebilen kognitif fonksiyon bozukluğunda da NEAT1' in yeri olup olmadığının incelenmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Anestezi ilişkili

nörotoksisitenin mekanizmasının açıklığa kavuşturulması nörotoksisitenin önlenmesi veya tedavisinin bulunması açısından önemlidir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Sun Z, Satomoto M, Adachi YU, Kinoshita H and Makita K. Inhibiting NADPH oxidase protects against long-term memory impairment induced by neonatal sevoflurane exposure in mice. *Br J Anaesth* 2016;117(1): 80-86.
2. Huang H, Liu CM, Sun J, Jin WJ, Wu YQ and Chen J. Repeated 2% sevoflurane administration in 7- and 60-day-old rats: Neurotoxicity and neurocognitive dysfunction. *Anaesthesist* 2017;66(11): 850-857.
3. Fan CH, Peng B and Zhang FC. The postoperative effect of sevoflurane inhalational anesthesia on cognitive function and inflammatory response of pediatric patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018;22(12): 3971-3975.
4. Loepke AW and Soriano SG. An assessment of the effects of general anesthetics on developing brain structure and neurocognitive function. *Anesth Analg* 2008;106(6): 1681-1707.
5. Prinz F, Kapeller A, Pichler M, Klec C. The Implications of the Long Non-Coding RNA NEAT1 in Non-Cancerous Diseases. *Int J Mol Sci* 2019;20(3).
6. An H, Williams NG, Shelkownikova TA. NEAT1 and paraspeckles in neurodegenerative diseases: A missing Inc found? *Noncoding RNA Res* 2018;3(4): 243- 252.
7. Mishima T, Mizuguchi Y, Kawahigashi Y, Takizawa T, Takizawa T. RT-PCR-based analysis of microRNA (miR-1 and -124) expression in mouse CNS. *Brain Res* 2007;1131(1): 37-43.
8. Baroukh NN, Van Obberghen E. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain. *FEBS J* 2009;276(22): 6509-6521.
9. Sun Y, Luo ZM, Guo XM, Su DF, Liu X. An updated role of microRNA-124 in central nervous system disorders: a review. *Front Cell Neurosci.* 2015 May 20;9:193. doi: 10.3389/fncel.2015.00193.
10. Pertea M. The human transcriptome: an unfinished story. *Genes (Basel)* 2012;3(3): 344-360.

11. Yao R, Wang WY, Chen LL. Cellular functions of long noncoding RNAs. *Nat Cell Biol* 2019;21(5):542-551.
12. St Laurent G, Wahlestedt C, Kapranov P. The Landscape of long noncoding RNA classification. *Trends Genet* 2015;31(5): 239-251.
13. Mercer TR, Mattick JS. Structure and function of long noncoding RNAs in epigenetic regulation. *Nat Struct Mol Biol* 2013;20(3): 300-307.
14. Cui Y, Yin Y, Xiao Z, Zhao Y, Chen B, Yang B, Xu B, Song H, Zou Y, Ma X, Dai J. LncRNA Neat1 mediates miR-124-induced activation of Wnt/beta- catenin signaling in spinal cord neural progenitor cells. *Stem Cell Res Ther* 2019;10(1): 400.
15. Wei X, Xu S, Chen L. LncRNA Neat1/miR-298-5p/Srpk1 Contributes to Sevoflurane-Induced Neurotoxicity. *Neurochem Res* 2021;46(12): 3356-3364.
16. Yu Q, Li J, Dai CL, Li H, Iqbal K, Liu F, Gong CX. Anesthesia with sevoflurane or isoflurane induces severe hypoglycemia in neonatal mice. *PLoS One* 2020;15(4): e0231090.
17. Dunaeva M, Blom J, Thurlings R, Pruijn GJM. Circulating serum miR-223-3p and miR-16-5p as possible biomarkers of early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2018;193(3): 376-385.
18. Yamazaki T, Souquere S, Chujo T, Kobelke S, Chong YS, Fox AH, Bond CS, Nakagawa S, Pierron G, Hirose T. Functional Domains of NEAT1 Architectural lncRNA Induce Paraspeckle Assembly through Phase Separation. *Mol Cell* 2018;70(6): 1038-1053 e1037.
19. George Paxinos CW. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates - The New Coronal Set*. 2004 Academic Press.
20. Altınöz SSC, Micili S, Soy D, Engür B, Baysal A, Kumral A. Impact of Maternal Ketogenic Diet on NLRP3 Inflammasome Response in the Offspring Brain. *Nutrients* 2023;15(8).
21. Sun M, Xie Z, Zhang J, Leng Y. Mechanistic insight into sevoflurane- associated developmental neurotoxicity. *Cell Biol Toxicol* 2022;38(6): 927-943.

22. Chen Q, Chu W, Sheng R, Song S, Yang J, Ji F, Jin X. Maternal anesthesia with sevoflurane during the mid-gestation induces social interaction deficits in offspring C57BL/6 mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2021;553: 65-71.
23. Dai C, Li LH, Hu X, Zhang J, Liu F, Iqbal K, Gong CX. Neonatal Exposure to Anesthesia Leads to Cognitive Deficits in Old Age: Prevention with Intranasal Administration of Insulin in Mice. *Neurotox Res* 2020;38(2): 299-311.
24. Xie L, Liu Y, Hu Y, Wang B, Zhu Z, Jiang Y, Suo Y, Hu M, Gao J, Ullah R, Hu Z. Neonatal sevoflurane exposure induces impulsive behavioral deficit through disrupting excitatory neurons in the medial prefrontal cortex in mice. *Transl Psychiatry* 2020;10(1): 202.
25. Yuan D, Zhu D, Yin B, Ge H, Zhao Y, Huang A, Wang X, Cao X, Xia N, Qian H. Expression of lncRNA NEAT1 in endometriosis and its biological functions in ectopic endometrial cells as mediated via miR-124-3p. *Genes Genomics* 2022;44(5): 527-537.
26. Danis RK. Lymphoid hyperplasia of the ileum--always benign disease? *Am J Dis Child* 1974;127(5): 656-662.
27. Zhao Z, Ma L, Li Y, Zhang Q, Wang Y, Tai Y, Wang Q. MiR-124 protects against cognitive dysfunction induced by sevoflurane anesthesia in vivo and in vitro through targeting calpain small subunit 1 via NF-kappaB signaling pathway. *Adv Clin Exp Med* 2021;30(7): 701-709.
28. Zhang Y, Kuai S, Zhang Y, Xue H, Wu Z, Zhao P. Maternal sevoflurane exposure affects neural stem cell differentiation in offspring rats through NRF2 signaling. *Neurotoxicology* 2022;93: 348-354.
29. Zhou X, Li W, Chen X, Yang X, Zhou Z, Lu D, Feng X. Dose- dependent effects of sevoflurane exposure during early lifetime on apoptosis in hippocampus and neurocognitive outcomes in Sprague-Dawley rats. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2016;8(3): 111-119.
30. Feng X, X., Liu JJ, Zhou X, Song FH, Yang XY, Chen XS, Huang WQ, Zhou LH, Ye JH. Single sevoflurane exposure decreases neuronal nitric oxide synthase levels in the hippocampus of developing rats. *Br J Anaesth* 2012;109(2): 225-233.

31. Chen X, Zhou X, Lu D, Yang X, Zhou Z, Chen X, Chen Y, He W, Feng X. Aberrantly expressed long noncoding RNAs are involved in sevoflurane- induced developing hippocampal neuronal apoptosis: a microarray related study. *Metab Brain Dis* 2016;31(5): 1031-1040.
32. Sun L, Li Y, Wang D, Hong X. SESN2 attenuates sevoflurane-induced cognitive impairment and neuroinflammation in rats. *Exp Brain Res* 2024;242(2): 375-384.
33. Zhou X, Song FH, He W, Yang XY, Zhou ZB, Feng X, Zhou LH. Neonatal exposure to sevoflurane causes apoptosis and reduces nNOS protein expression in rat hippocampus. *Mol Med Rep* 2012;6(3): 543-546.
34. Zhou X, Xian D, Xia J, Tang Y, Li W, Chen X, Zhou Z, Lu D, Feng X. MicroRNA-34c is regulated by p53 and is involved in sevoflurane-induced apoptosis in the developing rat brain potentially via the mitochondrial pathway. *Mol Med Rep* 2017;15(4): 2204-2212.
35. Lu Z, Sun J, Xin Y, Chen K, Ding W, Wang Y. Sevoflurane-induced memory impairment in the postnatal developing mouse brain. *Exp Ther Med* 2018;15(5): 4097-4104.
36. Huang C, He T, Wang D, Wu Z, Wang Y, Liu H, Xu J, Yang C, Chen G, Liu C. PP2A-associated tau hyperphosphorylation was involved in sevoflurane induced neonatal neurotoxicity. *Psychopharmacology (Berl)* 2022;239(9): 2799-2807.
37. Liang J, Han S, Ye C, Zhu H, Wu J, Nie Y, Chai G, Zhao P, Zhang D. Minocycline Attenuates Sevoflurane-Induced Postoperative Cognitive Dysfunction in Aged Mice by Suppressing Hippocampal Apoptosis and the Notch Signaling Pathway-Mediated Neuroinflammation. *Brain Sci* 2023;13(3).
38. Zuo C, Ma J, Pan Y, Zheng D, Chen C, Ruan N, Su Y, Nan H, Lian Q, Lin H. Isoflurane and Sevoflurane Induce Cognitive Impairment in Neonatal Rats by Inhibiting Neural Stem Cell Development Through Microglial Activation, Neuroinflammation, and Suppression of VEGFR2 Signaling Pathway. *Neurotox Res* 2022;40(3): 775-790.

39. Wang Y, Li N, Chen X, Zhao Y, Qu L, Cai D. Mechanistic insights into sevoflurane-induced hippocampal neuronal damage and cognitive dysfunction through the NEAT1/Nrf2 signaling axis in aged rats. *Cell Biol Toxicol.* 2024 Dec 21;41(1):13. doi: 10.1007/s10565-024-09964-4.



Gündem No/Toplantı No/Yıl : 08/07/2021

35340, Inciraltı, İzmir-232 4122234

Toplantı Tarihi : 18 Mayıs 2021

Sayın, Doç. Dr. Elvan GÖÇMEN  
DEÜ Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı

31/2021 Protokol No'lu; Yürütücüsü olduğunuz " Sevofluran İlişkili Nörotoksisitede NEAT1' in Rolü " isimli, Burak İbrahim ARIÖZ, Hale AKSU ERDOST, Serap CİLAKER MIÇILI, Ozan TARI, Ali Necati GÖKMEN, Şermin GENÇ'in araştırmacı olduğu, 9-11 gr. ağırlığında postnatal 7. Günde olan 10 adet Wistar Albino suşu yavru sıçan talep edilen projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir. Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Pr  
Hayvan

Prof

Prof. Dr. Ne

Prof

Prof. D

Dr. Ög

Öğr. G

Üye

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır

Gündem No/Toplantı No/Yıl : 04/12/2022  
Toplantı Tarihi 21 Eylül 2022

Sayın, Doç. Dr. Elvan ÖÇMEN  
DEÜ Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

31/2021 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz "Sevofluran İlişkili Nörotoksisitede NEAT1'in Rolü " isimli; Burak İbrahim ARIÖZ, Hale AKSU ERDOST, Serap CİLAKER MIÇILI, Ozan TARI, Necati GÖKMEN'in araştırmacı olduğu projenin uygulanmasının etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Pr  
Hayvan

Pro

Prof.Dr.N

Prof

Prof.

Öğr.

Öğr

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.





# ELVAN ÖÇMEN

## Kişisel Bilgiler

### İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

### Öğrenim Bilgileri

04 Eylül 2019 - Şu Anda (5 yıl 4 ay)  
Doktora, Doktora, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TEMEL SINIR BİLİMLER (DR)  
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.71 / 4.0

01 Nisan 2002 - 01 Ocak 2007 (4 yıl 10 ay)  
Tıpta Uzmanlık, Anadal/Normal Öğretim, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE  
TIP FAKÜLTESİ, CERRAHİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ  
Tez Başlığı: Karaciğer İskemi Repefüzyon Hasarına Direkt Ve Uzak İskemik  
Önkoşullamanın Etkisi  
Tez Konusu: Karaciğer İskemi Repefüzyon Hasarına Direkt Karaciğere Veya  
Bacağa Uygulanan Uzak İskemik Önkoşullamanın Etkisinin İncelenmesi  
Tarih: 2007  
Tez Danışmanı: ÇİMEN GÜLBEN OLGUNER

01 Eylül 1995 - 01 Eylül 2001 (6 yıl 1 ay)  
Lisans, Anadal/Normal Öğretim, EGE ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE  
TIP FAKÜLTESİ, TIP PR.

01 Eylül 1989 - 01 Haziran 1995 (5 yıl 10 ay)  
BORNOVA ANADOLU LİSESİ, TÜRKİYE

01 Eylül 1984 - 01 Haziran 1989 (4 yıl 10 ay)  
MUSTAFA REŞİT PAŞA İLKOKULU, TÜRKİYE

### Deneyim / İşyeri Bilgileri

Ekim 2017 - Şu Anda (7 yıl 3 ay) (Tam Zamanlı)  
DOÇ. DR., DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ CERRAHİ TIP BİLİMLERİ  
BÖLÜMÜ ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

Haziran 2009 - Şu Anda (15 yıl 7 ay) (Tam Zamanlı)  
UZMAN (DR.), DR., DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi)

Nisan 2007 - Nisan 2009 (2 yıl 1 ay) (Tam Zamanlı)  
UZMAN (DR.), SAĞLIK BAKANLIĞI TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU  
BAŞKANLIĞI DİYARBAKIR İLİ KAMU HASTANE BİRLİĞİ GENEL SEKRETERLİĞİ  
DİYARBAKIR ERGANİ DEVLET HASTANESİ

## Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanları

### Anahtar Kelimeler

Neonatal

Anesteziyoloji

Nörotoksisite

## Ar-Ge Yetkinlik

### Kitaplar

E. ÖÇMEN & V. HANCI, GENİTOÜRİNER CERRAHİDE ANESTEZİ, ANESTEZİYOLOJİ AKIL NOTLARI: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ, Kitapta Bölüm.

E. ÖÇMEN & A. N. GÖKMEN, ASİT BAZ DENGESİ VE BOZUKLUKLARI, GÜNCEL ANESTEZİ DERS NOTLARI: DERMAN MEDICAL PUBLISHING, Kitapta Bölüm.

E. ÖÇMEN, İNTRAVENÖZ VE İNHALASYON ANESTEZİKLERİ, MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL KLİNİK ANESTEZİ UYGULAMALARI: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ, Kitapta Bölüm.

E. ÖÇMEN, GENEL ANESTEZİ UYGULAMASI, MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL KLİNİK ANESTEZİ UYGULAMALARI: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ, Kitapta Bölüm.

E. ÖÇMEN, HAVAYOLUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ VE YÖNETİMİ, MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL KLİNİK ANESTEZİ UYGULAMALARI: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ, Kitapta Bölüm.

L. İYİLİKÇİ & E. ÖÇMEN, Ameliyathane Dışı uygulamalarda sedasyon ve analjezi, Sedasyon ve analjezi(289 - 315), ISBN: 978-605-258-143-8: Akademisyen Kitapevi, Kitapta Bölüm.

A. N. GÖKMEN & E. ÖÇMEN, ANTİHİPERTANSİFLER, VAZODİLATATÖRLER, DİÜRETİKLER VE STATİNLER, TEMEL ANESTEZİ SORU KİTABI: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ, Kitapta Bölüm.

A. N. GÖKMEN & E. ÖÇMEN, KARDİYORENAL SENDROM, YOĞUN BAKIMDA SENDROMLAR: NOBEL TIP KİTABEVİ, Kitapta Bölüm.

A. N. GÖKMEN & E. ÖÇMEN, Uzaktan Yoğun bakımı Yönetmek, Yoğun bakım, ISBN: 978-605-2396-81-0: Akademisyen Kitapevi AŞ, Kitapta Bölüm.

A. N. GÖKMEN & E. ÖÇMEN, Antihipertansifler,vazodilatörler,,diüretikler ve staninler, temel anestezi: güneş tıp kitapevi, Kitapta Bölüm.

E. ÖÇMEN, MİNİMAL İNVAZİV KULAK BURUN BOĞAZ GİRİŞİMLERİNDE ANESTEZİ, A. KARCI [Editörler], Türkiye Klinikleri Anesteziyoloji Reanimasyon - Özel Konular Minimal İnvaziv Girişimlerde Anestezi , ISBN: 978-625-401-903-6: dijitalakademi, 23 Aralık 2022, Kitapta Bölüm.

E. ÖÇMEN, ANTİHİPERTANSİFLER, VAZODİLATATÖRLER, DİÜRETİKLER VE STATİNLER, Y. KEÇİK [Editörler], TEMEL ANESTEZİ, ISBN: 978-975-277-405-6, TÜRKİYE: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ, 02 Ocak 2012, Kitapta Bölüm.

E. OCMEN, H. A. ERDOST, S. ERSOY, I. AKDENİZ & T. ERDAG, Pediatric Microlaryngoscopy Experiences in a Tertiary Hospital: A Retrospective Analyses of 105 Procedures, *MEDICINA-LITHUANIA*, 2024, 1010-660X, 60, 11, 7.

H. AKSU ERDOST, M. ÖZÇELİK, D. KAYTANCI, E. ÖÇMEN, S. KIZIL, S. KÜÇÜKGÜÇLÜ & K. ERDOĞAN, Evaluation of Brachial Plexus Nerve Variations in Axilla by Ultrasonography., *Journal of Perianesthesia Nursing*, 2024, 1532-8473, S1089, 9472(23), 5.

E. OCMEN, I. ERDEMİR, H. A. ERDOST & V. HANCI, Assessing parental comprehension of online resources on childhood pain, *MEDICINE*, 2024, 0025-7974, 103, 25, 9.

E. ÖÇMEN, H. AKSU ERDOST & V. HANCI, The bibliometric analysis of most cited 100 papers in anesthesia-induced neurotoxicity, *Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health)*, 2023, 0025-7974, 102.

H. AKSU ERDOST, E. ÖÇMEN, D. ÖMÜR, A. S. KIZIL & A. KARCI, Plethysmographic variability index and perfusion index in patients with axillary brachial plexus nerve catheters: An observational study, *Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health)*, 2023, 0025-7974, 102.

A. FUCHS, N. DISMA, K. VIRÁG, F. ULMER, W. HABRE, J. C D. GRAAFF, T. RIVA, E. ÖÇMEN & N. GROUP, Peri-operative red blood cell transfusion in neonates and infants: NEonate and Children audiT of Anaesthesia pRactice IN Europe: A prospective European multicentre observational study, *European journal of anesthesiology*, 2022, 0265-0215, 39, 3, 252-260.

F. VEYCKEMANS, K. VIRAG, T. G. HANSEN, K. BECKE, L. VUTSKITS, S. M. WALKER, D. SIMIC, T. ENGELHARDT & W. HABRE et al., Morbidity and mortality after anaesthesia in early life: results of the European prospective multicentre observational study, neonate and children audit of anaesthesia practice in Europe (NECTARINE), *BRITISH JOURNAL OF ANAESTHESIA*, 2021, 0007-0912, 126, 6, 1157-1172.

V. ÖZAYDIN, G. ERSOY, E. ÖÇMEN, H. ÇİFTÇİOĞLU, O. YILMAZ, A. N. GÖKMEN & K. ÖZTÜRK, The Effect of ?Tris-Hydroxymethyl Aminomethane? Treatment on Survival of Rats with Experimental Metabolic Acidosis Created by Intragastric Administration of Hydrochloric Acid, *Eurasian Journal of Critical Care*, 2021, 2667-8721.

H. C. CANATAN, A. N. GÖKMEN, E. ÖÇMEN & O. YILMAZ, Epidural Magnesium Sulfate Does Increase Cerebrospinal Fluid Ionized Magnesium Concentration of Rabbit: An Experimental Study, *Istanbul Yeni Yuzyil Universitesi, Yeni Yuzyil Journal of Medical Sciences*, 2021, 2687-5411, 2.

N. DISMA, K. VIRAG, T. RIVA, J. KAUFMANN, T. ENGELHARDT & W. HABRE, Difficult tracheal intubation in neonates and infants. NEonate and Children audiT of Anaesthesia pRactice IN Europe (NECTARINE): a prospective European multicentre observational study, *BRITISH JOURNAL OF ANAESTHESIA*, 2021, 0007-0912, 126, 6, 1173-1181.

M. ARSLAN, E. OCMEN, S. DURU, B. SASMAZ, S. OZBILGIN & H. HEPAGUSLAR, Respiratory mechanics with volume-controlled auto-flow ventilation mode in cardiac surgery, *SAUDI JOURNAL OF ANAESTHESIA*, 2019, 1658-354X, 13, 1, 40-45.

H. AKSU ERDOST, L. İYİLİKÇİ, L. S. DURU, E. ÖÇMEN & H. DURSUN, Experiences of Transcatheter Aortic Valve Implantation with Severe Aortic Stenosis, *HaydarPaşa numune medical journal*, 2019, 2630-5720.

Ü. GÜNENÇ, G. ARIKAN, S. F. GÜNENÇ, B. LEBE, S. EREN, E. ÖÇMEN & A. ÖZTÜRK, Suprachoroidal drainage of aqueous humour with a novel implant: Suprajct, International Eye Science, 2017, 1672-5123, 1807-1811.

A. N. GÖKMEN, I. BARİS, E. ÖÇMEN, O. YILMAZ, A. GUNERLİ & İ. H. KAVAKLI, Day-Time Isoflurane Administration Suppresses Circadian Gene Expressions in Both the Brain and a Peripheral Organ, Liver, TURKISH JOURNAL OF ANAESTHESIOLOGY AND REANIMATION, 2017, 2149-0937, 45, 4, 197-202.

H. A. ERDOST, H. A. ERDOST, L. S. DURU, L. S. DURU, P. AKAN, D. CIMRIN, D. CIMRIN, A. N. GOKMEN & A. N. GOKMEN et al., Effect of day/night administration of three different inhalational anesthetics on melatonin levels in rats, KAOHSIUNG JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES, 2016, 1607-551X, 32, 6, 302-305.

H. A. ERDOST, H. A. ERDOST, S. OZKARDESLER, S. OZKARDESLER, M. AKAN, M. AKAN, L. IYILIKCI, T. UNEK, E. OCMEN & R. M. DALAK et al., Comparison of the RIFLE, AKIN, and KDIGO Diagnostic Classifications for Acute Renal Injury in Patients Undergoing Liver Transplantation, TRANSPLANTATION PROCEEDINGS, 2016, 0041-1345, 48, 6, 2112-2118.

E. OCMEN, A. DERBENT, A. DERBENT, S. C. MICILLI, S. C. MICILLI, U. CANKURT, A. DAYI, O. YILMAZ & N. GOKMEN et al., Erythropoietin diminishes isoflurane-induced apoptosis in rat frontal cortex, PEDIATRIC ANESTHESIA, 2016, 1155-5645, 26, 4, 444-451.

A. N. GÖKMEN, S. ERDEM, K. A. TOKER, E. ÖÇMEN, B. I. GÖKMEN & A. ÖZKURT, Analyzing the Exposures to Electric and Magnetic Field in an Intensive Care Unit, turkish journal of anesthesiology and reanimation, 2016, 0000-0000, 44, 5, 236-240.

H. A. ERDOST, H. A. ERDOST, S. OZKARDESLER, E. OCMEN, V. AYKAN-OGUZ, V. AYKAN-OGUZ, M. AKAN, M. AKAN, L. IYILIKCI & T. UNEK et al., Acute Renal Injury Evaluation After Liver Transplantation: With RIFLE Criteria, TRANSPLANTATION PROCEEDINGS, 2015, 0041-1345, 47, 5, 1482-1487.

S. BAYINDIR, S. BAYINDIR, N. GOKMEN, N. GOKMEN, S. ERBAYRAKTAR, S. ERBAYRAKTAR, S. KUCUKGUCLU, O. YILMAZ, O. SAHIN & H. A. ERDOST et al., Cardioprotective Effects of Remifentanil in a Sympathetic Hyperactivity Model in Rabbits, TURKISH JOURNAL OF ANAESTHESIOLOGY AND REANIMATION, 2015, 2149-0937, 43, 4, 225-231.

E. OCMEN, M. AKAN, S. OZKARDESLER, S. OZKARDESLER, B. U. ERGUR, E. GUNELI, T. KUME, U. KOCA & B. U. TOGRUL et al., The Effects of Remote Ischemic Preconditioning and N-Acetylcysteine with Remote Ischemic Preconditioning in Rat Hepatic Ischemia Reperfusion Injury Model, BIOMED RESEARCH INTERNATIONAL, 2014, 2314-6133.

E. E. UNLUER, N. GOKMEN, I. YUREKLI, I. YUREKLI, E. OKMEN, O. YILMAZ, S. YIGIT, P. H. KARA & P. H. KARA et al., Neuroprotective effects of progesterone in spinal cord ischemia in rabbits, AMERICAN JOURNAL OF EMERGENCY MEDICINE, 2013, 0735-6757, 31, 3, 581-584.

E. ÖÇMEN, G. Ş. E. T. A. M. E. Y. AKTAŞ & G. Ş. E. T. A. M. E. Y. AKTAŞ, The assessment of memory under total intravenous anesthesia., Brazilian journal of anesthesiology , 2013, 0104-0014, 63, 3, 301-6.

F. BOYACI, F. BOYACI, S. ERBAYRAKTAR, O. YILMAZ, B. BIRLIK, M. S. CANDIA, M. S. CANDIA, E. OCMEN & E. OCMEN et al., Effects of Erythropoietin on The Volume of Infarction After Spinal Cord Ischemia Model, JOURNAL OF NEUROLOGICAL SCIENCES-TURKISH, 2012, 1302-1664, 29, 1, 101-109.

O. CINAR, O. CINAR, E. OLCMEN, E. OLCMEN, O. KALEMCI, A. BAGRIYANIK, A. DOGAN, B. KUCUKEBE, N. GOKMEN & N. GOKMEN et al., Ketorolac Tromethamine Promotes Functional Recovery and Enhances Nerve Regeneration After Sciatic Nerve Trauma in Rats, JOURNAL OF NEUROLOGICAL SCIENCES-TURKISH, 2012, 1302-1664, 29, 1, 65-75.

S. KONAKCI, S. KUCUKGUCLU, S. KUCUKGUCLU, N. GOKMEN, M. AKHISARLIOGLU, M. AKHISARLIOGLU, F. IDIMAN, F. IDIMAN, B. K. BALKAN & E. OCMEN et al., Epidural Administration of Magnesium Sulfate in the Rabbit: Can It Induce Motor and Sensory Blockade?, NEUROPHYSIOLOGY, 2012, 0090-2977, 44, 6, 448-454.

E. ÖÇMEN, S. İ. L. G. C. Ç. L. G. F. Ş. E. G. E. TOKLU & S. İ. L. G. C. Ç. L. G. F. Ş. E. G. E. TOKLU, Comparison of etomidate-remifentanil and propofol-remifentanil sedation in patients scheduled for colonoscopy., EUROPEAN JOURNAL OF ANAESTHESIOLOGY, 2009, 0265-0215, 26, 5, 370-6.

## Bildiriler

A. ARIKANOĞLU, E. ÖÇMEN, H. AKSU ERDOST, Y. ERKİN, S. BÜYÜKÇOBAN, H. A. BAĞRIYANIK, N. ERSOY, H. KISAĞLU & A. N. GÖKMEN, Tavşanlarda epidural magnezyum sülfat medulla spinalis yaralanmasına neden olur mu? - Does epidural magnesium sulphate causes medulla spinalis injury in rabbits?, Sözlü Sunum, 19. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 21 Kasım 2021, 23 Kasım 2021.

E. ÖÇMEN, H. AKSU ERDOST, O. YILMAZ, M. KIRAY & A. N. GÖKMEN, THE EFFECT OF SEVOFLURANE ANESTHESIA ON MEDULLA SPINALIS IN NEWBORN RATS, Sözlü Sunum, EJONS INTERNATIONAL JOURNAL OF MATHEMATICS, ENGINEERING & NATURAL SCIENCES, ISSN 2602 - 4136, 26 Ekim 2021, 27 Ekim 2021.

A. KORKMAZ, G. ERSOY, O. YILMAZ, E. ALTEKİN, Ş. M. ÜNLÜ, S. DURU, E. KARSLI & E. ÖÇMEN, DIAGNOSTIC IMPORTANCE OF NEUTROPHIL GELATINASE ASSOCIATED LIPOCALIN AND SEMAPHORINE 3A AT ACUTE KIDNEY INJURY DEVELOPED SECONDARY TO EXPERIMENTAL RHABDOMYOLYSIS AT RABBITS, Sözlü Sunum, 4TH EURASIAN CONGRESS ON EMERGENCY MEDICINE, 13 Kasım 2014, 16 Kasım 2014.

Ü. GÜNENÇ, G. ARIKAN, S. F. GÜNENÇ, B. LEBE, S. EREN, E. ÖÇMEN & A. T. ÖZTÜRK, EVALUATION OF THE EFFICACY AND SAFETY OF A NOVEL GLAUCOMA SHUNT IMPLANT SUPRAJET IN AN ANIMAL STUDY, Basılı, 5TH WORLD GLAUCOMA CONGRESS, 17 Temmuz 2013, 20 Temmuz 2013.

## TÜBİTAK Burs ve Destekleri

### Panelistik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Görev	ARDEB	BİDEB	BİLİM TOPLUM	ÜİDB	TEYDEB	Toplam
-------	-------	-------	--------------	------	--------	--------

Hakemlik/Panelistik/Dış Danışmanlık Sayısı	0	0	0	0	0	0
Moderatorlük Sayısı	0	0	0	0	0	0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	0	0	0	0	0	0
Raportörlük Sayısı	0	0	0	0	0	0
Katılmadığı Panelistik/Dış Danışmanlık Sayısı	0	0	0	0	0	0



Gerekli bilgileri alanlara yazıp kaydet butonuna basınız.

Önemli hatırlatma: Bilgilerinizi kaydettikten sonra Enstitünüz onaylayana kadar tekrar üzerinde değişiklik yapabilirsiniz. Daha sonra çıktı almak ve değişiklik yapmak isterseniz, Oturum menüsünden Tez/lerim bağlantısına tıklayarak tezinize erişebilirsiniz. Karşınıza gelen listeden Referans numarasına tıklayarak teziniz üzerinde gerekli gördüğünüz değişiklikleri yapabilir, kağıt çıktınızı tekrar alabilirsiniz.

2025 © ULUSAL TEZ MERKEZİ

İnternet sitemizi en iyi şekilde görüntüleyebilmek için Google Chrome ya da Mozilla Firefox tarayıcısını kullanmanızı öneririz.

[Ana Sayfa](#) | [Tarama](#) | [Mevzuat](#) | [İstatistikler](#) | [SSS](#) | [Yasal Uyarı](#) | [Bize Ulaşın](#)

