



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

**YENİDOĞAN SIÇANLARA UYGULANAN SEVOFLURANIN
PREADÖLESAN DÖNEMDE SİNAPTİK PLASTİSİTE İLE İLİŞKİLİ
PROTEİNLERİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN OKSİDATİF STRES
İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Neslihan ARI

ANTALYA

2023



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

**YENİDOĞAN SIÇANLARA UYGULANAN SEVOFLURANIN
PREADÖLESAN DÖNEMDE SİNAPTİK PLASTİSİTE İLE İLİŞKİLİ
PROTEİNLERİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN OKSİDATİF STRES
İLE İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Neslihan ARI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. HANİFE KABUKÇU

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2023-6150 proje kodu ile desteklenmiştir.

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

ANTALYA

2023

TEŞEKKÜR



İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Genel Anesteziklerin Santral Sinir Sisteminde Etki Mekanizmaları	4
2.2. Sevofluran	5
2.2.1. Sevofluranın Fizikokimyasal Özellikleri	5
2.2.2. Sevofluranın Metabolizma ve Toksisitesi	7
2.2.3. Sistemler Üzerine Etkileri.....	8
2.3. Sinaptik Plastisite	10
2.3.1. Sinaptik Plastisite ve Hipokampus	12
2.3.2. Sinapsin 1 ve Sinaptik Plastisite	14
2.3.3. ARC ve Sinaptik Plastisite.....	16
2.3.4. MAP1A ve Sinaptik Plastisite	21
2.4. Oksidatif Stres	25
2.4.1. Reaktif Oksijen Radikalleri	25
2.4.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO ₂ , NO [•])	27
2.4.3. Serbest Radikallerin Kaynakları	27
2.4.5. Serbest Radikallerin Etkileri	28
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	29
2.5.1. Yenidoğan Beyninde Antioksidan Savunma Sistemi	31

2.5.2. Anestezi Sırasında Oksidatif Stres.....	31
2.5.3. Anestezi Sonrası Oksidatif Stres	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Deney hayvanları.....	35
3.2. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini.....	36
3.2.1. Sinapsin 1 Seviyesinin Belirlenmesi	36
3.2.2. ARC Seviyesinin Belirlenmesi	37
3.2.3. MAP1A Seviyesinin Belirlenmesi.....	38
3.2.4. Total Antioksidan Kapasitenin (TAK) Tayini.....	39
3.2.5. Total Oksidan Kapasitenin (TOK) Tayini	38
3.2.6. Protein Tayini	39
3.3. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Sinapsin 1 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	40
4.2. ARC Düzeylerinin Değerlendirilmesi	41
4.3. AP1A Düzeylerinin Değerlendirilmesi	41
4.4. TOK Değerlendirilmesi.....	42
4.5. TAK Değerlendirilmesi.....	43
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇLAR	51
7. ÖZET.....	52
8. ABSTRACT	54
9. KAYNAKLAR	56
10. EKLER.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AD	Alzheimer Hastalığı
AMPA	Alfa-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İzoksazol Propiyonik Asit
AMPAR	AMPA Reseptörü
ARC	Aktiviteyle Düzenlenen Hücre İskeleti ile İlişkili/Activity-Regulated Cytoskeleton-Associated Protein
Arg3.1	Aktivite ile Düzenlenen Gen 3.1
BDNF	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör/Brain-Derived Neurotrophic Factor
BUN	Kan Üre Nitrojeni/Blood Urea Nitrogen
CA	Cornu Ammonis
Ca ²⁺	Kalsiyum
CAMKII	Ca ²⁺ /Kalmodulin-Bağımlı Protein Kinaz II
cAMP	Siklik AMP
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
Cl ⁻	Klor
CO ₂	Karbondioksit
CPPA	Coomassie Plus Protein Testi Reaktifi/Commassie Plus Protein Assay Reagent
CREB	Siklik amp yanıt elemanı bağlayıcı protein/Cyclic AMP Response Element Binding Protein
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EEG	Elektroensefalografi
ELISA	Enzim bağlı immünosorbent deneyi/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GABA	Gama Aminobütirik Asit
GC	Guanilat Siklaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HFIP	Hegzofloroizopropanolol
HFS	Yüksek Frekanslı Uyarılma
HO·	Hidroksil

HOCL	Hipoklorik Asit
IEG	Hemen Erken Gen
IP3	İnozitol Trifostat 3
LTP	Uzun Süreli Potansiyasyon/Long Term Potentiation
MAGUK	Membran İlişkili Guanilat Kinaz
MAK	Minimum Alveolar Konsantrasyon
MAP	Mikrotübül İlişkili Protein
MAP1A	Mikrotübül İlişkili Protein 1A
MDA	Malondialdehit
mGluR1	Grup I Metabotropik Glutamat Reseptör
mRNA	Mesajcı RNA
N ₂ O	Nitröz Oksit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksid Sentaz
NR	NMDA Reseptörü
O ₂ ⁻	Süperoksit
P	Postnatal
PBS	Fosfat Tamponlu Salin/Phosphate Buffered Saline
PKC	Protein Kinaz C
pO ₂	Parsiyel Oksijen Basıncı
PSD	Postsinaptik Yoğunluk
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD1	Süperoksit Dismutaz1
SSS	Santral Sinir Sistemi
SUMO	Küçük Übikuitin Benzeri Modifikatör/Small Ubiquitin-like Modifier
TrkB-Fc	Tirozin Kinaz Reseptör B-Fc
UPS	Ubikuitin-Proteazom Sistemi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Sevofluranın kimyasal yapısı(22)	6
Şekil 2. Hipokampusun ana hücreleri, impuls trafiği ve bağlantıları(48).....	13
Şekil 3. Sinapsinlerin majör fonksiyonları(77)	15
Şekil 4. ARC proteininin hücresel fonksiyonları(109)	19
Şekil 5. Arc Bağımlı Sinaptik Plastisitede Stimulus Spesifik Mekanizmalar. (a) Dentate gyrus'ta HFS, Arc transkripsiyonunu ve Arc RNA'sının dendritlere sürekli dağılımını sağlar. SUMOile edilmiş Arc, drebrin A ile ilişkilendirilerek aktin filamentlerinin stabilizasyonunu kolaylaştırır. (b) Aktif diken yapısal LTP geçirirken, komşu inaktif omurgalar küçülür. Arc, inaktif CaMKII β 'ye özgül olarak bağlanarak inaktif sinapslarda birikir. Bu heterosinaptik LTD formu ters sinaptik etiketleme olarak bilinir. LTP dikenlerinde AMPAR yüzey ifadesi artar ve LTD omurgalarında azalır. (c) mGluR-LTD, mevcut dendritik Arc RNA'nın translasyonuna bağlıdır. mGluR-LTD, yeni Arc transkripsiyonunu gerektirmez. Durdurulmuş polizomların yeniden etkinleştirilmesi, senkronize bir sentez dalgası sağlayabilir ve Arc oligomerizasyonunu tercih ederek mGluR-LTD'yi güçlendirebilir. mGluR etkinleştirilmiş ve etkinleştirilmemiş omurgalar arasındaki ilişki pek anlaşılmamıştır(103). 20	
Şekil 6. MAP1A, sinaptik plastisite için NR aktarımını ve PSD-93 stabilitesini destekler. A, Vahşi tip dendritlerde NR'lerin yerleşik ve hareketli formu. B, MAP1A $-/-$ dendritlerde NR'lerin kesintiye uğramış yerleşik formu. C, MAP1A $-/-$ fare nöronlarında tahmin edilen moleküler patolojinin şeması(13).....	24
Şekil 7. Yenidoğan anestezisinin beyinde neden olduğu oksidatif stresin şematik gösterimi	32
Şekil 8. Sıçanlardan çıkarılan beyin dokusu	36
Şekil 9. Sıçanlarda hipokampus	36
Şekil 10. Deney gruplarının hipokampus sinapsin 1 değerleri	40
Şekil 11. Deney gruplarının hipokampus ARC değerleri	41
Şekil 12. Deney gruplarının hipokampus MAP1A değerleri.....	42
Şekil 13. Deney gruplarının hipokampus TOK değerleri	43
Şekil 14. Deney gruplarının hipokampus TAK değerleri	44

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. MAK'ı arttıran ve azaltan etkenler	7
Tablo 2. Biyokimyasal tetkiklerde gruplara ait sinapsin 1, ARC, MAP1A düzeyleri (ng/mg)	42
Tablo 3. Biyokimyasal tetkiklerde gruplara ait TOK, TAK düzeyleri (pg/mg)...	44



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Her yıl, dünya çapında artan sayıda çocuk ve yenidoğan, yapılacak cerrahi müdahaleler ve diagnostik testler için, genellikle tekrarlanan, genel anesteziye maruz kalmaktadır. Yenidoğan döneminde en çok kullanılan anestezik ajan; sevoflurandır. Yapılan farklı çalışmalarda erken yenidoğan döneminde ve tekrarlayan sevofluran maruziyetinin öğrenme ve bellek üzerine olumsuz etkileri görülmüştür. Ancak bu olumsuz etkilerin hangi mekanizmalar üzerinden olduğu hala araştırma konusudur(1-5).

Bu çalışmada amacımız; yenidoğan sıçanların farklı dönemlerinde, aynı doz sevofluranın tek gün ve tekrarlayan günlerde maruziyetinin preadölesan dönemde öğrenme ve belleğe etkilerinin hangi mekanizmalar üzerinden olduğunu araştırmaktır. Sevofluranın oksidatif strese neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir(2,6). Oksidatif stresle oluşan serbest radikaller protein, lipid ve DNA'ya zarar verir(7,8). Sonuç olarak; öğrenme sürecinde rol oynayan bu proteinler, serbest radikallerin etkisiyle zarara uğrayıp bozulabilir ve bu durum öğrenme sürecinde etkili olabilir. Sinapsin 1, sinaps oluşumu ve olgunlaşması üzerinde güçlü etkiye sahiptir(9). Sinapsin 1 proteininde azalma öğrenme bozukluğu ile ilişkilendirilmektedir(10). ARC (Aktiviteyle düzenlenen hücre iskeleti ile ilişkili/Activity regulated cytoskeleton-associated) proteininin sinaptik gücü ve plastisiteyi düzenlediği, hipokampal uzun süreli potansiyasyon (LTP) ve uzun süreli hafıza oluşumunda gerekli olduğu gösterilmiştir(11,12). Mikrotübül ilişkili protein 1A (MAP1A/microtubule associated protein 1A), non-motor mikrotübül bağlayıcı proteinlerin bir üyesidir. N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin (NR'ler) hücre iskeleti ile MAP1A yoluyla bağlanmasının sinaptik fonksiyon için temel olduğu ve sinaptik plastisitenin korunmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. MAP1A proteininden yoksun farelerin, öğrenme ve hafıza bozuklukları sergilediklerini gösteren çalışmalar mevcuttur(13).

Bu amaçla uzun dönem hafızanın uzantıları olduğu düşünülen sinapsin 1, ARC ve MAP1A proteinleri üzerine sevofluranın ve oluşturduğu oksidatif stresin etkileri araştırılacaktır.

Bu dođrultuda 3 temel amaç belirlendi:

1. Temel amaç: Yenidoğan dönemindeki sıçanları belirlenen günlerde sevoflurana maruz bırakmak.
2. Temel amaç: Sıçanların beyin dokularını çıkararak hipokampal sinapsin 1, ARC ve MAP1A proteinlerini ELISA yöntemi ile analiz etmek.
3. Temel amaç: Sıçanların hipokampus dokularındaki oksidatif stresi, total oksidan ve total antioksidan kapasite kitleri ile değerlendirmek.

Tüm bu hedeflerin sonucunda sevofluran ve oluşturduğu oksidatif stresin sinapsin 1, ARC ve MAP1A proteinleri üzerinde etkisinin gösterilmesi amaçlandı.

Sevofluranın đrenme üzerine olan etkilerini; kısa süreli hafızadan uzun süreli hafızaya geçişte hayati bir rol oynadığı düşünülen sinapsin 1 ve ARC proteinleri ile değerlendiren ilk çalışma olacaktır. Aynı zamanda bu proteinlerin ve oksidatif stresin, sevofluran ile ilişkisini araştıran ilk çalışma olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Genel anestezi, bilinç kaybı, amnezi, antinosisepsiyon ve hareketsizlikten oluşan ilaca bağlı ve geri dönüşümlü bir durumdur(14). Bu durum, genel anestezi etkili ilaçların santral sinir sisteminde (SSS) yaptığı, kortikal ve psişik merkezlerden başlayıp, bazal gangliyonlar, serebellum, medulla spinalis ve medüller merkezler sırasını izleyen inici bir baskılanma ile oluşmaktadır(15). İdeal bir anestezi uygulaması, hastaya zarar vermeden uygun cerrahi koşulları, hemodinamik dengeyi sürdürmeli, kısa zamanda, güvenli bir derlenme dönemi sağlamalıdır(16).

Genel anestezikler intravenöz, inhalasyon, oral, nazal, subkutan, transdermal, rektal yol ile uygulanabilmektedir(17). Klinik pratikte genel anestezi uygulamalarında, indüksiyon için çoğunlukla intravenöz ve idame için sıklıkla inhalasyon yolu tercih edilmektedir(14).

Çocuklar, hem anatomik hem de fizyolojik olarak yetişkinlerden ve kendi yaş grupları içinde birbirlerinden oldukça farklıdır. Vücut sıvısı dağılımı, organların olgunlaşma düzeyleri, işlevleri ve nörolojik gelişimleri hızla değişir ve zamanla erişkin düzeyine ulaşır. Ancak unutulmamalıdır ki çocuklar, herhangi bir yönden küçük yetişkinler olarak görülmemelidir. Anestezi uygulamalarının güvenliği açısından bu farklılıkların iyi anlaşılması gerekmektedir(18).

Doğumda, beynin sadece dörtte biri olgunlaşmış nöronlara sahipken, ilk yılın sonunda korteksteki sinir hücreleri ve beyin sapının gelişimi büyük ölçüde tamamlanmış olur. Dendritik bağlantıların ve miyelinizasyon sürecinin oluşumu ise yaklaşık üç yaşına kadar devam eder(18).

Günümüzde yenidoğanlar ve çocuklar farklı prosedürler için genel anesteziye sıklıkla maruz kalmaktadır. Pedyatrik anestezide kullanılan anestezik ajanların gelişmekte olan SSS'ne etkileri hala en sık araştırılan konular arasındadır. Değişik nedenlerle anestezi almak zorunda kalan pediyatrik yaş grubunda, inhalasyon ajanlarının çocuğun beyin gelişimi, öğrenme ve bellek fonksiyonları, konsantrasyon ve dikkat eksikliği üzerine etkileri henüz tam olarak

aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, genel anestezi kullanımının çocuklarda özenle ve dikkatle yapılması gerekmektedir. Anestezik ajanların gelişmekte olan SSS üzerindeki etkilerini ve altta yatan mekanizmayı anlamak pediatrik hasta grubunda, anestezi yönetimi ve tercihinde, istenmeyen yan etkileri önlemede faydalı olacaktır.

2.1. Genel Anesteziklerin Santral Sinir Sisteminde Etki Mekanizmaları

Genel anestezikler santral sinir sisteminde etkilerini genellikle şu yollarla gösterir(17):

1. Gama aminobütirik asit (GABA) Sistemine Etki: GABA, beyindeki en yaygın inhibitör nörotransmitterdir ve sinir iletimini yavaşlatarak merkezi sinir sistemi üzerinde inhibisyon etkisi gösterir. Genel anestezikler, GABA reseptörleriyle etkileşime girerek GABA'nın etkisini artırır. Bu, nöronların uyarılabilirliğini azaltarak beyindeki sinir sinyallerinin iletimini baskılar ve anestezi durumunu sağlar.
2. NMDA Reseptörlerine Etki: NMDA reseptörleri, sinir iletiminde önemli bir rol oynar ve ağrı algısı üzerinde etkilidir. Genel anestezikler, NMDA reseptörlerinin işlevini inhibe ederek ağrı iletimini engellemeye yardımcı olur. Bu, ağrı hissinin beyinde algılanmasını azaltır ve ameliyat sırasında hastanın ağrı duymasını önler.
3. Potasyum Kanallarına Etki: Genel anestezikler, potasyum kanallarının açılışını artırarak sinir hücrelerinin membran potansiyelini değiştirir. Bu, sinir iletiminin engellenmesine ve nöronların hiperpolarizasyonuna yol açar. Sonuç olarak, anestezik etkisi sinir hücrelerinin uyarılabilirliğini azaltır ve bilinç kaybını sağlar.
4. Glutamat Reseptörlerine Etki: Glutamat, merkezi sinir sistemindeki en yaygın uyarıcı nörotransmitterdir. Genel anestezikler, glutamat reseptörlerini inhibe ederek glutamatın etkisini azaltır. Bu, sinir iletimini engelleyerek bilinç kaybını ve ağrı hissini baskılar.

Volatil anestezik ajanlar, memeli merkezi sinir sisteminde nöronal aktiviteyi baskılar ve GABA-A reseptör-iyon kanal kompleksinden Cl^- akımının

inhibisyonunu artırır. Ayrıca, konsantrasyona bağı olarak neokortikal nöronların spontan aksiyon potansiyel ateşlemelerini de baskılar(19).

Genel anesteziklerin karmaşık etki mekanizmaları vardır, bu etkiler ve mekanizmalarla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak bu ajanların öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerine etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır ve çalışmalara hala konu olmaktadır.

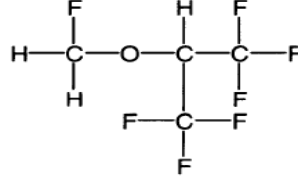
2.2. Sevofluran

Sevofluran, modern anestezi pratiğinde yaygın olarak kullanılan inhalasyon anestezi ajanlarından biridir. Anestezi indüksiyonu sırasında solunum yolu komplikasyonları (nefes tutma, öksürme ve laringospazm) genellikle hafif, geçici ve daha düşük oranda görülür. Hızlı ve rahat bir anestezi uygulaması sağlar. Çocuklar, obez kişiler ve böbrek yetmezliği olan hastalar gibi durumlarda sevofluranın etkisi farmakokinetik olarak değişmez(20).

2.2.1. Sevofluranın Fizikokimyasal Özellikleri

Sevofluran renksiz, yanıcı olmayan ve tatlı bir kokuya sahiptir. Atmosfer basıncında buharlaşabilir ve bu özelliği sayesinde kolayca inhalasyon ile uygulanabilir. Düşük bir uçuculuk noktasına sahiptir, düşük sıcaklıklarda dahi hızlı buharlaşabilir, bu da anestezi dozunun kolayca ayarlanabilmesini sağlar. Ayrıca, sevofluran kararlı bir bileşiktir, oksitlenmeye veya bozunmaya karşı dayanıklıdır. Bu özelliği sayesinde uzun süreli depolamaya ve kullanıma uygundur(21). Bununla birlikte, anestezi etkinliği yüksek olan bir bileşiktir ve düşük bir lipofiliteye sahiptir. Bu özellik, hızlı bir şekilde metabolize olmasını ve etkilerinin hızlıca sona ermesini sağlar(22). Tüm bu fizikokimyasal özellikler, sevofluranın güvenli ve etkili bir anestezi ajanı olarak kullanılmasına katkıda bulunur.

Florlu bir inhalasyon anesteziğidir, kimyasal formülü florometil-2, 2, 2-trifloro-1-(triflorometil) etil eter yapısındadır. Kaynama noktası; 760 mmHg'da: 58.5 °C, su buharı basıncı; 25 °C'de: 197 mmHg olup metallerle reaksiyona girmez.



Sevoflurane

Şekil 1. Sevofluranın kimyasal yapısı(22)

Güçlü bazlarla temas ettiğinde zayıflar, ancak güçlü asitler ve yüksek sıcaklık altında önemli bir bozulma yaşamaz. Karbondioksit (CO₂) absorbanları (sodalime, baralyme) ile doğrudan teması sonucunda, klinik ortamında, ayrıca pentafluoroisopropenil fluorometil eter olarak da bilinen compound A ve çok az miktarda (0.5 ppm) compound B (pentafluorometoksi izopropil fluorometil eter) oluşabilir. Karaciğer metabolizması %5'ten daha azdır ve oluşan metabolitler inorganik florür ve hekzafluoroizopropanoldür.

Sevofluranın buhar basıncı 20°C'de 170 mmHg'dir, bu da geleneksel vaporizatörlerle kullanılabilmesine olanak sağlar. Bununla birlikte, taze gaz girişi 2 lt/dk'nın altında olan vaporizatörlerde kullanımı önerilmez. Sevofluran gibi diğer volatil anesteziklerde olduğu gibi, MAK (Minimum Alveolar Konsantrasyon) değeri yaşı artması, N₂O ve opioid kullanımıyla azalır. Erişkinlerde, MAK değeri genellikle %1,7 ile %2,05 arasında bulunur (Tablo 1).

Sevofluran, nöromusküler blokerlerin potansiyelini artırarak klinik olarak gerekli bir nöromusküler blok yapar. Duyarlı bireylerde malign hipertermiye yol açabilme potansiyeline sahiptir(23). Operasyon sonrası bulantı (%74) ve kusma (%50) en sık görülen yan etkilerdir ve hastanın taburcu olmasını geciktirebilir. N₂O veya opioidlerle birlikte kullanıldığında bu yan etkilerin görülme sıklığı artar(22).

Tablo 1. MAK'ı arttıran ve azaltan etkenler

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

2.2.2. Sevofluranın Metabolizma ve Toksisitesi

Sevofluran, metabolizması genellikle florometoksi karbon üzerinden gerçekleşen bir anestezi madde. Metabolizma sürecinde oksidasyon sonucunda inorganik florür ve hegzofloroizopropanolol (HFIP) adlı bir ara bileşik oluşur, bu madde sevofluranın tanımlanmış tek organik florür metabolitidir(24). HFIP, oluştuğunda glukuronik asit ile hızlı bir şekilde birleşir ve idrar yoluyla atılır(22).

Florür, metabolik süreçleri güçlü bir şekilde inhibe eden bir bileşiktir. Üriner dilüsyon ve konsantrasyon, toksik florür seviyelerinden etkilenir. Florürün henle kulbunda aktif klor taşıma mekanizmasını bozabileceği düşünülmektedir(25). Flor toksisitesine bağlı böbrek yetmezliği, poliüri, hipernatremi, hiperozmolarite, BUN ve kreatinin seviyelerinin artması gibi belirtilerle karakterizedir(25,26).

Sevofluran hızlı bir şekilde metabolize olur. Florür ile HFIP, sevofluran uygulandıktan birkaç dakika sonra plazmada ortaya çıkar. Pik plazma florür

konsantrasyonuna, hastanın sevoflurana maruz kaldığı doz ve süreye bağlı olmaksızın (en azından 0,35-0,95 MAK/saat arasında) bir saat içinde ulaşır. Pik plazma florür konsantrasyonu, doz ile doğru orantılıdır. Sevofluran uygulaması sonrasında inorganik serum florür konsantrasyonu hızla düşer ve postoperatif birinci günde pik değerinin çok altına iner. Sevofluran %2-5 oranında, karaciğerde P450 2E1 enzimi ile metabolize edilir ve geriye kalan %95'i öncelikle akciğerler aracılığıyla vücuttan atılır. Florür ise böbrekler tarafından hızla vücuttan uzaklaştırılır(27). Sevofluranın nispeten düşük çözünürlüğü ve hızla vücuttan uzaklaştırılması, böbrek fonksiyon bozukluğu olasılığını azalttığı ileri sürülmektedir(28).

Sevofluranın kauçuk ve plastiklerde düşük çözünürlüğü vardır, bu da anestezi sırasında sınırlı bir şekilde emilimine neden olur. Kimyasal olarak stabil bir molekül olup, güçlü asitler ve ısı ile bozulmaz, ancak güçlü bazlarla bozunabilir(29). Bu nedenle, karbondioksit absorbanlarıyla (sodalime, baralyme) doğrudan temas sonucunda Compound A (pentafluorometoksiizopropanil fluorometil eter-PMFE, C₅H₆F₆O) adı verilen bir bileşik oluşur. Compound A'nın bozunmasının doza bağlı olduğu ve Compound A ve Compound B'nin alkale hidroliz sonucunda formaldehit oluşturduğu gösterilmiştir(30,31).

2.2.3. Sistemler Üzerine Etkileri

2.2.3.1. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Sevofluran, miyokard kontraktilitesini hafifçe azaltabilir. İzofluran veya desflurana kıyasla, sistemik vasküler direnç ve arteriyel kan basıncı üzerinde biraz daha az etkisi vardır. Ancak sevofluran, kalp hızında kritik bir artışa neden olabilir ve bu nedenle kalp debisi izofluran veya desfluran kadar iyi korunamayabilir. QT aralığını uzatabilir, ancak bu durumun klinik önemi henüz tam olarak bilinmemektedir. Özellikle infantlarda, anesteziden uyanmadan sonra QT süresinde belirgin bir uzama gözlenebilir(20).

2.2.3.2. Respiratuar Sistem Üzerine Etkileri

Sevofluran, doza bağımlı olarak solunumu deprese eder. Sağlıklı hastalarda, yine doza bağılı olarak tidal volümü ve dakika ventilasyonunu azaltır ve CO₂ yanıtını baskılar, solunum hızını artırır. Ayrıca, sevofluran bronkospazmın düzeltilmesinde etkili olabilir ve bronkodilatasyon sağlayabilir(20).

2.2.3.3. Serebral Etkileri

Sevofluran, normokarbik durumda serebral kan akımında ve intrakraniyal basınçta hafif artışa neden olabilir. Ancak bazı çalışmalar, serebral kan akımında azalmaya işaret etmiştir. Sevofluranın yüksek konsantrasyonları (>1.5 MAK), serebral otonöregülasyonu bozarak hemorajik hipotansiyon durumunda serebral kan akımında düşüşe yol açabilir. Serebral metabolik oksijen gereksinimini azaltabilir ve nöbet aktivitesi bildirilmemiştir(20).

2.2.3.4. Nöromusküler Etkileri

Sevofluran, malign hipertermi riskini tetikleyebilir. Ayrıca, sevofluranın nondepolarizan kas gevşeticiler üzerinde güçlendirici bir etkisi olduğu ve hem farmakolojik özelliklerini hem de etki süresini etkilediğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Vekuronyum ve pankuronyum gibi nöromusküler bloklayıcı ilaçların şiddetini ve süresini etkileyebileceği bildirilmiştir. Bu nedenle, sevofluran ile birlikte kullanılan bu kas gevşeticiler için doz ayarlamasının yapılması gerekmektedir(17).

2.2.3.5. Renal Sistem Üzerine Etkileri

Sevofluran, 50 µmol/L'den daha yüksek plazma florür konsantrasyonuna neden olması rağmen, metoksifluran ile aynı nefrotoksik etkiyi sergilememektedir. Renal kan akımını etkilemez ve böbrek fonksiyonunu bozmaz(20).

2.2.3.6. Hepatik Sistem Üzerine Etkileri

Sevofluran, portal ven kan akımını azaltırken, hepatik arter kan akımını ve dolayısıyla toplam hepatik kan akımını ve oksijen sunumunu artırır. Bu durum genellikle immün-aracılı anestetik hepatotoksisiteyle ilişkili değildir(20).

2.3. Sinaptik Plastisite

Sinaptik plastisite, beyinde öğrenme ve hafıza gibi işlevleri yerine getirebilmek için sinapsların adaptasyon yeteneği anlamına gelir. Bu, beynin çevresel uyarılara ve deneyimlere yanıtını gösterir. Plastisite, yeni bilgilerin öğrenilmesini ve depolanmasını, eski bilgilerin silinmesini ve yeni sinaptik bağlantıların oluşturulmasını sağlar.

Öğrenme ve hafızayla ilgili olarak sinaptik değişikliklerin önemli bir rol oynadığına dair birçok bilimsel araştırma bulunmaktadır(32,33). 1940'lerde Hebb, hafızanın, öğrenirken oluşan sinaptik bağlantı düzenlemelerinde korunduğunu ileri sürdü ve bu düşünce, eşzamanlı harekete geçen nöronların arasındaki bağlantıların güçlendiği şeklinde yorumlandı(34).

Sinaptik plastisite, iki nöron arasındaki iletişimin etkinliğini düzenler ve bu sürece hem sinapsın öncesi hem de sonrasındaki mekanizmalar dahildir(35). Plastisite kısa veya uzun vadeli olabilir. Kısa süreli plastisite, sinaptik etkinlikteki kısa süreli değişiklikleri, genellikle birkaç saniye içinde olanları, kapsar. Uzun süreli plastisite ise, bu değişikliklerin dakikalardan yıllara kadar uzanabileceği durumları içerir. Bu uzun vadeli değişiklikler, beynin nasıl bilgi sakladığına, bizim nasıl yeni anılar oluşturduğumuza ve bu anıları nasıl hatırladığımıza dair bir model sunar. Sinaptik plastisitenin farklı türleri, nöronların çeşitlerine, değişikliğin süresine ve etkilenen beyin bölgesine göre sınıflandırılabilir. Elektriksel düzeyde ise, sinaptik plastisitenin uzun süreli potansiyasyon (LTP) ve uzun süreli depresyon (LTD) olarak bilinen iki ana plastisite mekanizması vardır(33).

1. LTP genellikle öğrenme ve hafıza oluşumuyla ilişkilendirilir, belirli bir sinapsa gelen sinyalin sürekli olarak tekrarlanması sonucunda bu sinapsın güçlenmesi sürecidir. Bu, bir nöron ağı içinde sinyallerin daha hızlı ve daha

verimli şekilde iletilmesini sağlar, böylece yeni bilgilerin daha hızlı öğrenilmesini ve depolanmasını kolaylaştırır.

2. LTD, bir sinapsın uzun süreli olarak zayıflatılması sürecidir. Sinapslar, uyarılma seviyesi düştüğünde veya kullanılmadığında zayıflar. Bu da unutma mekanizmalarına ve eski, gereksiz bilgilerin yerine yeni bilgilerin öğrenilmesine yardımcı olur.

Her iki süreç de, sinapsların ne kadar sıklıkla ve ne kadar güçlü bir şekilde uyarıldığına bağlıdır. Bu da öğrenme ve hafıza süreçlerinde beynin uyarılara nasıl yanıt verdiğini ve bu süreçleri nasıl yönettiğini belirler. Ayrıca, her iki süreç de beynin öğrenme, hafıza, uyaranlara tepki ve hasardan iyileşme yeteneği üzerinde büyük etkiye sahiptir(36,37).

Sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde bir dizi protein ve reseptör rol almaktadır(37–41).

1. NMDA ve alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit (AMPA) Reseptörleri: Bu reseptörler, glutamat tarafından aktive edilen protein kompleksleridir. Nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıların güçlendirilmesinde ve zayıflatılmasında kilit bir rol oynar, öğrenme ve hafıza oluşumuna katkıda bulunur.
2. Sinapsın 1: Nörotransmitterlerin sinaptik veziküller içerisinde depolanması ve serbest bırakılmasını düzenler, böylece sinaptik plastisiteyi etkiler.
3. ARC proteini: Nöronal aktiviteye yanıt olarak ifade edilir ve sinaptik plastisiteyi düzenler. Özellikle AMPA tipi glutamat reseptörlerinin hücre yüzeyinden kaldırılmasını ve içine alınmasını sağlar.
4. MAP1A: Nöronlarda mikrotübül stabilitesini ve dinamiklerini düzenler, sinaptik taşımayı etkiler, bu da sinaptik plastisiteye katkıda bulunur.
5. BDNF (Beyin kaynaklı nörotrofik faktör/Brain-Derived Neurotrophic Factor): Sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde ve yeni sinapsların oluşumunda önemli rol oynar. Düzeyleri ve etkinliği, öğrenme ve hafıza üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.
6. CREB (Siklik AMP yanıt elemanı bağlayıcı protein/Cyclic AMP Response Element Binding Protein): Gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol

oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. Sinaptik plastisite, öğrenme ve hafıza oluşumunda önemli bir rol oynar.

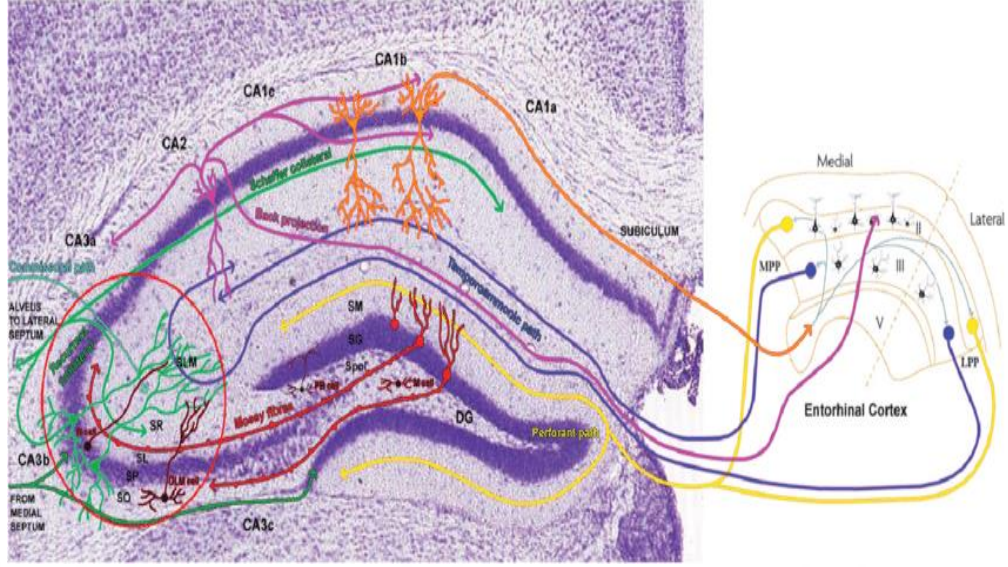
Bu faktörlerin her biri sinaptik plastisite üzerinde farklı etkilere sahip olabilir, ancak hepsi beynin çevresel uyarılara yanıt olarak nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıları değiştirme yeteneği üzerinde önemli etkiye sahiptir(37,39,42).

Bu alan hala aktif bir araştırma konusudur ve sinaptik plastisiteyi daha iyi anlamak; öğrenme ve hafıza bozuklukları, Alzheimer hastalığı, otizm, şizofreni ve diğer nörolojik ve psikiyatrik durumların tedavisine yönelik yeni yaklaşımların geliştirilmesine yardımcı olabilir.

2.3.1. Sinaptik Plastisite ve Hipokampus

Hipokampus temporal lobun medial kısmında ve lateral ventrikülün temporal hornu ile komşu olan, 5-8 cm uzunluğunda bir gri cevher tabakasıdır(43,44). Limbik sistemin önemli bir parçasıdır. Epizodik anıların oluşumunda, konsolidasyonunda ve geri çağırılmasında, duygulanım, konumlama ve yön bulmada önemli rolü vardır(45,46).

Daha önce dış yüzü koç boynuzuna benzediğinden dolayı “cornu ammonis” olarak anılan hipokampusa, denizatına benzerliğinden dolayı bu isim verilmiştir (Yunanca: ιππος, hippos = at, κάμπος, kampos = deniz) Bölgeleri cornu ammonis ismine dayanılarak CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak kısaltılarak adlandırılmıştır(43,47). CA1 nöronları entorinal korteksten ve CA3 bölgesinden bilgileri alır ve işler, sağlam bir CA3 ve CA1- CA3 bağlantısı referans hafıza için gereklidir. CA3 bölgesi Schaffer kollateral lifleri aracılığı ile CA1 bölgesiyle bağlantılıdır. CA1 çıktıları subikulum, entorinal korteks ve prefrontal kortekse uzanır. CA1 iki yerden girdi alır; büyük kısmı CA3’ten gelir, çok az kısmı ise entorinal korteksten gelir. CA1 bölgesi bir hata dedektörü gibi çalışır ve kortikal bilgiler ile girdi aldığı yerlerden gelen bilgiler arasında uyumsuzluk olup olmadığına bakar(47).



Şekil 2. Hipokampusun ana hücreleri, impuls trafiği ve bağlantıları(48)

1948 yılına kadar hipokampusun yalnızca koku alma ile ilgili bir merkez olduğu düşünülmekteydi, bugün ise hemen her türlü duyuşsal uyarının (görme, işitme, koku, dokunma, iç organ duyuları vs.) hipokampusu aktive ettiği bilinmektedir(49,50). Modern dönemlerde hipokampusun fonksiyonları üzerine ilk bilimsel çalışmalar 1957 yılında Scoville ve Milner'in hipokampusun insan hafızasında önemli rol oynadığını bulması ile başlar(51).

Hipokampus, beyinde hafıza oluşumu, öğrenme ve duygusal davranışların düzenlenmesi gibi önemli işlevlere sahip bir yapıdır. Özellikle sinaptik plastisite ve uzun süreli bellek oluşumu açısından önemli bir rol oynar(52,53). Araştırmalar, hipokampal LTP ile davranışsal hafıza arasında çeşitli benzerlikler olduğunu göstermektedir(54). Bu benzerlikler arasında hızlı öğrenme, tekrarlanan deneyimlerle güçlenme; NMDA reseptör aktivasyonu ve LTP'nin azalması normal unutmayla ilişkili zaman süreci ile korelidir(55). Sıçanlarda tek uyarılı öğrenme deneylerinin, yüksek frekanslı uyarılma (HFS) ile tetiklenen LTP ile aynı hipokampal glutamat reseptörlerinde benzer değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir(56).

Ratlarla yapılan çalışmalarda anestezi ajanlarının etkilerini incelemek için genellikle hipokampus bölgesi tercih edilir. Bunun nedeni, hipokampusun sinaptik transmisyon üzerindeki etkilerinin diğer beyin bölgelerine göre daha belirgin

olmasıdır(52,57,58). Rat beyni yaklaşık bir üzüm tanesi büyüklüğündedir ve içinde 200 milyon nöron bulunur, rat hipokampusu ise üzüm çekirdeği büyüklüğündedir(59).

Anestezik ajanlar, genellikle sinaptik iletimi baskılayarak merkezi sinir sistemi üzerinde sedasyon, anestezi ve amnezi gibi etkiler gösterir(17,52). Bu nedenle anestezik ajanların sinir iletimini etkileyerek beyin üzerindeki etkilerini değerlendirmek istediğimizde, hipokampusun karmaşık sinaptik ağları ve bu ağlarda gerçekleşen hücresel ve moleküler iletim süreçleri bize önemli bilgiler sunar.

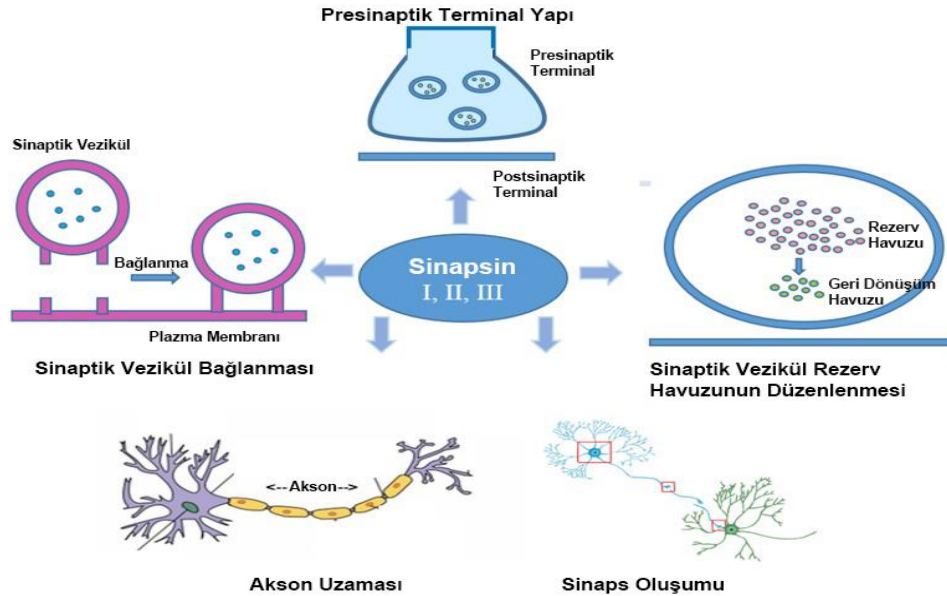
2.3.2. Sinapsin 1 ve Sinaptik Plastisite

Sinapsinler evrimsel olarak korunmuş fosfoproteinlerden oluşan bir aileyi temsil eder. Bu aileye ait ilk üye olan sinapsin 1, 1972'de cAMP bağımlı protein kinaz ve Ca^{2+} (kalsiyum)/kalmodulin-bağımlı protein kinazın (CaMKII) başlıca substratı olarak keşfedilmiştir(60). O zamandan bu yana, bu ailenin daha fazla üyesi ortaya çıkmıştır ve bugün en az beş farklı sinapsin izoformunun var olduğu bilinmektedir. Tümü bir araya getirildiğinde, sinapsinler, beyindeki toplam proteinin yaklaşık %1'ini oluşturarak en bol sinaptik protein ailelerinden birini temsil eder(60–62).

Sinapsinler özellikle sinaptik vezikül membranlarının sitoplazmik yüzeyiyle ilişkilidir ve vezikülleri sitoskelete bağlayarak bir rezerv havuz oluştururlar(60,63–65). Sinapsin proteinleri, birçok protein kinaz ve fosfatazın etkisi altında, vezikül membranının birleşmesini kontrol eder. Fosforile olmamış halleriyle sinapsinler, sinaptik veziküllere bağlanırken; fosforile olduklarında bu bağlantıyı keserler, bu da ekzositoza yol açar(66). Sinapsinlerin ana işlevi, CaMKII fosforilasyonu ile nörotransmitter salınımını ayarlamaktır. Aktif olmadıklarında, vezikülleri sitoskelete bağlayarak onların yerlerinde sabit kalmasına yardımcı olurlar. Bir aksiyon potansiyeli presinaptik membrana ulaştığında, sinapsinler sinaptik veziküllerin serbest bırakılmasını teşvik eder ve bu veziküllerin nörotransmitter salınımını gerçekleştirmek üzere membrana doğru hareketine yardımcı olurlar(60,63–65,67,68).

LTP aktivasyonunda, sinaptik proteinler olan sinaptotagmin, sinaptofizin ve sinapsinlerde artış görülür(69,70). Sinapsin düzeylerinin hem nörotrofik hem de patolojik etkenlere tepki olarak yükseldiği tespit edilmiştir(71). Hipokampustaki LTP süreci boyunca sinapsin 1'deki artışın, sinaptik bağların artışı temsil edebileceği düşünülmüştür(70). Epileptik nöbetler veya geçici ön beyin iskemisi gibi patolojik olaylar sırasında sinapsin 1'de bir artış gösterilmiştir(71,72).

LTP sürecinde hücre içindeki Ca^{+2} 'nin artması sonucu, CaMKII devreye girerek sinapsin 1'in fosforilasyonunu tetikler ve vezikülün hücre zarına bağlanabilmesi için serbest kalmasına yol açar. Bu mekanizma, NMDA reseptörlerinin inhibisyonu ile durdurulabilir. Protein kinaz C (PKC) aktivatörleri ve alfa-adrenerjik agonistlerin neden olduğu LTP'de, sinapsin 1'deki CaMKII fosforilasyonunun arttığı gözlenmiştir(73–75). Ayrıca BDNF2'nin, sinapsin 1 fosforilasyonu aracılığıyla glutamat salgılamasını teşvik ettiği gösterilmiştir(73,76). Bu bulgular, sinapsin 1'in, özellikle mekansal öğrenme ve korku temelli öğrenme gibi karmaşık davranışları etkileyen sinaptik adaptasyonlarda önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.



Şekil 3. Sinapsinlerin majör fonksiyonları(77)

Gelişim sırasında, sinapsin 1'in, nöron büyümesini ve sinaptik bağlantıların olgunlaşmasını, akson uzamasını ve yeni sinaptik oluşumu düzenlediği gösterilmiştir(60,63–65,67). Nörotransmitterlerin sinapsa taşınmasını ve depolanmasını kontrol etme yeteneği, sinapsların gücünün ayarlanmasında, yani sinaptik plastisitede önemli bir rol oynar. Bu nedenle, bölgesel olarak yüksek sinapsin 1 seviyeleri, sinaptik plastisite ve nörogenez için bir işaretçi olarak kabul edilir ve yer aldıkları nöral ağlardaki sinaptik aktivitenin yüksek oranlarını sürdürdükleri düşünülür(63,64). Sonuçta, beynin öğrenme ve hafıza gibi işlevlerini yerine getirebilmesi için hayati önem taşır(60,70,78).

Ayrıca, sinapsin 1'in eksikliği veya işlev bozukluğu, otizm ve şizofreni gibi bazı nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir(79–81). Bu hastalıkların birçok belirtisi, sinaptik plastisitenin bozulmasından kaynaklanabilir. Sinapsin 1 ve sinaptik plastisite arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılması, bu tür hastalıkların daha etkili bir şekilde tedavi edilmesine yardımcı olabilir.

Sonuç olarak, sinapsin 1 ve sinaptik plastisite arasında yakın bir ilişki vardır ve bu protein, sinaptik plastisiteyi düzenleyerek, beynin çevresel uyarılara ve deneyimlere yanıt verme yeteneğini etkiler.

2.3.3. ARC ve Sinaptik Plastisite

ARC veya aktiviteye bağlı sitoskeleton ilişkili protein özellikle beyindeki nöronlar tarafından üretilir ve nöronal aktiviteye yanıt olarak ifade edilir. Aynı zamanda aktivite ile düzenlenen gen 3.1 (Arg3.1) olarak da adlandırılan ARC, 1995 yılında iki farklı laboratuvar tarafından bağımsız olarak tanımlanmıştır(82,83). ARC, öğrenmeyle ilişkili nöral aktivite tarafından transkripsiyonu ve translasyonu uyarılabilen bir hemen erken gen (IEG)'dir ve protein ürünlerinin farklı biyolojik etkileri vardır(84–86). ARC'ın sinaptik plastisitede kritik rol oynadığı ve böylece öğrenme ve hafızada yer aldığı ortaya konmuştur(84). Düzensizleşmesi, hafıza işlevinde bozulmalara yol açmakta, epilepsi ve Alzheimer hastalığı (AD) gibi bir dizi nörolojik bozuklukla ilişkilendirilmektedir(87).

ARC, bir transkripsiyon faktörü yerine bir iskele proteinini kodladığı için en bilinen işlevi, sinaptik plastisiteyi düzenlemektir. Bu, LTP ve LTD ya da homeostatik plastisiteyi içerir(86,88,89). ARC sentezinin erken aşamasının LTP

indüksiyonu için gerekli olduğunu, geç aşamasının ise LTP entegrasyonu için gerekli olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur(32).

ARC, dentat girusta eksojen uygulanan BDNF ile indüklenen LTP için ve hipokampal CA1 bölgesindeki grup I metabotropik glutamat reseptör (mGluR1) agonisti ile indüklenen LTD için gereklidir(90–92). Tüm bu ARC-bağımlı plastisite biçimleri, uyarıcı glutamaterjik nöronların post-sinaptik bölgesinde artmış ARC ifadesiyle ilişkilendirilir(93).

Hızlı glutamaterjik sinaptik iletim, iyonotropik AMPA reseptörlerinin (AMPA) aktive edilmesi yoluyla, nöronal iletişimin ana mekanizmalarından biridir(94). AMPAR taşınmasıyla ilgili birkaç mekanizma olmasına rağmen, en çok inceleneni sinaptik aktiviteyi AMPAR endositozuna bağlayan ARC yolağıdır. Nöral aktiviteye (yüksek frekanslı stimülasyon veya nöbet aktivitesi gibi) veya BDNF'ye maruz kalmaya takiben, ARC mRNA'sı hızla postsinaptik dendritik bölgelere taşınır ve ardından translasyona uğrayarak AMPAR endositozuna yol açar(90,95–97). ARC, homeostatik ölçekleme ve LTP'yi içeren spesifik sinaptik plastisite formlarında yer alır ve ARC ekspresyonu, AMPA reseptör endositozuna yol açan mGluR1 aktivasyonu ile indüklenir (mGluR-LTD)(91). ARC'ın silinmesi veya sentezinin inhibisyonu AMPA reseptör endositozunu engeller, yüzey AMPAR ifadesini artırır ve mGluR-LTD'yi engeller(96).

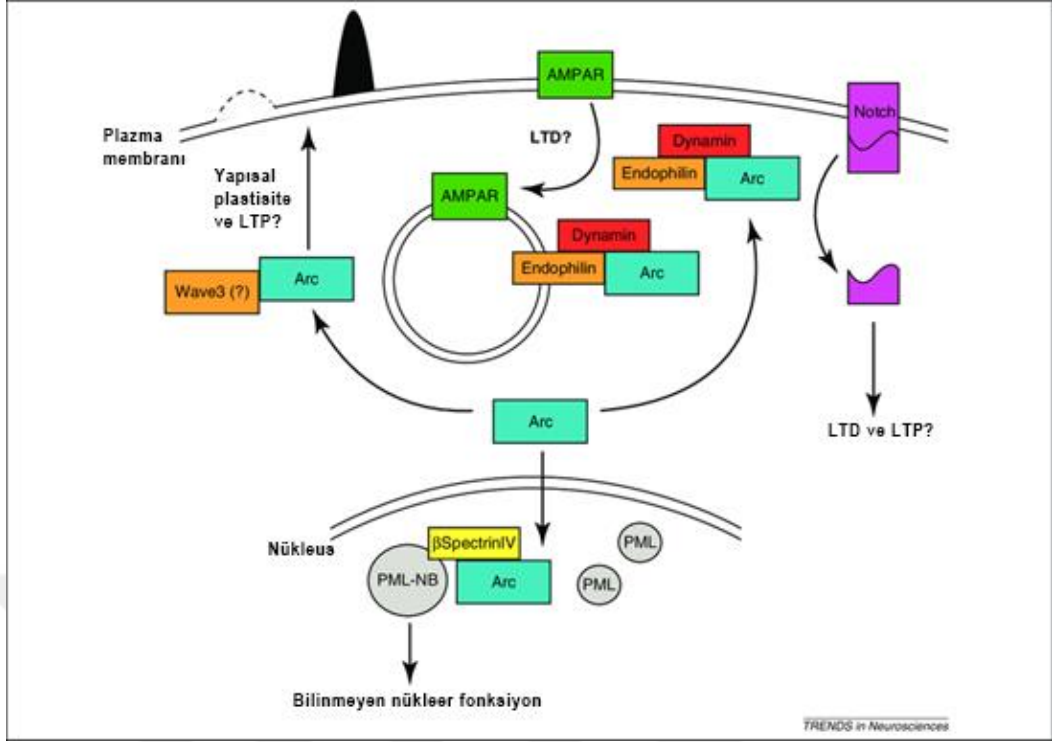
ARC proteininin, Notch sinyali, spin boyutu ve tipini düzenleyerek sinaptik gücü değiştirdiği bilinmektedir(98,99). ARC geni susturulmuş hayvanlarda kısa süreli hafızanın etkilenmediği, ancak kalıcı bellek oluşumunun engellendiği tespit edilmiştir(100). ARC'ın sinaptik plastisite üzerindeki önemi, kemirgenlerde ARC ifadesini azaltarak gösterilmiştir, bu da bellek birleştirmesinde bozukluk dahil bilişsel işlev bozukluklarına yol açmıştır(11,100–102).

Son çalışmalar, LTP'nin konsolidasyonunun postsinaptik yoğunluk (PSD) ve dendritik dikenin aktin polimerizasyona bağlı genişlemesini gerektirdiğini öne sürmektedir(103). F-aktin, yapısal bakım ve plastisiteden sorumlu olduğu dendritik dikenlerdeki primer hücre iskeletini oluşturur(103,104). NMDAR'a bağımlı LTP'ye, uyarılmış dendritik dikenlerin fiziksel genişlemesi eşlik eder(105). F-aktin artışı ve LTP'nin sürdürülmesi, aktin ayırıcı protein kofilinin fosforilasyonu ile

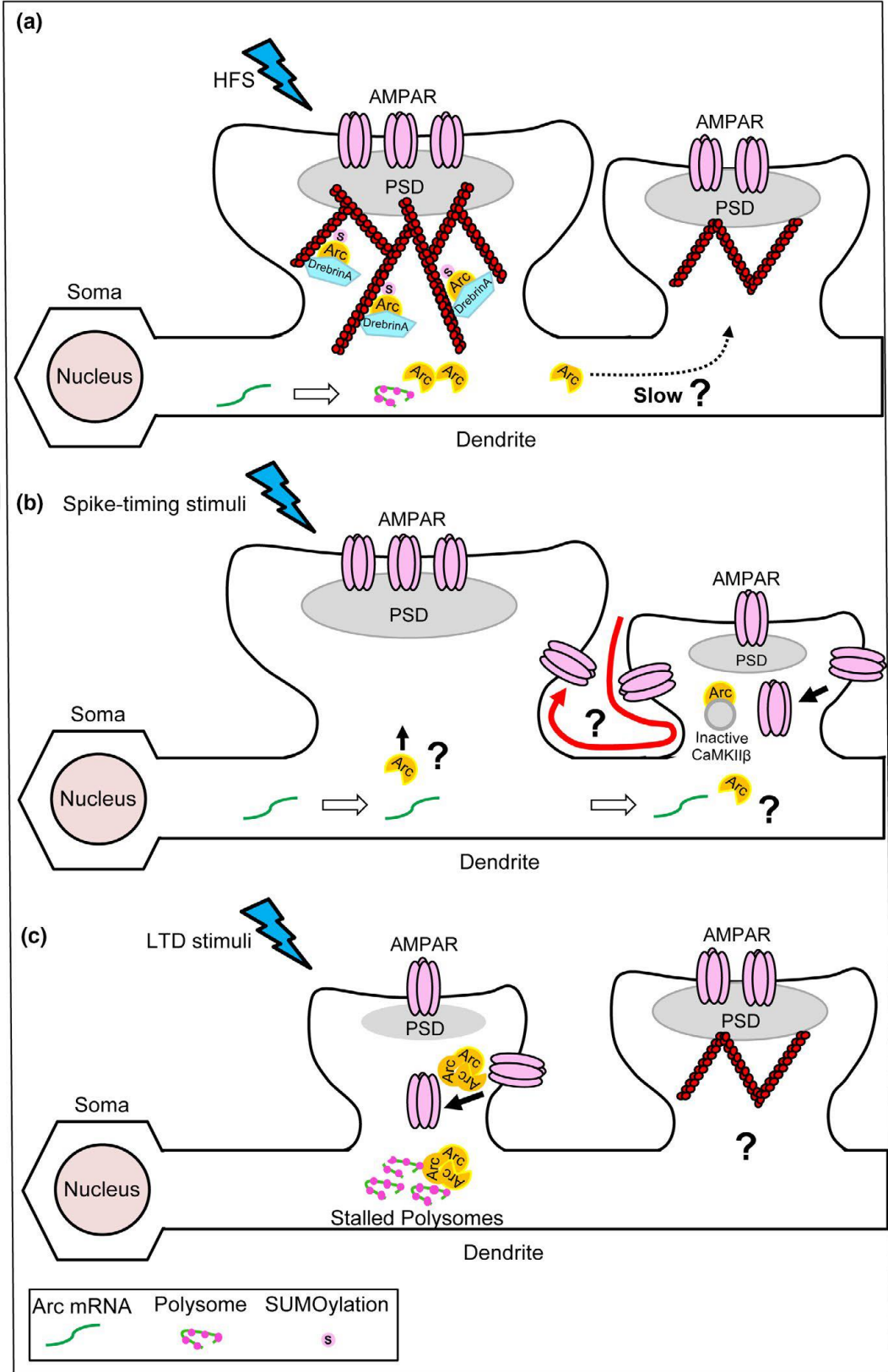
bağlantılıdır. Kofilin fosforilasyonu kopmayı engeller ve böylece dikenlerdeki aktin filamentinin uzamasını ve stabilizasyonunu destekler(106). Bütün bu sonuçlar, LTP'nin sürdürülmesinin F-aktin'in ARC-bağımlı stabilizasyonunu gerektirdiğini göstermektedir(103).

LTP indüksiyonundan önce veya sonra ARC ve kofilin arasında direkt bir etkileşim olmadığı ancak başka bir aktin bağlayıcı protein olan drebrin A ile etkileşimde bulunduğu gösterilmiştir(107). Drebrin A, dendritik dikenlerde yerleşik ve aktin filamentlerini bağlayarak dikenlerin uzun vadeli stabilitesini kontrol etme işlevine sahip bir proteindir. Hipokampal nöronal hücre kültürlerinde yapılan canlı hücre görüntülemelerinde, kimyasal olarak indüklenen LTP sırasında dendritik dikenlerin stabil genişlemesinin drebrinin diken çekirdeğinden şafta trafiğini ve F-aktin'in stabilizasyonu için dikenlere yeniden yerleşmesini gerektirdiği gösterilmiştir(108).

Bununla birlikte ARC'ın LTP sürdürülmesi sırasında küçük übikuitin benzeri modifikatör (SUMO) proteinle gelişmiş post-translasyonel konjugasyon geçirdiği bilinmektedir. Koimmünopresipitasyon testleri, ARC'a tek bir SUMO1 proteinin eklendiğini göstermiştir, SUMOillenmemiş ARC, bilinen birkaç ARC bağlama partneriyle (CaMKII, PSD95, dynamin 2) etkileşimde bulunurken, yalnızca drebrin A, SUMOillenmiş ARC ile kompleks oluşturur. HFS sonrası 2. saatte TrkB-Fc (Tirozin Kinaz Reseptör B-Fc) infüzyonu, SUMOillenmiş ARC'ın kaybına ve LTP'nin destabilizasyonuna yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur, bu da ARC proteininin SUMOillenmiş fraksiyonunun hızla parçalandığını göstermektedir. Genel olarak, sonuçlar SUMOillenmenin LTP sırasında ARC'ı drebrin ve aktin düzenlemesine bağladığını öne sürmektedir(103,107).



Şekil 4. ARC proteininin hücresel fonksiyonları(109)



Şekil 5. Arc Bağımlı Sinaptik Plastisitede Stimulus Spesifik Mekanizmalar. (a) Dentate gyrus'ta HFS, Arc transkripsiyonunu ve Arc RNA'sının dendritlere sürekli dağılımını sağlar. SUMO ile edilmiş Arc, drebrin A ile ilişkilendirilerek aktin filamentlerinin stabilizasyonunu kolaylaştırır. (b) Aktif diken yapısal LTP geçirirken, komşu inaktif omurgalar küçülür. Arc, inaktif CaMKIIβ'ye özgül

olarak bağlanarak inaktif sinapslarda birikir. Bu heterosinaptik LTD formu ters sinaptik etiketleme olarak bilinir. LTP dikenlerinde AMPAR yüzey ifadesi artar ve LTD omurgalarında azalır. (c) mGluR-LTD, mevcut dendritik Arc RNA'nın translasyonuna bağlıdır. mGluR-LTD, yeni Arc transkripsiyonunu gerektirmez. Durdurulmuş polizomların yeniden etkinleştirilmesi, senkronize bir sentez dalgası sağlayabilir ve Arc oligomerizasyonunu tercih ederek mGluR-LTD'yi güçlendirebilir. mGluR etkinleştirilmiş ve etkinleştirilmemiş omurgalar arasındaki ilişki pek anlaşılmamıştır(103).

Bunun yanı sıra, ARC proteininin yeni sinaptik bağlantıların oluşumunda ve mevcut sinapsların korunmasında önemli bir rolü olduğu bulunmuştur(98).

Sonuç olarak, ARC proteininin sinaptik plastisite üzerindeki etkisi, nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıların dinamik bir şekilde değişimini sağlar. Bu, beynin yeni bilgileri öğrenme ve hafıza oluşturma yeteneği üzerinde büyük bir etkiye sahip olabilir. ARC proteininin bu rolü, öğrenme ve hafıza bozukluklarının tedavisinde potansiyel bir hedef olabilir.

2.3.4. MAP1A ve Sinaptik Plastisite

MAP1A non-motor mikrotübül bağlayıcı proteinlerin bir üyesidir. NR'lerinin hücre iskeleti ile MAP1A yoluyla bağlanmasının sinaptik fonksiyon için temel olduğu ve sinaptik plastisitenin korunmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. MAP1A proteininden yoksun farelerin, öğrenme ve hafıza bozuklukları sergilediklerini gösteren çalışmalar mevcuttur(13).

MAP1A, sinaptik plastisiteyi birkaç yolla etkiler(13,110–113):

1. Sinaptik Taşıma: Sinaptik veziküllerin ve proteinlerin nöron gövdesinden sinapslara doğru taşınmasını düzenleyerek sinaptik iletimin düzenlenmesine yardımcı olur. Bu süreç, nöronların birbirleriyle etkili bir şekilde iletişim kurmaları için hayati önem taşır.
2. Dendritik Dallanma: Nöronların dendritik dallanmasını düzenler. Daha fazla dendritik dallanma, daha fazla sinaps oluşturma potansiyeli anlamına gelir, bu da sinaptik plastisitenin artmasına neden olur.
3. Nörotransmitter Reseptörlerinin Düzenlenmesi: Nörotransmitter reseptörlerinin hücre yüzeyindeki düzenlenmesini etkileyerek de sinaptik iletimi ve plastisiteyi etkiler.

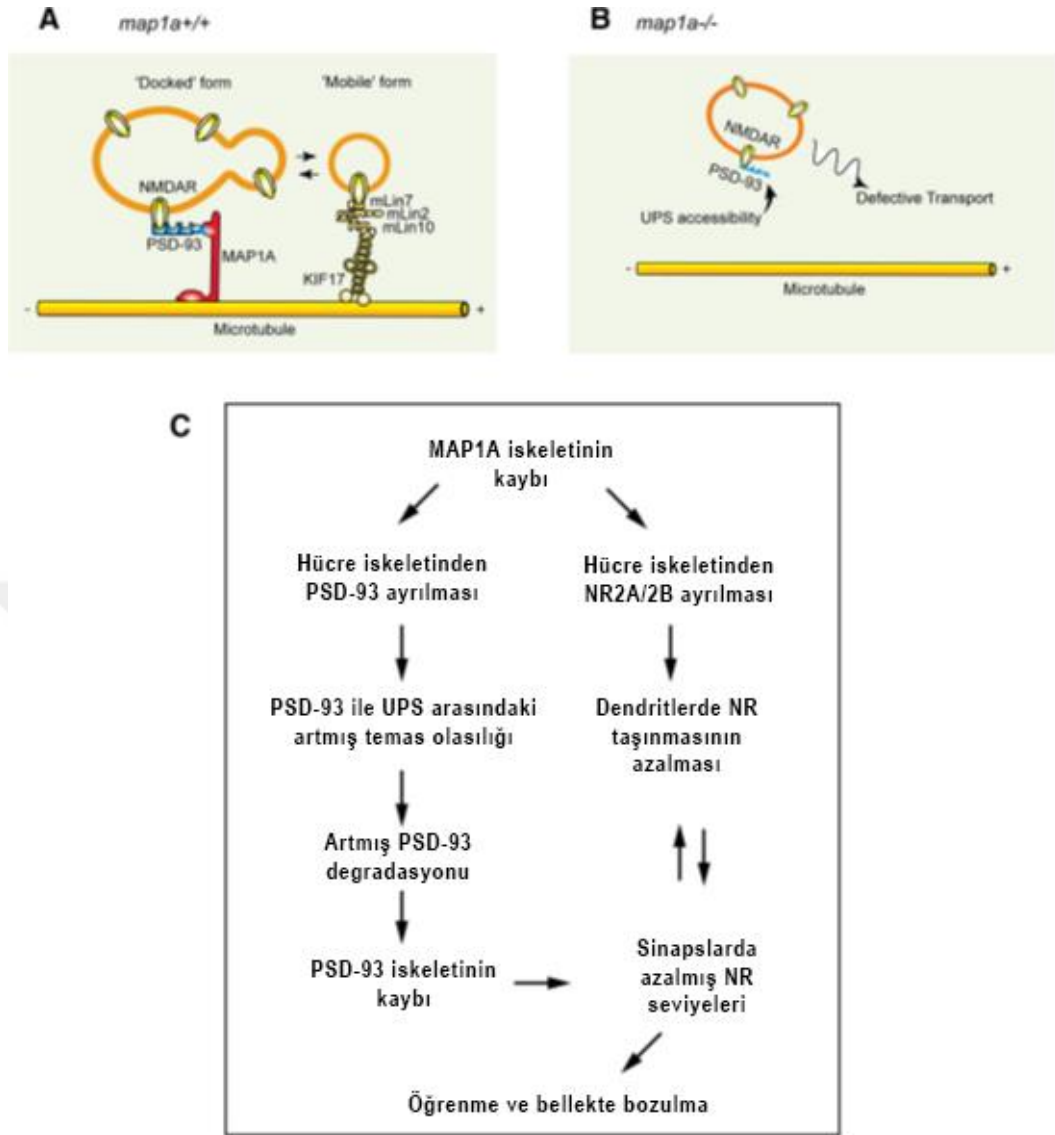
Glutamat reseptörlerinin hücre içi taşınması, sinaptik plastisitenin korunması için temel bir süreçtir ve mikrotübül hücre iskeletinin bu süreçte önemli

rol oynadığını gösteren yeni kanıtlar ortaya çıkmaktadır(13,111–115). Nörotransmitter reseptörlerinin ve ilişkili proteinlerin uzun mesafeli taşınmasına tipik olarak mikrotübül bazlı moleküler motor kompleksleri aracılık eder(116). Moleküler motorların yanı sıra, mikrotübül ile ilişkili proteinlerin bir diğer ana kategorisi, MAP1A, MAP1B, MAP2 ve tau gibi motor olmayan MAP'lerdir(13,116). Motor olmayan MAP'lerin organel taşınımı ile fonksiyonel ilişkilerine gelince, yeterli miktarda kanıt, tau ve MAP2'nin moleküler motor aracılığıyla kesecik/organel taşınımını inhibe ettiğini göstermektedir(117,118). Bu MAP'lerin inhibe edici etkisinin aksine, MAP1A'nın, PSD-93 ve PSD-95 gibi membran ilişkili guanilat kinazlarla (MAGUK) bağlanma yoluyla organel taşınmasında farklı bir destekleyici role sahip olduğunu gösterilmiştir(110,119,120). PSD-93 ve PSD-95'in MAP1A'ya MAGUK bağlama (GK) alanı aracılığıyla bağlandığı rapor edilmiştir(110,121). Özellikle GK alanının MAP1B'de bulunmadığı, ancak MAP1A'ya özgü olduğu göz önüne alındığında, MAP1A'dan yoksun fare nöronlarındaki NR2A/B aktarımındaki kusurların, NR2A/2B'nin sinaptik lokalizasyonunun azalmasından sorumlu olduğu gösterilmiştir(13). MAP1A'nın, NR2A/2B transportunun sürdürülmesine etkisine dair olası bir açıklama; MAP1A'nın hücre iskeletine bir NR2A/2B düğümü sağlaması ve bağlanma kaybının taşınımın azalmasına yol açabilmesidir(13). Dendritik şaftlarda, mikrotübül yollarındaki NR'ler iki farklı protein kompleksi biçimini alabilir: "bağlanmış (docked)" ve "hareketli (mobil)". Docked formun rolünün, NR içeren keseciklerin mikrotübül izlerine yakın konumunu korumak ve mobil kompleks form yoluyla NR trafiğinin verimliliğini desteklemek olabileceği tahmin edilmektedir (Şekil 6A). Dendritlerde NR'ler, docked formun desteği olmadan mikrotübüllerden kolayca ayrılır, bu da sinapslara uygun NR trafiğinin tıkanmasına neden olur (Şekil 6B). Sinapslardaki azalan NR seviyeleri hücre içi NR taşıma seviyesini etkileyebilir (Şekil 6C)(13).

MAP1A'dan yoksun olan nöronların dikkat çeken diğer bir özelliği de PSD-93'ün aktiviteye bağlı istikrarsızlığıdır ve bu durum, MAP1A'dan yoksun fare nöronlarında sinaptik plastisite ve NR2A/2B taşınımındaki bozuklukların temelinde yatabilir(13). PSD-95, ubiquitin–proteazom yolakları tarafından düzenlenir(122). Birçok diğer önemli sinaptik molekül, örneğin ARC,

ubikuitinasyonun düzenlemesi altında sinaptik plastisitenin moleküler mekanizmalarına katılır ve sinaptik işlev ve plastisiteye katılır(123). Aktiviteye bağlı olarak PSD-93 seviyelerinin azalmasının MAP1A'dan yoksun nöronlarda daha fazla olduğu gösterilmiştir(13). MAP1A'nın yokluğunun PSD-93'ün artan aktiviteye bağlı parçalanmasına etki mekanizması ile ilgili iki olasılık düşünülebilir. Birincisi, MAP1A'nın PSD-93 ile ilişkisi, ubiquitin ligazları gibi ubiquitin-proteazom sisteminin (UPS) erişimini engellemiş olabilir(13,122). Bu durumda, MAP1A'dan yoksun fare nöronlarında MAP1A eksikliği PSD-93 ve UPS arasındaki temas olasılığını artırmalıdır. Diğeri, MAP1A'nın eksikliği nedeniyle MAP1A tarafından sağlanan yapısal desteği kaybetmiş olan PSD-93'ün, sitoplazmada UPS ile temas olasılığını artırabileceği şeklinde olabilir(13). Her iki mekanizma da MAP1A'dan yoksun fare nöronlarında PSD-93'ün artan parçalanmasına katkıda bulunabilir. Bu iki moleküler mekanizma, MAP1A'dan yoksun farelerde gözlenen bellek bozukluklarına sinerjik olarak katkıda bulunabilir (Şekil 6C). Bu nedenle, MAP1A'nın PSD iskelelerinin ve yüzeyde ifade edilen NR2A/2B'nin ekspresyonunu koruyarak sinaptik plastisitede önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir(13).

Bu yüzden, MAP1A'nın sinaptik plastisite üzerindeki etkisi, nöronların birbirleriyle iletişim kurma ve yeni bilgileri öğrenme ve hafıza oluşturma yetenekleri üzerinde büyük bir etkiye sahip olabilir. Bu proteinin işlevinin daha iyi anlaşılması, nörolojik hastalıkların, öğrenme ve hafıza bozukluklarının tedavisine yönelik potansiyel stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir.



Şekil 6. MAP1A, sinaptik plastisite için NR aktarımını ve PSD-93 stabilitesini destekler. A, Vahşi tip dendritlerde NR'lerin yerleşik ve hareketli formu. B, MAP1A ^{-/-} dendritlerde NR'lerin kesintiye uğramış yerleşik formu. C, MAP1A ^{-/-} fare nöronlarında tahmin edilen moleküler patolojinin şeması(13).

2.4. Oksidatif Stres

Serbest radikaller, insan ve hayvanlarda fizyolojik aktivitenin doğal bir sonucu olarak oluşan, atomik veya moleküler yörüngelerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran yapılardır. Başka bir deyişle, negatif yüklü elektron sayısının pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir. Genellikle molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine nokta veya çizgi ile gösterilir ($R^{\cdot}$, R^-)(124–126).

Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronlardan dolayı son derece reaktiftir ve çevredeki atomlara ve moleküllere saldırır. Ömürleri çok kısa olsa da, radikal olmayan maddelerle reaksiyona girerek onları da radikal hâline getirebilirler. Bunun sonucunda bir dizi zincir reaksiyonu başlatarak çok sayıda radikal oluşturdukları için oldukça tehlikelidirler.

2.4.1. Reaktif Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri, oksijenin belirli koşullarda kısmen indirgenmesi sonucu oluşan çok kısa ömürlü ve güçlü oksidan nitelikli oksijen metabolitleridir. Bu oksijen radikalleri süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil, singlet oksijen ve hipoklorik asit olarak sıralanabilir(127).

Oluşan radikaller, eşleşmemiş elektronları nedeniyle son derece dengesizdir ve hızla ortamdaki kaybolurlar. Bu nedenle, bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle aktararak (redüksiyon) veya bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturup (oksidasyon) daha kararlı bir yapıya dönüşebilirler. Bu süreçte, non-radikal moleküller radikal haline dönüştürülebilir. Reaktif oksijen türleri, miktarı ve süresine bağlı olarak hücre fonksiyonlarını bozabilirler(128).

2.4.1.1. Süperoksit (O_2^-)

Oksijen doğada moleküler formda bulunan, kararsız bir elementtir. Süperoksit radikali, oksijen molekülüne bir elektron transferiyle oluşur. Bir serbest radikal olmasının yanı sıra hidrojen peroksitin kaynağı ve geçiş metallerinin iyonlarının indirgeyicisi olarak da önemli bir role sahiptir(129).

2.4.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, serbest bir radikal olmasa da metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olarak oksitleyici özellik gösterir. Proteinlerde bulunan hem gruplarıyla reaksiyona girerek reaktif demir formları oluşturarak lipid peroksidasyonu gibi radikal değişimlerinin başlamasına neden olmaktadır(129).

2.4.1.3. Hidroksil ($HO\cdot$)

Hidroksil, en reaktif radikal olarak bilinir ve dokularda ciddi hasara neden olabilir. En önemli biyolojik etkisi, lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan serbest radikal zincir reaksiyonudur. Bu reaksiyon, hidroksil radikallerinin hücre zarındaki lipid moleküllerine saldırarak lipidlerin oksidasyonuna ve hasarına yol açmasıdır. Bu süreç, hücre zarının yapısını bozar ve hücre fonksiyonlarını etkileyebilir.

2.4.1.4. Singlet oksijen

Singlet oksijen radikal olarak sınıflandırılmaz çünkü ortaklanmamış bir elektronu yoktur. Ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattığı ve oksidatif hasara neden olduğu için radikal sınıfına dahil edilir. Yüksek enerjili formda olan oksijendir ve çevredeki moleküllere zarar vererek mutasyonlara yol açar. Bu nedenle, hücrelerde ve dokularda oksidatif stresin bir belirtisi olarak kabul edilir(129,130).

2.4.1.5. Hipoklorik asit ($HOCl$)

Hipokloröz asit, radikal olmayan bir reaktif oksijen türü olmasına rağmen reaktif oksijen türleri içinde yer alır. Fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller) ile birlikte bakterilerin öldürülmesinde önemli bir rol oynar. Aktive olan bu hücreler, süperoksit radikalleri (O_2^-) üretirler. Radikal üretimi, fagositik hücrelerin bakterileri etkili bir şekilde öldürmesinde büyük bir öneme sahiptir. Özellikle nötrofiller, mieloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O_2^- oluşturur ve daha sonra dismutasyon yoluyla oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan $HOCl$ 'yi meydana getirirler(131).

2.4.2. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO')

Düşük konsantrasyonlarda bile oksijen varlığında stabilitesini koruyabilen nitrik oksit (NO), memeli hücrelerinin biyoaktif bir sekresyon ürünüdür ve bilinen en düşük molekül ağırlığına sahip bileşiktir. Diğer radikallerden farkı düşük dozlarda toksik olmaması ve birçok önemli fizyolojik işlevde görev almasıdır. NO, bir azot atomu ile bir oksijen atomunun eşleşmemiş elektronlarını birleştirerek oluştuğu için radikal tanımına uyar(132). Lipofilik NO molekülü, damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi ile L-arjininden sentezlenir. Bu enzimin birçok izoformu tanımlanmıştır. NO'nun yarı ömrü 10-20 saniye arasındadır, kolayca düz kas hücrelerine geçer ve guanilat siklaz (GC) enziminin "hem" demirine bağlanarak siklik guanozin monofosfat (cGMP) sentezini uyararak damarların gevşemesine yol açar. Ayrıca, tiyol gruplarını S-nitrozilasyon yoluyla değiştirerek protein ve reseptör fonksiyonlarını da etkiler(129,131).

2.4.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, normal metabolik süreçler sırasında meydana gelebildiği gibi, organizmanın bazı yabancı maddeleri metabolize etmesi veya dış etkenlere maruz kalması gibi durumlarda da gerçekleşebilir. Bu nedenle serbest radikal oluşumunu tetikleyen mekanizmalar, endojen ve ekzojen olarak iki gruba ayrılır(133).

Anestezik maddeler, alkol, uyuşturucular, radyasyon, hava kirliliği, pestisitler, solventler, aromatik hidrokarbonlar, stres, sigara ve antineoplastikler gibi maddeler ekzojen radikal kaynaklarına örnek olarak verilebilir. Bunun yanı sıra, mitokondrial elektron taşıma sistemi, iskemi-reperfüzyon, travma, toksikasyon durumları, peroksizom enzimleri, tiyoller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidrobioplerin, endoplazmik retikulum ve çekirdek zarındaki elektron taşıma sistemleri, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz gibi hücre içi enzimler de endojen radikal kaynaklarına örnek olarak verilebilir(133).

2.4.5. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, vücutta antioksidan savunma mekanizmasının kapasitesini aştığında çeşitli bozukluklara neden olur. Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin ve hücrenin tüm bileşenleriyle etkileşime geçerek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere yol açarlar(124,134).

2.4.5.1. Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Hücre zarının lipid yapısında bulunan lipitler, serbest radikaller tarafından en çok etkilenen biyomoleküllerdir(129). Serbest radikallerin lipitlere etkisi, lipid peroksidasyonu adı verilen bir biyokimyasal olayı tetikler. Bu olay, hücre zarının fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller tarafından okside edilmesiyle gerçekleşir. Lipid peroksidasyonu, hücre zarının yapısını ve membran akışkanlığını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarında hasara neden olur(134). Lipid peroksidasyonu zincirleme bir reaksiyondur ve başlatıldığında yeni oluşan radikallerin etkisiyle artan bir hızda devam eder. Bu süreçte oluşan malondialdehit (MDA), peroksidatif hasarın bir belirteci olarak kullanılır ve biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilir(135).

2.4.5.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler, lipidlere kıyasla serbest radikallere karşı daha az hassastır. Etkilenme dereceleri, içerdikleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Özellikle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden oluşan proteinler, serbest radikallerden kolaylıkla etkilenebilir. Bu etkileşim sonucunda karbon merkezli radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Karbonillerin ölçülmesi, proteinlerin oksidatif hasarının bir göstergesi olarak kullanılabilir. Serbest radikallerin neden olduğu hasar, proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanmalar ve agregasyon meydana getirebilir. Bozulan protein yapıları, normal fonksiyonlarını yerine getiremez hale gelir. Bu durum, proteinin antijenitesinde değişikliklere ve proteolitik hassasiyete yol açabilir. Serbest radikaller, membran proteinleriyle etkileşime girerek enzimler, nörotransmitterler ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden

olabilir. Enzimler protein yapısına sahip olduklarından, enzim aktivitelerinde değişiklikler meydana gelebilir(136).

2.4.5.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler, fizyolojik koşullarda oksidasyona uğrayarak süperoksit ve hidrojen peroksit oluştururlar. Karbonhidratların oksidasyonu sonucunda ortaya çıkan oksoaldehitler; DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki gösterir, kanser ve yaşlanma süreçlerinde rol oynarlar(137).

2.4.5.4. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

Hidroksil radikalleri, pürin ve pirimidin bazlarını okside ederek DNA üzerinde baz modifikasyonları, baz delesyonları ve zincir kırılmalarına neden olur, oksijen radikalleri ise DNA üzerinde oksidatif yarılma ile hasara yol açar. Özellikle pirimidinler, bu etkilere en hassas yapılar olarak karşımıza çıkar. DNA zincirinin kopması veya çift sarmalın ayrılması sonucunda hücrede mutasyonlar ve hatta hücre ölümü meydana gelebilir(129).

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar, bir dizi hastalığa neden olabilen serbest radikallere karşı koruma sağlayan bileşiklerdir. Bunlar genellikle vücut tarafından üretilirler ancak bazıları da diyet yoluyla alınabilir. Serbest radikallerle birleşerek onları etkisiz hale getirirler ve bu süreçte oksidatif hasarı önlerler. Antioksidanlar ayrıca serbest radikal oluşumunu engellemeye yardımcı olabilir veya bunları vücuttan atabilirler(126,137).

İki ana antioksidan sistem vardır:

1. Enzimatik Antioksidan Sistemler: Bu sistemler, genellikle katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerle serbest radikalleri nötralize eder. Beyindeki temel enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve tioredoksinler bulunmaktadır. Örneğin, süperoksit dismutaz, süperoksit

radikalini daha az reaktif bir H_2O_2 molekülüne dönüştürerek, su moleküllerinin eliminasyonu yoluyla metabolizma ve hücre fonksiyonu için gereken dehidrataz gibi bir grup enzimin oksidasyondan korunmasına yardımcı olur(138,139).

2. Non-enzimatik Antioksidan Sistemler: Vücut tarafından üretilen veya diyetle alınabilen ve serbest radikalleri nötralize eden moleküllerdir. Bunlar vitamin E, C ve A, beta-karoten, glutatyon, selenyum ve çinko gibi bileşenleri içerir.

Beyindeki enzimatik olmayan antioksidanların işlevleri oldukça çeşitlidir. Örnek olarak, singlet oksijeni etkisiz hale getirebilir, oksidatif enzimleri inhibe edebilir, peroksit türlerini parçalayabilir ve ultraviyole radyasyonu absorbe edebilirler(138,140). Selenyum ve çinko yaygın elemental antioksidan enzim kofaktörleridir. Selenyumun antioksidan özellikleri genellikle Ca^{2+} sinyal düzenlemesine olan katkısıyla ilişkilendirilir ve enzimatik antioksidanlara kofaktör olarak hizmet eder(138,141). Benzer şekilde, çinko, başlıca enzimatik antioksidanların aktivitesini artırmanın yanı sıra oksidan üreten enzimleri de zayıflatabildiği için benzer bir rol oynar(138,142,143). Çinko eksikliği oksidatif stresle güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir(138,144).

Suda çözünebilen bir antioksidan olan askorbik asit (C vitamini), kan-beyin bariyerini aşabilir ve nöronlara yayılabilir, bunu sodyum askorbat taşıyıcı proteinlerin yardımıyla yapar(138,145). Askorbik asit, antioksidasyonda aktif bir bileşen veya kofaktör olarak görev yapar(138,146). Genellikle, askorbik asit, hidrofobik hücre yapılarını (örneğin, membranlar ve lizozomlar) koruma görevini üstlenirken, antioksidan savunma sisteminin yağda çözünen bir parçası olan E vitamini ile birlikte çalışır(138,147,148). E vitamininin biyolojik olarak en aktif formu olan tokoferol hücre zarlarını, çoklu doymamış yağ asitleri tarafından üretilen reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı korur(138,149,150). Antioksidan savunma sisteminin lipitte çözünebilen enzimatik olmayan diğer bir bileşeni de A vitaminidir.

Yeterli antioksidan alımı, oksidatif hasarı azaltmaya yardımcı olabilir ve genel sağlığı korurken aynı zamanda belirli hastalıkların riskini azaltabilir(126,133).

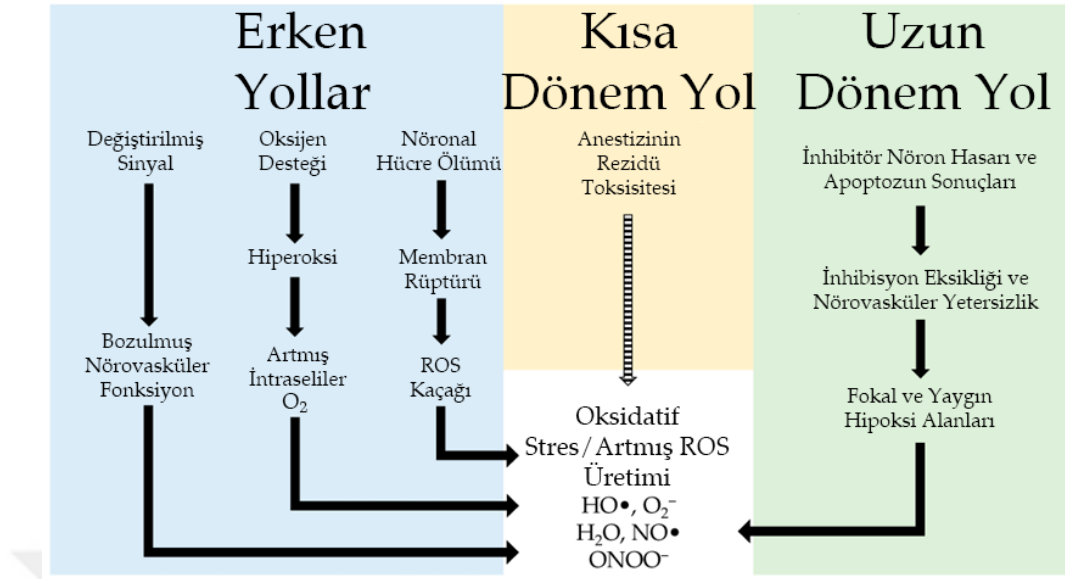
2.5.1. Yenidoğan Beyninde Antioksidan Savunma Sistemi

Beyin, diğer organlara göre daha zayıf bir doğal antioksidan savunma sistemine sahiptir, bu da onu toksinlere karşı olağanüstü derecede hassas kılar(138,143). Bu hassasiyetin nedeni, beynin yüksek metabolik aktiviteye rağmen daha düşük bir antioksidan konsantrasyonuna sahip olmasıdır; bu durum, reaktif oksijen türlerinin normalden çok daha hızlı birikmesine izin verir(138).

Yenidoğan anestezisi kaynaklı oksidatif stresin anlaşılabilmesi için ilk olarak, yetişkinlerle karşılaştırıldığında yenidoğanların antioksidan savunma sistemi arasındaki farklara dikkat etmek önemlidir. Hayvan modelleri, olgunlaşmamış bir beyin sınırlı glutatyon peroksidaz aktivitesine sahip olduğunu ve bu nedenle oksidatif strese karşı son derece hassas olduğunu göstermiştir(138,151). Ayrıca, yenidoğan beyinlerinde süperoksit dismutaz 1'in (SOD1) aşırı ekspresyonunun zararlı olduğunu ve bu artışın artan glutatyon peroksidaz ve katalaz aktiviteleri tarafından dengelenemediğini gösteren başka çalışmalar bulunmaktadır(138,152). Bu bulgular, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazın yenidoğan antioksidan savunma sistemi üzerindeki temel etkisini desteklemektedir(138,153). İnsanlar üzerinde yapılan araştırmalar, miad doğan bebeklerin oksidatif strese karşı daha hassas olduğunu göstermektedir; bu durum yaşla birlikte düzelir ve ROS ile antioksidan sistem arasındaki dengesizliği yansıtır(138,154). Sonuç olarak, yenidoğan beyni, daha az tepki veren antioksidanlarla oksidatif stresin etkilerine karşı daha yüksek bir hassasiyete sahiptir.

2.5.2. Anestezi Sırasında Oksidatif Stres

Anestezi sırasında apoptoz, değişen sinyaller ve potansiyel olarak hiperoksik durumların meydana geldiği bilinmektedir. Bu birincil faktörlerin her birinin ROS üretimini arttırdığı ve dolayısıyla oksidatif stres ürettiği bilinmektedir(138).



Şekil 7. Yenidoğan anestezisinin beyinde neden olduğu oksidatif stresin şematik gösterimi(138)

Oksijen takviyesi, hipoksiyi önleme konusunda oldukça etkilidir, ancak beyinde ROS (en önemlisi hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve süperoksit) üretimini artırabilen hiperoksik koşullara yol açabilir. Normalde, uyanık durumda, solunan oksijen seviyeleri, kan içindeki oksijen yüzdesi (pO_2) homeostatik seviyelerini korumak için solunum hızı ve hacminde düzenlemeler yapar ve beyin dokularının oksijen seviyelerini düzenler(138,155,156). Ancak, anestezi altında bu tür etkin otoregülasyon mümkün değildir. Bu nedenle, ek oksijen verilmesi hiperoksi riskini artırabilir(138,157).

Anestezinin, nöronal iletişim ve nöronların elektrofizyolojik davranışı üzerinde doğrudan ve derin etkileri bulunmaktadır. Örneğin, propofol, izofluran ve sevofluran gibi anestezikler, genel beyin aktivitesinde azalmaya neden olmanın yanı sıra yüksek konsantrasyonlarda burst supresyon oluşturabilir, bu da anestezi durumuna katkıda bulunan bir faktör olabilir(138,158,159). Burst supresyon, elektroensefalografi (EEG) kayıtlarında sıkça görülen, karakteristik olarak aralıklı ve kısa süreli yoğun nöron ateşlemelerinin (patlama) ardından çok daha uzun süreli düşük aktivite dönemlerinin (baskılama) belirgin olduğu bir durumdur. Nöronların patlamaları, artan metabolik talebe yol açar; bu da genel anestezi nedeniyle normal nörovasküler eşleşmenin bozulması sonucu yerel olarak mevcut olan oksijenin hızla tükenmesine neden olabilir(138,160). Bu nedenle, bu olayların anesteziye bağlı

oksidatif stresin potansiyel kaynaklarından biri olabileceği öne sürülmüştür(138,161).

Anestezi uygulaması, özellikle yenidoğanlarda, genellikle nöroapoptoz ile ilişkilendirilir(138). Anestezi sırasında nöroapoptozun aktivasyonuna katkıda bulunan çeşitli faktörler olduğu düşünülmektedir. Örneğin, bu apoptozun temelinde, glutamaterjik özelliklere sahip anesteziklerin neden olduğu oksidatif stresin etkili olduğu bir hipotez öne sürülmüştür(138,162). Bu hipoteze dayalı bir model, NMDA reseptörlerinin aşırı aktivasyonunun mitokondri tarafından Ca^{2+} aşırı yüklemesine karşı koruyucu bir tepki veremediğini ve bunun sonucunda ROS seviyelerinin arttığını öne sürmektedir. Ayrıca, bazı transkripsiyon faktörlerinin ayrışmasının meydana geldiği düşünülmektedir. Bu transkripsiyon faktörleri, çekirdekteki DNA'ya bağlanarak anti-apoptotik ve pro-apoptotik dengesizliklere neden olabilir. İkinci bir teori, inhalasyon anesteziklerinin endoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımını etkileyerek hücre içi kalsiyum dengesizliğine ve sonuç olarak nöronal hücre hasarına yol açabileceğini öne sürmektedir(138,163). Bu teoriye göre, volatil anestetikler, inozitol trifostat 3 (IP3) reseptörleri aracılığıyla kalsiyum sinyalini artırabilir, ki bu durumun apoptotik hassasiyeti artırdığı bilinmektedir(138,164).

GABA'ya özgü mekanizmalar da araştırılmıştır. Çalışmalar, neonatal anesteziden kaynaklanan nöroapoptozun, GABAerjik internöronlar üzerinde orantısız derecede yüksek bir etkiye sahip olabileceğini ve buna merkezi GABA sentezleyen enzimlerin down regülasyonunun eşlik ettiğini göstermiştir(138,165–167). Bu, anesteziklerin inhibitör sistem üzerindeki olası toksik etkisini göstermektedir. Ancak, GABA üreten enzimlerdeki değişikliklerin GABAerjik nöronlardaki azalmaya mı yoksa enzimlerin anestezi tarafından düşürülmesine mi neden olduğu henüz net değildir. Anesteziye bağlı apoptozun ilginç bir mekanizması, hem glutamaterjik hem de GABAerjik yolları içerir. Bu mekanizmaya göre, GABA ve glutamat reseptörlerini etkileyen anestezikler, BDNF inhibisyonu yapabilirler(138,168). BDNF, nöronların gelişimi ve hayatta kalması için önemlidir ve fonksiyon bozuklukları, öğrenme ve hafıza eksiklikleri gibi nöropatolojilerle ilişkilendirilmiştir(138,169,170). Apoptozun göreceli olarak sınırlı olduğu düşünülse de, ROS sızıntısı komşu dokularda nöronal hücre

ölümünün basamaklı etkisine yol açabilir. Nöroapoptozun bu zincirleme etkisi muhtemelen mekansal olarak sınırlıdır, ancak nekrotik hücre ölümünden kaynaklanan ROS yayılımı daha yaygın olabilir.

Ayrıca, volatil anesteziye bağlı hipogliseminin oksidatif stres üretimine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir(138,171–174). Hipoglisemi sırasında, hücre içi glukozun düşük seviyelerinin artan ROS üretimine yol açtığı ve bu durumun hem katalaz hem de süperoksit dismutaz aktivitelerinin azalması ile karakterize edilen inflamasyon, endotel hücre disfonksiyonu ve düzensiz mitokondriyal fonksiyonu tetiklediği düşünülmektedir. Bu süreçte aynı zamanda lipid peroksidasyonunun da arttığı gözlenmiştir(138,175–177).

Genel olarak, anestezi maddelere ve anestezi uygulama koşullarına bağlı olarak çok sayıda reaktif oksijen türü üretilir ve sonuçta oksidatif stres tetiklenir. Ne yazık ki, anestezi ajanların yenidoğan beyinde yüksek ROS seviyelerini nasıl oluşturduğu konusundaki kesin moleküler etkileşimlerin çoğu hala netlik kazanmamıştır.

2.5.3. Anestezi Sonrası Oksidatif Stres

Doğrudan genel anestezi ile ilişkilendirilen apoptoz ve oksidatif stres, anestezi uygulamasının sona ermesinden birkaç saat veya gün içinde sona erer(138,178). Bu olaylar, anestezinin neden olduğu nörotoksitenin başlangıç aşamasını temsil eder. Anestezinin neden olduğu nöroapoptozda ROS ve oksidatif stresin rolünün muhtemelen anestezi sonrası döneme birkaç günden fazla uzanmadığı düşünülmekte, ancak bundan sonra, başlangıçtaki anestezi olaylarıyla ilişkilendirilen gelişimsel değişiklikler başlamaktadır. Bu değişiklikler, nöron kaybını telafi etmek için nöronal ağın yeniden yapılandırılmasını ve hücre morfolojideki değişiklikleri içerir. Örneğin, hipokampusta dendritik dallanmanın azalması ve dendritik uzunlukların kısalması gibi belirtiler gösterirler. Bu tür süreçler genel olarak öğrenme ve hafıza da dahil olmak üzere beyin fonksiyonlarını etkiler(138,179,180).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Projemiz Akdeniz Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje kodu: TTU-2023-6150).

3.1. Deney hayvanları

Bu çalışmada kullanılan hayvanlar, Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (AKHADYEK) 03.10.2022 tarih ve 89 sayılı karar ile alınan 1483/2022.10.004 etik kurul kod numaralı onay sonrasında Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilmiştir. Çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı ve Deney Hayvanları Ünitesinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 72 adet postnatal 7 ve 21 günlük Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanılmıştır. Hayvanların deney süresinde bakımları Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi tarafından sağlanmıştır. Hayvanlar ad-libitum pelet yem ve musluk suyu ile beslenmiştir. Yeme ve suya erişim standart olarak sağlanmıştır. 12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü uygulanmıştır.

Bu proje kapsamında çalışmanın gerçekleşmesi için altı deney grubu oluşturulmuştur.

S1 (n=12): Postnatal 7. günde 2 saat %2,6 sevofluran ve % 50 O₂ uygulanan grup

S2 (n=12): Postnatal 7, 8, 9. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup

S3 (n=12): Postnatal 21. günde 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup

S4 (n=12): Postnatal 21, 22, 23. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup

Sham Grubu (n=12): Postnatal 7. günde 2 saat sadece %50 O₂ uygulanan grup

Kontrol (K) Grubu (n=12): Postnatal dönemde hiçbir işlem uygulanmayan grup

Postnatal 51. günde preadölesan döneme gelen sıçanlar üretan (1 g/kg) anestezisi altında dekapite edildi. Feda edilen sıçanların hipokampusları ependorf tüplerine konularak, dokular çalışılana kadar -80 derecede korumaya alındı. Sinapsin 1, ARC ve MAP1A proteinleri, total oksidan ve total antioksidan kapasite ELISA kitleri ile analiz edildi.



Şekil 8. Sıçanlardan çıkarılan beyin dokusu



Şekil 9. Sıçanlarda hipokampus

3.2. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini

3.2.1. Sinapsin 1 Seviyesinin Belirlenmesi

Hipokampus dokusunda sinapsin 1 tayini ELISA kit (E2101Ra, BT lab) kullanılarak yapılmıştır. Sinapsin 1 tayini için 0,2 gr hipokampus dokusu üzerine 1,8 ml phosphate-buffered saline (PBS) solüsyonu eklenmiş, sonikatör %50 amplitüde ayarlı iken 15 saniye süreyle buz içerisinde homojenizasyon yapılmıştır. Sonrasında homojenatlar +4°C’de 12000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatanlar ependorflara alınarak soğuk ortama kaldırılmıştır. Standart solüsyonu seyreltici solüsyon ile seyreltilerek ölçüm için gerekli standartlar hazırlanmıştır. Standart konsantrasyonları 0.75, 1.5, 3, 6, 12 ng/ml olacak şekilde

hazırlanmıştır. Antikor kaplı plate kuyucuklarına standartlar ve örnekler yüklenmiştir. Sonrasında biyotinlenmiş antikor sadece örnek kuyucuklarına eklenmiştir. Sonrasında enzim içeren Streptavidin HRP solüsyonu kör hariç tüm kuyucuklara eklenmiştir. Bu aşamadan sonra plate üzeri kapatılarak 60 dakika 37°C’de inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda kuyucuklar yıkama tamponu ile otomatik yıkama cihazı aracılığıyla 5 kez yıkanmıştır. Kuyucuklardaki fazla sıvı alındıktan sonra her kuyucuğa substrat A solüsyonu ve hemen ardından substrat B solüsyonu eklenmiştir. Substrat B solüsyonu ışığa duyarlı olduğu için ışık almamasına özen gösterilmiş ve plate yüklemesi yapıldıktan sonra üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak ışık alması engellenmiştir. Bu aşamada da 10 dakika karanlıkta 37°C’de inkübasyon yapılmıştır. Inkübasyon sonrası durdurucu solüsyon her kuyucuğa eklenerek mavi rengin hızla sarı renge dönüştüğü gözlenmiştir. Vakit kaybedilmeden spektrofotometrede 450 nm’de okutulmuştur.

3.2.2. ARC Seviyesinin Belirlenmesi

Hipokampus dokularında ARC düzeyinin tayini için ELISA kiti (E1842Ra, BT lab) kullanılmıştır. Hipokampus dokularından 0,2 gram tartılarak üzerine 1,8 ml PBS eklenmiş ve sonikatör %50 amplitüde ayarlı iken 15 saniye kadar buz içerisinde homojenizasyon yapılmıştır. Homojenatlar +4°C’de 12000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatanlar ependorflara alınarak soğuk ortama kaldırılmıştır. Hipokampusta ARC tayini için kullanılacak standart solüsyonları 15, 30, 60, 120, 240 ng/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Antikor kaplı plate kuyucuklarına standartlar ve örnekler yüklenmiştir. Biyotinlenmiş antikor sadece örnek kuyucuklarına eklenmiştir. Sonrasında enzim içeren Streptavidin HRP solüsyonu kör hariç tüm kuyucuklara eklenmiştir. Bu aşamadan sonra plate üzeri kapatılarak 60 dakika 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda kuyucuklar yıkama tamponu ile otomatik yıkama cihazı aracılığıyla 5 kez yıkanmıştır. Kuyucuklardaki fazla sıvı alındıktan sonra her kuyucuğa olan substrat A solüsyonu ve hemen ardından substrat B solüsyonu eklenmiştir. Substrat B solüsyonu ışığa duyarlı olduğu için ışık almamasına özen gösterilmiş ve plate yüklemesi yapıldıktan sonra üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak ışık alması engellenmiştir. Bu aşamada da 10 dakika karanlıkta 37°C’de inkübasyon

yapılmıştır. İnkübasyon sonrası kit bileşeni olan asidik durdurucu solüsyon her kuyucuğa eklenerek mavi rengin hızla sarı renge dönüştüğü gözlenmiştir. Vakit kaybedilmeden spektrofotometrede 450 nm’de okutulmuştur.

3.2.3. MAP1A Seviyesinin Belirlenmesi

MAP1A düzeyinin tayini için ELISA kiti (E3398 Ra, BT lab) kullanılmıştır. 0,2 gram hipokampus dokusu üzerine 1,8 ml PBS solüsyonu eklenmiş ve sonikatör aracılığıyla 15 saniye kadar buz içinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4°C’de 12000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatanlar ependorflara alınarak soğuk ortama kaldırılmıştır. Standart solüsyon ve seyreltici solüsyon kullanılarak 2, 4, 8, 16, 32 ng/ml olacak şekilde standart solüsyonlar hazırlanmıştır. Antikor kaplı plate kuyucuklarına öncelikle standartlar ve örnekler yüklenmiştir. Biyotinlenmiş antikor sadece örnek kuyucuklarına eklenmiştir. Sonrasında enzim içeren Streptavidin HRP solüsyonu kör hariç tüm kuyucuklara eklenmiştir. Bu aşamadan sonra plate üzeri kapatılarak 60 dakika 37°C’de inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda kuyucuklar yıkama tamponu ile otomatik yıkama cihazı aracılığıyla 5 kez yıkanmıştır. Kuyucuklardaki fazla sıvı alındıktan sonra her kuyucuğa substrat A solüsyonu ve hemen ardından substrat B solüsyonu eklenmiştir. Substrat B solüsyonu ışığa duyarlı olduğu için ışık almamasına özen gösterilmiş ve plate yüklemesi yapıldıktan sonra üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak ışık alması engellenmiştir. Bu aşamada da 10 dakika karanlıkta 37°C’de inkübasyon yapılmıştır. İnkübasyon sonrası kit bileşeni olan asidik durdurucu solüsyon her kuyucuğa eklenerek mavi rengin hızla sarı renge dönüştüğü gözlenmiştir. Vakit kaybedilmeden spektrofotometrede 450 nm’de okutulmuştur.

3.2.5. Total Oksidan Kapasitenin (TOK) Tayini

Total oksidan kapasite düzeylerinin tayini için, MT231510 kodlu Rel Assay Diagnostics firmasının kiti kullanılmıştır. 0,2 gram hipokampus dokusuna 1,8 ml PBS eklenmiş ve sonikatör aracılığıyla homojenizasyon yapılmıştır. Homojenatlar +4°C’de 5000 rpm’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar ependorflara alınarak soğuk ortama kaldırılmıştır. Elde edilen homojenizatlar 96 kuyucuklu plate aktarılarak inkübasyona bırakılmış, inkübasyonu tamamlandıktan sonra 530 nm dalga boyunda plate okuyucuda absorbans okutulmuştur.

3.2.4. Total Antioksidan Kapasitenin (TAK) Tayini

Total antioksidan kapasite tayini için 0,2 gram hipokampus dokusuna 1,8 ml PBS eklenerek sonikatör aracılığıyla homojenize edilmiştir. Kit (MT23137A Rel Assay Diagnostics) protokolüne uygun olarak homojenatlar +4°C’de 5000 rpm’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar ependorflara alınarak soğuk ortama kaldırılmıştır. Elde edilen süpernatantlar 96 kuyucuklu plate aktarılmış ve inkübasyon tamamlandıktan sonra 530 nm dalga boyunda absorbans okutulmuştur.

3.2.6. Protein Tayini

Hipokampus dokularında protein tayini modifiye Bradford yöntemine dayanan bir kit ile yapılmıştır(181). Doku süpernatantı 1 ml, 999 ml distile su ile sulandırıldıktan (1:1000) sonra üzerine 1 ml CPPA reaktifi (Coomassie Plus Protein Assay Reagent, Pierce-1856210) eklenmiş ve 595 nm’de spektrofotometrik olarak absorbans okunmuştur. Standart olarak bovin serum albümin (BSA) kullanılmış, numune yerine artan konsantrasyonlarda 1:1000 sulandırmaya sahip BSA kullanılarak yapılmıştır. Dokulardaki protein miktarı, bovin serum albümin ile oluşturulan standart grafiği kullanılarak hesaplanmıştır.

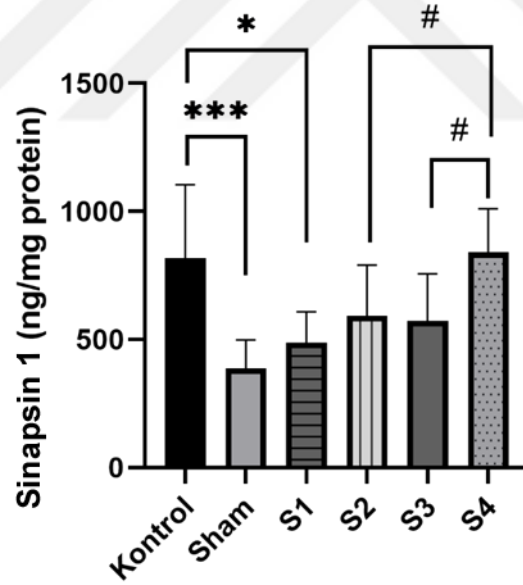
3.3. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirilmiştir. Normal dağılıma uymayan verilerin analizinde Kruskal-Wallis ve post hoc Dunn testleri kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar, “GraphPad Prism 9” çizim ve istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Sinapsin 1 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

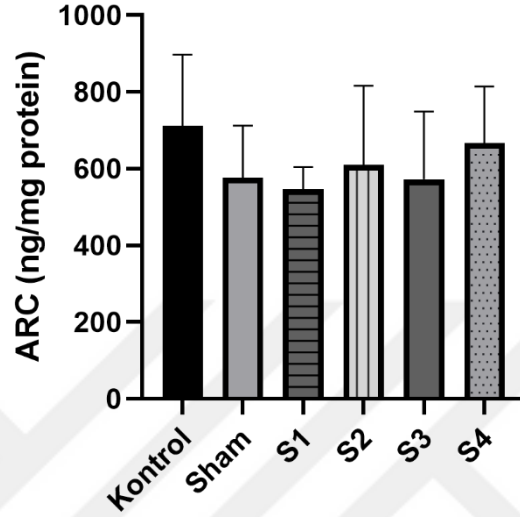
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece O₂ alan sham grubunda sinapsin 1 düzeyinde anlamlı azalma görülmüştür ($p<0,001$). Anestezi almayan kontrol grubu sıçanlarına göre 7. günde tek doz anestezi alan S1 grubunda sinapsin 1 düzeyinde anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0,05$). S2, S3 ve S4 gruplarında ise benzer şekilde azalma görülmüş ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. 7. günde anestezi alan S1 grubu ile 21. günde tek doz anestezi alan S3 grubu ve 7. 8. ve 9. günlerde anestezi alan S2 grupları arasında sinapsin 1 düzeyleri açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Anesteziye 3 farklı günde maruz bırakılan S4 grubunda sinapsin 1 düzeyinin S2 ve S3 grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır ($p<0,05$).



Şekil 10. Deney gruplarının hipokampus sinapsin 1 değerleri

4.2. ARC Düzeylerinin Değerlendirilmesi

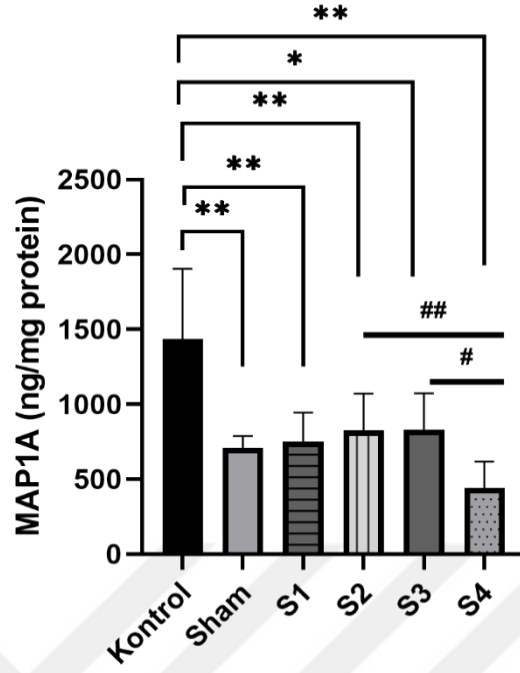
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm grupların ARC düzeylerinde azalma olduğu görülmüş olup, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 11. Deney gruplarının hipokampus ARC değerleri

4.3. MAP1A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tüm gruplarda kontrol grubuna göre MAP1A düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuştur (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$). S1 grubu hem S2 hem de S3 grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir. Tekrarlayan anestezi maruziyeti olan S2 ve 21. günde tek doz anestezi uygulanan S3 grupları ile 21., 22. ve 23. günlerde mükerrer anestezi alan S4 grubu karşılaştırıldığında, S4 grubunun MAP1A düzeyinin azaldığı saptanmıştır ($p<0.01$).



Şekil 12. Deney gruplarının hipokampus MAP1A değerleri

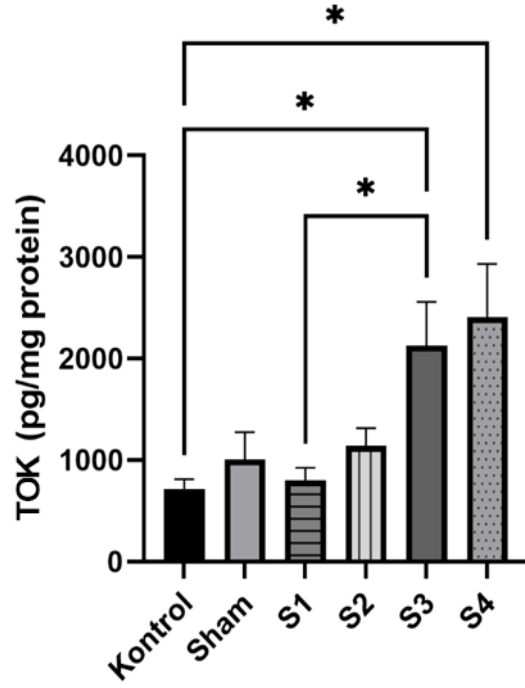
Tablo 2. Biyokimyasal tetkiklerde gruplara ait sinapsin 1, ARC, MAP1A düzeyleri (ng/mg)

Gruplar	Sinapsin 1	ARC	MAP1A
Kontrol	817,05±117,02	711,72±75,69	1434,68±191,95
Sham	388,45±38,57***	576,91±47,70	707,37±32,91**
S1	487,05±42,48*	545,94±22,28	750,28±73,78**
S2	593,48±69,61	610,63±72,76	826,79±99,77**
S3	571,52±65,34	572,43±66,66	831,78±91,53*
S4	840,58±64,45	666,54±60,58	439,69± 62,67**

Veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. * p<0.05, ** p<0.05, *** p<0.001 Kontrol grubuna göre fark

4.4. TOK Değerlendirilmesi

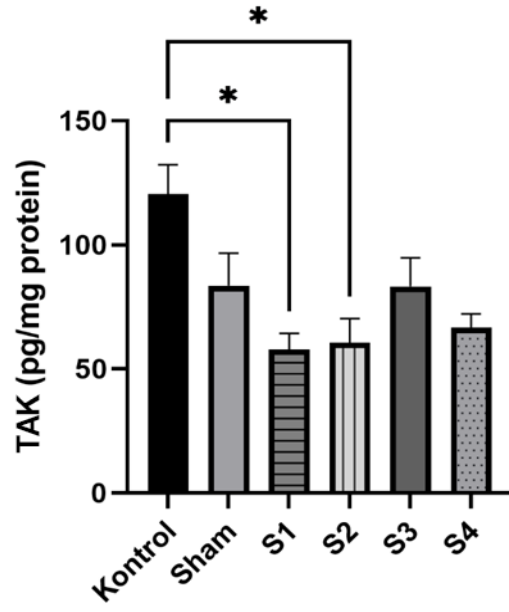
Hipokampus TOK değerleri analiz edildiğinde, kontrol, sham ve S2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında S3 ve S4 gruplarında TOK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış izlenmiştir (p<0.05), S1 grubu ile karşılaştırıldığında ise S3 grubunda TOK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (p<0.05).



Şekil 13. Deney gruplarının hipokampus TOK değerleri

4.5. TAK Değerlendirilmesi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Sham, S3 ve S4 gruplarında TAK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, S1 ve S2 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 14. Deney gruplarının hipokampus TAK değerleri

Tablo 3. Biyokimyasal tetkiklerde gruplara ait TOK, TAK düzeyleri (pg/mg)

Gruplar	TOK	TAK
Kontrol	713,5±96,69	120,4±11,93
Sham	1009±267,1	83,57±13,11
S1	802,2±122,4	57,85±6,521*
S2	1139±175,1	60,54±9,77*
S3	2124±435,9*	83,27±11,54
S4	2410±522,6*	66,63±5,57

Veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. * p<0.05 Kontrol grubuna göre fark

5. TARTIŞMA

Çocuklar ve yenidoğanlar prematürite veya doğum sonrası komplikasyonlar nedeniyle yoğun bakım ünitelerinde tedavi sırasında ya da bazı diagnostik prosedürler (röntgen, manyetik rezonans görüntüleme veya endoskopi gibi işlemler) için genel anesteziye sıkça maruz kalmaktadır. Kullanımı kolay olması sebebiyle sevofluran, pediatrik anestezi için en sık tercih edilen anestezik gazdır. Diğer anesteziklerden ayrılan en önemli özellikleri hava yolu irritasyonu yaratmaması ve hızlı etki göstermesi yanı sıra, uyandırma süresinin kısa olmasıdır. Özellikle bebeklerin sinir sisteminin hızla gelişmekte olduğu yenidoğan döneminde, bu tür anestezik maddelerin uzun vadeli etkileri konusunda endişeler artmaktadır. Yenidoğan döneminde maruz kalınan sevofluranın öğrenme ve bellek üzerindeki potansiyel etkileri, bilimsel araştırmaların odak noktalarından biridir. Bazı hayvan çalışmaları, yenidoğan hayvanlara sevofluran uygulandığında öğrenme ve bellek yeteneklerinde bozulmaların ortaya çıktığını göstermiştir(182,183). Özellikle yenidoğan döneminde genel anesteziye maruziyetin sinaptik plastisite üzerindeki potansiyel etkileri üzerine yapılan çalışmalar, nöronların ve sinapsların gelişimini etkileyebilecek önemli bir mekanizma olarak göz önünde bulundurulmaktadır(184,185). Ancak, bu mekanizmaların tam olarak nasıl işlediği ve sevofluranın öğrenme ve bellek üzerindeki etkilerine ne şekilde katkıda bulunduğu konusunda daha fazla araştırma gereklidir. Bu alandaki çalışmalar, anestezik maddelerin sinaptik plastisite üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamıza ve güvenli kullanımlarını sağlamamıza yardımcı olabilir.

Sinaptik plastisite, sinir hücreleri arasındaki bağlantıların deneyimlere bağlı olarak güçlendirilmesi veya zayıflatılması sürecidir. Bu, öğrenme ve bellek oluşumu için temel mekanizmadır. Nöronlar arasındaki iletişim sinapslarda gerçekleşir. Yani, bir kişi yeni bir şey öğrendiğinde veya bir deneyim yaşadığında, nöronlar arasındaki sinaptik bağlantılar güçlenir veya zayıflar. Öğrenme ve bellek oluşturma süreçleri ise sinaptik plastisitenin uzun vadeli sonuçlarıdır(32–34). Sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde bir dizi protein rol almaktadır. Sinapsin1, ARC ve MAP1A proteinleri sinir sistemi fonksiyonlarını destekleyerek, nöronların

yapısal adaptasyonunu ve uzun vadeli plastisiteyi etkileyerek öğrenme-bellek süreçlerini şekillendirir(38–40). Sinaptik plastisite organizmanın dış çevresi, öğrenme deneyimleri, sosyal etkileşimler, ilaçlar, anestezi maddeleri, toksinler, oksidatif stres, travma, radyasyon, beslenme alışkanlıkları ve toksin maruziyeti gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir. Bu faktörler, sinir hücreleri arasındaki sinaptik bağlantıları güçlendirebilir veya zayıflatabilir, bu da öğrenme ve bellek oluşumunda kritik rol oynar. Sinaptik plastisiteyi korumak ve desteklemek için bu faktörlerin etkileri dikkatle yönetilmelidir.

Oksidatif stres, hücrelerde serbest radikallerin birikmesi ve antioksidan savunma sistemlerinin bu radikallerle başa çıkamaması sonucu ortaya çıkan dengesiz bir durumu ifade eder. Sevofluran, hücre içinde serbest radikal oluşumunu artırarak ve antioksidan savunma sistemlerini zayıflatarak oksidatif stresi tetikleyebilir. Sevofluranın oksidatif stresi artırıcı etkisi, özellikle mitokondriyal kaynaklı serbest radikal oluşumu yoluyla ortaya çıkabilir. Mitokondrilerdeki elektron taşıma zinciri reaksiyonlarındaki bozulmalar, oksijen radikallerinin aşırı üretilmesine neden olabilir(138).

Biz de çalışmamızda yenidoğan döneminde sevofluran maruziyeti ve oksidatif stresin, preadölesan dönemde öğrenme ve bellek üzerine etkisinin altında yatan moleküler mekanizmayı aydınlatmak amacıyla sinapsin 1, ARC ve MAP1A proteinlerinin düzeylerini hipokampal dokularda değerlendirdik. Bu çalışmada, sıçanlara postnatal 7. gün ve postnatal 21. gün olmak üzere tek seferlik ve başlangıçtan itibaren 3 gün boyunca, her gün aynı dozda sevofluran (%2,6) 2 saat boyunca uygulandı. Bu maruziyet günleri belirlenirken daha önce yapılmış olan çalışmaların sonuçlarına başvuruldu(186–188). İlk olarak, sıçanlarda sinaptogenezin en yoğun olarak yaşandığı postnatal 7. gün (P7) ve geç dönem maruziyeti için de postnatal 21. gün (P21) seçildi. Sıçanlar, preadölesan döneme denk gelmesi nedeniyle postnatal 51. günde üretilen anestezi altında dekapite edilerek hipokampusları çıkarıldı.

Sinapsin 1'in sinaptik plastisitedeki görevi, sinir hücrelerinin uç kısımlarında yer alan sinaptik veziküllerin hareketini düzenlemektir. Bu veziküllerin doğru konumda bulunmasını ve zamanında salınmasını sağlayarak

nöronlar arasındaki sinaptik bağlantıları güçlendirir. Özellikle sinaptogenezin erken aşamalarında, sinapsin 1'in yoğun olarak ifade edildiği postnatal dönemlerde, nöronların sinaptik bağlantılarını oluşturma ve güçlendirme sürecinde önemli bir etkisi vardır. Bu aşamada, sinapsin 1, nöronların doğru sinaptik bağlantılar kurmasına yardımcı olur ve sinaptik plastisitenin temel bileşenlerinden biri olarak işlev görür(65,67,68). Dong ve ark., Jia ve ark. yenidoğan ratları P6. günden itibaren üç gün boyunca, günde 2 saat olmak üzere %3 sevoflurana maruz bıraktıkları çalışmada sinapsin 1 seviyesinin hipokampus dokusunda anlamlı şekilde azaldığını göstermişlerdir(189,190). Biz de çalışmamızda, literatürü destekler şekilde, S2 grubunda (P7, 8, 9. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O2 uygulanan grup) ardışık günlerde tekrarlayan sevofluran maruziyetinin hipokampus dokusunda sinapsin 1 seviyesinde azalma eğilimi gösterdiğini bulduk. Kontrol grubunda yüksek sinapsin 1 düzeyleri, normal sinaptik fonksiyonları işaret edebilir. Sham grubu (sadece %50 O2 maruziyeti) ve S1 grubu (tek doz anestezi) ile yapılan karşılaştırmalarda, her iki grupta da sinapsin 1 düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.05$) saptanmıştır. Bu, oksijen maruziyetinin ve tek doz anestezi uygulamasının sinapsin 1 seviyelerini etkileyebileceğini göstermektedir. S3 grubuna göre S1 grubunda, S4 grubuna göre S2 grubunda sinapsin 1 düzeyinde daha fazla düşme eğilimi saptanmış olup, istatistiksel olarak anlamlılık görülmemiştir. Bu durum erken dönemde sevoflurana maruziyetin sinapsin 1 seviyesini daha fazla azalttığını düşündürülebilir. Normal koşullarda, daha uzun süreli veya tekrarlayan anestezi maruziyetinin, tek doz anesteziye göre sinapsin 1 düzeylerinde daha belirgin bir azalma yaratması beklenirken, çalışmamızda farklı bir durum gözlemlendi. Bu, anesteziye maruz kalmanın etkilerinin, sadece maruziyet süresi ve dozu ile değil, aynı zamanda hayvanların yaşları ve gelişim dönemleriyle de ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Wu ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, fareler üzerinde yapılan deneylerde P7-9. günlerde, her gün 2 saat olmak üzere %2,3 sevoflurana maruz bırakılan gruplarda hipokampus dokusunda sinapsin 1 dansitesinde belirgin bir artış gözlemlenmiştir(191). Bu sonuç, sevofluran maruziyetinin sinapsin 1 düzeylerini artırabileceğini ve sinaptik plastisite üzerinde farklı etkileri olabileceğini öne sürmektedir. Çalışmamızdaki bulgularla ters düşen bu sonuçlar, sevofluranın

sinapsin 1 proteininin düzeylerini düzenleme ve nörobiyolojik gelişim üzerine etkilerinin karmaşıklığı ve çeşitliliğini vurgulamakta, bu etkilerin anlaşılmasının daha fazla araştırmayı gerektirdiğine işaret etmektedir.

Sinaptik plastisite süreçlerinde etkili olan ARC proteini, nöronların sinaptik bağlantılarını düzenleme kapasitesine sahiptir. Hızlı sentezi ve parçalanması, özellikle nöronlar uyarıldığında gerçekleşir ve bu dinamik regülasyon, öğrenme, bellek oluşumu ve sinaptik plastisite gelişim süreçlerinde kilit bir işlevi yerine getirir. ARC proteininin sinaptik plastisite üzerindeki etkileri, nöronların adaptasyon yeteneğini vurgulayarak, nörolojik işlevlerin anlaşılmasında önemli bir alanı temsil eder(84,86). Çalışmamızda Sham grubunda uygulanan %50 O₂'nin, kontrol grubuna kıyasla ARC seviyesinde düşüş tespit edilmiştir. Bu durum, oksijenin bu konsantrasyonda ARC protein seviyesi üzerinde düşürücü bir etkisi olduğuna işaret edebilir. Qiu ve ark.'ın çalışması, C57BL/6 farelerinde P6-8. günlerinde %3 sevoflurana maruziyetin ardından hipokampus dokusunda ARC proteini düzeyinde anlamlı bir düşüş gösterirken, Liu ve ark.'ın çalışması P7. gündeki farelerde %2,3 sevoflurana 6 saat maruziyet sonrasında benzer bir düşüşü ortaya koymuştur(192,193). Biz de çalışmamızda, literatüre benzer olarak S2 grubunda (P7, 8, 9. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup) ARC seviyesinde düşme eğilimi olduğunu gösterdik. Buna karşılık Chen ve ark.'ın çalışması, P6-8. günlerde günde 2 saat %3 sevoflurana maruz kalan ratlarda hipokampus dokusunda ARC proteini seviyesinde anlamlı bir artış göstermiştir(194). Ni ve ark.'ın çalışması, 18 haftalık farelerde 4 saat boyunca %2,5 sevoflurana maruziyet sonrasında hipokampus dokusunda ARC boyamasında belirgin bir azalma gösterirken, Li ve ark. ile Zhang ve ark.'ın çalışmaları erişkin farelerde 2 saat %2 sevoflurana maruziyetin ardından hipokampus dokusunda ARC seviyesinde belirgin bir azalma ortaya koymuşlardır(195–197). Çalışmamızdaki sonuçlarda S1 grubunda S2'ye göre, S3 grubunda S4'e göre ARC seviyesinde düşme eğilimi saptandı. Bu sonuçlara göre tek seferlik maruziyette ARC seviyelerinin düşmüş olması, anestezi maruziyetinin tek seferlik uygulamada bile önemli olabileceğini gösteriyor. Literatürle birlikte değerlendirildiğinde çalışmamızın bulguları, sevofluran maruziyeti ve ARC düzeyleri arasındaki ilişkinin karmaşıklığını vurgulamaktadır. Bu farklılıkların altında yatan nedenlerin,

sevofluranın dozu, maruziyet süresi, hayvan modeli ve yaş gibi çeşitli faktörlere bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu noktada, gelecekteki çalışmaların bu faktörleri daha ayrıntılı bir şekilde incelemesi önemlidir.

MAP1A nöronlarda mikrotübüllerin yapısal bütünlüğünü koruyarak, sinapsların oluşumunda ve fonksiyonunda kritik rol oynar; mikrotübül dinamiklerini düzenleyerek sinir hücrelerinde uzun süreli yapısal değişiklikleri destekler. MAP1A'nın bu süreçteki katkısı, sinaptik bağlantıların oluşumu ve stabilitesi üzerinden sinir ağlarının esnekliğini sağlamak olarak düşünülebilir. Dolayısıyla, yenidoğan döneminde sevofluran maruziyetinin MAP1A düzeyi üzerindeki etkisi, sinaptik plastisite mekanizmalarını anlamak açısından önemli bir odaktır. Bu proteinin seviyelerindeki değişiklikler, sinaptik plastisite süreçlerinde bozulmalara ve nöroplastisite üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir, bu da öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkileyebilir(13,111,112). Bu nedenle, MAP1A proteininin sinir sistemi üzerindeki rolünü anlamak, sevofluran maruziyeti ve oksidatif stresin nörogelişimsel etkilerini daha iyi kavramak için önemlidir. Literatürde sevofluran ve MAP1A ilişkisini gösteren çalışma saptanmamıştır. Çalışmamızda Sham, S1, S2, S3 ve S4 grupları ile kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmalarda, tüm gruplarda MAP1A düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulunmuştur (sırasıyla $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$). Kontrol grubuna göre Sham grubundaki düşük MAP1A düzeyleri sadece oksijen maruziyetinin bile belirli biyokimyasal değişikliklere neden olabileceğini düşündürür. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, MAP1A proteini düzey değişikliklerinin maruziyet süresi, dozu ve tekrarlanma sıklığı gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceğini düşündürmektedir.

Oksidatif stres, hücrelerdeki serbest radikallerin kontrolsüz bir şekilde artması sonucu hücre hasarına neden olan bir durumdur. Bu serbest radikaller, hücrede zararlı etkilere yol açan oksidatif reaksiyonlara katılır ve lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarına sebep olur. Antioksidan kapasite ise vücudun serbest radikalleri nötralize etmek ve oksidatif stresi dengelemek için kullandığı savunma mekanizmalarını içerir. Bu mekanizmalar, antioksidan enzimler ve antioksidan moleküller aracılığıyla gerçekleşir. Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek oksidatif stresin olumsuz

etkilerini azaltmaya yardımcı olurlar(138). TOK ve TAK, hücrelerdeki oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemlerini değerlendirmek için kullanılan önemli parametrelerdir. TOK hücrelerde artmış oksidatif stresin veya serbest radikal aktivitesinin bir göstergesi olabilir. TAK ise hücrelerdeki antioksidanların toplam miktarını ölçen bir parametredir(198,199). Yüksek TAK düzeyleri, hücrelerin antioksidan savunma kapasitesinin arttığını ve oksidatif stresle mücadelede etkili olduğunu gösterebilir. Çalışmamızda TOK-TAK sonuçları incelendiğinde, kontrol grubunda diğer gruplara nazaran en düşük TOK ve en yüksek TAK seviyesi saptanmıştır, bu grup oksijene ve sevoflurana maruz kalmadığı için oksidatif stresin artmadığı, antioksidan kapasitenin de azalmadığı düşünülebilir. Sham grubunda kontrol grubuna göre TOK düzeyinin artmış olması tek seferlik %50 O₂ maruziyetinin oksidan sistemlerin etkinliğini artırabileceğini düşündürmektedir. S4 grubunun diğer gruplara kıyasla daha yüksek TOK değerine sahip olduğunu görüyoruz. S4 grubu sevoflurana postnatal 22, 23, 24. günlerde maruz kaldığı için, antioksidan savunma mekanizmalarının oksidatif stresi nötralize etme süreci için daha kısa zamanları olmuş olabilir, bu nedenle TOK değerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu gözlenebilir. S2 (P7, 8, 9. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve % 50 O₂ uygulanan grup) grubunda S1 (P7. günde 2 saat %2,6 sevofluran ve % 50 O₂ uygulanan grup) grubuna göre, S4 grubunda S3 (P21. günde 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂ uygulanan grup) grubuna göre TOK düzeyinin artmış olması tekrarlayan sevofluran maruziyetinin oksidatif stresi daha fazla artırabileceğini işaret edebilir.

Çalışmamızda geç dönemde sevofluran maruziyetinin TOK düzeyini arttırıp, TAK düzeyini azalttığı, sinapsin 1 ve MAP1A proteinin düzeyini azalttığı saptandı. ARC proteinleri ile TOK-TAK düzeyleri arasında paralellik gözlenmedi. Ancak, moleküler mekanizmaların henüz tam olarak anlaşılamaması sebebiyle daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışma uzun dönem hafızanın uzantıları olduğu düşünülen sinapsin 1, ARC ve MAP1A proteinleri üzerine, yenidoğan döneminde maruz kalınan sevofluranın ve oluşturduğu oksidatif stresin etkilerini aydınlatmayı amaçlamaktadır. Sinaptik plastisiteyi düzenleyen bu proteinlerin düzeylerindeki değişiklikler, sevofluran maruziyetinin nöroplastisite üzerindeki etkilerini anlamamıza yardımcı olabilir. Ayrıca, oksidatif stresin rolü ve antioksidan savunma kapasitesi, bu süreçlerin anlaşılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Çalışmamızın örneklem boyutunun sınırlı olması, elde ettiğimiz sonuçların yorumlanmasında dikkate alınması gereken bir faktördür. Bu çalışmanın sonuçları daha fazla araştırma ve moleküler mekanizmaların daha ayrıntılı analizine ihtiyacımız olduğunu açığa çıkarmıştır. Bu nedenle, pediatrik anestezi pratiği ve çocuk sağlığı açısından sevofluranın uzun vadeli etkilerini değerlendirmek amacıyla gelecekteki çalışmaların bu alandaki bilgiyi daha da derinleştirmesini umuyoruz.

7. ÖZET

Yenidoğan Sıçanlara Uygulanan Sevofluranın Preadölesan Dönemde Sinaptik Plastisite İle İlişkili Proteinlerin Düzeylerine Etkilerinin Oksidatif Stres İle İlişkisi

Amaç: Yenidoğan sıçanların farklı dönemlerinde, aynı doz sevoflurana tek gün ve tekrarlayan günlerde maruziyetin preadölesan dönemde öğrenme ve belleğe etkilerinin hangi mekanizmalar üzerinden olduğunu araştırmaktır. Bu amaç doğrultusunda sinapsin 1, ARC (Aktiviteyle düzenlenen hücre iskeleti ile ilişkili/ Activity regulated cytoskeleton-associated), MAP1A (Mikrotübül ilişkili protein 1A/microtubule associated protein 1A) proteinleri üzerine sevofluranın ve oluşturduğu oksidatif stresin etkileri araştırılacaktır.

Yöntem: Çalışmada 72 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanılarak altı deney grubu oluşturulmuştur. S1 (n=12) Postnatal 7. günde 2 saat %2,6 sevofluran ve % 50 O₂, S2 (n=12) Postnatal 7, 8, 9. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂, S3 (n=12) Postnatal 21. günde 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂, S4 (n=12) Postnatal 21, 22, 23. günlerde her gün 2 saat %2,6 sevofluran ve %50 O₂, Sham Grubu (n=12) Postnatal 7. günde 2 saat sadece %50 O₂ uygulanan grup, Kontrol (K) Grubu (n=12) Postnatal dönemde hiçbir işlem uygulanmadı. Sıçanlar Postnatal 51. günde üretan (1 g/kg) anestezisi altında dekapite edilerek hipokampusları ependorf tüplerine konularak dokular çalışılana kadar -80 derecede korumaya alındı. Sinapsin 1, ARC ve MAP1A proteinleri ve total oksidan ve total antioksidan kapasite ELISA kitleri ile analiz edildi.

Bulgular: Sinapsin 1 düzeyinde kontrol grubu sıçanlarına göre S1 grubunda anlamlı azalma, S4 grubunda S2 ve S3 grubuna göre anlamlı düzeyde artış saptandı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm grupların ARC düzeylerinde azalma olduğu görüldü, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Tüm gruplarda kontrol grubuna göre MAP1A düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında S3 ve S4 gruplarında total oksidan kapasite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında S1 ve S2 gruplarında total antioksidan kapasite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma izlendi.

Sonuçlar: Biyokimyasal sonuçlar değerlendirildiğinde sevofluran maruziyetinin sinapsin 1 ve MAP1A seviyelerini azalttığı, ARC seviyelerinde azalma eğilimi oluşturduğu belirlendi. Ayrıca, total oksidan kapasitenin sevofluran maruziyeti sonucu arttığı ve total antioksidan kapasitenin azaldığı gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Sevofluran, Sinaptik Plastisite, Sinapsin-1, ARC, MAP1A, Oksidatif Stres, Total Oksidan Kapasite, Total Antioksidan Kapasite



8. ABSTRACT

The Relationship Between Oxidative Stress and the Effects of Sevoflurane Applied to Newborn Rats on the Levels of Proteins Associated with Synaptic Plasticity in the Preadolescent Period

Objective: The aim is to investigate the mechanisms through which exposure to the same dose of sevoflurane on different days in newborn rats affects learning and memory in the preadolescent period. In line with this purpose, the effects of sevoflurane and the oxidative stress it causes on synapsin 1, ARC (Activity-regulated cytoskeleton-associated), and MAP1A (Microtubule-associated protein 1A) proteins will be investigated.

Method: In the study, 72 male Wistar albino rats were used to form six experimental groups. S1 (n=12) were exposed on Postnatal Day 7 to 2 hours of 2.6% sevoflurane and 50% O₂, S2 (n=12) were exposed on Postnatal Days 7, 8, 9 for 2 hours each day to 2.6% sevoflurane and 50% O₂, S3 (n=12) were exposed on Postnatal Day 21 to 2 hours of 2.6% sevoflurane and 50% O₂, S4 (n=12) were exposed on Postnatal Days 21, 22, 23 for 2 hours each day to 2.6% sevoflurane and 50% O₂, the Sham Group (n=12) were exposed only to 50% O₂ for 2 hours on Postnatal Day 7, and the Control (K) Group (n=12) underwent no procedures during the postnatal period. The rats were decapitated under urethane anesthesia (1 g/kg) on Postnatal Day 51, their hippocampi were placed in Eppendorf tubes and stored at -80 degrees Celsius until analysis. Synapsin 1, ARC, and MAP1A proteins, and total oxidant and antioxidant capacity were analyzed using ELISA kits.

Findings: A significant decrease in synapsin 1 levels was found in the S1 group compared to the control group rats, and a significant increase in the S4 group compared to the S2 and S3 groups. A decrease in ARC levels was observed in all groups compared to the control group, but this decrease was not statistically significant. A statistically significant decrease in MAP1A levels was found in all groups compared to the control group. A statistically significant increase in total oxidant capacity levels was found in the S3 and S4 groups compared to the control

group. A statistically significant decrease in total antioxidant capacity levels was observed in the S1 and S2 groups compared to the control group.

Conclusions: When evaluating the biochemical results, it was determined that exposure to sevoflurane reduced the levels of synapsin 1 and MAP1A, and tended to decrease ARC levels. Additionally, it was shown that total oxidant capacity increased as a result of sevoflurane exposure, and total antioxidant capacity decreased.

Keywords: Sevoflurane, Synaptic Plasticity, Synapsin-1, ARC, MAP1A, Oxidative Stress, Total Oxidant Capacity, Total Antioxidant Capacity



9. KAYNAKLAR

1. Liang X, Zhang Y, Zhang C, Tang C, Wang Y, Ren J, et al. Effect of repeated neonatal sevoflurane exposure on the learning, memory and synaptic plasticity at juvenile and adult age [Internet]. Vol. 9, Am J Transl Res. 2017. Available from: www.ajtr.org/ISSN:1943-8141/AJTR0060200
2. Shen X, Liu Y, Xu S, Zhao Q, Guo X, Shen R, et al. Early life exposure to sevoflurane impairs adulthood spatial memory in the rat. *Neurotoxicology*. 2013 Dec;39:45–56.
3. Xiao H, Liu B, Chen Y, Zhang J. Learning, memory and synaptic plasticity in hippocampus in rats exposed to sevoflurane. *Int J Dev Neurosci*. 2016 Feb;48:38–49.
4. Zhang F, Feng X, Zeng Q, Wang B, Wilhelmsen K, Li Q, et al. Sevoflurane induced amnesia inhibits hippocampal Arc expression partially through 5-hydroxytryptamine-7 receptors in the bilateral basolateral amygdala in rats. *Neurosci Lett*. 2014 Mar 6;562:13–8.
5. Han L, Zhao S, Xu F, Wang Y, Zhou R, Huang S, et al. Sevoflurane Increases Hippocampal Theta Oscillations and Impairs Memory Via TASK-3 Channels. *Front Pharmacol*. 2021;12:728300.
6. Kilicaslan A, Belviranli M, Okudan N, Nurullahoglu Atalik E. Single and repeated sevoflurane or desflurane exposure does not impair spatial memory performance of young adult mice. *Fundam Clin Pharmacol*. 2013 Dec;27(6):641–9.
7. Xu Z, Qian B. Sevoflurane anesthesia-mediated oxidative stress and cognitive impairment in hippocampal neurons of old rats can be ameliorated by expression of brain derived neurotrophic factor. *Neurosci Lett*. 2020 Mar 16;721:134785.
8. Lee YM, Song BC, Yeum KJ. Impact of Volatile Anesthetics on Oxidative Stress and Inflammation. *Biomed Res Int*. 2015;2015:242709.
9. Atluri N, Ferrarese B, Osuru HP, Sica R, Keller C, Zuo Z, et al. Neonatal anesthesia impairs synapsin 1 and synaptotagmin 1, two key regulators of synaptic vesicle docking and fusion. *Neuroreport*. 2019 May 22;30(8):544–9.
10. Larson ME, Greimel SJ, Amar F, LaCroix M, Boyle G, Sherman MA, et al. Selective lowering of synapsins induced by oligomeric α -synuclein exacerbates memory deficits. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Jun 6;114(23):E4648–57.
11. Guzowski JF, Lyford GL, Stevenson GD, Houston FP, McGaugh JL, Worley PF, et al. Inhibition of activity-dependent arc protein expression in the rat hippocampus impairs the maintenance of long-term potentiation and the consolidation of long-term memory. *J Neurosci*. 2000 Jun 1;20(11):3993–4001.
12. Jones MW, Errington ML, French PJ, Fine A, Bliss T V, Garel S, et al. A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nat Neurosci*. 2001 Mar;4(3):289–96.

13. Takei Y, Kikkawa YS, Atapour N, Hensch TK, Hirokawa N. Defects in synaptic plasticity, reduced nmda-receptor transport, and instability of postsynaptic density proteins in mice lacking microtubule-associated protein 1a. *Journal of Neuroscience*. 2015 Nov 25;35(47):15539–54.
14. Brown EN, Pavone KJ, Naranjo M. Multimodal general anesthesia: Theory and practice. *Anesth Analg*. 2018;127(5):1246–58.
15. Doğan K. Sıçanlarda erken ve geç yenidoğan dönemlerinde farklı sevoflurane uygulamalarının preadölesan dönemde öğrenme ve bellek üzerine etkileri. Uzmanlık Tezi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Antalya, 2022.
16. Erkoçak R. Desfluran, sevofluran ve propofol anestezilerinin erken postoperatif kognitif fonksiyonlar üzerine etkilerinin karşılaştırılması. [Konya]: T.C. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi; 2008.
17. Priyush M. Patel, John C. Drummond, Brian P. Lemkuil. Cerebral Physiology and the Effects of Anesthetic Drugs. In: Michael A. Gropper, Neal H. Cohen, Lars I. Eriksson, Lee A. Fleisher, Kate Leslie, Jeanine P. Wiener-Kronish, editors. *Miller's Anesthesia*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier; 2020. p. 294–332.
18. Lerman Jerrold. Pediatric anaesthesia. In: Barash P G, Cullen Bruce F, Stoelting Robert K, Cahalan Michael K, Stock M Christine, Ortega Rafael, et al., editors. *Clinical Anesthesia*. 8th ed. Philadelphia: Wolter Kluwer, Lippincott Williams Wilkins; 2023. p. 1239–59.
19. Antkowiak B, Helfrich-Forster C. Effects of Small Concentrations of Volatile Anesthetics on Action Potential Firing of Neocortical Neurons In Vitro. *Anesthesiology*. 1998 Jun 1;88(6):1592–605.
20. Butterworth J, Mackey D, Wasnick J. Morgan and Mikhail's Clinical Anesthesiology, 7th Edition.
21. Young CJ, Apfelbaum JL. Inhalational anesthetics: Desflurane and sevoflurane. *J Clin Anesth*. 1995 Nov;7(7):564–77.
22. Patel SS, Goa KL. Sevoflurane. *Drugs*. 1996 Apr;51(4):658–700.
23. Smith I, Nathanson M, White PF. Sevoflurane--a long-awaited volatile anaesthetic. *Br J Anaesth*. 1996 Mar;76(3):435–45.
24. Holaday DA, Smith FR. Clinical characteristics and biotransformation of sevoflurane in healthy human volunteers. *Anesthesiology*. 1981 Feb;54(2):100–6.
25. Kharasch ED, Hankins DC, Thummel KE. Human Kidney Methoxyflurane and Sevoflurane Metabolism . *Anesthesiology*. 1995 Mar 1;82(3):689–99.
26. Kayhan Z. Klinik Anestezi. Vol. İkinci Baskı. istanbul; 1997. 340–353 p.
27. Kharasch ED. Biotransformation of sevoflurane. *Anesth Analg*. 1995 Dec;81(6 Suppl):S27-38.

28. Frink EJ, Ghantous H, Malan PT, Morgan S, Fernando J, Gandolfi JA, et al. Plasma Inorganic Fluoride With Sevoflurane Anesthesia. *Anesth Analg*. 1992 Feb;74(2):231–5.
29. Eger EI. New inhaled anesthetics. *Anesthesiology*. 1994 Apr;80(4):906–22.
30. Strum DP, Eger EI. The degradation, absorption, and solubility of volatile anesthetics in soda lime depend on water content. *Anesth Analg*. 1994 Feb;78(2):340–8.
31. Morio M, Fujii K, Satoh N, Imai M, Kawakami U, Mizuno T, et al. Reaction of sevoflurane and its degradation products with soda lime. Toxicity of the byproducts. *Anesthesiology*. 1992 Dec;77(6):1155–64.
32. Messaoudi E, Kanhema T, Soulé J, Tiron A, Dagyte G, da Silva B, et al. Sustained Arc/Arg3.1 synthesis controls long-term potentiation consolidation through regulation of local actin polymerization in the dentate gyrus in vivo. *J Neurosci*. 2007 Sep 26;27(39):10445–55.
33. Bliss TVP, Cooke SF. Long-term potentiation and long-term depression: a clinical perspective. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66 Suppl 1(Suppl 1):3–17.
34. Morris RG. D.O. Hebb: The Organization of Behavior, Wiley: New York; 1949. *Brain Res Bull*. 1999;50(5–6):437.
35. Bliss T V, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*. 1973 Jul;232(2):331–56.
36. Lopez-Rojas J, Kreutz MR. Mature granule cells of the dentate gyrus--Passive bystanders or principal performers in hippocampal function? *Neurosci Biobehav Rev*. 2016 May;64:167–74.
37. Grasselli G, He Q, Wan V, Adelman JP, Ohtsuki G, Hansel C. Activity-Dependent Plasticity of Spike Pauses in Cerebellar Purkinje Cells. *Cell Rep*. 2016 Mar 22;14(11):2546–53.
38. Grasselli G, Hansel C. Cerebellar long-term potentiation: cellular mechanisms and role in learning. *Int Rev Neurobiol*. 2014;117:39–51.
39. Cortés-Mendoza J, Díaz de León-Guerrero S, Pedraza-Alva G, Pérez-Martínez L. Shaping synaptic plasticity: the role of activity-mediated epigenetic regulation on gene transcription. *Int J Dev Neurosci*. 2013 Oct;31(6):359–69.
40. Lüscher C, Malenka RC. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012 Jun 1;4(6).
41. Kotaleski JH, Blackwell KT. Modelling the molecular mechanisms of synaptic plasticity using systems biology approaches. *Nat Rev Neurosci*. 2010 Apr;11(4):239–51.
42. Mayford M, Siegelbaum SA, Kandel ER. Synapses and memory storage. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012 Jun 1;4(6).

43. Barr ML, Klerman JA. The human nervous system. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Comp,; 1988. 266–269 p.
44. Amaral DG, Insausti R. Hippocampal formation. In: Paxinos G, editor. The Human Nervous System. 2nd ed. California: Academic Press Inc.; 1990.
45. Haam J, Yakel JL. Cholinergic modulation of the hippocampal region and memory function. *J Neurochem*. 2017 Aug;142 Suppl 2(Suppl 2):111–21.
46. Isaacson RL. Unsolved mysteries: the hippocampus. *Behav Cogn Neurosci Rev*. 2002 Jun;1(2):87–107.
47. İzci Y, Erbaş YC. Hipokampus: yapısı ve fonksiyonlar. *Türk Nöroşir Derg*. 2015;25(3):287–95.
48. Kandel ER, Spencer WA. Electrophysiology of hippocampal neurons: II. Afterpotentials and repetitive firing. *J Neurophysiol*. 1961 May 1;24(3):243–59.
49. Zhang SJ, Ye J, Couey JJ, Witter M, Moser EI, Moser MB. Functional connectivity of the entorhinal-hippocampal space circuit. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2014 Feb 5;369(1635):20120516.
50. Songur A, Özen O, Sarsılmaz M. Hipokampus. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2001;5:427–31.
51. Scoville WB, Milner B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1957 Feb;20(1):11–21.
52. Nishikawa K, MacIver MB. Agent-selective Effects of Volatile Anesthetics on GABA_A Receptor-mediated Synaptic Inhibition in Hippocampal Interneurons. *Anesthesiology*. 2001 Feb 1;94(2):340–7.
53. Wakasugi M, Hirota K, Roth SH, Ito Y. The effects of general anesthetics on excitatory and inhibitory synaptic transmission in area CA1 of the rat hippocampus in vitro. *Anesth Analg*. 1999 Mar;88(3):676–80.
54. Albensi BC, Oliver DR, Toupin J, Otero G. Electrical stimulation protocols for hippocampal synaptic plasticity and neuronal hyper-excitability: are they effective or relevant? *Exp Neurol*. 2007 Mar;204(1):1–13.
55. Otto T, Eichenbaum H, Wiener SI, Wible CG. Learning-related patterns of CA1 spike trains parallel stimulation parameters optimal for inducing hippocampal long-term potentiation. *Hippocampus*. 1991 Apr;1(2):181–92.
56. Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science*. 2006 Aug 25;313(5790):1093–7.
57. Ozer M, Baris S, Karakaya D, Kocamanoglu S, Tur A. Behavioural effects of chronic exposure to sub-anesthetic concentrations of halothane, sevoflurane and desflurane in rats. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*. 2006 Jul;53(7):653–8.
58. Banks MI, Pearce RA. Dual Actions of Volatile Anesthetics on GABA_AIPSCs. *Anesthesiology*. 1999 Jan 1;90(1):120–34.

59. Moser E, Moser MB. Mapping your every move. *Cerebrum*. 2014 Mar;2014:4.
60. Ferreira A, Rapoport M. The synapsins: beyond the regulation of neurotransmitter release. *Cell Mol Life Sci*. 2002 Apr;59(4):589–95.
61. Candiani S, Moronti L, Pennati R, De Bernardi F, Benfenati F, Pestarino M. The synapsin gene family in basal chordates: evolutionary perspectives in metazoans. *BMC Evol Biol*. 2010 Jan 29;10:32.
62. Kao HT, Porton B, Czernik AJ, Feng J, Yiu G, Häring M, et al. A third member of the synapsin gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Apr 14;95(8):4667–72.
63. Zurmöhle U, Herms J, Schlingensiepen R, Brysch W, Schlingensiepen KH. Changes in the expression of synapsin I and II messenger RNA during postnatal rat brain development. *Exp Brain Res*. 1996 Mar;108(3):441–9.
64. Ferreira A, Chin LS, Li L, Lanier LM, Kosik KS, Greengard P. Distinct roles of synapsin I and synapsin II during neuronal development. *Mol Med*. 1998 Jan;4(1):22–8.
65. Hilfiker S, Benfenati F, Doussau F, Nairn AC, Czernik AJ, Augustine GJ, et al. Structural domains involved in the regulation of transmitter release by synapsins. *J Neurosci*. 2005 Mar 9;25(10):2658–69.
66. Siegelbaum Steven A., Südhof Thomas C., Tsien Richard W. Transmitter Release. In: Kandel ER, Koester J, Mack S, Siegelbaum S, editors. *Principles of Neural Science*. 8th ed. New York: McGraw Hill; 2021. p. 343–51.
67. Südhof TC. The synaptic vesicle cycle. *Annu Rev Neurosci*. 2004;27:509–47.
68. Kleber J, Chen YC, Michels B, Saumweber T, Schleyer M, Kähne T, et al. Synapsin is required to ‘boost’ memory strength for highly salient events. *Learn Mem*. 2016 Jan;23(1):9–20.
69. Lynch MA, Voss KL, Rodriguez J, Bliss T V. Increase in synaptic vesicle proteins accompanies long-term potentiation in the dentate gyrus. *Neuroscience*. 1994 May;60(1):1–5.
70. Sato K, Morimoto K, Suemaru S, Sato T, Yamada N. Increased synapsin I immunoreactivity during long-term potentiation in rat hippocampus. *Brain Res*. 2000 Jul 28;872(1–2):219–22.
71. Martí E, Ferrer I, Blasi J. Transient increase of synapsin-I immunoreactivity in the mossy fiber layer of the hippocampus after transient forebrain ischemia in the mongolian gerbil. *Brain Res*. 1999 Apr 10;824(2):153–60.
72. Suemaru S, Sato K, Morimoto K, Yamada N, Sato T, Kuroda S. Increment of synapsin I immunoreactivity in the hippocampus of the rat kindling model of epilepsy. *Neuroreport*. 2000 Apr 27;11(6):1319–22.
73. Danışman B. Farklı dozlardaki sülfitin öğrenme ve hafıza üzerindeki etkilerinde asetilkolinin rolü. Doktora tezi, Antalya, Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı, 2020.

74. Stanton PK, Sarvey JM. Norepinephrine regulates long-term potentiation of both the population spike and dendritic EPSP in hippocampal dentate gyrus. *Brain Res Bull.* 1987 Jan;18(1):115–9.
75. Malenka RC, Madison D V, Nicoll RA. Potentiation of synaptic transmission in the hippocampus by phorbol esters. *Nature.* 321(6066):175–7.
76. Jovanovic JN, Czernik AJ, Fienberg AA, Greengard P, Sihra TS. Synapsins as mediators of BDNF-enhanced neurotransmitter release. *Nat Neurosci.* 2000 Apr;3(4):323–9.
77. Mirza FJ, Zahid S. The Role of Synapsins in Neurological Disorders. Vol. 34, *Neuroscience Bulletin.* Springer; 2018. p. 349–58.
78. Schoch S, Cibelli G, Thiel G. Neuron-specific gene expression of synapsin I. Major role of a negative regulatory mechanism. *J Biol Chem.* 1996 Feb 9;271(6):3317–23.
79. Etholm L, Bahunjic E, Heggelund P. Sensitive and critical periods in the development of handling induced seizures in mice lacking synapsins: differences between synapsin I and synapsin II knockouts. *Exp Neurol.* 2013 Sep;247:59–65.
80. Tassan Mazzocco M, Guarnieri FC, Monzani E, Benfenati F, Valtorta F, Comai S. Dysfunction of the serotonergic system in the brain of synapsin triple knockout mice is associated with behavioral abnormalities resembling synapsin-related human pathologies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2021 Mar 8;105:110135.
81. Provenzano G, Pangrazzi L, Poli A, Sgadò P, Berardi N, Bozzi Y. Reduced phosphorylation of synapsin I in the hippocampus of Engrailed-2 knockout mice, a model for autism spectrum disorders. *Neuroscience.* 2015 Feb 12;286:122–30.
82. Link W, Konietzko U, Kauselmann G, Krug M, Schwanke B, Frey U, et al. Somatodendritic expression of an immediate early gene is regulated by synaptic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Jun 6;92(12):5734–8.
83. Lyford GL, Yamagata K, Kaufmann WE, Barnes CA, Sanders LK, Copeland NG, et al. Arc, a growth factor and activity-regulated gene, encodes a novel cytoskeleton-associated protein that is enriched in neuronal dendrites. *Neuron.* 1995 Feb;14(2):433–45.
84. Fernández-García S, Sancho-Balsells A, Longueville S, Hervé D, Gruart A, Delgado-García JM, et al. Astrocytic BDNF and TrkB regulate severity and neuronal activity in mouse models of temporal lobe epilepsy. *Cell Death Dis.* 2020 Jun 1;11(6):411.
85. Yu S, Wang G, Yao B, Xiao L, Tuo H. Arc and Homer1 are involved in comorbid epilepsy and depression: A microarray data analysis. *Epilepsy Behav.* 2022 Jul;132:108738.
86. Kruijssen DLH, Wierenga CJ. Single Synapse LTP: A Matter of Context? *Front Cell Neurosci.* 2019;13:496.

87. Chen Y, Wang X, Xiao B, Luo Z, Long H. Mechanisms and Functions of Activity-Regulated Cytoskeleton-Associated Protein in Synaptic Plasticity. *Mol Neurobiol.* 2023 Jun 20;
88. Ma K, Ding X, Song Q, Han Z, Yao H, Ding J, et al. Lactate enhances Arc/arg3.1 expression through hydroxycarboxylic acid receptor 1- β -arrestin2 pathway in astrocytes. *Neuropharmacology.* 2020 Jul;171:108084.
89. Chen X, Jia B, Araki Y, Liu B, Ye F, Huganir R, et al. Arc weakens synapses by dispersing AMPA receptors from postsynaptic density via modulating PSD phase separation. *Cell Res.* 2022 Oct;32(10):914–30.
90. Kuipers SD, Trentani A, Tiron A, Mao X, Kuhl D, Bramham CR. BDNF-induced LTP is associated with rapid Arc/Arg3.1-dependent enhancement in adult hippocampal neurogenesis. *Sci Rep.* 2016 Feb 18;6:21222.
91. Waung MW, Pfeiffer BE, Nosyreva ED, Ronesi JA, Huber KM. Rapid translation of Arc/Arg3.1 selectively mediates mGluR-dependent LTD through persistent increases in AMPAR endocytosis rate. *Neuron.* 2008 Jul 10;59(1):84–97.
92. Messaoudi E, Kanhema T, Soulé J, Tiron A, Dagyte G, da Silva B, et al. Sustained Arc/Arg3.1 synthesis controls long-term potentiation consolidation through regulation of local actin polymerization in the dentate gyrus in vivo. *J Neurosci.* 2007 Sep 26;27(39):10445–55.
93. Eriksen MS, Bramham CR. Molecular physiology of Arc/Arg3.1: The oligomeric state hypothesis of synaptic plasticity. *Acta Physiol (Oxf).* 2022 Nov;236(3):e13886.
94. Wall MJ, Corrêa SAL. The mechanistic link between Arc/Arg3.1 expression and AMPA receptor endocytosis. *Semin Cell Dev Biol.* 2018 May;77:17–24.
95. Yin Y, Edelman GM, Vanderklish PW. The brain-derived neurotrophic factor enhances synthesis of Arc in synaptoneurosome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Feb 19;99(4):2368–73.
96. Waung MW, Pfeiffer BE, Nosyreva ED, Ronesi JA, Huber KM. Rapid translation of Arc/Arg3.1 selectively mediates mGluR-dependent LTD through persistent increases in AMPAR endocytosis rate. *Neuron.* 2008 Jul 10;59(1):84–97.
97. Steward O, Farris S, Pirbhoy PS, Darnell J, Driesche SJ Van. Localization and local translation of Arc/Arg3.1 mRNA at synapses: some observations and paradoxes. *Front Mol Neurosci.* 2014;7:101.
98. Peebles CL, Yoo J, Thwin MT, Palop JJ, Noebels JL, Finkbeiner S. Arc regulates spine morphology and maintains network stability in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Oct 19;107(42):18173–8.
99. Chowdhury S, Shepherd JD, Okuno H, Lyford G, Petralia RS, Plath N, et al. Arc/Arg3.1 interacts with the endocytic machinery to regulate AMPA receptor trafficking. *Neuron.* 2006 Nov 9;52(3):445–59.

100. Plath N, Ohana O, Dammermann B, Errington ML, Schmitz D, Gross C, et al. Arc/Arg3.1 is essential for the consolidation of synaptic plasticity and memories. *Neuron*. 2006 Nov 9;52(3):437–44.
101. McIntyre CK, Miyashita T, Setlow B, Marjon KD, Steward O, Guzowski JF, et al. Memory-influencing intra-basolateral amygdala drug infusions modulate expression of Arc protein in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jul 26;102(30):10718–23.
102. Bramham CR, Alme MN, Bittins M, Kuipers SD, Nair RR, Pai B, et al. The Arc of synaptic memory. *Exp Brain Res*. 2010 Jan;200(2):125–40.
103. Zhang H, Bramham CR. Arc/Arg3.1 function in long-term synaptic plasticity: Emerging mechanisms and unresolved issues. *European Journal of Neuroscience*. 2021 Oct 10;54(8):6696–712.
104. Nakahata Y, Yasuda R. Plasticity of Spine Structure: Local Signaling, Translation and Cytoskeletal Reorganization. *Front Synaptic Neurosci*. 2018;10:29.
105. Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GCR, Kasai H. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*. 2004 Jun 17;429(6993):761–6.
106. Fukazawa Y, Saitoh Y, Ozawa F, Ohta Y, Mizuno K, Inokuchi K. Hippocampal LTP is accompanied by enhanced F-actin content within the dendritic spine that is essential for late LTP maintenance in vivo. *Neuron*. 2003 May 8;38(3):447–60.
107. Nair RR, Patil S, Tiron A, Kanhema T, Panja D, Schiro L, et al. Dynamic Arc SUMOylation and Selective Interaction with F-Actin-Binding Protein Drebrin A in LTP Consolidation In Vivo. *Front Synaptic Neurosci*. 2017;9:8.
108. Koganezawa N, Hanamura K, Sekino Y, Shirao T. The role of drebrin in dendritic spines. *Mol Cell Neurosci*. 2017 Oct;84:85–92.
109. Korb E, Finkbeiner S. Arc in synaptic plasticity: From gene to behavior. Vol. 34, *Trends in Neurosciences*. 2011. p. 591–8.
110. Brenman JE, Topinka JR, Cooper EC, McGee AW, Rosen J, Milroy T, et al. Localization of postsynaptic density-93 to dendritic microtubules and interaction with microtubule-associated protein 1A. *J Neurosci*. 1998 Nov 1;18(21):8805–13.
111. Kennedy MJ, Ehlers MD. Organelles and trafficking machinery for postsynaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*. 2006;29:325–62.
112. Collingridge GL, Isaac JTR, Wang YT. Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*. 2004 Dec;5(12):952–62.
113. Washbourne P, Bennett JE, McAllister AK. Rapid recruitment of NMDA receptor transport packets to nascent synapses. *Nat Neurosci*. 2002 Aug;5(8):751–9.
114. Kneussel M. Postsynaptic scaffold proteins at non-synaptic sites. The role of postsynaptic scaffold proteins in motor-protein-receptor complexes. *EMBO Rep*. 2005 Jan;6(1):22–7.
115. Elias GM, Nicoll RA. Synaptic trafficking of glutamate receptors by MAGUK scaffolding proteins. *Trends Cell Biol*. 2007 Jul;17(7):343–52.

116. Hirokawa N. Microtubule organization and dynamics dependent on microtubule-associated proteins. *Curr Opin Cell Biol.* 1994 Feb;6(1):74–81.
117. Stamer K, Vogel R, Thies E, Mandelkow E, Mandelkow EM. Tau blocks traffic of organelles, neurofilaments, and APP vesicles in neurons and enhances oxidative stress. *J Cell Biol.* 2002 Mar 18;156(6):1051–63.
118. Seitz A, Kojima H, Oiwa K, Mandelkow EM, Song YH, Mandelkow E. Single-molecule investigation of the interference between kinesin, tau and MAP2c. *EMBO J.* 2002 Sep 16;21(18):4896–905.
119. Migaud M, Charlesworth P, Dempster M, Webster LC, Watabe AM, Makhinson M, et al. Enhanced long-term potentiation and impaired learning in mice with mutant postsynaptic density-95 protein. *Nature.* 1998 Dec 3;396(6710):433–9.
120. Kim E, Cho KO, Rothschild A, Sheng M. Heteromultimerization and NMDA receptor-clustering activity of Chapsyn-110, a member of the PSD-95 family of proteins. *Neuron.* 1996 Jul;17(1):103–13.
121. Reese ML, Dakoji S, Brecht DS, Dötsch V. The guanylate kinase domain of the MAGUK PSD-95 binds dynamically to a conserved motif in MAP1a. *Nat Struct Mol Biol.* 2007 Feb;14(2):155–63.
122. Colledge M, Snyder EM, Crozier RA, Soderling JA, Jin Y, Langeberg LK, et al. Ubiquitination regulates PSD-95 degradation and AMPA receptor surface expression. *Neuron.* 2003 Oct 30;40(3):595–607.
123. Mabb AM, Je HS, Wall MJ, Robinson CG, Larsen RS, Qiang Y, et al. Triad3A regulates synaptic strength by ubiquitination of Arc. *Neuron.* 2014 Jun 18;82(6):1299–316.
124. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993 Jul;49(3):481–93.
125. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993 Oct;26(5):351–7.
126. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994 Sep 10;344(8924):721–4.
127. Naqui A, Chance B, Cadenas E. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annu Rev Biochem.* 1986;55:137–66.
128. Erden M. T Klin Tıp Bilimleri. Vol. 12. 1992. 201–207 p.
129. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza yayınevi; 1995. 1–75 p.
130. Cross CE. Oxygen Radicals and Human Disease. *Ann Intern Med.* 1987 Oct 1;107(4):526.
131. Şahin S. Sıçanlarda Monosodyum Glutamat'ın Neden Olduğu Oksidatif Streste Eritrosit Ve Karaciğer Dokusundaki Değişiklikler; Melatoninin Koruyucu Rolü. Yüksek lisans, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, 2016.

132. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*. 2003 Dec;25(3–4):207–18.
133. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*. 1982 Nov;47(5):412–26.
134. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995 Dec;41(12 Pt 2):1819–28.
135. de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med*. 1999 Jan;26(1–2):202–26.
136. Szweda PA, Friguet B, Szweda LI. Proteolysis, free radicals, and aging. *Free Radic Biol Med*. 2002 Jul 1;33(1):29–36.
137. Maxwell SR, Thomason H, Sandler D, LeGuen C, Baxter MA, Thorpe GH, et al. Poor glycaemic control is associated with reduced serum free radical scavenging (antioxidant) activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem*. 1997 Nov;34 (Pt 6):638–44.
138. Gascoigne DA, Minhaj MM, Aksenov DP. Neonatal Anesthesia and Oxidative Stress. *Antioxidants*. 2022 Apr 16;11(4):787.
139. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Sep 15;15(6):1583–606.
140. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem*. 2015 Jun;97:55–74.
141. Uğuz AC, Nazıroğlu M. Effects of Selenium on Calcium Signaling and Apoptosis in Rat Dorsal Root Ganglion Neurons Induced by Oxidative Stress. *Neurochem Res*. 2012 Aug 3;37(8):1631–8.
142. Oteiza PI. Zinc and the modulation of redox homeostasis. *Free Radic Biol Med*. 2012 Nov;53(9):1748–59.
143. Lee KH, Cha M, Lee BH. Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 28;21(19):7152.
144. Kloubert V, Rink L. Zinc as a micronutrient and its preventive role of oxidative damage in cells. *Food Funct*. 2015;6(10):3195–204.
145. Savini I, Rossi A, Pierro C, Avigliano L, Catani M V. SVCT1 and SVCT2: key proteins for vitamin C uptake. *Amino Acids*. 2008 Apr 1;34(3):347–55.
146. Ballaz SJ, Rebec G V. Neurobiology of vitamin C: Expanding the focus from antioxidant to endogenous neuromodulator. *Pharmacol Res*. 2019 Aug;146:104321.
147. Getoff N. Vitamin C: electron emission, free radicals and biological versatility. *In Vivo*. 2013;27(5):565–70.
148. Niki E. Interaction of Ascorbate and α -Tocopherol. *Ann N Y Acad Sci*. 1987 Jul 17;498(1):186–99.

149. Atkinson J, Epand RF, Epand RM. Tocopherols and tocotrienols in membranes: A critical review. *Free Radic Biol Med*. 2008 Mar;44(5):739–64.
150. Lee P, Ulatowski LM. Vitamin E: Mechanism of transport and regulation in the CNS. *IUBMB Life*. 2019 Apr 17;71(4):424–9.
151. Sheldon RA, Jiang X, Francisco C, Christen S, Vexler ZS, Täuber MG, et al. Manipulation of Antioxidant Pathways in Neonatal Murine Brain. *Pediatr Res*. 2004 Oct;56(4):656–62.
152. Fullerton HJ, Ditelberg JS, Chen SF, Sarco DP, Chan PH, Epstein CJ, et al. Copper/zinc superoxide dismutase transgenic brain accumulates hydrogen peroxide after perinatal hypoxia ischemia. *Ann Neurol*. 1998 Sep 8;44(3):357–64.
153. Imai H, Graham DI, Masayasu H, Macrae IM. Antioxidant ebselen reduces oxidative damage in focal cerebral ischemia. *Free Radic Biol Med*. 2003 Jan 1;34(1):56–63.
154. Friel JK, Friesen RW, Harding S V, Roberts LJ. Evidence of Oxidative Stress in Full-Term Healthy Infants. *Pediatr Res*. 2004 Dec;56(6):878–82.
155. Willie CK, Tzeng Y, Fisher JA, Ainslie PN. Integrative regulation of human brain blood flow. *J Physiol*. 2014 Mar 28;592(5):841–59.
156. Adamiec L. Effect of hyperbaric oxygen therapy on some basic vital functions. *Acta Physiol Pol*. 1977;28(3):215–24.
157. Aksenov DP, Dmitriev A V., Miller MJ, Wyrwicz AM, Linsenmeier RA. Brain tissue oxygen regulation in awake and anesthetized neonates. *Neuropharmacology*. 2018 Jun;135:368–75.
158. Hartikainen KM, Rorarius M, Perakyla JJ, Laippala PJ, Jantti V. Cortical Reactivity During Isoflurane Burst-Suppression Anesthesia. *Anesth Analg*. 1995 Dec;81(6):1223–8.
159. Kenny JD, Westover MB, Ching S, Brown EN, Solt K. Propofol and sevoflurane induce distinct burst suppression patterns in rats. *Front Syst Neurosci*. 2014 Dec 18;8.
160. Aksenov DP, Li L, Miller MJ, Iordanescu G, Wyrwicz AM. Effects of Anesthesia on BOLD Signal and Neuronal Activity in the Somatosensory Cortex. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2015 Nov 24;35(11):1819–26.
161. Ching S, Purdon PL, Vijayan S, Kopell NJ, Brown EN. A neurophysiological–metabolic model for burst suppression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012 Feb 21;109(8):3095–100.
162. Wang C, Zhang X, Liu F, Paule MG, Slikker Jr, W. Anesthetic-Induced Oxidative Stress and Potential Protection. *The Scientific World Journal*. 2010;10:1473–82.
163. Wei H, Liang G, Yang H, Wang Q, Hawkins B, Madesh M, et al. The Common Inhalational Anesthetic Isoflurane Induces Apoptosis *via* Activation of Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptors. *Anesthesiology*. 2008 Feb 1;108(2):251–60.

164. Kania E, Roest G, Vervliet T, Parys JB, Bultynck G. IP3 Receptor-Mediated Calcium Signaling and Its Role in Autophagy in Cancer. *Front Oncol.* 2017 Jul 5;7.
165. Ramage TM, Chang FL, Shih J, Alvi RS, Quitoriano GR, Rau V, et al. Distinct long-term neurocognitive outcomes after equipotent sevoflurane or isoflurane anaesthesia in immature rats. *Br J Anaesth.* 2013 Jun;110:i39–46.
166. Honegger P, Matthieu JM. Selective toxicity of the general anesthetic propofol for GABAergic neurons in rat brain cell cultures. *J Neurosci Res.* 1996 Sep 1;45(5):631–6.
167. Zhou ZW, Shu Y, Li M, Guo X, Pac-Soo C, Maze M, et al. The glutaminergic, GABAergic, dopaminergic but not cholinergic neurons are susceptible to anaesthesia-induced cell death in the rat developing brain. *Neuroscience.* 2011 Feb;174:64–70.
168. Yang H, Liang G, Hawkins BJ, Madesh M, Pierwola A, Wei H. Inhalational Anesthetics Induce Cell Damage by Disruption of Intracellular Calcium Homeostasis with Different Potencies. *Anesthesiology.* 2008 Aug 1;109(2):243–50.
169. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinschtein P. Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Front Cell Neurosci.* 2019 Aug 7;13.
170. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. *Annu Rev Neurosci.* 2001 Mar;24(1):677–736.
171. Yu Q, Li J, Dai C ling, Li H, Iqbal K, Liu F, et al. Anesthesia with sevoflurane or isoflurane induces severe hypoglycemia in neonatal mice. *PLoS One.* 2020 Apr 2;15(4):e0231090.
172. Loepke AW, Istaphanous GK, McAuliffe JJ, Miles L, Hughes EA, McCann JC, et al. The Effects of Neonatal Isoflurane Exposure in Mice on Brain Cell Viability, Adult Behavior, Learning, and Memory. *Anesth Analg.* 2009 Jan;108(1):90–104.
173. Stokes J, Freed A, Bornstein R, Su KN, Snell J, Pan A, et al. Mechanisms underlying neonate-specific metabolic effects of volatile anesthetics. *Elife.* 2021 Jul 13;10.
174. Kahal H, Halama A, Aburima A, Bhagwat AM, Butler AE, Graumann J, et al. Effect of induced hypoglycemia on inflammation and oxidative stress in type 2 diabetes and control subjects. *Sci Rep.* 2020 Mar 16;10(1):4750.
175. Singh P, Jain A, Kaur G. Impact of hypoglycemia and diabetes on CNS: Correlation of mitochondrial oxidative stress with DNA damage. *Mol Cell Biochem.* 2004 May;260(1):153–9.
176. Wang J, Alexanian A, Ying R, Kizhakekuttu TJ, Dharmashankar K, Vasquez-Vivar J, et al. Acute Exposure to Low Glucose Rapidly Induces Endothelial Dysfunction and Mitochondrial Oxidative Stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012 Mar;32(3):712–20.
177. Gogitidze Joy N, Hedrington MS, Briscoe VJ, Tate DB, Ertl AC, Davis SN. Effects of Acute Hypoglycemia on Inflammatory and Pro-atherothrombotic Biomarkers in

- Individuals With Type 1 Diabetes and Healthy Individuals. *Diabetes Care*. 2010 Jul 1;33(7):1529–35.
178. Zhao S, Fan Z, Hu J, Zhu Y, Lin C, Shen T, et al. The differential effects of isoflurane and sevoflurane on neonatal mice. *Sci Rep*. 2020 Nov 9;10(1):19345.
 179. Drobyshevsky A, Miller MJ, Li L, Dixon CJ, Venkatasubramanian PN, Wyrwicz AM, et al. Behavior and Regional Cortical BOLD Signal Fluctuations Are Altered in Adult Rabbits After Neonatal Volatile Anesthetic Exposure. *Front Neurosci*. 2020 Oct 23;14.
 180. Aksenov DP, Venkatasubramanian PN, Miller MJ, Dixon CJ, Li L, Wyrwicz AM. Effects of neonatal isoflurane anesthesia exposure on learning-specific and sensory systems in adults. *Sci Rep*. 2020 Aug 14;10(1):13832.
 181. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976 May 7;72:248–54.
 182. Bi XB, Zhang X, Wen JP, Ding W, Li J. [Effects of repeated sevoflurane exposure on hippocampal cell apoptosis and long-term learning and memory ability in neonatal rats]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*. 2022 Nov;38(6):807–13.
 183. Dong Y, Hong W, Tang Z, Gao Y, Wu X, Liu H. Sevoflurane leads to learning and memory dysfunction via breaking the balance of tPA/PAI-1. *Neurochem Int*. 2020 Oct;139:104789.
 184. Zhu J, Zhang Z, Jia J, Wang L, Yang Q, Wang Y, et al. Sevoflurane Induces Learning and Memory Impairment in Young Mice Through a Reduction in Neuronal Glucose Transporter 3. *Cell Mol Neurobiol*. 2020 Aug 28;40(6):879–95.
 185. Fan XY, Shi G, Zhao P. Neonatal Sevoflurane Exposure Impairs Learning and Memory by the Hypermethylation of Hippocampal Synaptic Genes. *Mol Neurobiol*. 2021 Mar 14;58(3):895–904.
 186. Liang X, Zhang Y, Zhang C, Tang C, Wang Y, Ren J, et al. Effect of repeated neonatal sevoflurane exposure on the learning, memory and synaptic plasticity at juvenile and adult age. *Am J Transl Res*. 2017;9(11):4974–83.
 187. Shen FY, Song YC, Guo F, Xu ZD, Li Q, Zhang B, et al. Cognitive Impairment and Endoplasmic Reticulum Stress Induced by Repeated Short-Term Sevoflurane Exposure in Early Life of Rats. *Front Psychiatry*. 2018 Aug 2;9.
 188. Stratmann G, May LD V., Sall JW, Alvi RS, Bell JS, Ormerod BK, et al. Effect of Hypercarbia and Isoflurane on Brain Cell Death and Neurocognitive Dysfunction in 7-day-old Rats. *Anesthesiology*. 2009 Apr 1;110(4):849–61.
 189. Dong Y, Hong W, Tang Z, Gao Y, Wu X, Liu H. Sevoflurane leads to learning and memory dysfunction via breaking the balance of tPA/PAI-1. *Neurochem Int*. 2020 Oct;139:104789.

190. Jia M, Liu WX, Yang JJ, Xu N, Xie ZM, Ju LS, et al. Role of histone acetylation in long-term neurobehavioral effects of neonatal Exposure to sevoflurane in rats. *Neurobiol Dis.* 2016 Jul;91:209–20.
191. Wu Y, Yang Z, Su S, Xu X, Li Y, Li X, et al. Differential epitranscriptome and proteome modulation in the brain of neonatal mice exposed to isoflurane or sevoflurane. *Cell Biol Toxicol.* 2023 Oct;39(5):2133–48.
192. Qiu LL, Tan XX, Yang JJ, Ji MH, Zhang H, Zhao C, et al. Lactate Improves Long-term Cognitive Impairment Induced By Repeated Neonatal Sevoflurane Exposures Through SIRT1-mediated Regulation of Adult Hippocampal Neurogenesis and Synaptic Plasticity in Male Mice. *Mol Neurobiol.* 2023 Sep 7;60(9):5273–91.
193. Liu B, Ou G, Chen Y, Zhang J. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B protects against sevoflurane-induced neurotoxicity mediated by ER stress in developing brain. *Brain Res Bull.* 2019 Mar;146:28–39.
194. Chen Y ru, Zhang S xia, Fang M, Zhang P, Zhou Y fa, Yu X, et al. Egr2 contributes to age-dependent vulnerability to sevoflurane-induced cognitive deficits in mice. *Acta Pharmacol Sin.* 2022 Nov 16;43(11):2828–40.
195. Ni C, Qian M, Geng J, Qu Y, Tian Y, Yang N, et al. DNA Methylation Manipulation of Memory Genes Is Involved in Sevoflurane Induced Cognitive Impairments in Aged Rats. *Front Aging Neurosci.* 2020 Aug 18;12.
196. Li Q, Liu XS, Zeng QW, Xue QS, Cao XH, Liu J, et al. Post-training intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine block sevoflurane-induced impairment of memory consolidation and activity-regulated cytoskeletal protein expression inhibition in rat hippocampus. *Neurobiol Learn Mem.* 2011 Oct;96(3):492–7.
197. Zhang F, Zhu Q, Xue Q, Luo Y, Yu B. Extra-Cellular Signal-Regulated Kinase (ERK) is Inactivated Associating Hippocampal ARC Protein Up-Regulation in Sevoflurane Induced Bidirectional Regulation of Memory. *Neurochem Res.* 2013 Jul 10;38(7):1341–7.
198. Tel A. K, Yurdakul FG, Kürklü NS, Yaşar E, Bodur H. Relationship between diet, oxidative stress, and inflammation in ankylosing spondylitis. *Arch Rheumatol.* 2022 Mar;37(1):1–10.
199. Więdołcha M, Zborowska N, Marcinowicz P, Dębowska W, Dębowska M, Zalewska A, et al. Oxidative Stress Biomarkers among Schizophrenia Inpatients. *Brain Sci.* 2023 Mar 14;13(3):490.

10. EKLER

EK 1. Etik Kurul Onay Formu

