

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SEVOFLURANE ANESTEZİSİ ALAN YAŞLI  
RATLARDA BERBERİNE'NİN HAFIZA VE  
ÖĞRENME ÜZERİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Dr. Tuğba ÖZYURT

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2023



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SEVOFLURANE ANESTEZİSİ ALAN YAŞLI  
RATLARDA BERBERİNE'NİN HAFIZA VE  
ÖĞRENME ÜZERİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Dr. Tuğba ÖZYURT

Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI

DoÇ. Dr. Ferda YAMAN

Bu alıŐma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma  
Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2022-2529 nolu proje  
kapsamında desteklenmiŐtir.

ESKİŞEHİR

2023

**Eskişehir Osmangazi Üniversitesi**  
**Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,**

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Sevoflurane Anestezisi Alan Yaşlı Ratlarda Berberine'nin Hafıza ve Öğrenme Üzerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul tarafından, 16.06.2022 tarihinde, 893-1 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

**Öğrencinin Adı Soyadı:** Dr. Tuğba ÖZYURT

**Tarih:**

**İmza:**

**TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI**

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Tuğba ÖZYURT'a ait "Sevoflurane Anestezisi Alan Yaşlı Ratlarda Berberine'nin Hafıza ve Öğrenme Üzerine Etkisinin Araştırılması" adlı çalışma jürimiz tarafından Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:.....

Jüri Başkanı Doç. Dr. Ferda YAMAN  
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Birgül YELKEN  
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Mehmet Sacit GÜLEÇ  
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun ...../...../.....  
Tarih ve ...../..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Atilla Özcan ÖZDEMİR  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren, bilgi ve tecrübeleriyle yol göstericim olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ferda YAMAN'a, tez süresince beraber çalışma fırsatı bulduğum değerli hocalarım Prof Dr Didem Turgut Coşan'a, Doç Dr Semra Yiğitaslan'a, Dr Fulya Büge Ergen'e, Dr Cansu Kılıç Tatlıcı'ya, mesleki bilgi birikimleri ve deneyimleri ile bizlere hep yol gösterici olan değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Sacit GÜLEÇ'e, Prof. Dr. Birgül YELKEN'e, Prof. Dr. Ayten BİLİR'e, Prof. Dr. Gülay ERDOĞAN KAYHAN'a, Doç. Dr. Serdar EKEMEN'e, Doç. Dr. Dilek ÇETİNKAYA'ya, Doç. Dr. Sema ŞANAL BAŞ'a, Doç. Dr. Yeliz KILIÇ'a, Dr. Öğr. Üyesi Meryem ONAY'a, katkılarından dolayı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, gece gündüz demeden yoğun mesai koşullarını paylaştığım, her biri ile birbirinden değerli anılar biriktirdiğim asistan arkadaşlarıma, birlikte çalışmaktan keyif aldığım, saygıdeğer hemşire, teknisyen ve tekniker arkadaşlarıma, tüm hayatım boyunca sevgi ve desteklerini her zaman arkamda hissettiğim sevgili annem ve babama, bu zorlu süreçte yanımda olan tüm zorluklarda sabırla beni destekleyen eşim Furkan ÖZYURT' a teşekkür ederim.

## ÖZET

**Özyurt, T. Sevoflurane Anestezisi Alan Yaşlı Ratlarda Berberine'nin Hafıza ve Öğrenme Üzerine Etkisinin Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2023.** Çalışmamızda yaşlı ratlarda Sevoflurane kaynaklı nörotoksisitede miR-138, miR-138, miR-138, miR-138, mi-138 ve BDNF (beyin kaynaklı nörotrofik faktör) işlevini belirlemeyi, berberine'in nöroprotektif etkilerini incelemeyi amaçladık. 20-24 haftalık 56 adet, Sprague-Dawley türü, erkek sıçanlar her grupta 14 adet olacak şekilde Kontrol, Berberine, Sevoflurane-Berberine ve Sevoflurane 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu %50 O<sub>2</sub> ve %50 havaya 2lt/dk 6 saat maruz bırakıldı. Sevoflurane grubu %3 Sevoflurane ile %50 O<sub>2</sub> ve %50 hava 2lt/dk gaz akışı ile 6 saat boyunca inhalasyon anestezisi uygulandı. Sevoflurane anestezisinden 1 hafta önce başlanarak her gün, günde 1 50mg/kg dozunda intraperitoneal olarak berberine uygulandı. Sonrasında Morris Su Tankı testi, yükseltilmiş artı labirent testi ve nesne tanıma testi yapıldı. Sıçanlar ketamin-ksilazin anestezisi altında servikal disloke edildi ve dekapite edildi. Dekapitasyon öncesi tüm sıçanlardan kan alındı. Kraniotomi yapıp her gruptan random seçilen 7 rattan hipokampus ve frontal lob bölgelerinin diseksiyonu yapıldı. Kalan 7 rattan alınan beyin dokuları da TUNEL boyama yapılmak üzere ayrıldı. Frontal Lob, Hipokampus ve Plazma örneklerinde Real-Time qPCR Uygulaması yapılarak miR-138, miR-138, miR-138, miR-138, miR-138 ve BDNF seviyeleri belirlendi. ELİSA analizi ile BDNF seviyeleri ölçüldü. Berberine grubunda Sevoflurane grubuna göre plazma, frontal ve hipokampus miR 9, 124, 132 ve BDNF in anlamlı olarak yüksek olduğu, TUNEL boyamada istatistiksel olarak daha az apoptotik cisim görüldüğü tespit edildi, Gruplar arasında morris su tankı testinde, yükseltilmiş artı labirent testinde farklılık görülmedi. Yeni nesne tanıma testinde berberine grubu Sevoflurane grubuna kıyasla anlamlı olarak daha iyi yeni nesne seçme oranına sahipti. Bu bulgular geriatric popülasyonda berberinin moleküler bazda hafıza ve öğrenmeyi olumlu etkilediği fakat bu durumun kliniğe yansımadığını gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Sevoflurane, Berberine, miR-9, miR-124, miR-132, miR-134, miR-138

Destekleyen Kurumlar: ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

## ABSTRACT

**Özyurt, T. The Effect of Berberine on Memory and Learning in Elderly Rats Receiving Sevoflurane Anesthesia. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Specialization Thesis in Medicine, Eskişehir, 2023.** In our study, we aimed to investigate the function of miR-138, miR-138, miR-138, miR-138, mi-138 and BDNF (brain-derived neurotrophic factor) and to examine the neuroprotective effects of berberine in Sevoflurane-induced neurotoxicity in elderly rats. 56 Sprague-Dawley type male rats aged 20-24 weeks were divided into 4 groups: Control, Berberine, Sevoflurane-Berberine and Sevoflurane, 14 in each group. The control group was exposed to 50% O<sub>2</sub> and 50% air at 2lt/min for 6 hours. In the Sevoflurane group, inhalation anesthesia was applied for 6 hours with 3% Sevoflurane, 50% O<sub>2</sub> and 50% air 2lt/min gas flow. Berberine was administered intraperitoneally at a dose of 150mg/kg daily, starting 1 week before the Sevoflurane anesthesia. Then the Morris Water Tank test, the elevated plus maze test, and the object recognition test were performed. The rats were dislocated and decapitated under ketamine-xylazine anesthesia. Craniotomy was performed and dissection of the hippocampus and frontal lobe regions was performed on 7 randomly selected rats from each group. Brain tissues from the remaining 7 rats were also separated for TUNEL staining. MiR-138, miR-138, miR-138, miR-138, miR-138 and BDNF levels were determined by Real-Time PCR Application in Frontal Lobe, Hippocampus and Plasma samples. BDNF levels were measured by ELISA analysis. It was determined that plasma, frontal and hippocampus miR 9, 124, 132 and BDNF were significantly higher in the berberine group compared to the Sevoflurane group, and statistically less apoptotic bodies were seen in TUNEL staining. There was no difference between the groups in the morris water tank test and the elevated plus maze test. In the new object recognition test, the berberine group had a significantly better new object selection rate compared to the Sevoflurane group. These findings showed that berberine positively affected memory and learning on a molecular basis in the geriatric population, but this situation was not reflected in the clinic.

**Key Words:** Sevoflurane, Berberine, miR-9, miR-124, miR-132, miR-134, miR-138

**Supporting Institutions:** ESOGÜ Scientific Research Projects Coordination Unit

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sevoflurane	3
2.1.1. Solunum Sistemine Etkileri	4
2.1.2. Kardiyovasküler Sisteme Etkileri	4
2.1.3. Santral Sinir Sistemine Etkileri	5
2.1.4. Nöromusküler Sisteme Etkileri	5
2.1.5. Renal Etkileri	6
2.1.6. Hepatik Etkileri	6
2.2. Hipokampus	6
2.3. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)	7
2.4. MikroRNA'lar	8
2.4.1. MikroRNA Biyogenezi ve İşlevleri	9
2.4.2. RNAi (RNA Interferans)	10
2.5. Berberine	11

3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1. Deney Hayvanları	14
3.2. İlaçlar	15
3.3. Davranış Testleri	15
3.3.1. Yükseltilmiş artı labirent testi	15
3.3.2. Morris Su Tankı Testi	16
3.3.2. Yeni Obje Tanıma Testi	18
3.4. Kan ve Beyin Doku Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	19
3.4.1. Vücut Ağırlıklarının Belirlenmesi	20
3.4.2. Frontal Lob ve Hipokampus Ağırlıklarının Belirlenmesi	21
3.5. Real-Time qPCR Uygulaması ile Frontal Lob, Hipokampus ve Serum Örneklerinde miR-138, miR-138, miR-138, miR-138, miR-138 ve BDNF Seviyelerinin Belirlenmesi	21
3.5.1. Moleküler Analizler Öncesi Doku Saklanması için RNA Later Solüsyonu Hazırlanması ve RNA-later Solüsyonunun Hazırlanması	21
3.5.2. Dokuların Homojenizasyonu ve Total RNA İzolasyonu	21
3.5.3. cDNA Sentezi	22
3.5.4. qPCR Uygulaması	22
3.5.5. qPCR Veri Analizleri için $2^{-\Delta\Delta CT}$ Değeri Hesaplanması	23
3.6. ELİSA Testi Yöntemi	24
3.7. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması ve Boyanması	24
3.7.1 İmmünohistokimya	25
3.7.2 TUNEL (Terminal Deoksिनükleotidil Transferaz Aracılı dUTP Nick-End İşaretleme)	25
3.7.3. Morfometrik Analiz	26
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	68

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

80

KAYNAKLAR

81



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AD	Alzheimer hastalığı
AGO	Argonaute
BB	Berberine
BDNF	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
CA1	Cornu Ammonis
cDNA	Tamamlayıcı DNA
CREB CAMP	Response Element-binding Protein
DG	Dentat Girus
DGCR8	Digeorge Sendromu Kritik Bölge Geni 8
Dsrna	Çift İplikli Rna
ERK	Hücre dışı Sinyalle İlişkili Kinazın
GFAP	Glial Fibriler Asidik Protein
HE	Hemotoksilen Eozin
HK	Hipokampus
IBA1	İyonize Kalsiyum Bağlayan Adaptör Molekül-1
İNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
KR	Kontrol
KT	Korteks
LIMK1	Lim Alanı İçeren Protein Kinaz1
LPS	Lipopolisakkarit
MAK	Minimum Alveolar Konsantrasyon
MeCP2	X'e Bağlı Metil-cpg Bağlayıcı Protein 2
Mir RNA	MikroRNA
p-ERK	Fosforile Edilmiş Hücre dışı Sinyalle İlişkili Kinaz
POKD	Postoperatif Kognitif Disfonksiyonu
PTZ	Pentilentetrazol
RAN	Ras ile İlişkili Nükleer Protein
RISC	Ribonükleoprotein Kompleksi
RNAi	Rna İnterferans

SB	Sevoflurane + Berberine
SF	Sevoflurane
SIRNA	Susturucu Rna
SIRT1	Sirtuin 1
SOD	Süperoksit Dismutaz
TNF- $\alpha$	Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Sevoflurane kimyasal yapısı	4
2.2. miRNA biyogenezinin şematik olarak gösterimi	10
2.3. RNAi interferans mekanizması	11
2.4. Berberine kimyasal yapısı	13
4.1. Sağ frontal lob ve sağ HK ağırlığı	42
4.2. Sol frontal lob ve sol HK ağırlığı	43
4.3. Farklı gruplarda eski cisim ve yeni cisim karşılaştırması	44
4.4. Grupların günlere göre kümülatif süre değerleri	50
4.5. Grupların hafıza kümülatif süre ortalamaları	51
4.6. Grupların bölgeye uzaklık ve hafıza bölgeye uzaklık değerleri	53
4.7. Grupların kaçış gecikmesi değerleri	54
4.8. Grupların hafıza kaçış gecikmesi ortalaması	57
4.9. Grupların frontal lob ELİSA değerleri	58
4.10. Grupların kan ELİSA değerleri	59
4.11. Grupların hipokampus PCR çalışması ve BDNF değerleri	62
4.12. Frontal qPCR ile grupların miRNA değeri karşılaştırması	64
4.13. Frontal qPCR ile grupların BDNF değeri karşılaştırması	65
4.14. Grupların serum qPCR ve BDNF değerleri	67
4.15. Grupların serum qPCR değeri ve miRNA karşılaştırması	67

**RESİMLER DİZİNİ**

	Sayfa
<b>3.1. Sevoflurane uygulaması</b>	15
<b>3.2. İntraperitoneal berberine uygulaması</b>	16
<b>3.3. Yükseltilmiş artı labirent testi</b>	16
<b>3.4. Morris su tankı testi</b>	18
<b>3.5. Yeni obje tanıma testi</b>	19
<b>3.6. Deneklerden kan örneklerinin alınması</b>	20
<b>3.7. Deneklerden doku örneklerinin alınması</b>	20
<b>3.8. DNA sentezi ve qPCR uygulamasında kullanılan cihazlar</b>	23
<b>3.9. KT histolojisi küçük büyütme</b>	26
<b>3.10. KT histolojisi büyük büyütme</b>	27
<b>3.11. Beyin parasagittal kesitte Hipokampus</b>	27
<b>3.12. HK histolojisi küçük büyütme</b>	28
<b>3.13. HK histolojisi büyük büyütme</b>	29
<b>3.14. HE boyaması ile küçük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri</b>	30
<b>3.15. HE boyaması ile büyük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri</b>	31
<b>3.16. HE boyaması ile küçük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri</b>	32
<b>3.17. HE boyaması ile büyük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri</b>	33
<b>3.18. TUNEL boyaması ile küçük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri</b>	34
<b>3.19. TUNEL boyaması ile büyük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri</b>	35
<b>3.20. TUNEL boyaması ile küçük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri</b>	36
<b>3.21. TUNEL boyaması ile büyük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri</b>	37

**TABLolar DİZİNİ**

	Sayfa
<b>3.1.</b> Sıçanların havuza bırakılma sıralaması	17
<b>3.2.</b> Real-Time qPCR işleminde kullanılan primerler	23
<b>3.3.</b> Korteks Hasar Skorlaması (KR: Kontrol, BB: Berberine, SF: Sevoflurane, SB: Sevoflurane + Berberine)	38
<b>3.4.</b> Korteks hasar skorlamasının istatistiksel analizi	38
<b>3.5.</b> Hipokampus hasar skorlaması	39
<b>3.6.</b> Hipokampus hasar skorlamasının istatistiksel analizi	39
<b>4.1.</b> Çalışmaya ait genel parametreler	40
<b>4.2.</b> Çalışma grupları ile frontal lob ağırlıkları ve HK karşılaştırması	41
<b>4.3.</b> Çalışma grupları ile tanıma I-II ve eski-yeni cisim karşılaştırması	43
<b>4.4.</b> Çalışma grupları ile yeni nesne seçme oranı karşılaştırması	45
<b>4.5.</b> Çalışma grupları ile kapalı alanda kalma süresi karşılaştırması	45
<b>4.6.</b> Günlere göre sayısal parametreler	46
<b>4.7.</b> Farklı örneklerde çalışılan miRNA ve BDNF değerleri	47
<b>4.8.</b> Çalışma grupları ile kümülatif süre ve sıfıncı güne göre değişim ilişkisi	49
<b>4.9.</b> Grupların bölgeye uzaklık ve sıfıncı güne göre değişim ilişkisi	52
<b>4.10.</b> Grupların kaçış gecikmesi ve sıfıncı güne göre değişim ilişkisi	56
<b>4.11.</b> Grupların doku ve kan örneklerindeki ELİSA ilişkisi	58
<b>4.12.</b> Grupların hipokampus qPCR çalışması ile miRNA ve BDNF ilişkisi	61
<b>4.13.</b> Grupların hipokampus qPCR çalışması ile miRNA ve BDNF ilişkisi	66
<b>4.14.</b> Grupların serum qPCR değeri ile miRNA ve BDNF ilişkisi	66

## 1. GİRİŞ

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü, nörotrofin 4 ve nörotrofin 3 gibi az miktarda sentezlenen protein familyasına ait bir moleküldür (1). Beyindeki yüksek ekspresyon seviyeleri ve güçlü etkisi ile tüm nörotrofinler arasında öne çıkmaktadır ve sinapsları etkiler. BDNF biyolojisinin transkripsiyon, sekresyon gibi çeşitli yönleri sinaptik aktivite ile düzenlenir (2). BDNF'nin kendisi sinaptik plastisitenin uzun vadeli güçlenme gibi formlarını düzenleyebilmektedir. Uzun vadeli güçlenmenin uyarıcı sinaptik etkinliğin sürekli bir artışı olarak öğrenme ve hafızanın temelini oluşturduğu düşünülmektedir. BDNF'nin uzun vadeli güçlenmede özellikle hipokampusta temel bir rolü vardır (3).

Sevoflurane ameliyat sırasında yaygın olarak kullanılan bir inhalasyon anesteziğidir. Bir inhalasyon anesteziği olan Sevoflurane'a maruz kalmanın deneysel hayvan modellerinde bilişsel işlev bozukluğuna yol açtığı gösterilmiştir (4). Volatil anesteziğlere uzun süre maruz kalmanın kemiRgen modellerinde otizm spektrumuna benzeyen semptomlarla sonuçlandığı gösterilmiştir (5). Anesteziye bağlı kognitif bozukluk, yaşlı cerrahi hastalarında sık görülen bir durumdur ve postoperatif kognitif disfonksiyon (POKD) olarak adlandırılan bir olgudur ve yaşlıların yaklaşık dörtte birinde görülür. Ameliyattan bir hafta sonra POKD'si olan 60 yaşından büyük hastalar ve etkilenenlerin %10'unda 3 ay veya daha uzun süre devam eden bir durumdur. POKD, yaşlı cerrahi hastalarda Alzheimer hastalığı ve mortalite ile ilişkilendirilmiştir (6). Sevoflurane, nöronal apoptozu indükleyebilir ve ortaya çıkan nörotoksiste, yaşlılarda bilişsel bozulma ve Alzheimer hastalığına neden olur (7). Sevoflurane inhalasyonu oksidatif strese neden olup hipokampal nöronlarda artmış apoptozu tetikler. Eşlik eden öğrenme ve hafıza bozukluğu ve BDNF ekspresyonunda önemli azalma meydana gelebilir.

Doğal bir ürün olan berberine izokinolin tuz alkaloidleri grubundan bir kuaterner amonyumdur. Bitkideki ana bioaktif parçalar, Berberis, altın mühür (*Hydrastis canadensis*) ve *Coptis chinensis* gibi komponentlerdir. Çin'de geleneksel bir ilaç veya besin takviyesi olarak, bazı reçeteler büyük miktarda berberine içermektedir. Berberine kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve anti-inflamatuar, antioksidan, antitümör ve kolesterol düşürücü etkiler dahil olmak üzere çok çeşitli farmakolojik ve biyolojik

aktivitelere sahip olduğu bulunmuştur (8). Berberine'nin toll benzeri reseptör 4/nükleer faktör- $\kappa$ B sinyalinin baskılanması yoluyla endotoksemik hayvan modellerinde inflamatuvar mediatörlerin üretimini azalttığı kanıtlanmıştır.

Bu çalışmamızda Sevoflurane anestezisi alan yaşlı ratlarda berberinin hafıza ve öğrenme üzerine etkisinin araştırılması ve sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sevoflurane

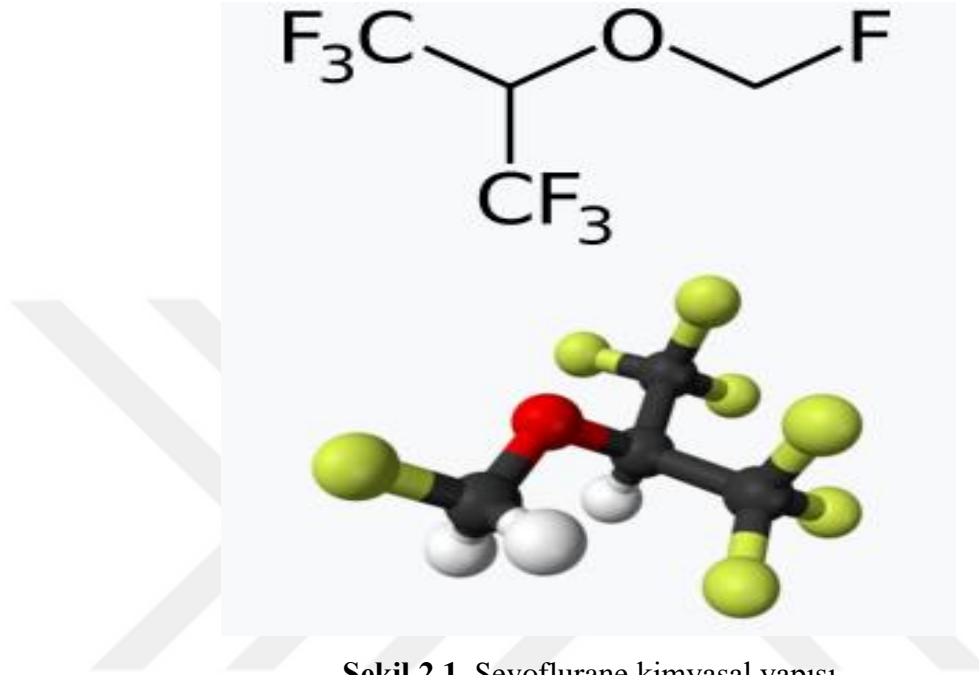
Sevoflurane, desfluran gibi florla halojenleştirilmiş bir ajandır. Sevoflurane'ın kanda erirliği desflurandan biraz daha fazladır. Keskin kokulu olmaması ve maksimum alveolar konsantrasyonunun hızlı yükselmesi Sevoflurane'ı pediatrik ve erişkin hastalarda yumuşak ve hızlı inhalasyon indüksiyonunda mükemmel bir seçenek haline getirmektedir (9). %50 nitroz oksit ve oksijen karışımı içinde %4-8 Sevoflurane ile inhalasyon indüksiyonu bir dakika içinde gerçekleşebilmektedir. Düşük kanda erirliği, kesilmesi halinde alveolar anestezi konsantrasyonunun hızlı düşmesine ve izoflurana göre daha hızlı bir uyanmaya yol açar. Sevoflurane'ın orta derecedeki buharlaşma basıncı geleneksel değişken geçişli vaporizatörlerin kullanımına imkan verir.

Deney hayvanlarında soda-lime ve baro-lime ile etkileşmesi sonucu renal, pulmoner ve serebral toksisitesi olan yıkım ürünleri (olefin) ortaya çıkar. Bununla birlikte insanda kullanıldığı yoğunluklarda henüz bu tür toksik etkiler bildirilmemiştir. Yine de 2 L/dk altındaki taze gaz akımları ile birkaç saat sürecek girişimlerde nefrotoksite açısından dikkatli olunması gereken bir ajandır.

Etkisini çabuk göstermesi, koklandığında hoş bir etki bırakması ve irrite edici özelliği olmaması nedeni ile hem çocuklar hem de erişkinlerde ilacın indüksiyonu iyi oranda tolere edilmektedir (10). Pahalılığı ve yıkımı ile ilgili bazı belirsizlikler nedeni ile Amerika Birleşik Devletin'de kullanımından vazgeçilmiş ama 1987 yılında Japonya'da tekrar kullanılmaya başlanmış ve birçok merkezde halotanın yerini almıştır.

Karaciğer mikrozomal enzim P-450 (özellikle izoform 2E1) Sevoflurane'ı halotanın 4 katı oranında fakat izofluran ve desfluranın 10-25 katı kadar metabolize eder ve etanol veya fenobarbital ön tedavisiyle indüklenebilir. Sonuçta inorganik florür artışının olması söz konusu olabilmektedir. Baryum hidroksit lime veya soda lime (fakat kalsiyum hidroksit değil) gibi alkaliler Sevoflurane'ı başka bir kanıtlanmış nefrotoksik son ürün olan compound A'ya indirgeyebilir (11). Compound A birikmesi; solunum gazlarının ısılarının yüksek olması, düşük akım anestezi uygulaması, kuru baryum hidroksit absorbanı, yüksek Sevoflurane konsantrasyonu ve uzun anestezi süreleri ile artar. Tüm inhalasyon anestezi ajanlar insan metabolizmasında değişken yüzdelerde değişime uğrarlar. Sevoflurane'ın kısıtlı biyotransformasyonu sonrasında

heksafloroizopropanol (HFIP) üretir. HFIP hızlı bir şekilde glukuronik asit ile konjugasyona uğrar ve bir ileri aşamada idrar metaboliti olarak vücuttan elimine edilmektedir.



Şekil 2.1. Sevoflurane kimyasal yapısı

### 2.1.1. Solunum Sistemine Etkileri

Halojen içeren bilinen tüm inhalasyon anestezi ilaçları hastada tidal volümü azaltıp solunumu baskılar. Birim zamandaki solunum sayısında gelişen bu artma, dakika volümündeki düşüşün önüne geçmek için yeterli olmamaktadır. Sonuçta  $PaCO_2$  artarken solunum merkezlerinin  $CO_2$ 'e cevabı azalır. Sevoflurane solunumu deprese eder ve bronkospazmı izofluraninkine benzer boyutta tersine çevirir.

### 2.1.2. Kardiyovasküler Sisteme Etkileri

Sevoflurane miyokardın kasılma gücünü hafifçe deprese eder. Sistemik vasküler direnç ve arteriyel kan basıncı izofluran ve desflurandan biraz daha az düşer. Sevoflurane kalp hızında artış yapsa da, küçük bir artışa neden olduğundan kalp debisi izofluran veya desfluran anestezisi kadar iyi korunmaz. Kalp hızında meydana gelen bu yükselme, miyokard iskemisi olan hastalarda iskemiye tetikleyebilmektedir (12).

Sevoflurane QT aralığını uzatabilir, bunun klinik önemi tam olarak bilinmemektedir. QT uzaması infantlarda anesteziyen uyanmayı takiben 60. Dakikada belirgin olabilmektedir. Sevoflurane konsantrasyonlarındaki artış genel olarak kan basıncında azalmaya sebep olmaktadır. Bu düşüş yüksek MAK değerlerinde izoflurana kıyasla daha az olmaktadır. Sevoflurane, aynı konsantrasyonlarda kullanılmak şartı ile izofluran ve desflurana benzer şekilde miyokard kasılma gücünü azaltmaktadır (13). Bununla birlikte Sevoflurane'ın hem genç hem de 50 yaş üzeri olan bireylerde izoflurana göre kardiyak hemostabilite konusunda daha iyi olduğu gösterilmiştir (14). Desfluran ve Sevoflurane, adrenalinin sebep olduğu kardiyak aritmileri izofluran ve halotana göre belirgin olarak daha az oranda tetikler ancak her iki ajanın da aritmojenik etkisi düşüktür.

### **2.1.3. Santral Sinir Sistemine Etkileri**

Desfluran ve izofluraninkine benzer şekilde Sevoflurane normokapni halinde serebral kan akımında ve kafa içi basıncında hafif artışlara neden olur. Bununla birlikte bazı çalışmalarda serebral kan akımında azalma olabileceği de gösterilmiştir (15). Sevoflurane'ın yüksek konsantrasyonlarında serebral kan akımını bozarak hemorajik hipotansiyon sırasında serebral kan akımında bir düşüşe yol açar. Serebral kan akımı üzerindeki etkisinin izoflurana göre daha az olduğu bilinmektedir. Serebral metabolik oksijen gereksinimleri azalır ve nöbet aktivitesi bildirilmemiştir. Aynen izofluranda olduğu gibi Sevoflurane alan ve epilepsi tanısı alan hastalarda konvülsiyon görülme sıklığının düştüğü belirtilmektedir (15). Sevoflurane farmakokinetik etkisi sonrasında beyinde orta serebral arterde dakikadaki kan akım hızını düşürmektedir. Önceleri inhalasyon ajanların serebral damarlar üzerinde vazodilatasyon etkisi nedeni ile kafa içi basıncı yükseltebileceği öngörülse de Sevoflurane'ın kafa içi basıncını arttırmadığı tespit edilmiştir (16).

### **2.1.4. Nöromüsküler Sisteme Etkileri**

Sevoflurane ile uygulanan inhalasyon indüksiyonu ile entübasyon için yeterli kas gevşemesi sağlanmaktadır. Buna ek olarak, çoğu hekim propofol, lidokain veya opioidlerin çeşitli kombinasyonları; entübasyondan önce bir nöromuskuler bloke edici uygulamayı veya bu iki yaklaşımın bir kombinasyonu ile anesteziyi derinleştirmeyi tercih etmektedir. Bununla birlikte etkin anestezi sağlayacak dozun altındaki

kullanımında beyinde aktivatör sinapslarda kolinerjik (17) reseptör faaliyetlerini düşürür. Bu duruma benzer etkinin post-sinaptik alanda da oluşabileceği ve non depolarizan nöromusküler bloke edici ajanların da etkisini bu mekanizma ile daha da artırdığı varsayılmaktadır (18).

### **2.1.5. Renal Etkileri**

Sevoflurane anestezisi, propofol anestezisine kıyasla idrar çıkışını ve sodyum atılımını azaltması ve plazma reninini arttırması ile bilinmektedir (19). Bu durumun akut böbrek hasarı ve ameliyat sırasında sıvı resüsitasyonu üzerindeki etkisi daha fazla araştırmayı gerektirmektedir. Enfluran, izofluran ve metoksifluran gibi Sevoflurane, potansiyel bir nefrotoksin ve florlu anestezi nefrotoksisitesinden sorumlu ajan olan inorganik floride metabolize edilir. Sevoflurane anestezisinden sonra, incelenen hastaların %7'sinde pik serum inorganik florür seviyeleri 50 mikrometreyi aşmıştır. Metoksifluran anestezisinden sonra subklinik veya klinik nefrotoksisite gelişen hastaların bu değerden daha yüksek serum florür konsantrasyonları sergiledikleri gözlemine dayalı olarak, 50 mikromolar serum florürü genellikle nefrotoksisite eşiği olarak görülmüştür (20). Compound A'nın nefrotoksik metabolitlerinin üretiminden ilacın biyotransformasyonun sorumlu olması ile birlikte insanlar Compound A'nın renal toksisitesine sıçanlardan daha az duyarlı olabilmektedir.

### **2.1.6. Hepatik Etkileri**

Sevoflurane portal ven kan akımını azaltır, fakat hepatic arter kan akımını arttırır ve böylelikle total hepatic kan akımını arttırır, bu duruma sekonder olarak karaciğerde oksijen sunumu artar. Sevoflurane anestezisi genellikle immün aracılı anestezi hepatotoksisite ile ilişkili değildir (21).

## **2.2. Hipokampus**

Sosyal bellek, daha önce karşılaşılanları tanıma yeteneğini ifade eder ve sosyal olarak geçmişle ilgili bilgileri ayırt eder ve kayıt eder. Sosyal etkileşimler sırasında sosyal tanıma, tanıdık olmayan bireyleri keşfetmeyi ve tanıdık olanlara uyum sağlamayı öğretir. Üreme davranışlarını teşvik eder ve hiyerarşik açıdan diğer sosyal bireyler tarafından işgal edilen pozisyonları saptamaya yarar (22). Hayvan çalışmaları hipokampus ile sosyal tanıma arasında bir bağlantı göstermiştir (23). Medial temporal lob hipokampustan oluşur ve bitişik parahipokampal girus içinde parahipokampal

korteks (daha arkada), perirhinal/entorhinal korteks (daha önde) yer almaktadır. Bir hipotez, parahipokampal korteks süreçlerinin bağlam bilgisinin perirhinal korteks süreçlerindeki madde bilgisi ile ve hipokampus aracılığıyla bu bilgiyi uzun süreli hafıza sağlamada rol almakta olduğu yönündedir (24). Diğer bir hipotez ise bu bölgelerin bellek ve bağlam belleği olarak her iki kalemde de bir sistem olarak çalıştığıdır (25). Bu alternatif hipotezler uzun süredir tartışılmaktadır. Uzun süredir tartışılan başka bir konu bilginin alınmasının başlangıçta hipokampusa bağımlı; sonra hipokampustan bağımsız (sistem konsolidasyonu) veya her zaman hipokampuse bağımlı (çoklu iz teorisi) olup olmadığıdır. Diğer tartışılan konular arasında hipokampusun sadece uzun süreli bellekle mi ilişkili olduğu yoksa işleyen bellekle mi ilişkilendirilebileceği ve hipokampusun uzun süreli bellekle ilişkili olup olmadığı yalnızca açık uzun süreli bellek veya ilişkilendirilebilir örtük bellek ile ilişkili olup olmadığıdır. Scoville ve Milner tarafından 1957'de hipokampusun rezeksiyonunu takiben medial temporal lob korteksi ilişkili şiddetli amnezi raporu edilmiştir (26). Milner'in vaka raporları ve amnezik hastalarla ilgili müteakip çalışmaları, hipokampusun ve onu çevreleyen medial temporal lob korteksinin oluşumdaki rolü üzerine bütün bir araştırma alanını başlatmış ve bu konudaki araştırmalar sonraki 60 yılda katlanarak artmıştır (26).

### **2.3. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF)**

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), memeli beyinde en çok dağıtılan ve kapsamlı olarak incelenen nörotrofinlerden biridir. BDNF, tropomiyozin reseptörü kinaz B (TrkB) ve düşük afiniteli p75 nörotrofin reseptörü aracılığıyla sinyal verir (27). BDNF, glutamaterjik ve GABAerjik sinapsların düzgün büyümesi, gelişmesi ve plastisitesinde önemli bir rol oynar ve nöronal farklılaşmanın modülasyonu yoluyla serotonerjik ve dopaminerjik nörotransmisyonu etkiler. BDNF, hem sinaptik öncesi hem de sinaptik sonrası hedef sitelerde parakrin ve otokrin faktör olarak işlev görür (28). Sinaptik aktivitenin uzun süreli sinaptik hafızaya dönüşmesinde çok önemlidir. BDNF, dendritik dikenleri etkileyen, merkezi sinir sisteminde en azından hipokampusta, yetişkin nörogenezinde fonksiyonel ve yapısal plastisitenin öğretici bir aracısı olarak kabul edilir. Yetişkin nörogenez hızındaki ve omurga yoğunluğundaki değişiklikler, çeşitli öğrenme ve hafıza biçimlerini etkileyebilir ve depresyon benzeri davranışlara katkıda bulunabilir.

BDNF beyin gelişimi ve nörogenezinde çok önemli bir rol oynayan nörotrofinler grubunun bir üyesidir. Hipotalamusta, enerji metabolizmasında ve beslenme davranışında rol oynadığı belirtilmektedir (29). BDNF 'nin hipokampal konsantrasyonunun öğrenme ve hafızada önemli bir rol oynadığına inanılır, nörodejenerasyon ve stres tepkilerinde koruyucu bir rolü vardır. BDNF 'nin ayrıca anjiyogenez, proliferasyon, hücre migrasyonu ve apoptoz gibi diğer birçok süreçte yer aldığı bilinmektedir (30).

BDNF'in antidepresan ilaç etkisi gösterdiği kabul görmektedir, psikiyatride üzerinde en çok çalışılan moleküllerden biri olmaya devam etmektedir. Çeşitli psikiyatrik hastalıklar için tartışmasız "en düşük ortak payda" risk faktörü olmaya devam eden stres, hastalıkla ilişkili beyin bölgelerinde ve devrelerinde BDNF'yi hedefler (31). BDNF eksikliğinin in vivo hayvan modellerinde de değişen strese bağlı tepkiler gözlemlenmiştir (32). Ek olarak BDNF, kaygı ve depresif benzeri davranışları güçlendiren çevresel faktörler için yaygın bir aracı role sahiptir, bununla birlikte BDNF'in geniş işlevselliği, heterojen bir literatür ortaya koymuştur; bu durum BDNF'in beyinde stres hormonu sinyal iletiminin hem düzenleyicisi hem de hedefi olarak şimdiye kadar yeterince tanınmayan çok faktörlü bir rol oynadığını yansıtmaktadır (33). BDNF'in stres ve travma sonrası stres bozukluğu gibi stresle ilişkili bozukluklardaki rolü, çok sayıda model, laboratuvar ve disiplinde tutarsız etkilerinin olduğunu ortaya çıkarmıştır.

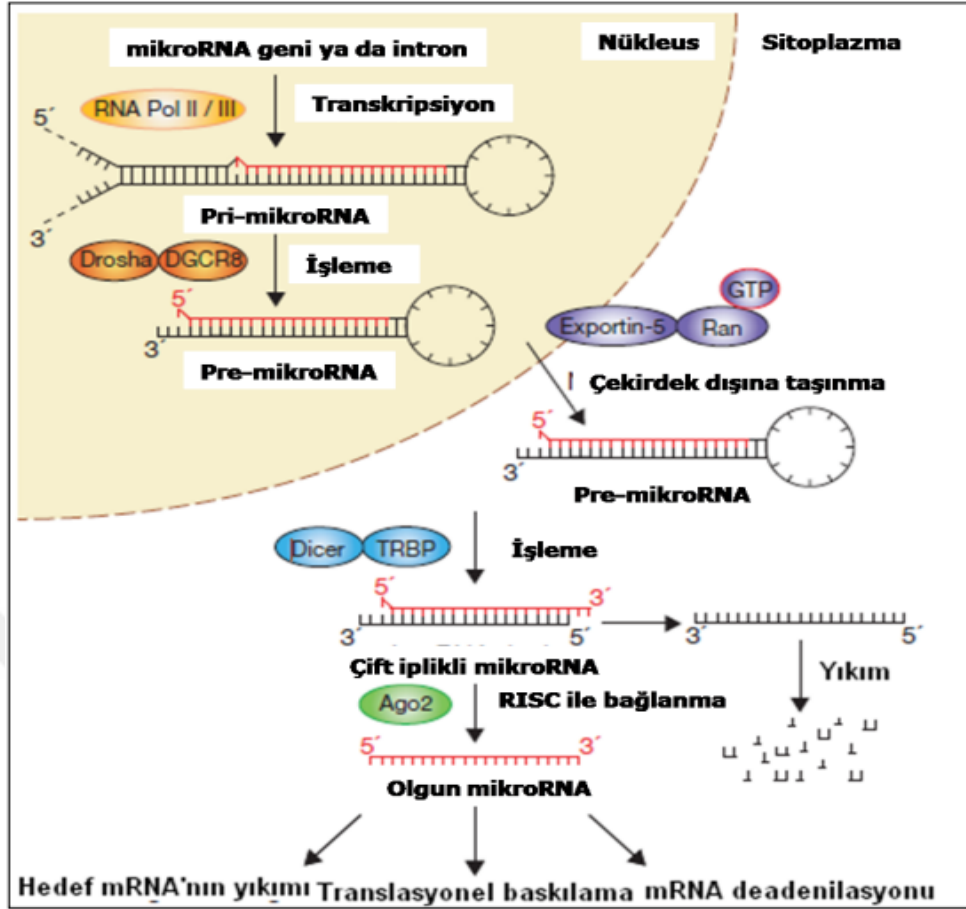
#### **2.4. MikroRNA'lar**

MikroRNA'lar (miRNA'lar) bölünme ve translasyon sağlayarak hayvanlarda ve bitkilerde önemli düzenleyici roller oynayabilen yaklaşık 23 nükleotid uzunluğunda kodlanmayan bir RNA türüdür (34). miRNA'lar protein kodlayan genlerin yaklaşık %30'unu düzenlerler. miRNA'ların iki yüzden fazla çeşidi bulunduğu düşünüldüğünde, miRNA'lar gen aileleri içerisinde en büyüklerinden biridir (35). Günümüzde insanlarda tespit edilen miRNA geni sayısı 2000'i geçmiştir.

### 2.4.1. MikroRNA Biyogenezi ve İşlevleri

miRNA genlerinin çoğu Pol II tarafından en az bir saç tokası yapısı içeren pri-miRNA adlı büyük RNA olarak kopyalanır. Tüm kanonik pri-miRNA'ların 5' başlığı vardır; ancak 3' ucunda bir poliadenilasyon sinyali olmayabilir (36). Çekirdekte, pri-miRNA'lar, pre-miRNA'lar olarak adlandırılan yaklaşık 70 nükleotidlik kök halka yapısına bölünür. Bu işlem, Drosha'dan oluşan bir mikro işlemci kompleksi tarafından gerçekleştirilir. İlk olarak Drosophila'da ve DiGeorge Sendromu Kritik Bölge Geni 8 (DGCR8) keşfedilmiştir. Drosha, çift sarmallı RNA'ya özgü bir endoribonükleaz türü olan Rnaz III enzimlerinin bir üyesidir. DGCR8, Mikroişlemci kompleksinin katalitik olmayan alt birimi olarak işlev gören çift sarmallı bir RNA bağlayıcı proteindir (37). Pre-miRNA'lar daha sonra küçük bir GTP bağlayıcı protein olan Ras ile ilişkili nükleer protein tarafından sitoplazmaya çıkarılır.

Sitoplazmada, pre-miRNA'lar, halkanın yakınında, 3' ucunda iki ila üç nükleotid çıkıntısı ile karakterize edilen küçük dsRNA'lara (biri kılavuz, diğeri yolcu çift iplikli RNA) bölünür. Bu bölünmeye, çift zincirli bir RNA bağlayıcı protein olan TAR RNA bağlayıcı protein ile ilişkili bir Rnaz III enzimi olan Dicer aracılık eder (38). RNA susturulmasındaki merkezi rol, argonaute (AGO) ailesi proteinleri tarafından oynanır. miRNA dubleks, ATP'ye bağımlı şaperon proteinlerinin yardımıyla AGO proteinine yüklenir. AGO'yu orijinal konformasyonuna döndürdükten sonra, tek sarmallı olgun miRNA üretmek için miRNA dupleksinin yolcu sarmalından çıkılır (36). Yüklemeden sonra AGO, hedeflenen miRNA'nın tanınmasına aracılık eden, RISC olarak bilinen bir ribonükleoprotein kompleksinin toplanmasını destekler. Olgun miRNA'lar, baz eşleşmesi yoluyla spesifik mRNA hedeflerine yönlendirilir (39). Bitkilerde ve çok nadiren hayvanlarda miRNA'lar, mRNA'nın dilimlenmesiyle sonuçlanan kesin dizi tamamlayıcılığı ile mRNA hedeflerine bağlanır.

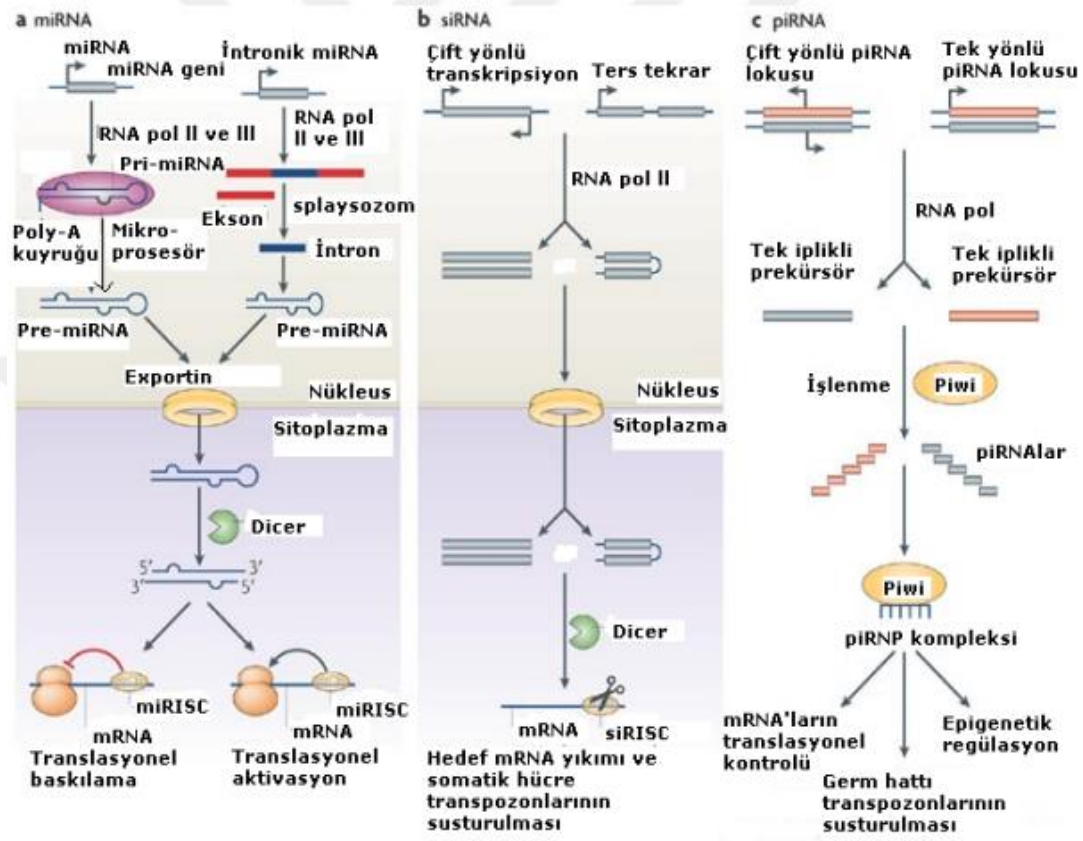


Şekil 2.2. miRNA biyogenezinin şematik olarak gösterimi (39)

#### 2.4.2. RNAi (RNA Interferans)

Susturucu RNA (siRNA) tarafından tetiklenen RNA interferansı (RNAi) nematodlarda keşfedilmiş olup çoğu canlı organizmada işlev gördüğü bulunmuştur. RNAi, gen fonksiyonlarını incelemek için bir araştırma aracı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Çift sarmallı RNA aracılı girişim (RNAi), bir dizi organizmada gen ekspresyonunu susturmanın basit ve hızlı bir yöntemidir. Bir genin susturulması, RNA'nın homolog mRNA'yı hedeflemek için ribonükleazları aktive eden kısa RNA'lara değişiminin bir sonucudur (40). Ortaya çıkan fenotipler, ya genetik boş mutantlarınkilerle aynıdır ya da alelik bir mutant serisine benzemektedir. Spesifik gen susturmanın iki eski süreçle, bitkilerde ve mantarlarda baskılama ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ve ayrıca transpozon susturma, antiviral savunma mekanizmaları, gen düzenlemesi ve kromozomal modifikasyon gibi düzenleyici süreçlerle ilişkilendirilmiştir. Kapsamlı genetik ve biyokimyasal analiz, RNAi kaynaklı gen

susturmanın iki aşamalı bir mekanizmasını ortaya çıkarmıştır. İlk adım, dsRNA'nın bir Rnaz III benzeri aktivite ile 21 ila 25 nükleotid uzunluğundaki siRNA'ların bozunmasını içerir. İkinci adımda, siRNA'lar bir Rnaz kompleksine katılır. (41).



Şekil 2.3. RNAi interferans mekanizması (42)

## 2.5. Berberine

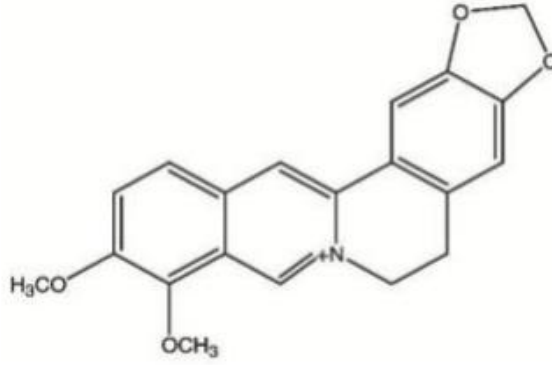
Berberine (IUPAC isimlendirmesi 5,6-dihidro-9,10-dimetoksibenzo[g]-1,3-benzodioksolo[5,6a]kinolizinyum), molar kütlesi 336.3612 g/mol olan bir izokinolin alkaloididir (43). *Coptis chinensis* (Huanglian) veya korteks *phellodendri*'den (Huangbai) elde edilir (43). Hafif karakteristik kokusu ve ekşi tadı olan sarımsı kristal bir tozdur. Metanolde orta derecede çözünür, etanol ve suda marjinal olarak çözünür (44) Berberine ışığa ve ısıya karşı reaktiftir; yüksek sıcaklık ve ışığa maruz kaldığında bozunmaya uğrar ve dolayısıyla stabilitesini etkilemektedir (45).

Çin ve Hint bitkisel ilaçlarında olan Berberine, antidiyabetik, anti-hiperlipidemi, antidepresan, anti-inflamatuar, antibakteriyel, antiprotozoal ve

antikanser gibi çoklu terapötik etkileri nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmüştür (46) Ayrıca metabolik bozuklukların neden olduğu nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için potansiyel bir ilaçtır (47). Genellikle, nöronal hasara nörometabolik hastalıklar neden olduğunda, lizozomlar, peroksizomlar ve mitokondri dahil olmak üzere çok sayıda önemli organel işlev bozukluğuna uğrayarak metabolik bozukluklara neden olur ve önemli miktarda nöronal apoptozise yol açar (48). Berberine, PI3K-AKT sinyal yolunu aktive ve NF- $\kappa$ B sinyal yolunu inhibe ederek, TNF- $\alpha$  (Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$ ), siklooksijenaz-2 ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (İNOS) üretimini de inhibe ederek anti inflamatuvar etkiler sağlar. İNOS, nöroinflamasyonu azaltmaya ve kan-beyin bariyeri hasarını önlemeye yardımcı olur (49-52). Berberine, nöroinflamatuvar hasarı iyileştirmenin yanı sıra, çeşitli diğer mekanizmalar yoluyla bilişsel işlev bozukluğunu iyileştirebilir. Ana mekanizma, apoptoz faktörleri kaspaz-3 ve Bax ve apoptozu azaltmak için anti-apoptotik faktör Bcl-2'yi artırır. Hücre dışı sinyalle ilişkili kinazın (ERK) ve fosforile edilmiş hücre dışı sinyalle ilişkili kinazın (p-ERK) ekspresyonunu artırarak, WNT/ $\beta$ -Catenin sinyal yolunu aktive ederek pre-nöral faktörlerin ekspresyon seviyelerini artırır (ASCL1 , NeuroG1, NeuroD2 ve DCX). C17.2 nöral kök hücrelere yönelik oksidatif hasarı daha da azaltır ve onları nöronlara farklılaşmaya teşvik eder (53). Ayrıca araştırmalar, berberinin kronik serebral hipoperfüzyonun neden olduğu oksidatif stresi antagonize etmek için süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon gibi antioksidan enzimleri aktive ederek nöroprotektif etkiler gösterdiğini göstermiştir (54,55).

Berberine'in anti-inflamatuvar etkileri hem sistemik hem nöral yolları pek çok çalışmada farklı yollarla açıklanmıştır. Örneğin LPS (lipopolisakkarit) ile indüklenen akut solunum sıkıntısı sendromunda modeli sıçanlarda , berberine tedavisi ile endotelial glikokaliks hasarının önlendiği, TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL-6, MMP-9 ve heparanaz ekspresyonunun inhibe olduğu, pulmoner vasküler geçirgenliği azalttığı gösterilmiştir (56-59). Berberine'nin, artmış kardiyak diyastolik fonksiyon ve hemodinami ile kendini gösteren kardiyoprotektif etkileri, LPS kaynaklı septik kardiyomyopati sıçanlarda gözlemlenmiştir (60,61). Berberine tedavisinin ayrıca LPS'nin neden olduğu bilişsel eksiklikleri azalttığı ve sıçanlarda uzamsal öğrenme yeteneğini geri kazandırdığı bildirilmiştir (62-64). Bu etkiler, hipokampusta glutatyon peroksidaz, SOD, CAT ve glutatyonun artması ve azalmış asetilkolinesteraz,

malondialdehit, karbonil protein ve kaspaz-3 aktivitesi ile artan antioksidan aktivite ile ilişkilendirilmiştir (65).



Şekil 2.4. Berberine kimyasal yapısı (66)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Saki Yenilli Deney Hayvanları Üretim ve Uygulama Tic. Ltd. Şti.'den temin edilen 20-24 haftalık 350-500 gr. arası, 56 adet, Sprague-Dawley türü, erkek sıçan kullanıldı. Deney protokolümüz Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 16.06.2022 tarih ve 893-1 numaralı karar ile onaylandı. Deney süresince sıçanların tutulduğu odanın sıcaklığı 19-21°C'ye ayarlandı. Oda 12 saatlik periyotlar halinde aydınlık ve karanlık olacak şekilde aydınlatıldı. Her bir kafeste 4 sıçan barındırılacak şekilde, sıçanlar gruplara ayrıldı. Her gün yeterli miktarda yem ve su ile beslendi. Sıçan kodlaması kuyrukları kalıcı boyayla boyanarak yapıldı.

Sıçanlar her grupta 14 sıçan olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

- a) Kontrol grubu
- b) Berberine grubu
- c) Sevoflurane
- d) Sevoflurane+ Berberine

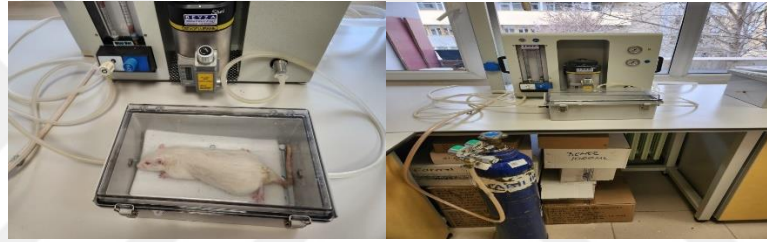
Kontrol grubundaki sıçanlar sadece nemlendirilmiş %50 O<sub>2</sub> ve %50 havaya 2lt/dk 6 saat maruz bırakıldı. Sevoflurane grubundaki sıçanlar %3 Sevoflurane ile %50 O<sub>2</sub> ve %50 hava 2lt/dk gaz akışı ile 6 saat boyunca inhalasyon anestezisi uygulandı. Berberine'nin LD<sub>50</sub> değeri-57.6103mg/kg olarak bilinmektedir. Berberine grubundaki sıçanlara berberinin nöroprotektif etkisini gözlemlemek amacıyla Sevoflurane anestezisinden 1 hafta önce başlanarak her gün, günde 1 kez %0.9 salin (0,2 ml) içinde çözülmüş 50mg/kg dozunda intraperitoneal olarak berberine uygulandı.

İşlemden 24 saat sonra (anestezi sonrası 1. gün) 1-5. günler arası saat 09:00-13:00'de morris su tankı testitank testi farmakoloji ana bilim dalı nöropsikofarmakoloji laboratuvarında yapıldı. Anestezi sonrası. 1.gün ve 2. gün sıçanlara 09:00-11:00'de yükseltilmiş artı labirent testi uygulandı. Anestezi sonrası 2.gün ve 3. Gün 09.00-12.00 arasında sıçanlara nesne tanıma testi yapıldı. Her grubun tüm hayvanlarına davranış testleri yapıldı. Davranış testlerini tamamlandıktan 1 gün sonra kan, frontal lob, hipokampus, beyin örnekleri toplanarak saklandı. Her grubun tüm hayvanlarına dekapitasyon öncesi kan alınarak ELİSA ve qPCR çalışıldı. Her gruptaki 7 sıçandan alınan örneklerde apopitoz oranını görmek için histolojik olarak TUNEL boyama

yapılmak üzere örnekler ayrıldı. Kalan 7 sıçandan hipokampus ve frontal loblar alınarak RT-qPCR ve ELİSA çalışıldı.

### 3.2. İlaçlar

Çalışmamızda berberine hidroklorür, ketamin (Alfamine %10, Alfasan International B.V., Hollanda) ve ksilazin (Xylazinbio %2, Bioveta PLC, Çek Cumhuriyeti) kimyasal ajanları kullanıldı. Berberine hidroklorür ilaç solüsyonu, SF (serum fizyolojik, % 0.9'luk NaCl izotonik ılık çözelti) ile karıştırıcı yardımıyla çözülerek kullanılmadan hemen önce hazırlandı ve intraperitoneal uygulama yapıldı. ELİSA protokolü için kitler (SUNRED-201-11-0477-96T) Farmasina Tıbbi ve Timyevi Ürünler San. ve Dış Tic. Ltd. Şti.'den satın alındı. Berberine (TCI CHEMICALS B0450) intraperitoneal olarak uygulandı.



**Resim 3.1.** Sevoflurane uygulaması

### 3.3. Davranış Testleri

#### 3.3.1. Yükseltilmiş artı labirent testi

Sıçanların anksiyetelerini değerlendirmek üzere yükseltilmiş artı labirent testi tercih edildi. Yükseltilmiş artı labirent testi için yerden 45 cm yüksekliğinde iki tane açık (50cmx10cm), iki tane de kapalı uçlu (50cmx10cmx40cm) kolları olan ve ortasında bu kolları bağlayan 10cmx10cm'lik alan olan bir düzenek hazırlandı. Sıçanlar açık kolun başlangıç noktasından yüzleri labirente bakacak şekilde bırakıldılar ve 5 dk. boyunca açık kolda geçirdikleri süre kaydedildi. Sıçanların 4 ayağının da girdiği ve çıktığı anlar arasında süreler dikkate alındı. Tüm kollar her deney seansından sonra %10' luk etanol ile temizlendi ve kurulandı.



**Resim 3.2.** İnterperitoneal berberine uygulaması



**Resim 3.3.** Yükseltilmiş artı labirent testi

### **3.3.2. Morris Su Tankı Testi**

Sıçanların uzun süreli hafızalarının test edilebilmesi için Morris su tankı testi (MST) tercih edildi. Deneyler, ses izolasyonu sağlanmış bir odada, çapı 150 cm olan dairesel bir su havuzunda gerçekleştirildi. Su havuzunun sıcaklığı 21-23 °C aralığında

tutuldu ve içindeki platform, görünmez hale getirilmesi için mavi renkli boncuklarla kaplandı. Havuz çevresindeki ortam, ışığın homojen dağılımını sağlamak için loş halojen lambalarla aydınlatıldı. Havuzun çevresine, hayvanların görebileceği şekilde siyah-beyaz ve renkli geometrik şekillerden oluşan posterler yerleştirildi. Deneyin yürütücüsünün deneylerin yapıldığı süre boyunca tek bir noktada durmasına özen gösterildi. Havuz üzerinde 4 adet nokta belirlendi. Bu noktalar B, D, H ve G kadrantları olarak adlandırıldı. Her kadrantın orta noktası belirlenerek hayvanların bırakılacağı noktalar tespit edildi. Kaçış platformu, B kadrantında havuzun kenarından 20 cm uzaklıkta ve üst kısmında hayvanların durabileceği 10x10 cm boyutunda bir alana yerleştirildi. Sıçanlara 1. gün alıştırma, 4 gün boyunca öğrenme ve 6. gün hafıza testi için MST yüzdürme seansları uygulandı.

Alıştırma günü (0. gün) ve diğer 4 gün boyunca sıçanlar günde 3 defa ve her defasında farklı bir kadrant olmak üzere havuza bırakıldılar. Havuza bırakılma sıralamaları Tablo 3.1.'de gösterildi. 1. gün platform su seviyesinin 1 cm üzerindeyken, 2. ile 5. günler arasında platform su seviyesinin 1 cm altında tutuldu. Tüm seanslar boyunca sıçanların 60 sn içerisinde kaçış platformuna ulaşmaları beklendi. Platforma ulaşan sıçanlar, platform üzerinde 30 sn boyunca bekletildi. 60 sn içerisinde platforma ulaşamayan sıçanların deney yürütücüsünün yardımıyla kaçış platformunu bulmaları sağlanmış ve yine kaçış platformu üzerinde 30 sn boyunca bekletildi.

**Tablo 3.1.** Sıçanların havuza bırakılma sıralaması

Gün	1. Seans	2. Seans	3. Seans
0. Gün	H Kadrantı	G Kadrantı	D Kadrantı
1. Gün	D Kadrantı	H Kadrantı	G Kadrantı
2. Gün	G Kadrantı	D Kadrantı	H Kadrantı
3. Gün	D Kadrantı	G Kadrantı	H Kadrantı
4. Gün	G Kadrantı	H Kadrantı	D Kadrantı

Son aşama olan 6. gün (son öğrenme eğitiminden 24 saat sonra) hafıza testi için platform tamamen havuzdan çıkarıldı. Bu testte, hayvanlar tek bir kez ve havuzun ortasından suya bırakıldılar. Sıçanların, platformun bulunduğu kadrantındaki süreleri, platforma olan ortalama mesafeleri, yüzme hızları, platformu bulma süreleri ve

katettikleri mesafeler tavana monte edilmiş bir video kamera ve bilgisayarlı izleme sistemi (Noldus Ethovision XT, Versiyon 9, Wageningen, Hollanda) ile izlendi. Platformun bulunduğu kadradaki süre (kümülatif süre) ve platforma olan ortalama mesafe (bölgeye uzaklık), platformu bulma süresi (kaçış gecikmesi) hafıza üzerindeki etkileri değerlendirmek için kullanıldı.

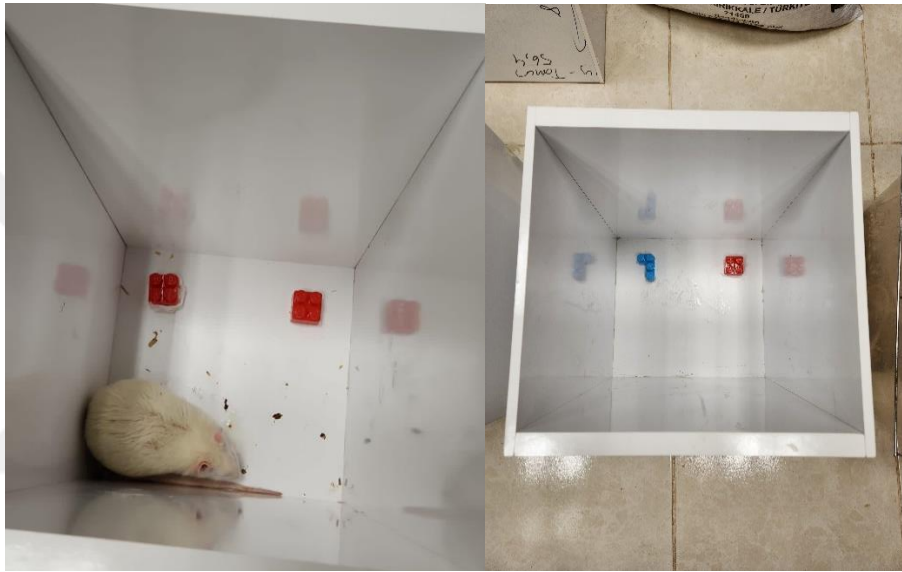


**Resim 3.4.** Morris Su Tankı Testi

### 3.3.2. Yeni Objeye Tanıma Testi

Sıçanların objeye tanıma hafızası fonksiyonunu ölçmek için, öncelikle 3 gün boyunca (Sevoflurane grubu için Sevoflurane uygulama sonrası 2., 3. ve 4. günler) 30x30x40 cm boyutlarında özel boş bir kutu içine yerleştirildi. Sıçanlar kutunun içinde 15 dakika boyunca kutuyu tanımaları için serbest bırakıldı. Testin uygulanacağı gün, kutunun içine birbiriyle aynı iki obje yapıştırıldı. Sıçanlar 10 dakika boyunca kutuya bırakıldı ve iki ayrı kronometre kullanılarak her hayvanın hangi objeye ne kadar süre ilgi gösterdiği ölçüldü.

Bir saat sonra kutudaki objelerden biri %10'luk etanolle iyice temizlendi ve farklı bir objeyle değiştirildi. Sıçanlar tekrar 5 dakika boyunca kutuya bırakıldı ve yine iki kronometre kullanılarak hayvanların hangi objeye ne kadar süre ilgi gösterdiği ölçüldü. Bu süre değerleri daha sonra analiz için not edildi. Sıçanların bilişsel yeteneklerini analiz etmek için yeni nesne keşfi göreceli süresi = (yeni nesne keşif süresi – eski nesne keşif süresi) / (yeni nesne keşif süresi + eski nesne keşif süresi) ve yeni nesne seçim oranı = yeni cisim keşif süresi / (yeni cisim keşif süresi + eski cisim) keşif süresi indeksleri kullanıldı.



**Resim 3.5.** Yeni Obje Tanıma Testi

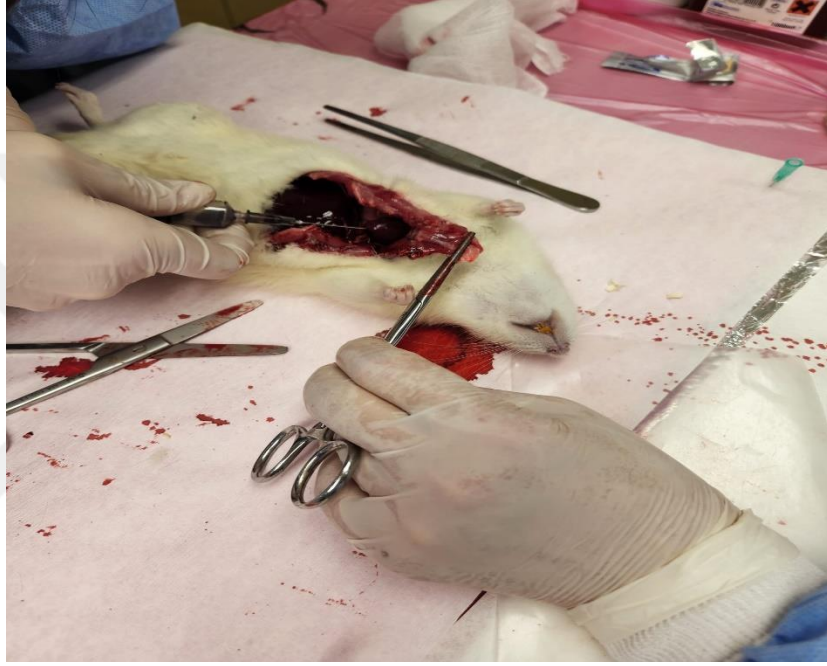
### 3.4. Kan ve Beyin Doku Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Davranış deneylerinin tamamlanmasından 1 gün sonra, sıçanlara ketamin (80 mg/kg) ve ksilazin (12 mg/kg) intraperitoneal yolla uygulanarak anestezi sağlandı. Saat 10:00-12:00 arasında intrakardiyak yolla kan örnekleri alındı ve ardından servikal dislokasyon yoluyla sıçanların yaşamlarına son verildi. Sıçanların beyinleri ve frontal, hipokampus bölgeleri ayrılarak ağırlıkları ölçüldü. Anestezi uygulanan hayvanlardan torakotomi sonrası kalbin sol ventrikülünden yaklaşık 10 ml kan alındı. Alınan kanın 5 ml'lik bölümü EDTA'lı (etilendiamin tetraasetik asit) tüplere aktararak plazma elde edildi. Bu kan örnekleri 2500 rpm hızında ve 4°C sıcaklıkta santrifüj edildi ve

süpernatantları önceden hazırlanmış eppendorf tüplere alındı. Eppendorf tüpleri, ölçüm aşamalarına kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

### 3.4.1. Vücut Ağırlıklarının Belirlenmesi

Kontrol, berberine, Sevoflurane ve berberine+Sevoflurane gruplarının vücut ağırlıkları üzerine etkilerini değerlendirmek haftalık olarak tüm gruplardaki sıçanların vücut ağırlıkları kaydedildi.



**Resim 3.6.** Deneklerden kan örneklerinin alınması



**Resim 3.7:** Deneklerden doku örneklerinin alınması

### 3.4.2. Frontal Lob ve Hipokampus Ağırlıklarının Belirlenmesi

Kan alımını takiben oksipital kemikten başlayarak kraniektomi yapıldı. Beyin bütün olarak zarar vermeden çıkarıldı ve buz aküsü üzerine koyuldu. Hipokampus ile frontal lob bölgelerinin diseksiyonu yapıldı ve içinde RNA later (RNAlater® Stabilization Solution, Ambion) solüsyonu olan eppendorf tüplere ayrı ayrı konularak -80°C'de saklandı.

### 3.5. Real-Time qPCR Uygulaması ile Frontal Lob, Hipokampus ve Serum Örneklerinde miR-138, miR-138, miR-138, miR-138, miR-138 ve BDNF Seviyelerinin Belirlenmesi

#### 3.5.1. Moleküler Analizler Öncesi Doku Saklanması için RNA Later Solüsyonu Hazırlanması ve RNA-later Solüsyonunun Hazırlanması

-12.61 g EDTA (Amresco) 100ml distile suda çözülmüş ve pH 8.0 olana kadar NaOH eklenerek 10 mM EDTA stok solüsyonu hazırlanmıştır.

-29.4 g trisodyum sitrat (Kimetsan) 100 ml distile suda çözülerek 25 mM stok solüsyonu hazırlanmıştır.

-1000ml RNA-later solüsyonu için 40ml EDTA stok solüsyonu ve 25 ml trisodyum sitrat solüsyonu 935 ml distile su ile karıştırılarak, 700g amonyum sülfat (Zag Kimya) bu karışım içinde çözündürülmüştür. Son olarak solüsyonun pH'ı 5.2 olana kadar H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenmiştir.

#### 3.5.2. Dokuların Homojenizasyonu ve Total RNA İzolasyonu

Diseksiyon sonrası RNA-later içinde -80°C'de saklanan frontal lob, hipokampus ve omurilik dokularından ve serum örneklerinden total RNA izolasyonu yapılmıştır. Bu aşama için öncelikle sonikatör (Bandelin Sonoplus UW 2070) kullanılarak dokular homojenize edilmiştir. Daha sonra RNA izolasyon solüsyonu içindeki doku homojenatı, total RNA izolasyon kitinin protokolüne uygun şekilde işleminden geçirilmiştir.

- 1- 15 ml'lik santrifüj tüpleri kullanılarak 0.5 ml Bluezol solüsyonu içinde homojenizasyon yapıldı.

- 2- Homojenat 2 ml'lik santrifüj tüplerine alındıktan sonra 150 ml kloroform eklenir ve 15000g'de 15 dakika santrifüj uygulandı.
- 3- Alınan süpernatant başka bir tüpe alınarak 250 ml propanol eklendi ve 10 dakika oda ısısında bekletildi.
- 4- 15000 g'de 10 dk santrifüj uygulandıktan sonra süpernatant atıldı ve 500 ml DNaz ve RNaz içermeyen distile su ile hazırlanmış %75'lik alkol eklendi.
- 5- Örnek vorteksle karıştırıldıktan sonra 7500 g'de 5 dk santrifüj edildi.
- 6- Elde edilen total RNA'lar cDNA sentezine kadar -80°C derecede saklandı.

### 3.5.3. cDNA Sentezi

cDNA sentezi için kit [A.B.T.<sup>TM</sup> cDNA Synthesis Kit with RNase Inh. (High Capacity) (Cat No: C03-01-20)] kullanılmıştır. 0,2 ml'lik qPCR tüplerinde; 2 µl random heksamer, 10 µl total RNA, 0,5 µl RNaz inhibitörü, 2 µl buffer, 1 µl revers transkriptaz, 1 µl dNTP, 3.5 µl RNaz içermeyen su karışımı hazırlanıp kit protokolüne uygun şekilde (10 dk 25°C, 120 dk 37 °C, 5 dk 85 °C) qPCR yöntemi uygulanmıştır. qPCR işlemi için Bio-Rad T100 qPCR cihazı kullanılmıştır.

### 3.5.4. qPCR Uygulaması

Her örnek için; 0,2 ml'lik optik qPCR tüpleri içerisinde 1 µl forward primer, 1 µl reverse primer, 12 µl ddH<sub>2</sub>O, 10 µl master mix (qPCR Master Mix SYBER GREEN PROMEGA/A6001), 1 µl cDNA karışımı hazırlanarak 5 dk 95°C, 45 döngü (30 sn 95 °C + 60 sn 55 °C) , 1dk 72°C qPCR prosedürü gerçekleştirilip, QIAGEN ROTOR GENE cihazında gerçek zamanlı qPCR okuması yapılmıştır. Hipokampus, omurilik, serebellum, frontal lob ve serum örneklerinde BDNF, miR-138, miR-138, miR-138, miR-138, miR-138 ölçülmüştür. Alınan CT değerleri kullanılarak  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  değerleri hesaplanmış ve istatistiksel analizler için kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primer dizileri Tablo 3.2.'de belirtilmiştir.



**Resim 3.8.** DNA sentezi ve qPCR uygulamasında kullanılan cihazlar

**Tablo 3.2.** Real-Time qPCR işleminde kullanılan primerler

miRNA	Reverse/forward primer	Primer Dizisi
miR-138	Reverse	5'-CCTCGGACCAGCTGCTTT-3'
miR-138	Forward	5'-AGCCTATATCCATTCCCTTGG-3'
miR-138	Reverse	5'-CGGCTAACGTGGCAAGCT-3'
miR-138	Forward	5'- AAGACAGACCATGGAGCAGAAATC- 3'
miR-138	Reverse	5'-AAGGGACAGACAGATACCCAC-3'
miR-138	Forward	5'-TGAGCCTCAGACCCCTTCT-3'
BDNF	Reverse	5'-AATCGCCAGCCAATTCTCTTT -3'
BDNF	Forward	5'-CTACGAGACCAAGTGCAATCC -3'

### 3.5.5. qPCR Veri Analizleri için $2^{-\Delta\Delta CT}$ Değeri Hesaplanması

Real-Time qPCR analizleri sonucu elde edilen CT değerlerinden öncelikle GAPDH genin CT değeri çıkarılarak  $\Delta CT$  değeri elde edilir. Sonrasında bu değerden kontrol grubunun CT değeri ortalaması çıkarılır ve  $\Delta\Delta CT$  değeri elde edilir. Son olarak  $2^{-\Delta\Delta CT}$  değeri değişim katsayısı değeri olarak kabul edilerek istatistiksel karşılaştırmalar için kullanılır.

### 3.6. ELİSA Testi Yöntemi

BDNF protein seviyesi ölçümleri ELİSA Kit (Sunred 201-11-0477-96T)“ kullanılarak yapıldı. Standart solüsyonları kit içerisinde bulunan seyreltici kullanılarak hazırlandı ve kuyucuklara eklendi. Kör değeri için 1 kuyucuğa 100µl örnek seyreltici solüsyonu eklendi. Plazma örnekleri 100 µl olacak şekilde kalan kuyucuklara eklendi. Kuyucuklar kit içinde bulunan yapışkan şeritle kapatılarak 90 dk 37°C’ de inkübe edildi. Kuyucuklardan sıvı çekildi ve kit içinde bulunan konsantre biyotinlenmiş antikor şişesi 10000 rpm’de 30 saniye santrifüj edildi. 100 µl konsantre biyotinlenmiş antikor solüsyonu 9900 µl biyotinlenmiş antikor seyreltici solüsyonu ile karıştırıldı. Elde edilen seyreltilmiş solüsyondan her kuyucuğa 100 µl eklendi ve 1 saat 37°C’ de inkübe edildi.

Kuyucuklardaki sıvı çekildikten sonra bütün kuyucuklara 200 µl yıkama solüsyonu eklenerek bu işlem 3 kez tekrarlandı. Her yıkama işleminden sonra kuyucuklardan sıvı çekildi ve tamamen sıvının kuyucuklardan alınabilmesi için pleyt kurutma kağıdına hafifçe vurularak sıvı kalmaması sağlandı. Kit içinde bulunan konsantre HRP konjugat şişesi 10000 rpm’de 30 saniye santrifüj edildi. 100 µl konsantre biyotinlenmiş antikor solüsyonu 9900 µl biyotinlenmiş antikor seyreltici solüsyonu ile karıştırıldı. Elde edilen seyreltilmiş solüsyondan her kuyucuğa 100 µl eklendi ve 30 dk 37°C’ de inkübe edildi. 5 kere yıkama işlemi uygulandı. Kitin içinde hazır bulunan suSBtrat solüsyonundan her kuyucuğa 90 µl eklendi ve ışıktan koruyarak 15 dakika 37°C’ de inkübe edildi. 50 µl durdurma solüsyonu her kuyucuğa eklendi ve karıştırıldı. 450 nm’de ELİSA okuyucu ile absorban değerleri okundu. Hesaplamalar için standart yüklenen kuyucuklardaki değerler kullanıldı.

### 3.7. Histolojik Kesitlerin Hazırlanması ve Boyanması

Beyin dokusu kesitleri %4'lük paraformaldehid solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Rutin parafine gömme işlemi uygulandı. Doku örnekleri alındı ve parafin bloklara gömüldü. Daha sonra mikrotom (RM) kullanılarak 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Histokimyasal, immünohistokimyasal ve terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP etiketleme yapıldı. Mum giderme ve dehidrasyon aşamalarından sonra rutin hematoksilin ve eozin (HE) prosedürü ile histokimyasal inceleme için doku kesitleri boyandı. Kesitler entellan (UN 1866; Merck, Darmstadt, Almanya) ile sabitlendi.

Histopatolojik değerlendirme, Olympus marka ışık mikroskobu kullanan bir gözlemci tarafından kör olarak yapıldı. BX40 ışık mikroskobu ve doku kesitlerinin görüntüleri (SC50, Olympus, Almanya) fotoğraflandı.

### 3.7.1 İmmünohistokimya

Beyin dokusu kesitleri 1 saat 60°C'de deparafinize edildi ve sonra 30 dakika ksilen içinde bekletildi. Etanolde dehidrasyondan sonra, örnekler fosfat tamponlu salin (PSB) içinde yıkandı ve 37°C'de 15 dakika %0.5 tripsin solüsyonuna atıldı. (800.729.8350, ScyTek Lab oratories, Inc., Logan, UT, ABD). Endojen peroksidaz aktivitesi, oksit başına %3 hidrojen kullanılarak inhibe edildi. PSB'de yıkamayı takiben blokaj solüsyonu (TA-125-UB; Örnekler Lab Vision, Fremont, CA, ABD) 1 saat süreyle uygulandı. İmmünohistokimyasal reaksiyon görünümünü belirlemek için diaminoben zidine (DAB; ScyTek) boyaması yapıldı. Karşı boyama için Mayer's hematoxylin (72804E; Microm, Walldorf, Almanya) kullanıldı. Kesitler entellan ile sabitlendi. Gruplar arasındaki farklar, bir Olympus BX40 (Tokyo, Japonya) ışık mikroskobu altında iki bağımsız araştırmacı tarafından gözlendi. İmmünohistokimyasal görüntülerde 3 kez ölçme yapıldı ve immünohistokimyasal veriler H skoru olarak değerlendirildi. Boyanmış örneklerin değerlendirilmesi; zayıf (+), sırasıyla orta (++) ve güçlü (+++) ve her boyama derecesi için immünopozitif hücreler sayıldı. H-Skor = Pi (boyama yoğunluğu + 1). Pi; her yoğunluk için işaretli hücrelerin yüzdesi olarak belirlendi.

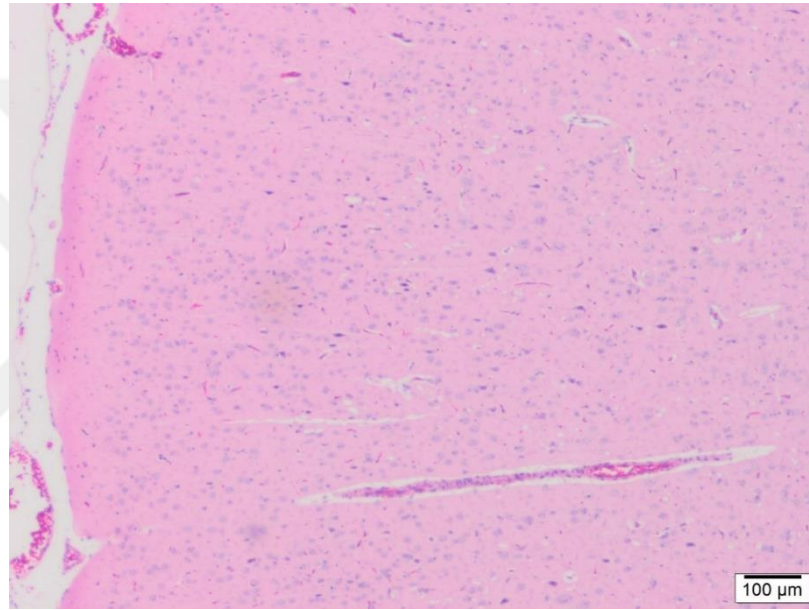
### 3.7.2 TUNEL (Terminal Deoksinükleotidil Transferaz Aracılı dUTP Nick-End İşaretleme)

Hipokampus (HK) %4 paraformaldehit içinde fikse edildi ve ardından düzenli işleme tabi tutuldu: etanol içinde dehidrasyon gradyan konsantrasyonları, ksilende temizleme ve gömme parafin uygulandı. Daha sonra hipokampus dokuları parçalara ayrıldı. 4 µm kalınlığında kesitler halinde hazırlandı. Doku kesitlerinde TUNEL boyama kitin talimatlarına göre gerçekleştirildi (Boehringer Mannheim) ve sonuçlar mikroskop altında gözlendi. Hipokampustaki nöronların apopitotik oranı TUNEL-pozitif hücrelerin yüzdesi ile apopitotik indeks olarak hesaplandı.

### 3.7.3. Morfometrik Analiz

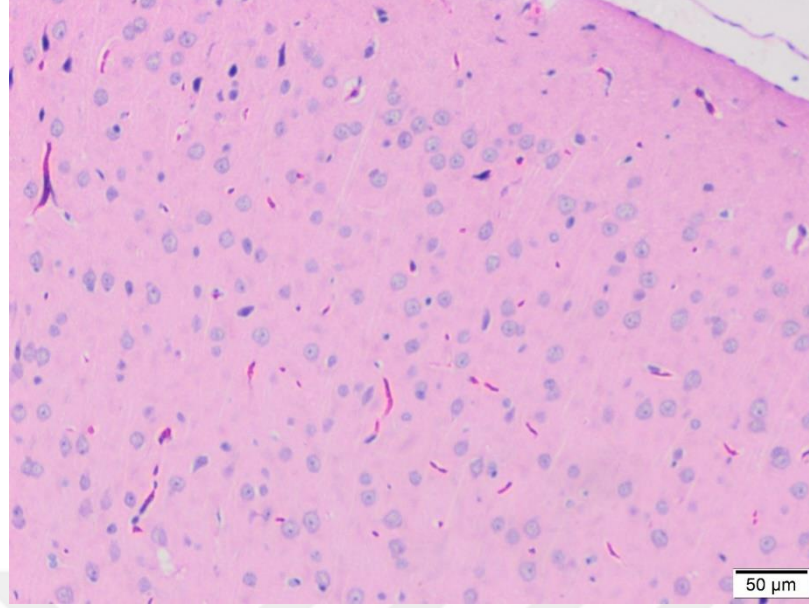
Uygulamaya bağlı hasarın kantitatif değerlendirilmesinde skorlama sistemi kullanıldı. Korteks (KT) ve HK-Cornu Ammonis (CA1) bölgeleri için 1 (hasar yok veya çok az) ile 5 (birden çok alanda hücre kaybı ve kistik enfarktüs) arasında iki farklı gözlemci tarafından kör olarak yapıldı.

KT parasajital kesitleri, art arda altı katman halinde düzenlenmiş normal histolojik yapısı; dıştan içe doğru dış moleküler, dış granüler, dış piramidal, iç granüler, iç piramidal ve polimorfik tabaka olarak görüldü (**Resim 3.9.**).



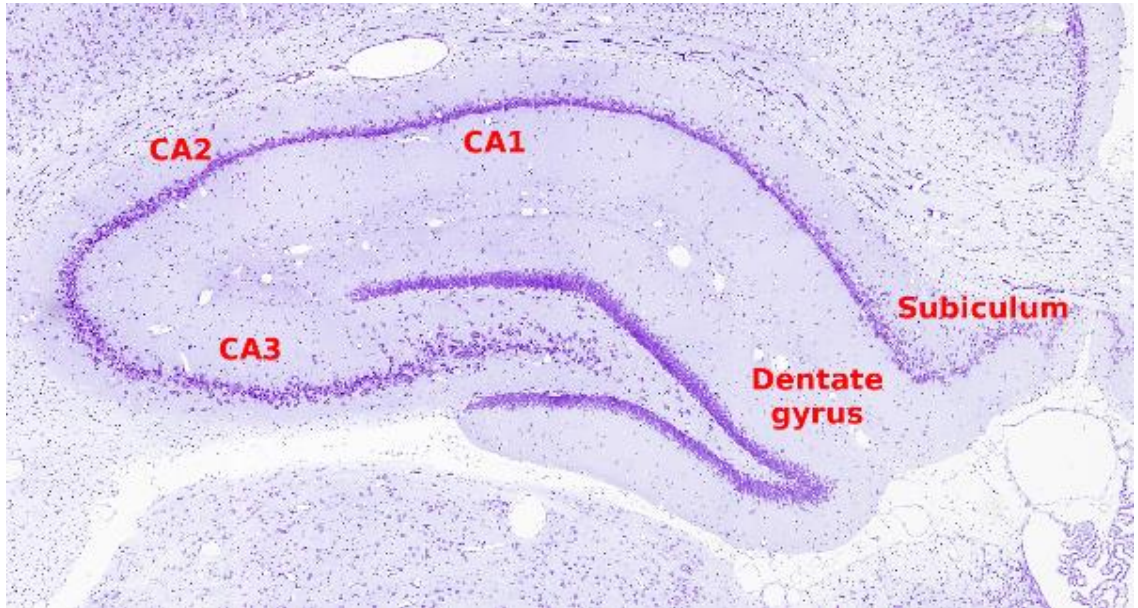
**Resim 3.9.** KT histolojisi küçük büyütme

Büyük büyütmelerde, pia maddesinin altındaki, nöroglia çekirdekleri ile asidofilik nöropil gösteren dış moleküler tabaka izlendi. Diğer katmanlar, bir bazofilik sitoplazma kenarı ile çevrili belirgin nükleollere sahip yuvarlak açık yüz çekirdeklerine sahip nöronal hücre gövdeleri sergiledi. Ayrıca, nöroglial hücrelerin çekirdeklerini gözlemlendi. Bu katmanların nöropilleri, normal kan kılcal damarlarıyla bir nöronal ve glial hücreleri birbiri ile karışık olup asidofilik görüldü. Dış katmanların nöronal hücre gövdeleri, iç katmanlardan daha küçüktü (**Resim 3.9.**).



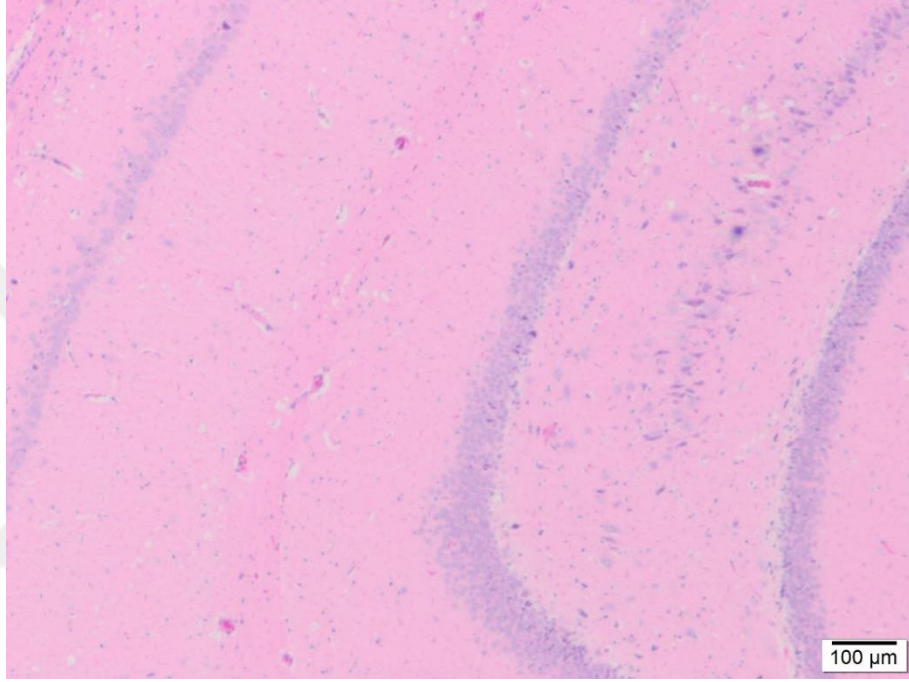
**Resim 3.10.** KT histolojisi büyük büyütme

HK bölgesinin incelenmesinde beyin parasagittal kesitleri, temporal lobun medial yönü üzerinde kavisli bir yapı olarak görünen ve lateral ventrikülün temporal boynuzunun tabanına doğru çıkıntı yapan HK oluşumun normal histolojik yapısını ortaya çıkardı. HK oluşum, HK, subikulum ve entorhinal korteksi gösterdi (**Resim 3.10.**).



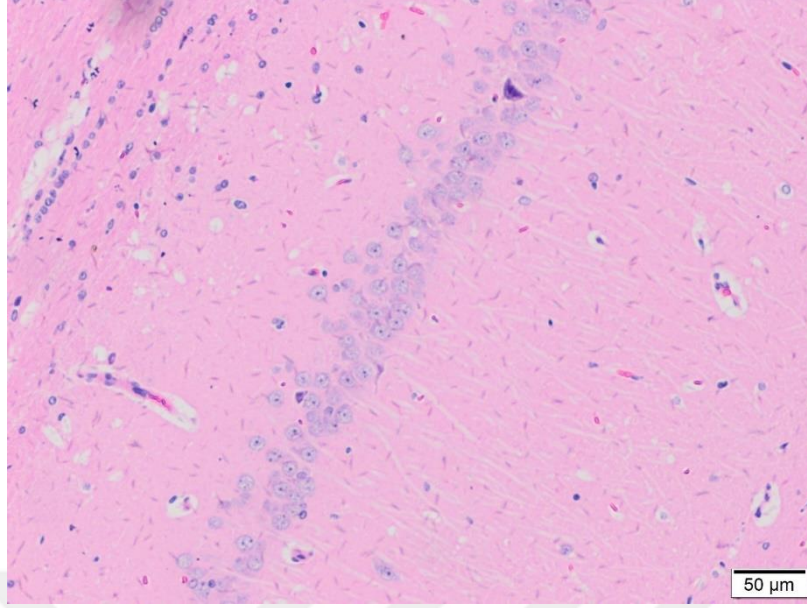
**Resim 3.11.** Beyin parasagittal kesitte Hipokampus

HK, birbirine kenetlenmiş iki gri madde yapısından oluştuğu izlendi. HK (CA) ve hipokampal sulkus ile ayrılan dentat girus (DG). CA, ayrıca dört bölgeye ayrılan karakteristik bir C şekline sahipti; CA1, CA2, CA3 ve CA4. DG ise CA4'ü saran V şeklinde bir yapı olarak görünüyordu. Karşılaştırmaları standardize etmek için; CA1 tüm gruplarda kullanıldı (**Resim 3.12.**).



**Resim 3.12.** HK histolojisi küçük büyütme

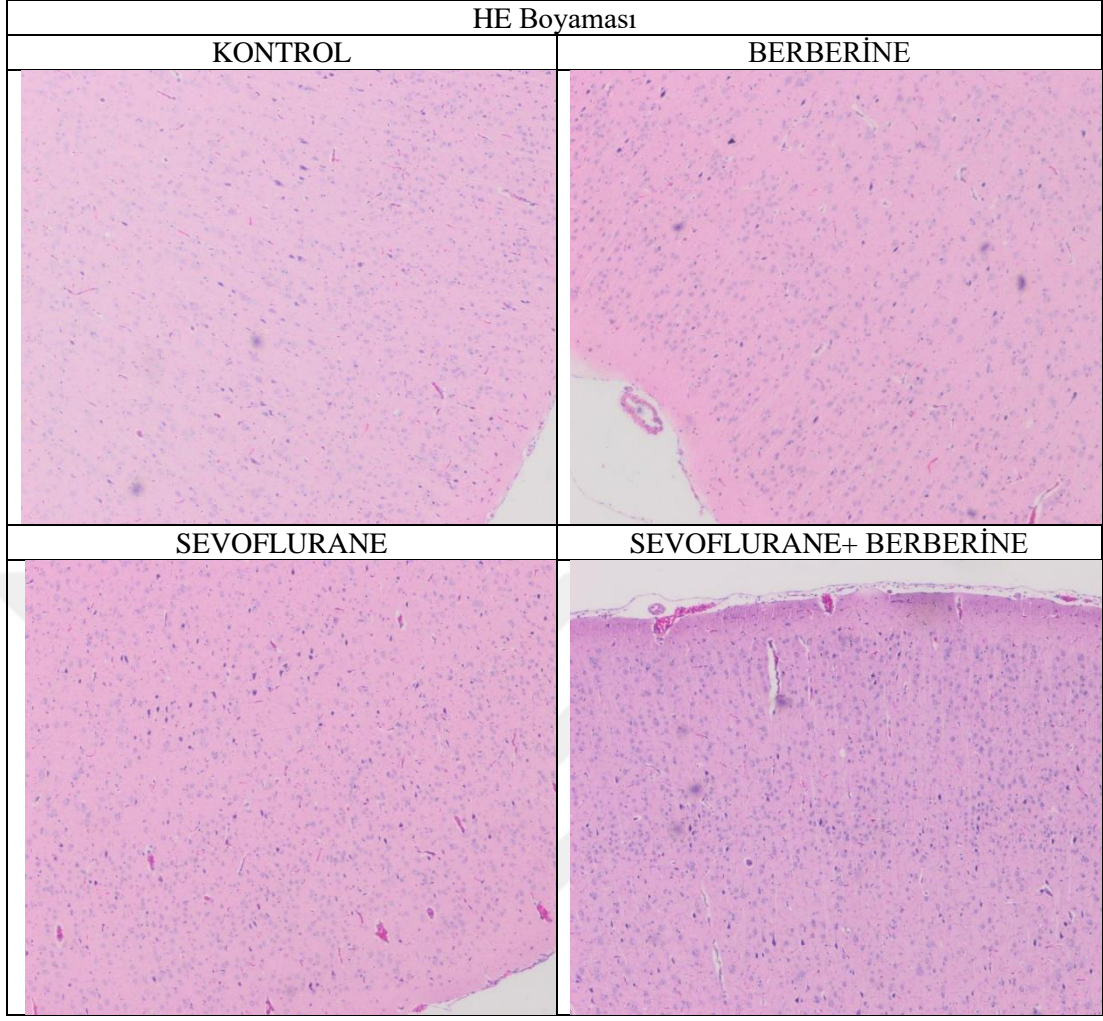
Kontrol grubundaki CA1 bölgelerinin daha yüksek büyütülmesi, her bölgenin iyi tanımlanmış üç katmandan oluştuğunu gösterdi; glial hücrelerin derin ve hafif lekeli çekirdeklerini gösteren polimorfik katman, ana hücre katmanını oluşturan piramidal hücre katmanı ve piramidal nöronların dallı apikal dendritlerini ve küçük derin ve hafif boyalı çekirdekleri içeren moleküler katman. CA1 bölgesinde Glia hücrelerin yanı sıra küçük yuvarlak, paketlenmiş piramidal hücre gövdeleri vardı. Astrositler ve nöronal hücre gövdelerinin yüzeyinde ve süreçlerinde granüller sergiledi (**Resim 3.13.**).



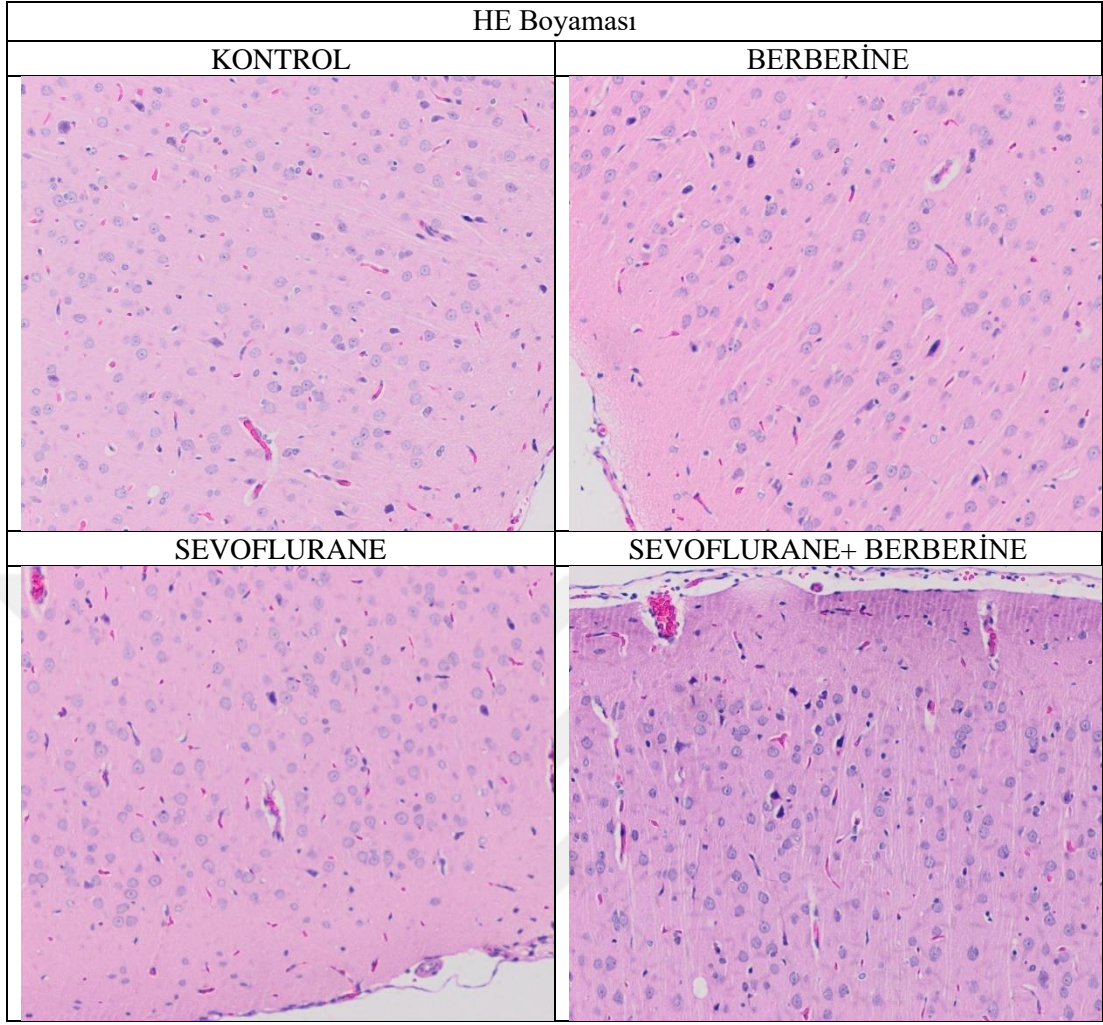
**Resim 3.13.** HK histolojisi büyük büyütme

KT için HE ile boyanmış kesitlerde normal çekirdekli hücreler, kromatin ve belirgin nükleusları ve sitoplazması bazofilikti izlenirken, koyu lekeli ve çekirdeğin kondanse olduğu apoptotik hücreler görüldü (**Resim 3.14.**).

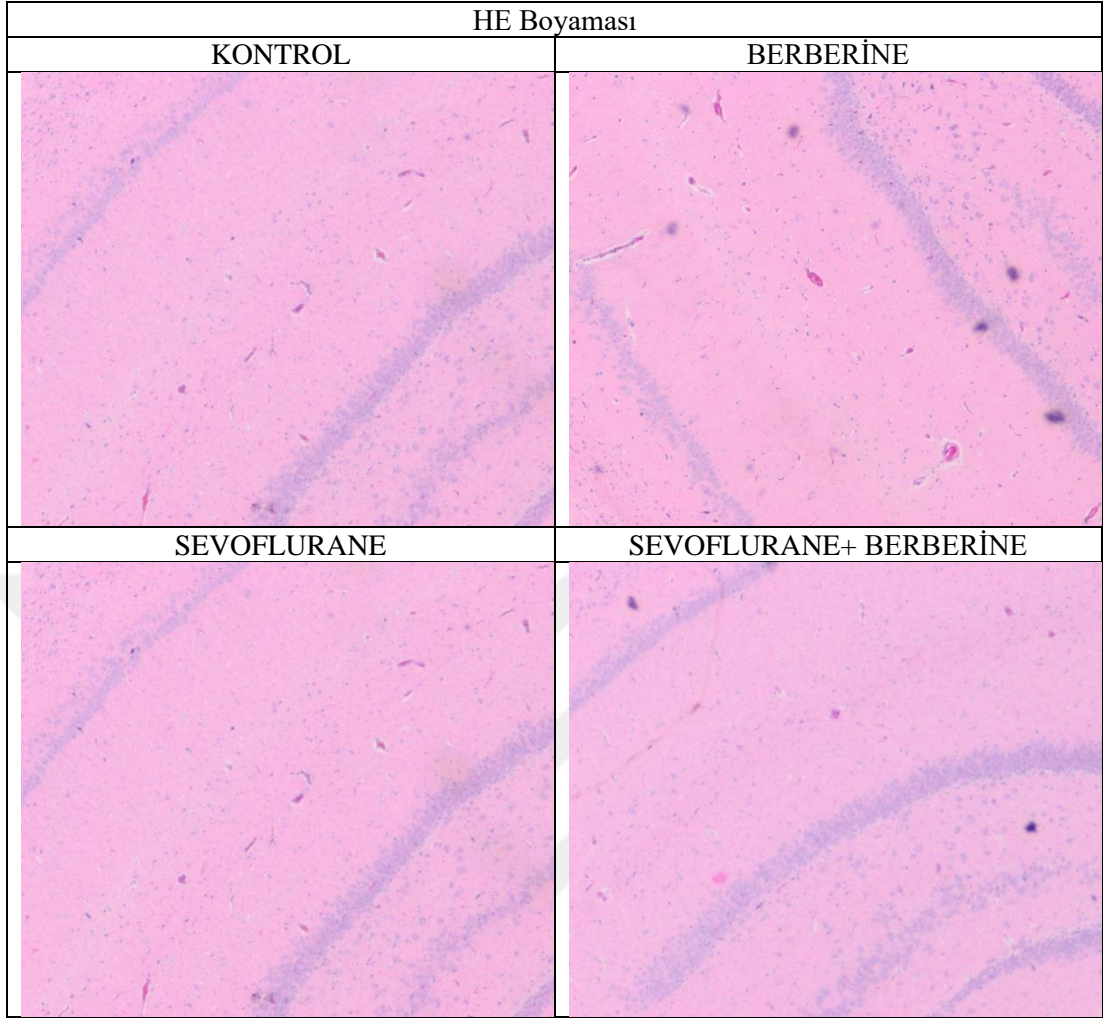
HK parasajital kesitlerinde, CA1, CA3 ve DG bölgelerinde minimal düzeyde bozukluklar görüldü (**Resim 3.15.**, **Resim 3.16.**, **Resim 3.17.**).



**Resim 3.14.** HE boyaması ile küçük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri

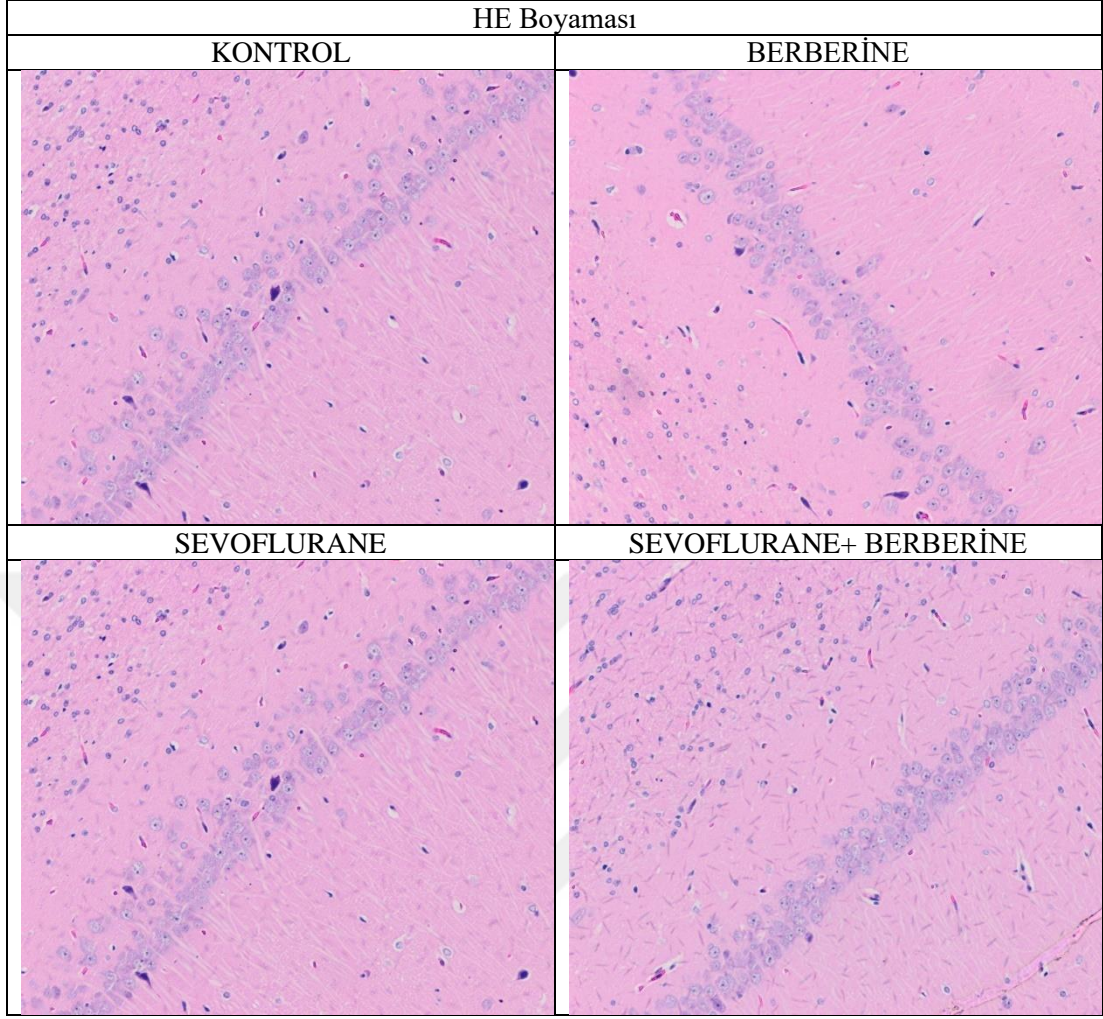


**Resim 3.15** HE boyaması ile büyük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri



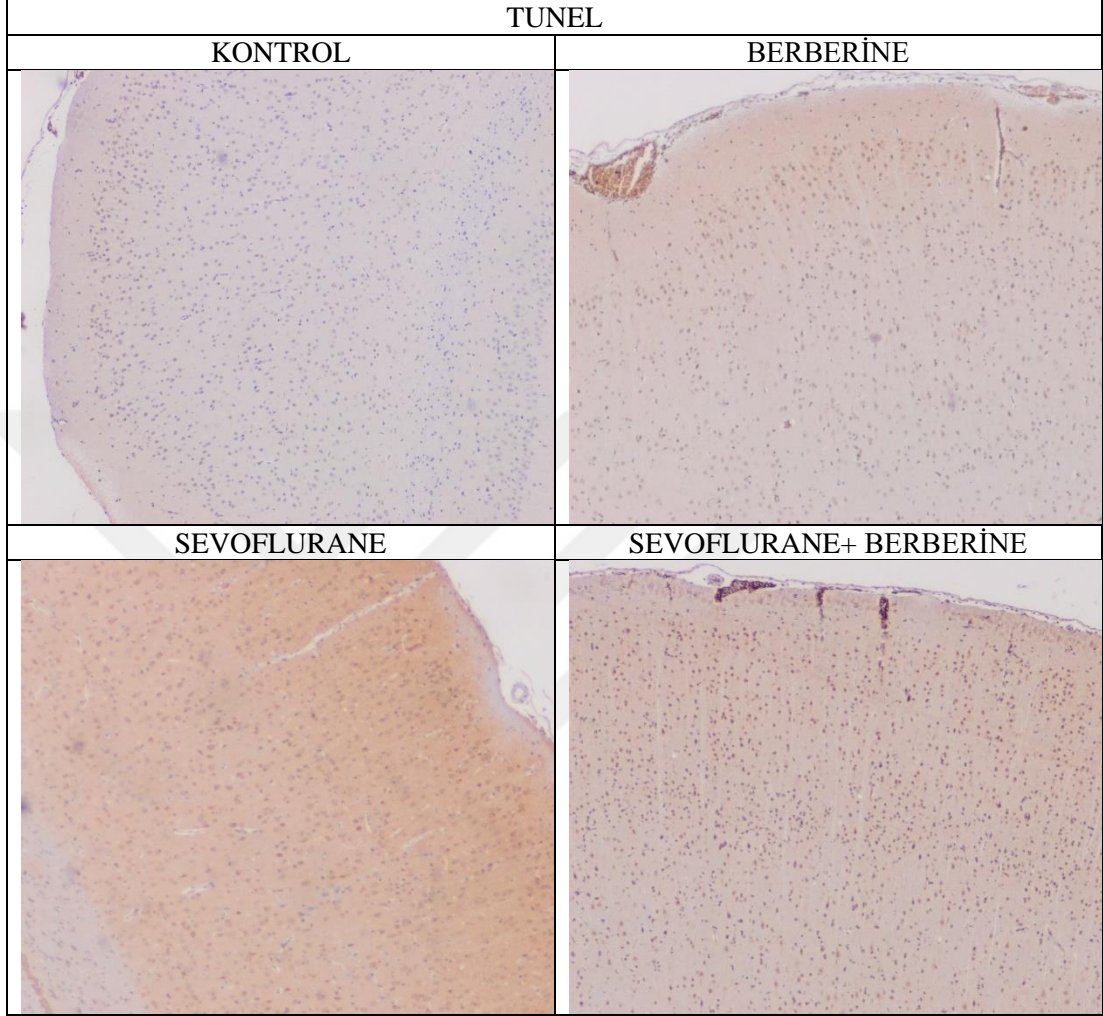
**Resim 3.16** HE boyaması ile küçük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri

HK CA1 daha yüksek büyütülmesi, piramidal hücre gövdelerinin çoğunun düzensiz olduğunu, gevşek bir şekilde paklendiğini ve koyu görüldüğünü, küçüldüğünü ve perisellüler haleler içeren piknotik çekirdeklere sahip olduğunu gösterdi.

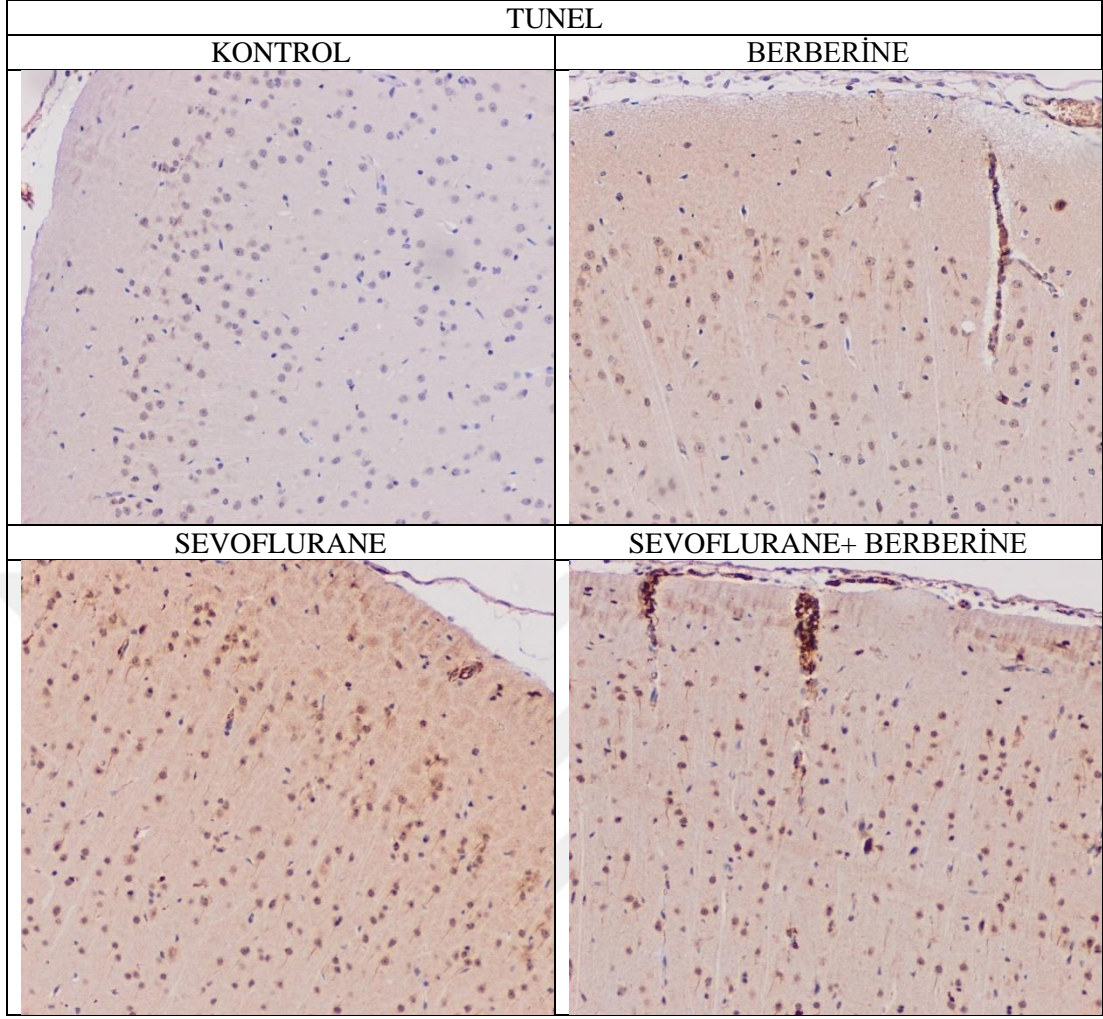


**Resim 3.17.** HE boyaması ile büyük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri

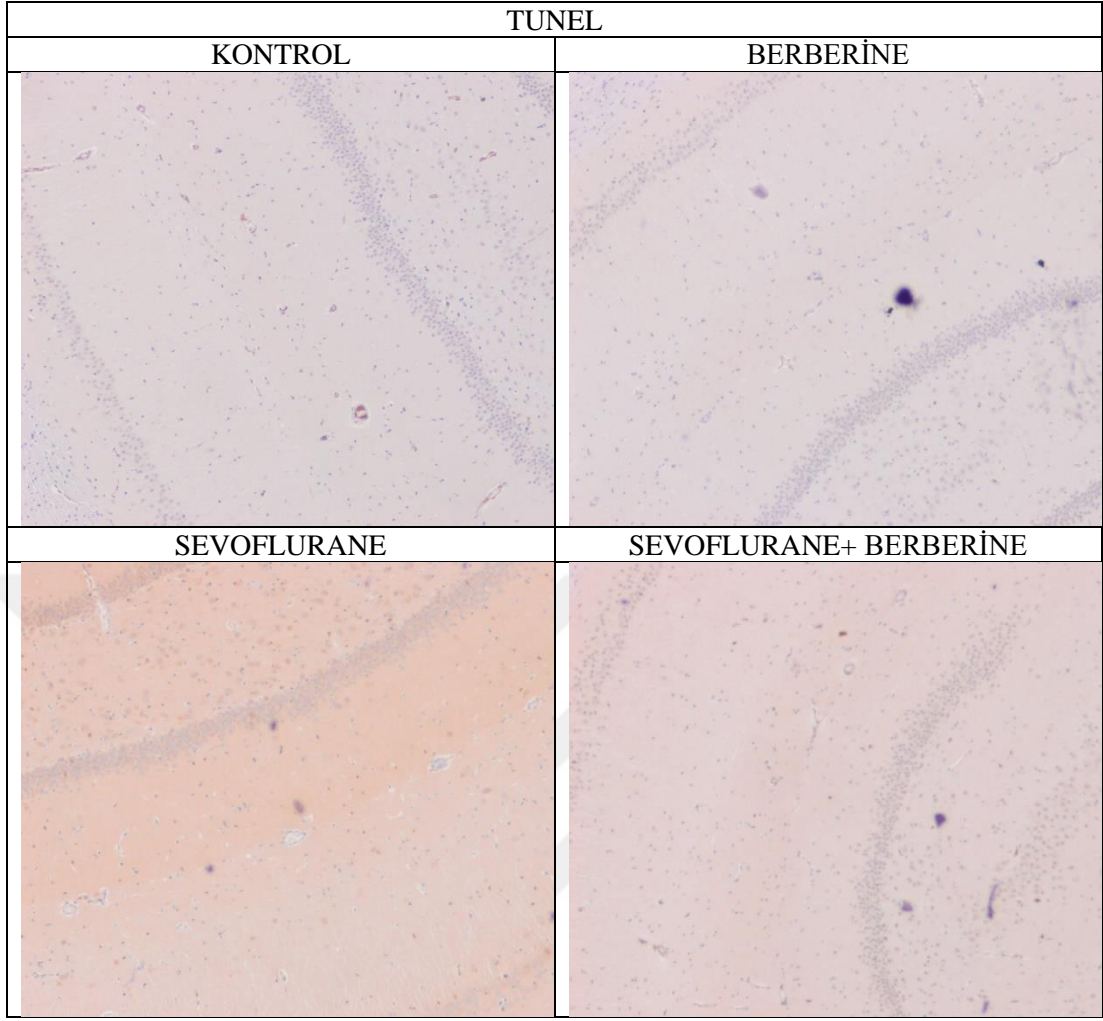
Korteks için yapılan TUNEL boyaması ile apoptotik hücrelerin varlığı işaretleme ile gösterildi (**Resim 3.18.**, **Resim 3.19**, **Resim 3.20.**, **Resim 3.21.**).



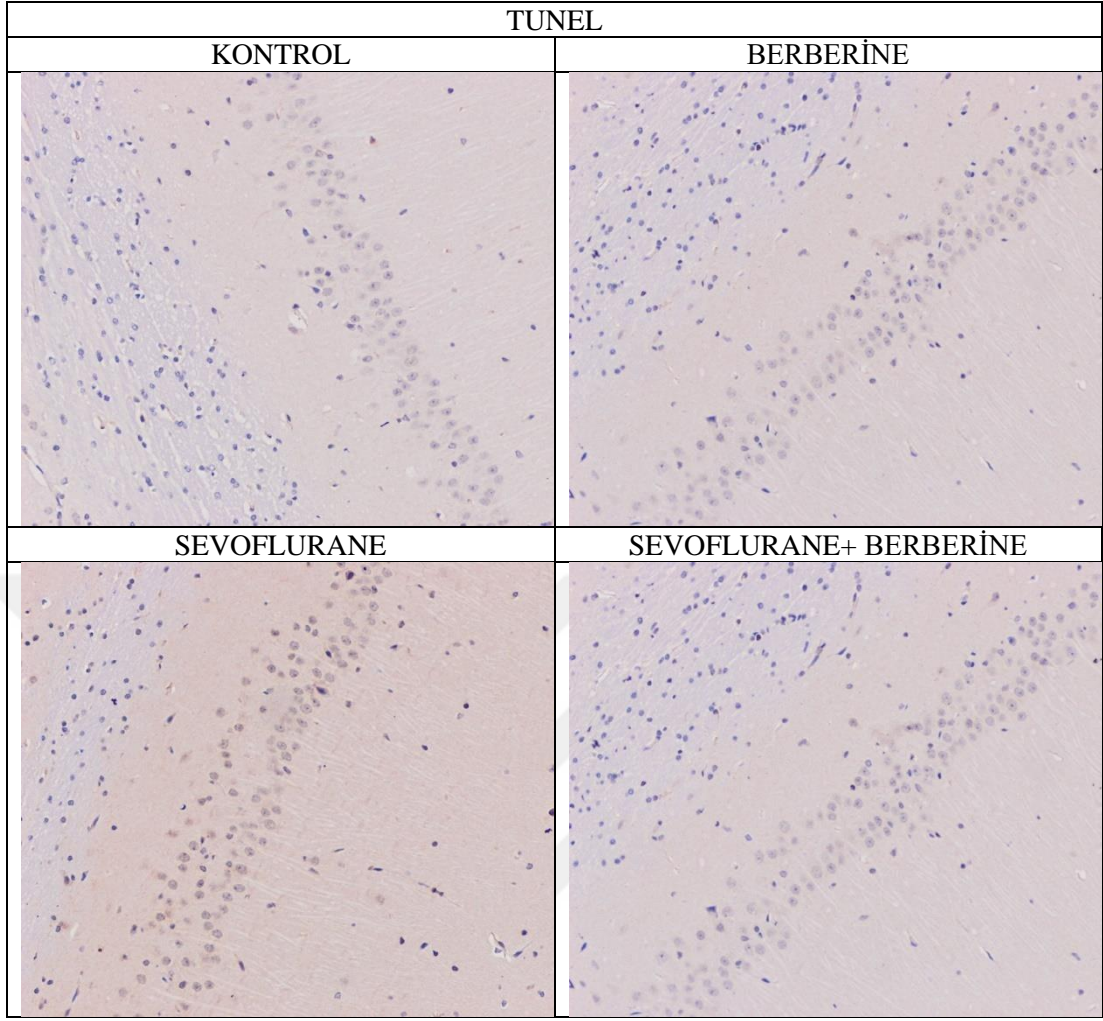
**Resim 3.18.** TUNEL boyaması ile küçük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri



**Resim 3.19.** TUNEL boyaması ile büyük büyütmede KT histopatolojik görüntüleri



**Resim 3.20.** TUNEL boyaması ile küçük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri



**Resim 3.21.** TUNEL boyaması ile büyük büyütmede HK histopatolojik görüntüleri

Korteks için yapılan morfometrik skorlamada Sevoflurane ile oluşan hasarın berberine ile düzeldiği görüldü (Tablo 3.3.).

**Tablo 3.3.** Korteks Hasar Skorlaması (KR: Kontrol, BB: Berberine, SF:Sevoflurane, SB: Sevoflurane + Berberine)

Group	Points	Mean	Deviation	Mean	Median
KR	6	1.167	0.2582	0.1054	1.000
BB	6	1.333	0.4082	0.1667	1.250
SF	6	1.917	0.3764	0.1537	2.000
SB	6	1.417	0.3764	0.1537	1.500

Korteks için yapılan morfometrik skorlamada SF ile oluşan hasarın anlamlı olduğu ve BB ile düzeldiği görüldü (Tablo 3.4).

**Tablo 3.4.** Korteks hasar skorlamasının istatistiksel analizi

Comparison	Difference	q	P value
KR vs BB	-0.2619	1.695	ns P>0.05
KR vs SF	-0.8333	5.394	** P<0.01
KR vs SB	-0.3333	2.157	ns P>0.05
BB vs SF	-0.5714	3.850	ns P>0.05
BB vs SB	-0.07143	0.4812	ns P>0.05
SF vs SB	0.5000	3.368	ns P>0.05

Hipokampus için yapılan morfometrik skorlamada SF ile oluşan hasarın BB ile düzeldiği görüldü (Tablo 3.5).

**Tablo 3.5.** Hipokampus hasar skorlaması

Group	Points	Mean	Deviation	Mean	Median
KR	6	1.083	0.2041	0.08333	1.000
BB	7	1.357	0.4756	0.1798	1.000
SF	7	1.857	0.4756	0.1798	1.500
SB	7	1.429	0.4499	0.1700	1.500

Hipokampus için yapılan morfometrik skorlamada SF ile oluşan hasarın anlamlı olduğu ve BB ile düzeldiği görüldü (Tablo 3.6).

**Tablo 3.6.** Hipokampus hasar skorlamasının istatistiksel analizi

Comparison	Difference	q	P value
KR vs BB	-0.2738	1.641	ns P>0.05
KR vs SF	-0.7738	4.638	* P<0.05
KR vs SB	-0.3452	2.069	ns P>0.05
BB vs SF	-0.5000	3.119	ns P>0.05
BB vs SB	-0.07143	0.4456	ns P>0.05
SF vs SB	0.4286	2.674	ns P>0.05

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya ait genel parametreler Tablo 1'de gösterilmiştir

**Tablo 4.1:** Çalışmaya ait genel parametreler

Tablo-1	Min-Mak	Medyan	Ort.±ss
<b><i>Organ Ağırlığı</i></b>			
Sağ Fron	0.09 - 0.24	0.15	0.16 ± 0.04
Sağ Hkc	0.07 - 0.09	0.08	0.08 ± 0.01
Sol Fron	0.09 - 0.23	0.14	0.14 ± 0.03
Sol Hkc	0.05 - 0.10	0.07	0.07 ± 0.01
<b><i>Nesne Tanıma</i></b>			
Tanışma1	4.0 - 69.0	25.0	27.3 ± 16.3
Tanışma2	0.0 - 54.0	18.0	19.1 ± 12.4
Eski Cisim	0.0 - 53.0	10.0	12.3 ± 10.9
Yeni Cisim	0.0 - 40.0	11.0	12.7 ± 8.8
Yeni Nesne Keşfi Göreli Süresi	-1.00 - 1.00	0.00	0.05 ± 0.44
Yeni Nesne Seçim Oranı	0.00 - 1.00	0.50	0.50 ± 0.25
Plas Maze Kapalı Alanda Kalma Saati	0.0 - 299.0	254.5	248.1 ± 53.6

Berberine, Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane gruplarında sağ frontal lob ağırlığı kontrol grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Berberine grubu ile Sevoflurane +berberine ve Sevoflurane grupları arasında sağ frontal lob ağırlığı istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane +berberine ve Sevoflurane grubu arasında sağ frontal lob ağırlığı istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.2)

Kontrol, berberine, Sevoflurane +berberine ve Sevoflurane grupları arasında sağ HK ağırlığı anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.2)

Berberine, Sevoflurane +berberine gruplarında sol frontal lob ağırlığı kontrol grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile Sevoflurane grubu arasında sol frontal lob ağırlığı anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine grubunda sol frontal lob ağırlığı Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane +berberine grubu ile

Sevoflurane grubu arasında sol frontal lob ağırlığı anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.2)

Kontrol, berberine, Sevoflurane +berberine ve Sevoflurane grupları arasında sol HK ağırlığı anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.2)

**Tablo 4.2.** Çalışma grupları ile frontal lob ağırlıkları ve HK karşılaştırması

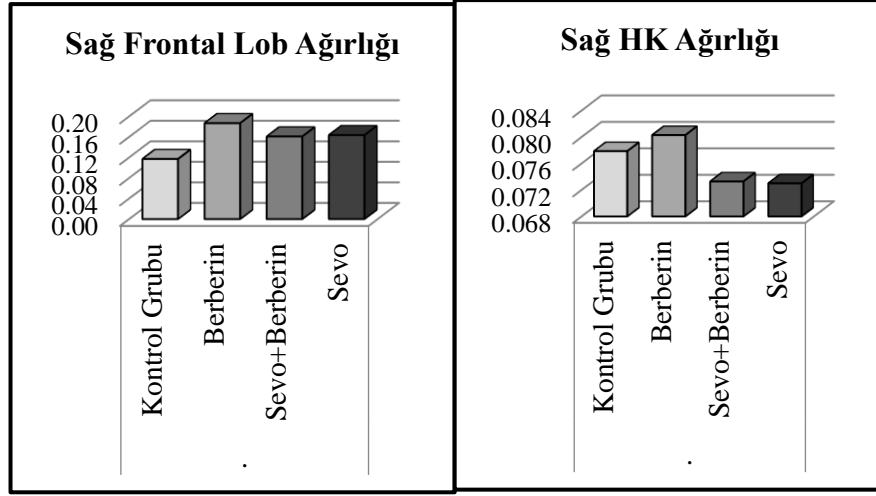
		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberin	<sup>3</sup> Sevofluran + Berberin	□ Sevofluran	p
<b>Organ Ağırlığı</b>						
Sağ Frontal	Ort.±ss	0.12 ± 0.02	0.19 ± 0.04	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	0.12	0.19	0.16	0.17 <sup>23</sup> □	
Sağ HKC	Ort.±ss	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.091 <sup>A</sup>
	Medyan	0.08	0.08	0.07	0.07	
Sol Frontal	Ort.±ss	0.12 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	<b>0.005</b> <sup>K</sup>
	Medyan	0.12 <sup>23</sup>	0.16	0.13 <sup>2</sup>	0.13 <sup>2</sup>	
Sol HKC	Ort.±ss	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.087 <sup>K</sup>
	Medyan	0.08	0.08	0.07	0.07	

<sup>A</sup> ANOVA / <sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

<sup>2</sup> Berberin grubu ile fark  $p<0.05$ , <sup>3</sup> Sevofluran + Berberin grubu ile fark  $p<0.05$

□ Sevofluran grubu ile fark  $p<0.05$

Sağ frontal lob ve sağ HK ağırlığı Şekil 4.1.'de verilmiştir

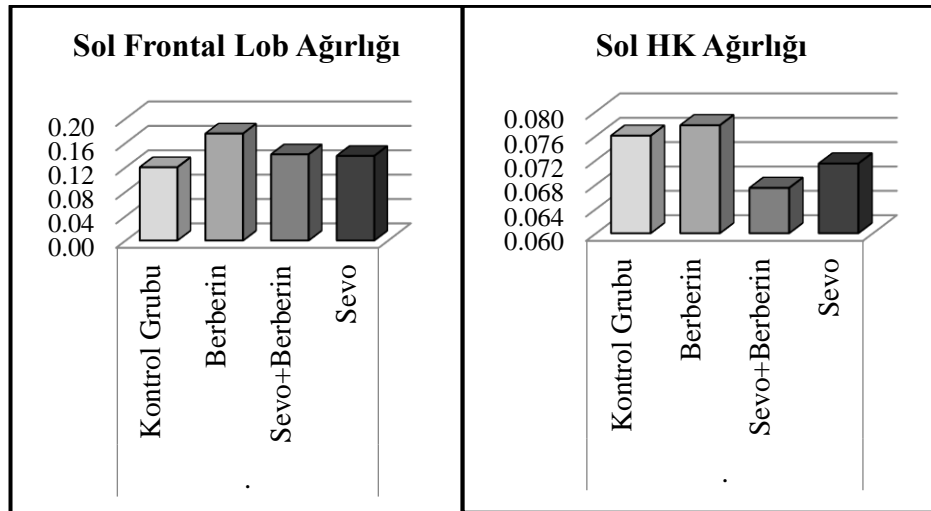


Şekil 4.1. Sağ frontal lob ve sağ HK ağırlığı

Sol frontal lob ve sol HK ağırlığı Şekil 4.2.'de verilmiştir.

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grupları arasında tanışma-I ve tanışma -II değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.3.). Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane gruplarında eski cisim değeri berberine grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında eski cisim değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Kontrol grubu ile berberine, Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grupları arasında eski cisim değeri değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.3)

Sağ frontal lob ve sağ HK ağırlığı Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Sol frontal lob ve sol HK ağırlığı

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine gruplarında yeni cisim değeri Sevoflurane grubundan anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberine, Sevoflurane+berberine arasında yeni cisim değeri istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine ve Sevoflurane+berberine grubu arasında yeni cisim değeri istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.3)

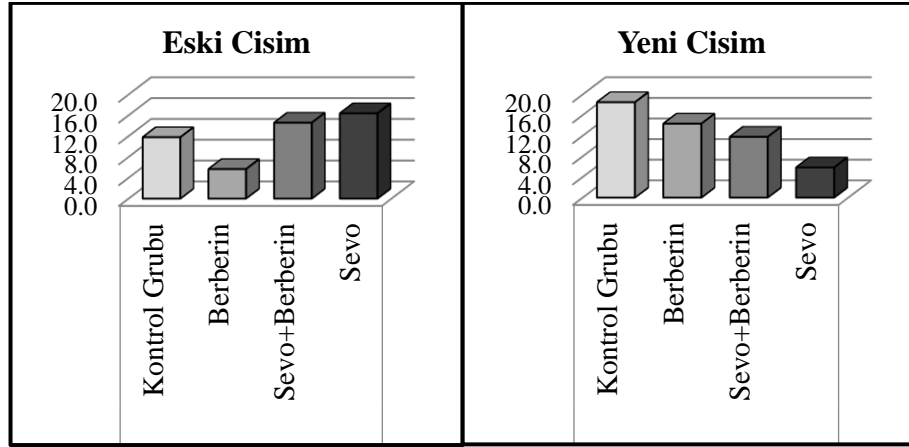
Tablo 4.3. Çalışma grupları ile tanışma I-II ve eski-yeni cisim karşılaştırması

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberin	<sup>3</sup> Sevofluran + Berberin	□ Sevofluran	p
<b>Nesne Tanıma</b>						
Tanışma-I	Ort.±ss	26.3 ± 20.4	32.0 ± 19.5	26.0 ± 10.5	25.3 ± 14.1	0.730 <sup>A</sup>
	Medyan	19.0	28.0	26.0	25.0	
Tanışma-II	Ort.±ss	19.1 ± 17.3	20.1 ± 12.2	16.9 ± 10.1	20.5 ± 9.4	0.870 <sup>K</sup>
	Medyan	13.0	20.5	16.0	20.0	
Eski Cisim	Ort.±ss	11.8 ± 10.8	5.7 ± 4.8	14.6 ± 6.0	16.4 ± 16.2	0.019 <sup>K</sup>
	Medyan	8.5	5.5	13.5 <sup>2</sup>	11.0 <sup>2</sup>	
Yeni Cisim	Ort.±ss	18.5 ± 10.2	14.3 ± 8.9	11.8 ± 5.8	5.8 ± 4.1	0.001 <sup>A</sup>
	Medyan	16.0	14.5	10.5	6.0 <sup>123</sup>	

<sup>A</sup> ANOVA / <sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

<sup>1</sup> Kontrol grubu ile fark  $p < 0.05$ , <sup>2</sup> Berberin grubu ile fark  $p < 0.05$

<sup>3</sup> Sevofluran + Berberin grubu ile fark  $p < 0.05$



**Şekil 4.3.** Farklı gruplarda eski cisim ve yeni cisim karşılaştırması

Kontrol ve berberine grubunda yeni nesne keşfi görelî süresi Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu arasında yeni nesne keşfi görelî süresi istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında yeni nesne keşfi görelî süresi istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.4)

Kontrol grubunda yeni nesne seçim oranı Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu arasında yeni nesne seçim oranı istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine grubunda yeni nesne seçim oranı Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine grubu ile berberine, Sevoflurane grupları arasında yeni nesne seçim oranı istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.4.)

**Tablo 4.4.** Çalışma grupları ile yeni nesne seçme oranı karşılaştırması

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberin	<sup>3</sup> Sevofluran + Berberin	□ Sevofluran	p
<i>Yeni Nesne</i>						
Keşfi Göreli Süresi	Ort.±ss	0.31 ± 0.33	0.40 ± 0.32	-0.12 ± 0.23	-0.37 ± 0.38	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	0.41 <sup>3</sup> □	0.38 <sup>3</sup> □	-0.15	-0.50	
Seçim Oranı	Ort.±ss	0.65 ± 0.17	0.62 ± 0.32	0.44 ± 0.12	0.27 ± 0.20	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	0.71	0.69	0.43 <sup>1</sup>	0.21 <sup>12</sup>	

<sup>A</sup> ANOVA / <sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

<sup>1</sup> Kontrol grubu ile fark p<0.05, <sup>2</sup> Berberin grubu ile fark p<0.05

<sup>3</sup> Sevofluran+ Berberin grubu ile fark p<0.05, □ Sevofluran grubu ile fark p<0.05

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grupları arasında plas maze kapalı alanda kalma süresi istatistiksel anlamlı (p>0.05) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.5.)

**Tablo 4.5.** Çalışma grupları ile kapalı alanda kalma süresi karşılaştırması

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberin	<sup>3</sup> Sevofluran + Berberin	□ Sevofluran	p
Plas Maze Kapalı Alanda Kalma Saati	Ort.±ss	264.1 ± 39.6	232.4 ± 76.8	261.4 ± 35.9	232.4 ± 51.5	0.179 <sup>K</sup>
	Medyan	284.0	249.0	276.5	243.0	

<sup>K</sup> Kruskal-wallis (Mann-whitney u test)

**Tablo 4.6.** Günlere göre sayısal parametreler

	Min-Mak	Medyan	Ort.±ss
<b><i>Kümülatif Süre</i></b>			
0.Gün	3.2 - 15.6	10.0	10.2 ± 3.1
1.Gün	1.5 - 17.3	6.6	7.3 ± 3.6
2.Gün	1.5 - 10.5	5.4	5.4 ± 2.4
3.Gün	1.3 - 13.9	4.8	4.8 ± 2.4
4.Gün	0.9 - 7.5	3.7	3.8 ± 1.6
Hafıza Kümülatif Süre Ortalaması	12.0 - 40.4	24.9	25.6 ± 6.6
<b><i>Bölgeye Uzaklık</i></b>			
0.Gün	30.3 - 66.9	53.5	52.5 ± 8.7
1.Gün	14.4 - 66.1	40.3	41.1 ± 11.1
2.Gün	16.0 - 68.2	31.9	35.0 ± 12.3
3.Gün	11.5 - 53.2	25.4	26.7 ± 10.3
4.Gün	11.2 - 48.2	19.6	22.2 ± 8.8
Hafıza Bölgeye Uzaklık Ortalaması	14.4 - 55.1	34.9	35.6 ± 8.6
<b><i>Kaçış Gecikmesi</i></b>			
0.Gün	8.5 - 38.0	25.4	24.7 ± 7.7
1.Gün	3.6 - 29.3	14.2	14.7 ± 5.9
2.Gün	3.5 - 25.3	10.9	12.4 ± 5.6
3.Gün	2.0 - 26.0	7.7	9.6 ± 5.5
4.Gün	1.3 - 17.7	5.6	6.7 ± 3.9
Hafıza Kaçış Gecikmesi Ortalaması	9.5 - 44.1	27.6	27.7 ± 6.4
Hipokampus	0.5 - 1.1	0.8	0.8 ± 0.1
Frontal Lob ELİSA	0.2 - 0.8	0.5	0.4 ± 0.2
Kan ELİSA	0.6 - 2.0	1.2	1.2 ± 0.3

**Tablo 4.7.** Farklı örneklerde çalışılan miRNA ve BDNF değerleri

	Min-Mak	Medyan	Ort.±ss
<b><i>Hipokampus QPCR</i></b>			
miR-9	0.0 - 4.4	0.3	1.1 ± 1.4
miR-124	0.2 - 2.6	0.9	1.1 ± 0.7
miR-132	0.2 - 6.2	1.6	2.0 ± 1.7
miR-134	1.1 - 8.9	2.4	3.2 ± 2.2
miR-138	0.0 - 3.1	1.2	1.1 ± 0.9
BDNF	0.0 - 15.4	1.5	3.3 ± 4.6
<b><i>Frontal QPCR</i></b>			
miR-9	0.0 - 6.4	0.8	1.5 ± 1.9
miR-124	0.0 - 3.6	0.8	1.0 ± 0.9
miR-132	0.3 - 3.0	1.2	1.3 ± 0.8
miR-134	0.7 - 5.0	1.9	2.3 ± 1.1
miR-138	0.1 - 3.3	0.5	1.1 ± 1.0
BDNF	0.2 - 4.5	1.3	1.6 ± 1.1
<b><i>Serum QPCR</i></b>			
miR-9	0.1 - 2.1	0.9	1.0 ± 0.5
miR-124	0.0 - 1.7	0.4	0.5 ± 0.4
miR-132	0.2 - 2.5	0.7	0.9 ± 0.6
miR-134	0.1 - 1.9	0.7	0.8 ± 0.5
miR-138	0.2 - 4.7	1.3	1.4 ± 1.0
BDNF	0.1 - 17.9	1.3	4.7 ± 5.8

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 0.gün kümülatif süre istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.8.)

Berberine gurubunda 1.gün kümülatif süre kontrol, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine gurubunda 1.gün kümülatif süre kontrol grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane grubu ile kontrol, Sevoflurane+berberine grupları arasında kümülatif süre istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.8.)

Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane gruplarında 2.gün kümülatif süre kontrol ve berberine grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ile berberine grubu arasında kümülatif süre istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevofluran+berberine ile Sevoflurane grubu arasında kümülatif süre istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.8)

Sevoflurane+berberine grubunda 3.gün kümülatif süre kontrol, berberine, Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberinin, Sevoflurane+berberine grupları arasında kümülatif süre istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine ile Sevoflurane grubu arasında kümülatif süre istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.8.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 4.gün kümülatif süre istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.8.)



**Tablo 4.8.** Çalışma grupları ile kümülatif süre ve sıfıncı güne göre değişim ilişkisi

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberin	<sup>3</sup> Sevo+ Berberin	<sup>4</sup> Sevo	P
<b>Kümülatif Süre</b>						
0.Gün	Ort±ss	9.4 ± 2.8	10.3 ± 3.2	10.0 ± 3.7	11.0 ± 2.6	0.586 A
	Medyan	9.7	9.5	10.4	11.2	
1.Gün	Ort±ss	4.4 ± 2.0	10.6 ± 3.7	7.4 ± 3.0	6.9 ± 2.6	0.000 A
	Medyan	4.0	10.2 <sup>134</sup>	6.4 <sup>1</sup>	6.8	
2.Gün	Ort±ss	3.9 ± 1.5	4.3 ± 2.0	6.9 ± 2.5	6.6 ± 1.9	0.000 A
	Medyan	4.0	4.0	7.9 <sup>12</sup>	5.7 <sup>12</sup>	
3.Gün	Ort±ss	4.1 ± 1.8	4.3 ± 2.0	6.6 ± 2.7	3.9 ± 2.0	0.006 A
	Medyan	4.1	4.3	5.4 <sup>124</sup>	4.1	
4.Gün	Ort±ss	3.0 ± 1.1	4.7 ± 1.9	3.8 ± 1.3	3.6 ± 1.8	0.063 A
	Medyan	2.7	5.1	3.7	3.7	
<b>0.Güne Göre Değişim</b>						
0/1. Gün	Ort±ss	-4.9 ± 3.3	0.3 ± 5.0 <sup>1</sup>	-2.6 ± 4.5	-4.1 ± 4.1	0.015 A
	Medyan	-5.3	-1.5	-3.3	-5.1	
Grup İçi Değişim p		0.000 <sup>E</sup>	0.846 <sup>E</sup>	0.051 <sup>E</sup>	0.004 <sup>E</sup>	
0/2. Gün	Ort±ss	-5.5 ± 2.5	-6.0 ± 3.1	-3.1 ± 5.7	-4.4 ± 3.3	0.227 A
	Medyan	-6.3	-5.5	-2.5	-5.0	
Grup İçi Değişim p		0.000 <sup>E</sup>	0.000 <sup>E</sup>	0.059 <sup>E</sup>	0.000 <sup>E</sup>	
0/3. Gün	Ort±ss	-5.2 ± 3.2	-6.0 ± 2.3	-3.4 ± 5.5	-7.1 ± 3.8	0.105 A
	Medyan	-4.5	-6.9	-2.7	-6.1	
Grup İçi Değişim p		0.000 <sup>E</sup>	0.000 <sup>E</sup>	0.037 <sup>E</sup>	0.000 <sup>E</sup>	
0/4. Gün	Ort±ss	-6.3 ± 3.4	-5.6 ± 3.5	-6.2 ± 4.2	-7.4 ± 3.4	0.688 A
	Medyan	-7.2	-4.3	-5.5	-6.8	
Grup İçi Değişim p		0.000 <sup>E</sup>	0.000 <sup>E</sup>	0.000 <sup>E</sup>	0.000 <sup>E</sup>	
Hafıza Kümülatif Süre Ortalaması	Ort±ss	24.4 ± 6.5	28.6 ± 5.3	24.6 ± 6.0	24.7 ± 8.1	0.301 A
	Medyan	24.5	26.8	23.9	24.4	

<sup>A</sup> ANOVA / <sup>E</sup> Paired Samples t test

<sup>1</sup> Kontrol grubu ile fark p<0.05, <sup>2</sup> Berberin grubu ile fark p<0.05

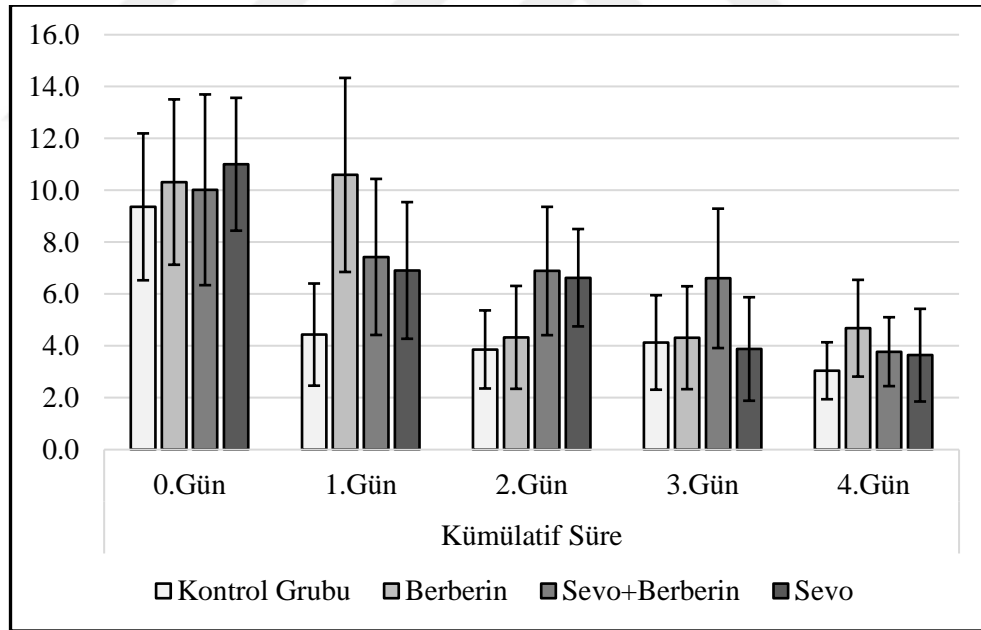
<sup>3</sup> Sevo + Berberin grubu ile fark p<0.05, <sup>4</sup> Sevo grubu ile fark p<0.05

Kontrol grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün kümülatif süre 0.güne göre istatistiksel anlamlı (p<0.05) düşüş göstermiştir. Berberine grubunda 1.gün kümülatif süre 0.güne göre anlamlı (p>0.05) değişim göstermemiştir. Berberine grubunda 2.gün, 3.gün, 4.gün kümülatif süre 0.güne göre istatistiksel anlamlı (p<0.05) düşüş göstermiştir. Sevoflurane+berberine grubunda 1.gün, 2.gün kümülatif süre 0.güne göre

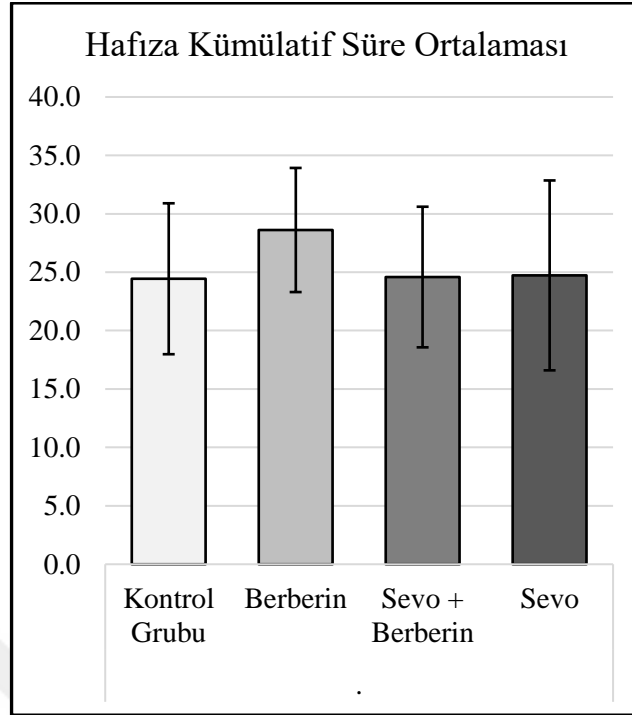
istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) değişim göstermemiştir. Sevoflurane+berberine grubunda 3.gün, 4.gün kümülatif süre 0.güne göre istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Sevoflurane grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün kümülatif süre 0.güne göre istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. (Tablo 4.8)

Kontrol grubunda 0/1.gün kümülatif süre düşüşü berberine grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu ile Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında kümülatif süre düşüşü istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında kümülatif süre düşüşü istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 0/2.gün, 0/3.gün, 0/4.gün kümülatif süre düşüşü istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.8)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında hafıza kümülatif süre ortalaması anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.8)



Şekil 4.4. Grupların günlere göre kümülatif süre değerleri



**Şekil 4.5.** Grupların hafıza kümülatif süre ortalamaları

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 0.gün, 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün bölgeye uzaklık değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.9.)

Kontrol grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün bölgeye uzaklık değeri 0.güne göre istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Berberine grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün bölgeye uzaklık değeri 0.güne göre anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Sevoflurane+berberine grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün bölgeye uzaklık değeri 0.güne göre a istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Sevoflurane grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün bölgeye uzaklık değeri 0.güne göre anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. (Tablo 4.9.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 0/1.gün, 0/2.gün, 0/3.gün, 0/4.gün bölgeye uzaklık düşüşü istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.9.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında hafıza bölgeye uzaklık ortalaması istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.9.)

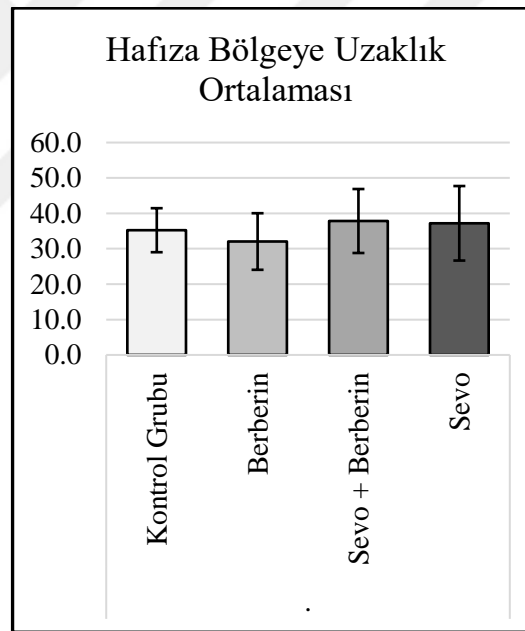
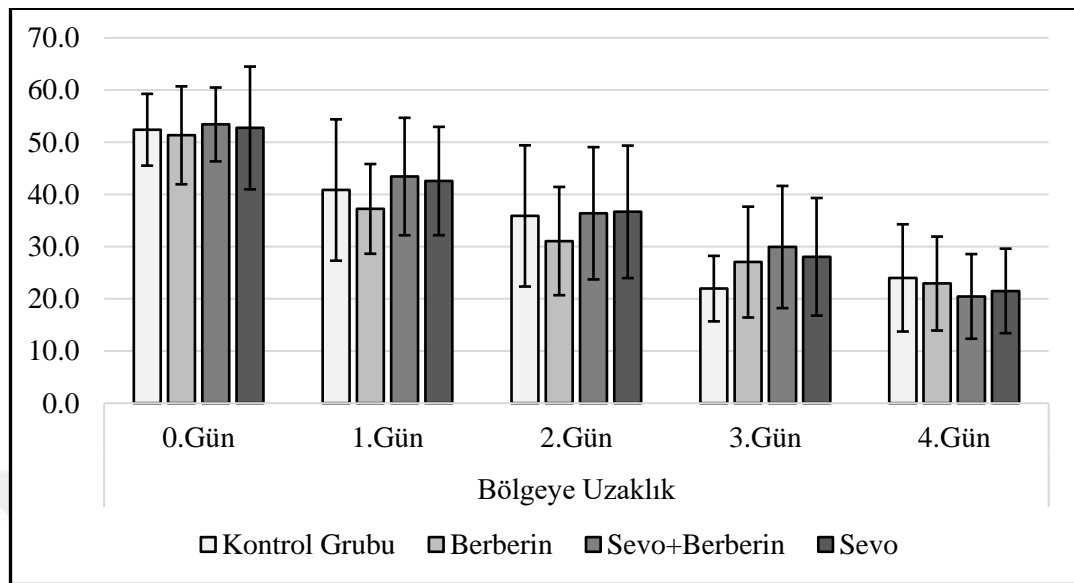
**Tablo 4.9.** Grupların bölgeye uzaklık ve sıfıncı güne göre değişim ilişkisi

		Kontrol Grubu	Berberine	Sevoflurane+ Berberine	Sevoflurane	p
<b><i>Bölgeye Uzaklık</i></b>						
0.Gün	Ort.±ss	52.4 ± 6.9	51.3 ± 9.4	53.4 ± 7.1	52.7 ± 11.8	0.944 <sup>A</sup>
	Medyan	53.8	50.8	53.5	58.9	
1.Gün	Ort.±ss	40.9 ± 13.5	37.2 ± 8.6	43.4 ± 11.3	42.6 ± 10.4	0.498 <sup>A</sup>
	Medyan	39.9	37.2	42.9	42.2	
2.Gün	Ort.±ss	35.9 ± 13.5	31.1 ± 10.4	36.4 ± 12.7	36.7 ± 12.7	0.620 <sup>A</sup>
	Medyan	38.0	30.6	32.1	31.9	
3.Gün	Ort.±ss	22.0 ± 6.3	27.0 ± 10.6	29.9 ± 11.7	28.1 ± 11.3	0.209 <sup>A</sup>
	Medyan	21.7	26.4	31.0	30.1	
4.Gün	Ort.±ss	24.0 ± 10.3	22.9 ± 9.0	20.5 ± 8.1	21.5 ± 8.1	0.737 <sup>A</sup>
	Medyan	21.3	21.8	18.3	21.2	
<b><i>0.Güne Göre Değişim</i></b>						
0/1. Gün Değişim	Ort.±ss	-11.5 ± 13.0	-14.1 ± 5.3	-10.0 ± 14.7	-10.2 ± 13.3	0.812 <sup>A</sup>
	Medyan	-15.9	-13.3	-8.7	-7.3	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.005</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.025</b> <sup>E</sup>	<b>0.017</b> <sup>E</sup>	
0/2. Gün Değişim	Ort.±ss	-16.5 ± 14.7	-20.3 ± 14.9	-17.0 ± 16.6	-16.1 ± 16.3	0.900 <sup>A</sup>
	Medyan	-14.4	-21.3	-21.0	-20.8	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.001</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.002</b> <sup>E</sup>	<b>0.004</b> <sup>E</sup>	
0/3. Gün Değişim	Ort.±ss	-30.4 ± 9.8	-24.3 ± 12.4	-23.5 ± 15.7	-24.7 ± 10.5	0.437 <sup>A</sup>
	Medyan	-25.3	-21.7	-22.4	-22.7	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	
0/4. Gün Değişim	Ort.±ss	-28.4 ± 12.6	-28.4 ± 9.0	-33.0 ± 12.9	-31.2 ± 11.6	0.680 <sup>A</sup>
	Medyan	-28.8	-32.5	-34.9	-32.7	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	
Hafıza Bölgeye Uzaklık Ortalaması	Ort.±ss	35.2 ± 6.2	32.0 ± 8.0	37.8 ± 9.0	37.2 ± 10.5	0.311 <sup>A</sup>
	Medyan	35.7	34.4	37.3	34.1	

<sup>A</sup> ANOVA / <sup>E</sup> Paired Samples t test

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 0.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.10)

Sevoflurane grubunda 1.gün kaçış gecikmesi değeri kontrol grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberine ve Sevoflurane+berberine grubu arasında 1.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir

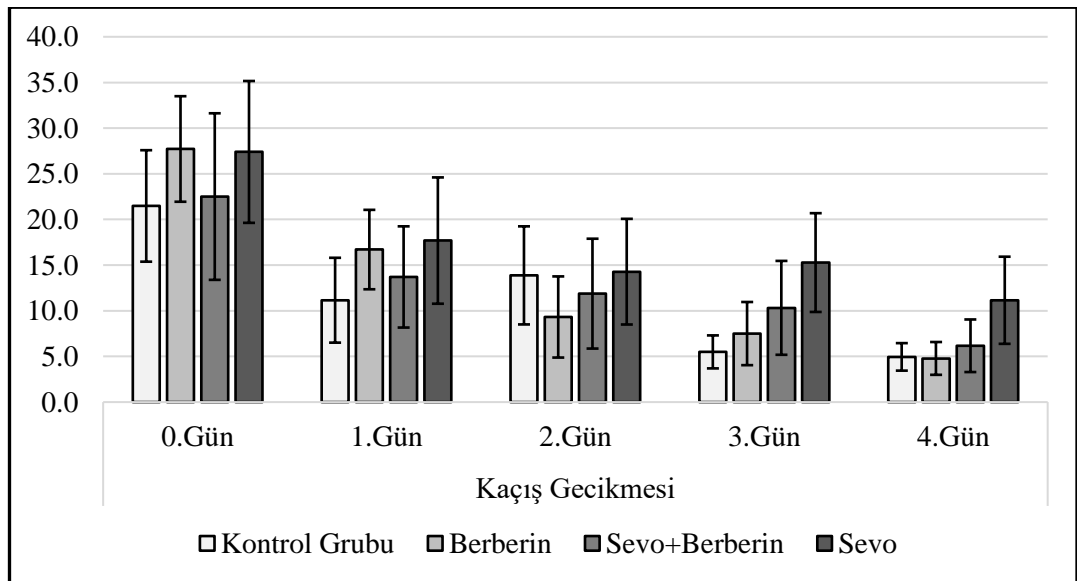


Şekil 4.6. Grupların bölgeye uzaklık ve hafıza bölgeye uzaklık değerleri

Berberine grubu ile Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında 1.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında 1.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.10) Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 2.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.10)

Sevoflurane grubunda 3.gün kaçış gecikmesi değeri kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine grubunda 3.gün kaçış gecikmesi değeri kontrol grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Berberine grubu ile kontrol, Sevoflurane+berberine grupları arasında 3.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.10.)

Sevoflurane grubunda 4.gün kaçış gecikmesi değeri kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberine, Sevoflurane+berberine grupları arasında 4.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine ile Sevoflurane+berberine grubu arasında 4.gün kaçış gecikmesi değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.10) Kontrol grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün kaçış gecikmesi değeri 0.güne göre istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Berberine grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün kaçış gecikmesi değeri 0.güne göre istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Sevoflurane+berberine grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün kaçış gecikmesi değeri 0.güne göre istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Sevoflurane grubunda 1.gün, 2.gün, 3.gün, 4.gün kaçış gecikmesi değeri 0.güne göre istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) düşüş göstermiştir. (Tablo 4.10.)



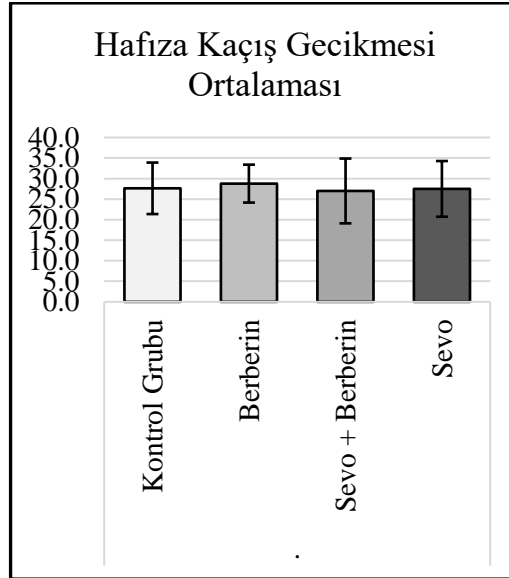
**Şekil 4.7.** Grupların kaçış gecikmesi değerleri

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 0/1.gün kaçış gecikmesi düşüşü istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine grubunda 0/2.gün kaçış gecikmesi düşüşü kontrol grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu ile Sevoflurane+berberine grubu arasında 0/2.gün kaçış gecikmesi düşüşü anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane+berberine ile Sevoflurane grubu arasında 0/2.gün kaçış gecikmesi düşüşü anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında 0/3.gün, 0/4.gün kaçış gecikmesi düşüşü anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.10) Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında hafıza kaçış gecikmesi ortalaması anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.10.)

**Tablo 4.10.** Grupların kaçış gecikmesi ve sıfıncı güne değişim ilişkisi

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberin	<sup>3</sup> Sevo+ Berberin	<sup>4</sup> Sevo	p
<b><i>Kaçış Gecikmesi</i></b>						
0.Gün	Ort.±ss	21.5 ± 6.1	27.7 ± 5.8	22.5 ± 9.1	27.4 ± 7.8	0.060 A
	Medyan	18.6	29.5	21.1	28.0	
1.Gün	Ort.±ss	11.2 ± 4.6	16.7 ± 4.3	13.7 ± 5.5	17.7 ± 6.9	<b>0.012</b> A
	Medyan	10.2	17.8	13.7	18.1 <sup>1</sup>	
2.Gün	Ort.±ss	13.9 ± 5.4	9.3 ± 4.4	11.9 ± 6.0	14.3 ± 5.8	0.090 A
	Medyan	12.7	8.7	10.4	13.7	
3.Gün	Ort.±ss	5.5 ± 1.8	7.5 ± 3.5	10.3 ± 5.1	15.3 ± 5.4	<b>0.000</b> A
	Medyan	5.7	6.7	8.2 <sup>1</sup>	13.4 <sup>123</sup>	
4.Gün	Ort.±ss	5.0 ± 1.5	4.8 ± 1.8	6.2 ± 2.9	11.2 ± 4.8	<b>0.000</b> A
	Medyan	4.8	5.0	5.3	9.7 <sup>123</sup>	
<b><i>0.Güne Göre Değişim</i></b>						
0/1. Gün	Ort.±ss	-10.3 ± 7.8	-11.0 ± 7.4	-8.8 ± 12.6	-9.7 ± 10.5	0.946 A
	Değişim Medyan	-8.4	-11.6	-7.7	-8.0	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.021</b> <sup>E</sup>	<b>0.006</b> <sup>E</sup>	
0/2. Gün	Ort.±ss	-7.6 ± 7.8	-18.4 ± 6.7 <sup>1</sup>	-10.6 ± 11.7	-13.1 ± 10.0	<b>0.029</b> A
	Değişim Medyan	-7.4	-20.7	-6.4	-15.6	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.003</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.005</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	
0/3. Gün	Ort.±ss	-16.0 ± 6.1	-20.2 ± 6.1	-12.2 ± 9.8	-12.1 ± 9.3	0.052 A
	Değişim Medyan	-14.7	-20.0	-9.4	-9.8	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.001</b> <sup>E</sup>	
0/4. Gün	Ort.±ss	-16.5 ± 6.0	-22.9 ± 6.2	-16.3 ± 10.1	-16.2 ± 9.5	0.108 A
	Değişim Medyan	-14.3	-23.9	-12.7	-15.9	
<i>Grup İçi Değişim p</i>		<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	<b>0.000</b> <sup>E</sup>	
Kaçış Gecikmesi Ortalaması	Ort.±ss	27.6 ± 6.3	28.8 ± 4.6	27.0 ± 7.9	27.5 ± 6.8	0.911 A
	Medyan	27.3	27.6	28.1	25.8	

<sup>A</sup>ANOVA / <sup>E</sup>Paired Samples t test<sup>1</sup> Kontrol grubu ile fark p<0.05, <sup>2</sup> Berberin grubu ile fark p<0.05<sup>3</sup> Sevo + Berberin grubu ile fark p<0.05



**Şekil 4.8.** Grupların hafıza kaçış gecikmesi ortalaması

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında hipokampus değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.11) Kontrol ve berberine grubunda frontal lob ELİSA BDNF değeri Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu arasında frontal lob ELİSA değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında frontal lob ELİSA BDNF değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.11.)

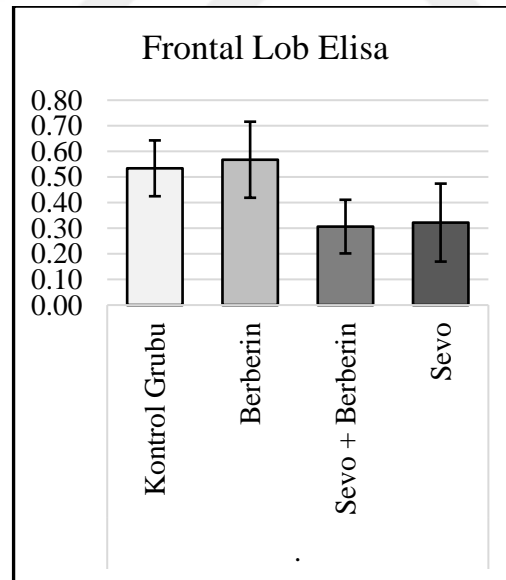
Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında kan ELİSA değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.11.)

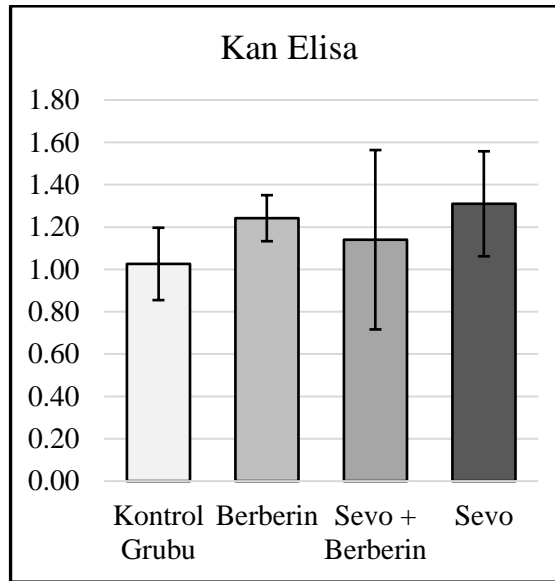
**Tablo 4.11.** Grupların doku ve kan örneklerindeki ELİSA ilişkisi

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberine	<sup>3</sup> Sevoflurane + Berberine	<sup>4</sup> Sevoflurane	P
Hipokampus	Ort.±ss	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.0	0.86 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.05 <sup>A</sup>
	Medyan	0.68	0.73	0.84	0.80	
Frontal Lob ELİSA	Ort.±ss	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.31 ± 0.1	0.3 ± 0.1	<b>0.00<sup>A</sup></b>
	Medyan	0.49 <sup>34</sup>	0.55 <sup>34</sup>	0.31	0.25	
Kan ELİSA	Ort.±ss	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.14 ± 0.4	1.3 ± 0.2	0.07 <sup>A</sup>
	Medyan	1.03	1.22	1.11	1.30	

<sup>A</sup> ANOVA / <sup>E</sup> Paired Samples t test

<sup>3</sup> Sevo + Berberine grubu ile fark p<0.05, <sup>4</sup> Sevo grubu ile fark p<0.05

**Şekil 4.9.** Grupların frontal lob ELİSA değerleri



**Şekil 4.10.** Grupların kan ELİSA değerleri

Berberine grubunda miR-138 hipokampüs qPCR değeri kontrol, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol, Sevoflurane+berberine gruplarında miR-138 hipokampüs qPCR değeri Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve Sevoflurane+berberine grubu arasında miR-138 hipokampüs qPCR değeri istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.12.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine gruplarında miR-138 hipokampüs qPCR değeri Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Berberine grubunda miR-138 hipokampüs qPCR değeri Sevoflurane+berberine grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberine, Sevoflurane+berberine grupları arasında miR-138 hipokampüs qPCR değeri istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.12.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine gruplarında miR-138 hipokampüs qPCR değeri Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Berberine grubunda miR-138 hipokampüs qPCR değeri kontrol, Sevoflurane+berberine gruplarından anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve Sevoflurane+berberine grupları arasında miR-138 hipokampüs qPCR değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir (Tablo 4.12.).

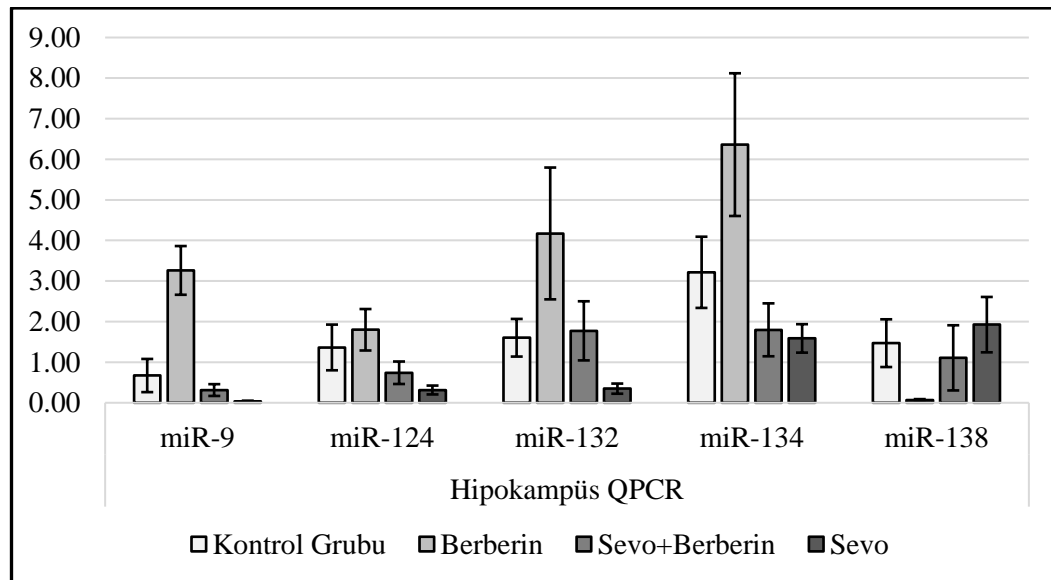
Berberine grubunda miR-138 hipokampüs qPCR değeri kontrol, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubunda miR-138 hipokampüs qPCR değeri Sevoflurane+berberine, Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında miR-138 hipokampüs qPCR değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.12.)

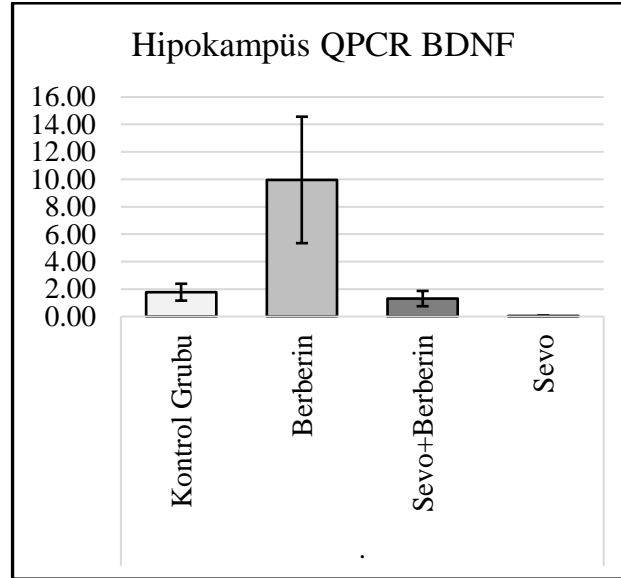
Kontrol ve Sevoflurane gruplarında miR-138 hipokampüs qPCR değeri berberine grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve Sevoflurane+berberine grupları arasında miR-138 hipokampüs qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane grubu ile kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine grupları arasında miR-138 hipokampüs qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.12.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine gruplarında hipokampüs qPCR BDNF değeri Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Berberine grubunda hipokampüs qPCR BDNF değeri kontrol ve Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve Sevoflurane+berberine grubu arasında hipokampüs qPCR BDNF değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.12)

**Tablo 4.12.** Grupların hipokampus qPCR çalışması ile miRNA ve BDNF ilişkisi

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberine	<sup>3</sup> Sevoflurane + Berberine	<sup>4</sup> Sevoflurane	p
<b>Hipokampus qPCR</b>						
miR-138	Ort.±ss	0.67 ± 0.41	3.26 ± 0.60	0.31 ± 0.15	0.04 ± 0.01	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	0.51	3.19 <sup>134</sup>	0.30	0.03 <sup>13</sup>	
miR-138	Ort.±ss	1.36 ± 0.56	1.80 ± 0.51	0.74 ± 0.28	0.32 ± 0.11	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.17	1.77	0.73 <sup>2</sup>	0.32 <sup>123</sup>	
miR-138	Ort.±ss	1.60 ± 0.46	4.17 ± 1.62	1.77 ± 0.73	0.35 ± 0.13	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.56	4.46 <sup>13</sup>	1.93	0.32 <sup>123</sup>	
miR-138	Ort.±ss	3.21 ± 0.88	6.36 ± 1.76	1.80 ± 0.65	1.59 ± 0.35	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	3.32 <sup>34</sup>	6.59 <sup>134</sup>	1.60	1.55	
miR-138	Ort.±ss	1.47 ± 0.59	0.07 ± 0.02	1.11 ± 0.80	1.93 ± 0.68	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.71	0.06 <sup>14</sup>	0.86	1.49	
BDNF	Ort.±ss	1.77 ± 0.62	9.95 ± 4.61	1.31 ± 0.56	0.04 ± 0.02	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.76	9.23 <sup>13</sup>	1.29	0.04 <sup>123</sup>	

<sup>A</sup> ANOVA<sup>1</sup> Kontrol grubu ile fark p<0.05, <sup>2</sup> Berberine grubu ile fark p<0.05<sup>3</sup> Sevo + Berberine grubu ile fark p<0.05, <sup>4</sup> Sevo grubu ile fark p<0.05



**Şekil 4.11.** Grupların hipokampus PCR çalışması ve BDNF değerleri

Kontrol ve berberine gruplarında miR-138 frontal qPCR değeri Sevoflurane+berberine, Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine grubunda miR-138 frontal qPCR değeri Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu arasında miR-138 frontal qPCR değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.13.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine gruplarında miR-138 frontal qPCR değeri Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Berberine grubunda miR-138 frontal qPCR değeri Sevoflurane+berberine grubundan anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberine, Sevoflurane+berberine grupları arasında miR-138 frontal qPCR değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.13.)

Kontrol grubunda miR-138 frontal qPCR değeri Sevoflurane grubundan istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberine, Sevoflurane+berberine grupları arasında miR-138 frontal qPCR değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine grubunda miR-138 frontal qPCR değeri Sevoflurane+berberine, Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine ile Sevoflurane grubu arasında miR-138 frontal qPCR değeri istatistiksel anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.13.)

Berberine ve Sevoflurane+berberine gruplarında miR-138 frontal qPCR değeri kontrol, Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve Sevoflurane grubu arasında miR-138 frontal qPCR değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine ve Sevoflurane+berberine grubu arasında miR-138 frontal qPCR değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.13)

Berberine grubunda miR-138 frontal qPCR değeri kontrol, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane gruplarından istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubunda miR-138 frontal qPCR değeri sevoflurano+berberine, Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Berberine ve Sevoflurane+berberine grubu arasında miR-138 frontal qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.13.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine gruplarında frontal qPCR BDNF değeri sevo grubundan istatistiksel anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubu ile berberine, Sevoflurane+berberine grupları arasında frontal qPCR BDNF değeri istatistiksel anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine ve Sevoflurane+berberine grubu arasında frontal qPCR BDNF değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.13.)

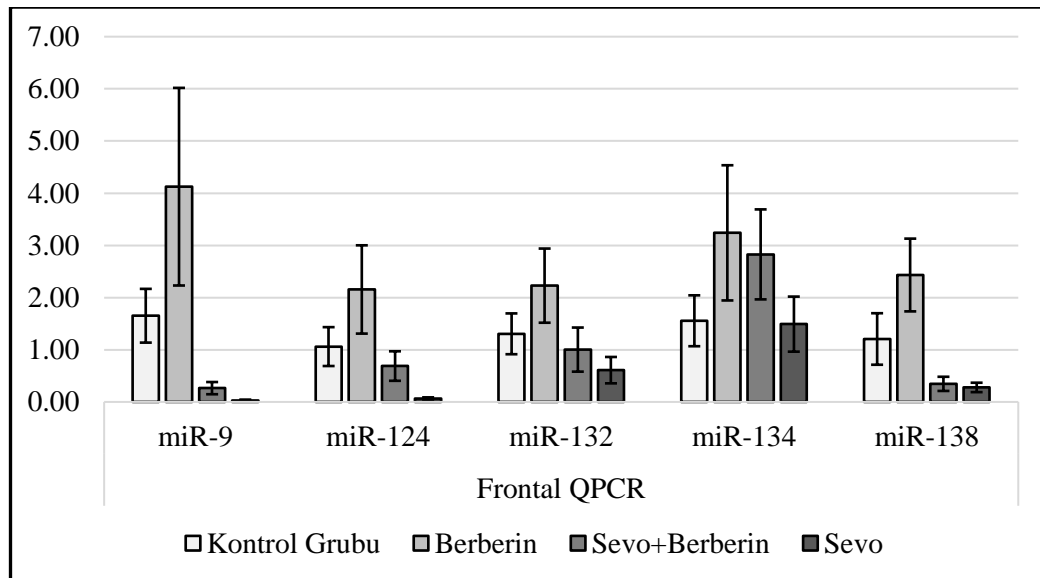
**Tablo 4.13.** Grupların frontal lob qPCR değeri ile miRNA ve BDNF karşılaştırması

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberin	<sup>3</sup> Sevo + Berberin	<sup>4</sup> Sevo	p
<b>Frontal QPCR</b>						
miR-9	Ort±ss	1.65 ± 0.52	4.12 ± 1.89	0.26 ± 0.12	0.03 ± 0.01	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.60 <sup>34</sup>	4.42 <sup>34</sup>	0.25 <sup>4</sup>	0.03	
miR-124	Ort±ss	1.06 ± 0.37	2.16 ± 0.85	0.69 ± 0.28	0.06 ± 0.02	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.18	1.97	0.73 <sup>2</sup>	0.06 <sup>123</sup>	
miR-132	Ort±ss	1.31 ± 0.39	2.23 ± 0.71	1.00 ± 0.42	0.61 ± 0.25	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.31	1.84	0.86 <sup>2</sup>	0.58 <sup>12</sup>	
miR-134	Ort±ss	1.56 ± 0.49	3.24 ± 1.30	2.83 ± 0.86	1.49 ± 0.53	<b>0.001</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.39	3.28 <sup>14</sup>	2.56 <sup>14</sup>	1.30	
miR-138	Ort±ss	1.21 ± 0.49	2.43 ± 0.70	0.35 ± 0.14	0.28 ± 0.09	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.22 <sup>34</sup>	2.43 <sup>134</sup>	0.38	0.26	
BDNF	Ort±ss	1.76 ± 0.64	2.79 ± 1.38	1.27 ± 0.43	0.45 ± 0.19	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.72	2.23	1.11	0.48 <sup>123</sup>	

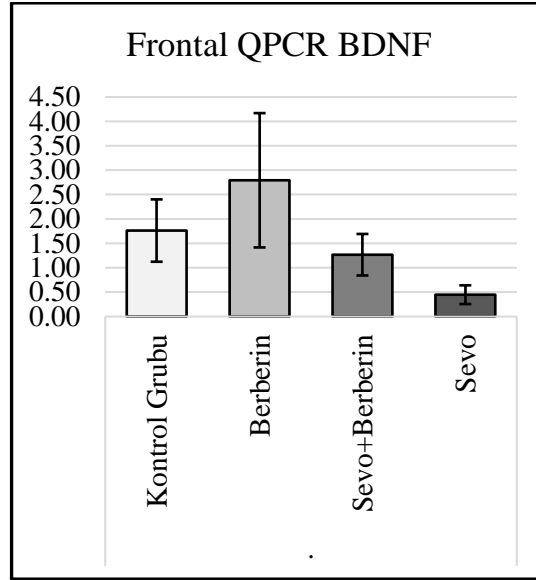
<sup>A</sup> ANOVA

<sup>1</sup> Kontrol grubu ile fark p<0.05, <sup>2</sup> Berberin grubu ile fark p<0.05

<sup>3</sup> Sevo + Berberin grubu ile fark p<0.05, <sup>4</sup> Sevo grubu ile fark p<0.05



**Şekil 4.12.** Frontal qPCR ile grupların miRNA değeri karşılaştırması



**Şekil 4.13.** Frontal qPCR ile grupların BDNF değeri karşılaştırması

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grupları arasında miR-138 serum qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.14.)

Kontrol ve berberine grubunda miR-138 serum qPCR değeri Sevoflurane +berberine, Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine grubunda miR-138 serum qPCR değeri Sevoflurane grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu arasında miR-138 serum qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.14.)

Kontrol ve Sevoflurane grubunda miR-138 serum qPCR değeri berberine ve Sevoflurane+berberine gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve Sevoflurane grubu arasında miR-138 serum qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Berberine ve Sevoflurane+berberine grubu arasında miR-138 serum qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.14.)

Kontrol, berberine, Sevoflurane+berberine gruplarında miR-138 serum qPCR değeri Sevoflurane grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubunda miR-138 serum qPCR değeri berberine grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine grubu ile kontrol, berberine grupları arasında miR-138 serum qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.14.)

Kontrol, berberine gruplarında miR-138 serum qPCR değeri Sevoflurane+berberine, Sevoflurane grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol ve berberine grubu arasında miR-138 serum qPCR değeri anlamlı

( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. Sevoflurane+berberine ve Sevoflurane grubu arasında miR-138 serum qPCR değeri anlamlı ( $p>0.05$ ) farklılık göstermemiştir. (Tablo 4.14.)

Berberine grubunda serum qPCR BDNF değeri berberine, Sevoflurane+berberine, Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Sevoflurane+berberine grubunda serum qPCR BDNF değeri kontrol, Sevoflurane gruplarından anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. Kontrol grubunda serum qPCR BDNF değeri Sevoflurane grubundan anlamlı ( $p<0.05$ ) olarak daha yüksekti. (Tablo 4.14.)

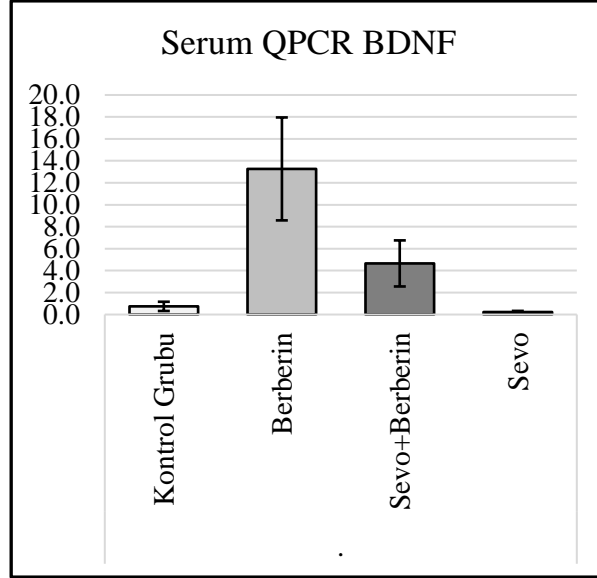
**Tablo 4.14.** Grupların serum qPCR değeri ile miRNA ve BDNF ilişkisi

		<sup>1</sup> Kontrol Grubu	<sup>2</sup> Berberine	<sup>3</sup> Sevoflurane+ Berberine	<sup>4</sup> Sevoflurane	p
<b>Serum qPCR</b>						
miR-138	Ort.±ss	1.13 ± 0.45	1.24 ± 0.48	1.02 ± 0.45	0.71 ± 0.32	0.054 <sup>A</sup>
	Medyan	1.03	1.24	0.85	0.76	
miR-138	Ort.±ss	0.81 ± 0.34	0.82 ± 0.41	0.32 ± 0.11	0.03 ± 0.02	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	0.75 <sup>34</sup>	1.00 <sup>34</sup>	0.35 <sup>4</sup>	0.04	
miR-138	Ort.±ss	1.35 ± 0.62	0.51 ± 0.14	0.50 ± 0.21	1.33 ± 0.53	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.28 <sup>23</sup>	0.51	0.54	1.16 <sup>23</sup>	
miR-138	Ort.±ss	1.28 ± 0.39	0.62 ± 0.23	0.96 ± 0.36	0.17 ± 0.07	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.33 <sup>2</sup>	0.60	0.94	0.15 <sup>123</sup>	
miR-138	Ort.±ss	1.71 ± 0.46	2.52 ± 1.07	0.90 ± 0.34	0.61 ± 0.25	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	1.59 <sup>34</sup>	2.31 <sup>34</sup>	0.83	0.57	
BDNF	Ort.±ss	0.74 ± 0.42	13.26 ± 4.69	4.65 ± 2.10	0.23 ± 0.10	<b>0.000</b> <sup>A</sup>
	Medyan	0.67 <sup>4</sup>	14.87 <sup>134</sup>	5.70 <sup>13</sup>	0.23	

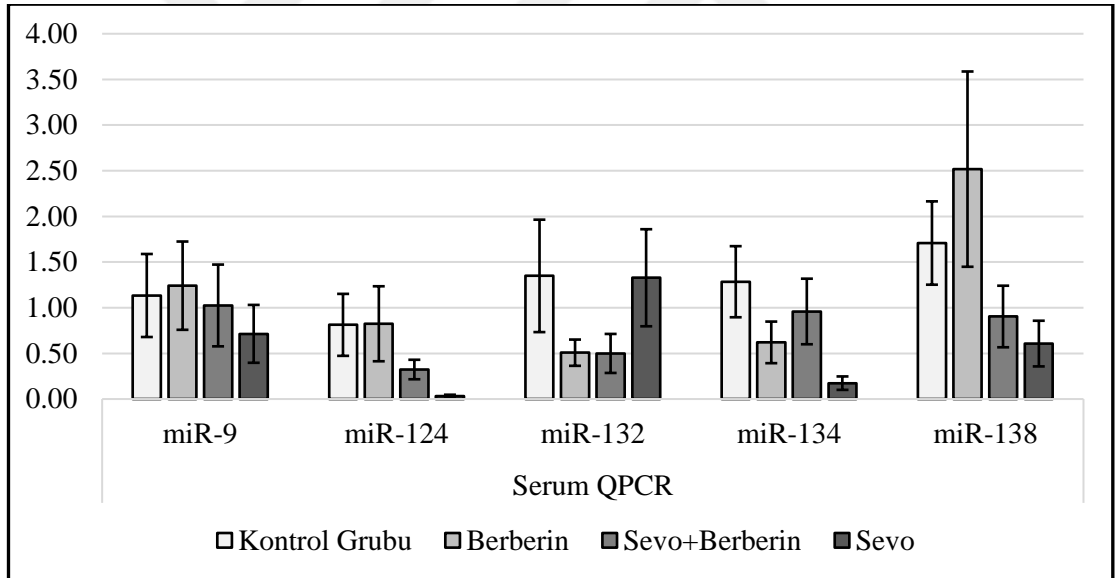
<sup>A</sup> ANOVA

<sup>1</sup> Kontrol grubu ile fark  $p<0.05$ , <sup>2</sup> Berberine grubu ile fark  $p<0.05$

<sup>3</sup> Sevo + Berberine grubu ile fark  $p<0.05$ , <sup>4</sup> Sevo grubu ile fark  $p<0.05$



Şekil 4.14. Grupların serum qPCR ve BDNF değerleri



Şekil 4.15. Grupların serum qPCR değeri ve miRNA karşılaştırması

## 5. TARTIŞMA

Sevoflurane ameliyat sırasında yaygın olarak kullanılan bir inhalasyon anesteziktir. Bir inhalasyon anestezik olan Sevoflurane'a maruz kalmanın deneysel hayvan modellerinde bilişsel işlev bozukluğuna yol açtığı gösterilmiştir (4). Sevoflurane, nöronal apoptozu indükleyebilir ve ortaya çıkan nörotoksisite, yaşlılarda bilişsel bozulma ve Alzheimer hastalığına neden olur (7). Sevoflurane inhalasyonu oksidatif strese neden olup hipokampal nöronlarda artmış apoptozu tetikler. Eşlik eden öğrenme ve hafıza bozukluğu ve BDNF ekspresyonunda önemli azalma meydana gelebilir. Doğal bir ürün olan berberine izokinin tuz alkaloidleri grubundan bir kuaterner amonyumdur. Bitkideki ana bioaktif parçalar Berberis, altın mühür (*Hydrastis canadensis*) ve *Coptis chinensis* gibi bileşenlerdir.

Pu ve ark. (67) 56 berberine verilen sıçan ve 50 kontrol grubundan oluşan sıçanlarda yapmış oldukları çalışmalarında streptozosinle diyabetes mellitus oluşturulmuş sıçanlarda görülen depresyonun berberine verilen sıçanlarda sonuçlarına bakılmış olup çalışmamıza benzer şekilde hipokampusta biriken berberinin, BDNF ekspresyonunu artırdığını ve oksidatif stresi iyileştirdiğini göstermişlerdir.

Wang ve ark. çalışmasında (68) B6C3-Tg (APP<sup>swe</sup>PSEN1<sup>dE9</sup>)/Nju farelere 100 mg/kg/gün berberine 3 ay oral gavaj ile verilmiş olup değerlendirme sonucunda öğrenme ve hafıza işlevinin arttığı, solubl A $\beta$ 1-42 seviyelerinin düştüğü, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 (mRNA ve protein seviyeleri) düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Reaktif glial hücre belirteçleri olan glial fibriler asidik protein (GFAP) ve iyonize kalsiyum bağlayan adaptör molekül-1 (IBA1) düzeyinin düştüğü izlenmiştir. Bu çalışmada transgenik AD (Alzheimer hastalığı) fare (B6C3-Tg (APP<sup>swe</sup>PSEN1<sup>dE9</sup>)/Nju çift transgenik fareler) modelinde, fareler 3 ay boyunca aşağıdaki tedavilerle dört gruba ayrılmış olup kontrol, 100 mg/kg/gün berberine, 200 mg/kg/gün kurkumin ve 100 mg/kg/gün berberine artı 200 mg/kg/gün kurkumin şeklinde grupları belirlemiştir. Berberine ve kurkuminin tek başına veya kombine tedavisi, inflamatuvar ve oksidatif yanıtı azaltmış olup yalnızca kombinasyon tedavisi, korteks ve hipokampus A $\beta$ 1-42 seviyelerini önemli ölçüde düşürmüştür. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak 3 ay boyunca berberine uygulanmış olup anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise berberine Sevoflurane inhalasyon anestezik maruziyetinden 1 hafta önce uygulanmaya başlanmış olup maruziyet sonrası devam edilmemiştir, bu

çalışmaya göre daha kısa süre uygulanmıştır. Berberine ve kurkumin kombinasyonda antiinflamatuvar ve antioksidatif etki anlamlı bulunmuşken tek başına berberinin etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda berberine tek başına uygulanmış olmakla beraber berberine uygulanan grupta antioksidan özelliği olduğu bilinen BDNF düzeyinin anlamlı yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Başka bir çalışmada Morris su tankı testinde kontrol, berberine ve kombinasyon gruplarında 2., 3., 4. ve 5. günlerdeki latans süreleri 1. güne göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (69). Ağır metal uygulaması, kontrole kıyasla Morris su tankı testinde önemli bir öğrenme ve hafıza eksikliği göstermiştir. Berberine (50 mg/kg) ile tedavi ağır metallerin neden olduğu öğrenme bozukluğuna karşı önemli bir koruma gösterdiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da aynı doz berberine uygulanmış olup benzer şekilde kontrol ve tek başına berberine grupları arasında anlamlı bir fark saptanmadığı sonucuna varılmıştır.

Boccardi ve ark. (70) 80 yaş ve üzeri insanlarda yapılan çalışmada Alzheimer hastalığı olan hastaların kanlarında, kontrollere kıyasla miR-138, miR-21, miR29-b, miR-122 ve miR-138'nin azaldığı görülmüştür. Başka bir çalışmada 55 yaş ve üzeri insanlarda yapılan çalışmada Alzheimer hastalığı tanısı olan hastalarda miR-138, miR-29a, miR-126, miR-101, miR-181c, miR-137 ve miR-29b dahil olmak üzere yedi potansiyel miRNA'nın konsantrasyonlarını değerlendirmişlerdir (71). Normal kontrollerle karşılaştırıldığında miR-29a ve miR-101'in Alzheimer hastalığı tanısı olan hastalarının periferik kanında belirgin bir şekilde düştüğü gözlemlenmiş olup diğer miRNAlarda değişiklik olmamıştır. Bizim çalışmamızda da serumda gruplar arasında miR 9 seviyelerinde anlamlı farklılık bulunmamaktadır.

Diğer bir çalışmada farelerin beyin ve dalak dokularında miR-331'in ve beyin dokusunda miR-138'un AD tanısı olan hastalarının erken evresinde önemli ölçüde azaldığını, geç evresinde daha yüksek ekspresyon seviyeleri gösterdiğini ortaya koymuştur (72). Literatürdeki önceki çalışmalarla uyumlu olarak, geç aşamadaki Alzheimer hastalığı tanısı olan farelerde olduğu gibi, çalışmamızda dahil edilen sıçanların daha yüksek miR-138 ekspresyon seviyesine, artmış aktif mikrogliaya ve daha düşük nöronal hücre sayısına sahip olduğu belirlenmiştir. MiR-138'un işlevinin iki yönü olabilmektedir. MiR-138 ekspresyon düzeyi Alzheimer hastalığı tanısı olan farelerinde geç evrede yükselir, mikrogliayı aktive ederek nöronal hücre ölümüne yol

açabilirken erken evrede azaldığı görülmektedir. MiR-138 un erken evrede azalması bizim çalışmamızda da sıçanlardaki hipokampus qPCR sonuçları incelendiğinde Sevoflurane uygulanan grup ile uyumlu olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda MiR-138 frontal lob ve hipokampuste Sevoflurane ile baskılanmış, fakat Sevoflurane ve berberine alan grubun anlamlı olarak Sevoflurane'dan daha çok miR-138 exprese ettiği görülmüştür. Bu durum hakkında Sevoflurane'ın bozduğu nörogenез ve oluşturduğu dejenerasyonun berberine etkisi ile miR-138 artışı ile düzeldiği düşünülmüştür.

MiR-138'ün beynin hücre proliferasyonu ve farklılaşması, göç, bellek oluşumu, hücre apoptozu ve beyin dejeneratif hastalıkları gibi birçok yerde çok yönlü olduğunu bilinmektedir. MiR-138ün, Lhx2i baskıladığı için, gelişmekte olan retinada apoptozun önlenmesi ve hipokampal nöronların uygun aksonal gelişimi için gerekli olduğu bildirilmiştir (73) Konjenital hipotiroidizm modelinde, hipotiroidili neonatal sıçanların belirgin büyüme geriliği gösterdiği, beyindeki miR-138 seviyesinin normal kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu ve hipokampal TUNEL-pozitif hücrelerin anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur, bu sonuç miR-138'ün azalmasının apoptotik hücrelerin artmasıyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir. MiR-138'ün hipotiroidizmde Bax ve Kaspaz-3 ekspresyonunu azaltarak ve Bcl-2 ekspresyonunu artırarak nöronları apoptozdan korumasının olası mekanizma olabileceğini doğrulamıştır (74). Bizim çalışmamızda da MiR 124 ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığı Sevoflurane grubunda yapılan TUNEL boyamada apoptotik hücrelerin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir.

Dutta ve ark. çalışmalarında (75) morris su tankı testi ile, miR-138 ekspresyonunu inhibe eden farelerin daha iyi hafıza ve çalışma hafızası elde edebildiğini göstermiştir. Bizim çalışmamızda miR 124 ün inhibe olduğu Sevoflurane grubu ile diğer gruplar arasında yapılan morris su tankı testinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir.

Farelerde miR-138'ün silinmesi, bilişsel bozukluğa yol açar ve bu farelerin nöronları, A $\beta$  stimülasyonu tarafından indüklenen apoptoza karşı daha duyarlıdır. Alzheimer ve Parkinson hastalarının beyin dokusunda ve plazmasında miR-138 ekspresyonu azalmıştır. Angelopoulou ve ark. çalışmasında (76) miR-138'ün, amiloid prekürsör proteinin bir parçalayıcı enzimi ve  $\beta$ -amiloid üretiminin önemli bir

düzenleyicisi olan BACE1/beta sekretazın ekspresyonunu düzenleyerek Alzheimer hastalarında hücrel modellerinde nöron hücresi ölümünü inhibe ettiğini göstermiştir. Hafez ve ark ise çalışmalarında (77) hayvan modellerinde doğal astaksantin (ATX) aracılık ettiği nöroprotektif etki, miR-138 ekspresyon seviyesinin artmasıyla ilişkilidir. miR-138, asetilkolin, serotonin ve Nrf2'yi artırarak ve kolinesteraz aktivitesini azaltarak Alzheimer hastalığının semptomlarını iyileştirdiğini saptamıştır. Alzheimer hastalığında çeşitli yollardan miR-138'ün azalması daha zor öğrenme ve hafıza kaybı ile ilişkilendirilebilir. Bizim çalışmamızda hipokampuste Sevoflurane grubunda miR-138'ün azalmasının Sevoflurane+berberine grubu ile düzelmekte olduğu tespit edilmiştir.

MeCP2 (X'e bağlı metil-CpG bağlayıcı protein 2), çok işlevli bir epigenetik faktördür ve hipokampal nörogeniz dahil olmak üzere normal beyin gelişimi için önemlidir. MeCP2, miR132 tarafından düzenlenir. miR-138 aşırı artış olduğunda, MeCP2'nin azalma olur ve MeCP2'de miR-138 aracılı artışları tersine bloke eder (78). miR132'nin kendisi, ekspresyonu sırasıyla MeCP2 tarafından kontrol edilen bir nörotransmitter modülatörü olan BDNF tarafından indüklenirken, MeCP2'nin kaybı in vivo olarak BDNF ve miR132 seviyelerini azaltmıştır. MeCP2-BDNF-miR132, dengeyi sağlamak için beyindeki homeostaz düzenleyici ağını dengeleyen düzenleyici bir geri bildirim döngüsü oluşturur. Bizim çalışmamızda da hipokampal bölgede Sevoflurane grubunda miR-138'nin ve BDNF'in bu çalışmaya paralel azaldığı görülmüş olup, berberine ve Sevoflurane+berberine grubunda berberinin etkisiyle bu bozulmanın düzeldiği görülmüştür.

Nörotrofin aracılı sinaptik plastisite doğrudan miR132 ile ilgilidir. CAMP response element-binding protein (CREB), hipokampal spinogenezde miR-138 ekspresyonunu artırır. Hipokampal nöronlarda miR-138 ekspresyonunun azalması, hafızada yetersizliğe yol açan düşük CREB aktivitesi ile açıklanmaktadır (79). Çalışmamızda da hipokampal bölgelerde berberine grubunda miR-138'nin kontrol grubuna göre arttığı görülmüş olup miR-138 aracılı sinaptik plastisiteyi artırdığı düşünülmektedir.

Ana lokalizasyonu nöronların sinapto-dendritik bölgesi olan, beyne özgü bir mikroRNA olan MiR-138'ün, dendritik omurga gelişimini ve plastisiteyi negatif olarak düzenlediği öne sürülmüştür (80). Son araştırmalardan elde edilen bulgular,

miR-138'ün, Lim alanı içeren protein kinaz1 (LIMK1) gibi plastisite ile ilişkili proteinlerin miRNA'larını inhibe ederek bilişsel eksikliklere yol açacak şekilde hipokampal sinaptik plastisiteyi negatif olarak düzenlediğini de göstermiştir. Bizim çalışmamızda bu çalışmanın aksine MiR-138 berberine grubunda hipokampuste daha fazla bulunmuştur. Chang ve ark. çalışmasında (81) sıçan modellerinde, miR-138, elektroakupunktur ile azaldığı ve buna bağlı olarak iskemik felçten sonra sinaptik-dendritik plastisiteyi arttırmak için LIMK1 ekspresyonunun arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda serumda miR-138 ekspresyonu kontrol grubunda berberine grubuna göre daha yüksekti. Sevoflurane grubunda ise tüm gruplardan daha düşüktü. Sevoflurane+berberine grubu ile berberine grubu arasında ise anlamlı farklılık saptanmadı. Huang ve ark. çalışmasında (82) miR-138'ün aşırı ekspresyonunun, in vitro olarak oksijen-glikoz yoksunluğuna neden olduğu, nöron ölümünü artırdığını göstermişlerdir. Bu çalışmalara dayanarak Sevoflurane'in sinaptik dendritik düzeyde görevli miR-138'ü artırmadığı, miR-138'ün oluşturduğu nöranal hasara sebep olmadığı şeklinde yorumlanabilmektedir. Berberine grubunda plazmada miR-138'ü azalttığı gösterilirken, frontal ve hipokampuste kontrole göre yüksek olması bu konuda daha fazla araştırma yapılması ihtiyacını ortaya koymaktadır.

MiR-138, hipokampal nöronlarda dendritik spine boyutunu azaltmaktadır. MiR-138 ekspresyonunun artması minyatür eksitator postsinaptik akımlarda azalma meydana getirerek sinaptik iletimi azaltır (83). SIRT1, yaşlanma ile ilişkili olan metabolik, gen ekspresyonu ve genomik stabilite süreçlerinin ana düzenleyicisi olarak bilinmektedir. Liu ve ark. (84) yüksek miR-138 seviyelerinin SIRT1 mRNA translasyonunun baskılanmasına, gelişmekte olan kortikal nöronlarda akson büyümesinin inhibisyonuna ve in vivo yetişkin duyuşsal nöronların akson rejenerasyonunu negatif olarak etkilenmesine bağlı olduğunu vurgulamışlardır. Bizim çalışmamızda Sevoflurane grubunda hipokampus miR-138 değeri Sevoflurane+berberine ve berberine grubuna göre daha fazla bulundu. Bu sonuç Sevoflurane'in nöronal hasara yol açtığını düşündürmektedir. Li ve ark. yaptığı çalışmada (85) hafif kronik stres altında bulunan farelerde miR-138 ekspresyonu artan grupta depresif davranış paterninin arttığı gözlemlenmiştir. Nöron kültüründe artan miR-138'in SIRT1/PGC-1 $\alpha$ /FNDC5/BDNF yolu aracılığıyla BDNF'nin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da buna paralel olarak

Sevoflurane grubu hipokampuslerinde diğer gruplara göre miR-138 ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı artarken, Sevoflurane grubu hipokampuslerinde diğer gruplara göre BDNF'in istatistiksel olarak anlamlı azaldığı gösterilmiştir.

Nörotrofin ailesinin bir üyesi olan BDNF, TrkB'nin uyarılması yoluyla, MAPK/ERK ve PI3K yolları gibi çeşitli hücre içi sinyal kaskadlarının aktivasyonunu başlatır. Kortikal nöron kültürlerinde BDNF, miR-138 ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (86). MiR-138 ekspresyonu, birincil nöronların büyümesini artırır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya paralel olarak frontalde ve hipokampuste berberine gruplarında Sevoflurane grubuna göre BDNF ve miR-138 de istatistiksel olarak anlamlı artış mevcuttur. BDNF ve miR-138 arasındaki ilişki için çalışmamız önem arz etmektedir. Guo ve ark. çalışmasında (86), 16-18 aylık Sprague Dawley erkek sıçanlar %1,5 veya %2,5 Sevoflurane'in tek bir 4 saat veya günde 2 saat tekrarlı Sevoflurane inhalasyonuna maruz bırakılmış olup %1,5 Sevoflurane'in tek seferlik uygulamasının hiçbir etkisi görülmezken, tekrarlanan %1,5 Sevoflurane inhalasyonu ile BDNF düzeylerinin düştüğü tespit edilmiştir. Ji ve ark. (87) 22 aylık sıçanlara 3 gün süreyle 2 saatlik %1,5 izofluran inhalasyonu uygulamışlar ve hipokampal BDNF ekspresyonunda azalma olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda Sevoflurane düzeyi monitörize edilmemiş olmakla beraber aynı akım kullanılarak standardizasyon sağlanmaya çalışılmış olup ve tek seferlik olmak üzere sıçanlar 6 saat maruziyete bırakıldı. Bu çalışmalara göre sıçanlarımız daha yaşlı olup hem hipokampus hem frontal hem serumda Sevoflurane grubunda BDNF düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı azalma meydana gelmiştir.

Han ve ark. (88) laparoskopik kolesistektomi geçiren hastaları inceledikleri çalışmalarında 65 yaş üzeri insanlarda yapılan laparoskopik kolesistektomi sonrası bakılan serum BDNF konsantrasyonlarında her grupta artış gözlemlenmiştir. Anestezi uygulaması Sevoflurane ve remifenatil infüzyonu ile yapılmıştır. Bir çok hayvan çalışmasında inhale ve intravenöz anesteziklerin BDNF'yi serumda azalttığı gösterilmesine rağmen bu insan çalışmasında tam tersi bir durum söz konusudur ve BDNF ilgili çalışmalar insanlarda daha fazla yapılması gerekmektedir.

İntraoperatif hipotansiyonun farelerde sinaptik işlevi etkileyip etkilemediğini araştırmak için hipokampusta protein immüno-blotlama deneyleri ile sinaptofizin ve BDNF'nin ekspresyonlarının incelendiği bir çalışmada, Sevoflurane ile

hipotansifleşen farelerde BDNF düzeyinin azaldığı, fenilefrin verilerek hipotansiyonun düzeltildiği farelerde BDNF düzeyinin arttığı görülmüştür. Çalışmamızda intraoperatif olarak ortalama arter basıncı ölçülmemiş olup bu durum çalışmamızın kısıtlamalarından birisidir.

Lv ve ark. (89) çalışmasında erkek Sprague-Dawley fareleri (24 aylık) Sevoflurane anestezisi altında abdominal laparotomi yapılması planlanan sıçanlara cerrahi öncesi bir gün önce, 15 ve 30 gün sonra, nörolojik bozukluğu değerlendirmek için açık alan testi, yükseltilmiş labirent testi, yeni nesne tanıma, zorlu yüzme testi ve morris su labirenti testi kullanılmış olup yükseltilmiş labirent testinde cerrahi tedaviye maruz kalan hastaların açık kolda geçirdikleri süre kontrol grubu sıçanlara göre anlamlı olarak azaldığı sonucuna varmışlardır. Yeni nesne tanıma testinde, cerrahi grupta yeni nesne seçme oranını bozduğunu belirtmişlerdir. MST sonuçlarında gruplar arasında kaçış gecikmesi, eğitim aşamasında önemli bir etkileşim olmadığını ve test aşamasında (5.gün), cerrahiye maruz bırakılan fareler, kontrol grubu farelerine kıyasla platformu daha az sayıda geçtiğini cerrahi ve kontrol grupları arasında, hedef kadranda harcanan mesafe (bölgeye uzaklık) ve süre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Ek olarak, cerrahiye maruz bırakılan sıçanlar ile kontrol grubu arasında toplam mesafe (kümülatif süre) ve ortalama hız açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde; sıçan türü ve yaşı, Sevoflurane'ın bir kutuda verilmiş olması, yeni nesne tanıma testi, yükseltilmiş labirent testi ve morris su tankı testi kullanılmıştır. Bu çalışmada Sevoflurane maruziyetinin ne kadar sürdüğünden bahsedilmemiştir. Bizim çalışmamızda Sevoflurane %3 konsantrasyonda uygulanmış olup bu çalışmaya göre düşük konsantrasyonda uygulanmıştır. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde morris su tankı testi uygulamasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar görülmezken Sevoflurane'ın kaçış gecikmesinde 1,3 ve 4. Günlerde anlamlı olarak uzadığı sonucuna varılmıştır. Bu sürenin uzaması öğrenmenin bozulması ile ilişkili olduğundan diğer gruplara göre Sevoflurane'ın öğrenmeyi etkilediği ortaya konulmuştur ve abdominal kesi yapılmasının sonuçları negatif etkilediği düşünülmektedir. Morris su tankı testinde kullanılan suyun yara yerinde enfeksiyona sebep olabileceği göz önünde bulundurulmuştur. Benzer şekilde yeni nesne tanıma testinde de yeni nesne seçme oranı bizim çalışmamızda da berberine grubunda diğer

gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu şeklinde sonuçlar elde edilmiştir. Berberine alan grubun eski cismi tanıyıp yeniyle ilgilenmeye başlaması şeklinde yorumlanan bu test ile hafızaya berberinin iyi geldiği yönünde yorumlayabilmekteyiz. Yükseltilmiş artı labirent testine olan etkisi incelendiğinde bu çalışmanın aksine çalışmamızda gruplar arasında farklılık saptanmamıştır.

12 haftalık (200-250 gr) 60 adet erkek Wistar sıçanı ile kontrol, diyabetik kontrol, Sevoflurane anestezi, izofluran anestezi, diyabetik Sevoflurane anestezi, diyabetik izofluran anestezisi olmak üzere 6 grupta yapılan çalışmada %2.5 Sevoflurane ve %1.5 izofluran ile 2 saat anestezi uygulanmış olup 1 hafta sonra morris su tankı testi yapılmıştır. Diyabetik kontrol ve Sevoflurane anestezisi alan sıçanlarda değişiklik gözlemlenmezken, izofluran grubunda kontrol grubuna göre kaçış süresinde uzama görülmüş olup öğrenme ve hafızada zorluk gösterilmiştir (90). Diyabetik sıçanlarda İzofluran veya Sevoflurane ile anestezi uygulanan gruplarda, normal kontrol sıçanlara kıyasla hedef kadranda geçirilen sürede azalma görülmüştür. Bu çalışma bizim çalışmamızdan farklı olarak inhalasyon anestezi maruziyetinden morris su tankı testini 1 hafta sonra başlatmıştır. Bizim çalışmamızda Sevoflurane maruziyetinden 1 gün sonra test uygulaması başlatılmıştır. İzofluranın öğrenmeyi Sevoflurane'a göre daha çok etkilediği de gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer kaçış süresinde Sevoflurane grubunda istatistiksel olarak anlamlı uzama olduğu görülmüştür.

Callaway ve ark. çalışmasında (91) 35 erkek Sprague Dawley sıçan 8-10 haftalık,  $n = 20$  ve  $n = 15$ , 19-21 aylık sıçanlar kullanılarak yapılan Anestezi grubundaki sıçanlar ( $n = 10$  genç yetişkin,  $n = 8$  yaşlı), 3-4'lü gruplar halinde Sevoflurane (%5) ile doldurulmuş anestezi kutuda yaklaşık 1-2 dakika bilinçsiz kalana kadar yerleştirerek maruziyet sağlanmıştır. Anestezi maruziyetten 1,4 ve 12 hafta sonra morris su tankı testi yapıldı ve 4 saat boyunca 1 MAK Sevoflurane'a maruz bırakılan genç sıçanlar, maruz kaldıktan 1 hafta sonra test edildiklerinde kontrol grubuna göre sıçanlara göre önemli ölçüde daha hızlı gizli platformu bulabildiklerini göstermişlerdir. Sıçanlar maruziyetten 4 hafta sonra yeni bir platform pozisyonuyla yeniden test edildiğinde yine kontrol grubuna göre platformu daha hızlı buldukları, ancak 12 hafta sonra uygulandığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç olmadığı gösterilmiştir. Genç yetişkin farelerde olduğu gibi, yaşlı farelerde Sevoflurane

maruziyeti de kontrol grupları ile karşılaştırıldığında gizli platformu bulmak için önemli ölçüde daha hızlı bir gecikme olduğu sonucuna varılmıştır . Yaşlı sıçanlarda Sevoflurane sonrası 4. ve 12. Haftada yeni bir platform test edildiğinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülememiştir.

Bizim çalışmamızda; davranış testleri incelendiğinde yapılan çalışmalardaki sonuçlara benzer istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır, çalışmamızın limitasyonları olarak belirtmekteyiz ki genel anestezi sırasında ortalama arter kan basıncı ve Sevoflurane MAK monitorizasyonu yapılamamış olması ve Sevoflurane anestezisi sırasında 6 saat boyunca sıçanlara izotonik ile sıvı idamesi uygulanmamış olmasıdır. Bu nedenle 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlenememiştir. Sevoflurane ile ilgili yapılmış olan benzer çalışmalarda kontrol grubu ile de fark bulunmuşken bizim çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda yapılan morris su tankı testi sonuçları incelendiğinde 2. günde kümülatif sürenin Sevoflurane grubu ve Sevoflurane+berberine grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak fazla olduğu gösterilmiştir.

Rammes ve ark. çalışmasında (92) in vitro olarak CA1 hipokampal nöronlarda ve farelerde 2 saat süreyle 1 MAK (% 1,3 hacim) izofluran ile anesteziden 24 saat sonra modifiye hole testinde hipokampal bağımlı bilişsel performansı iyileşmiş olduğunu ve NMDA reseptörü 2B nin hipokampuste seçici yükseldiği gösterilmiştir. Sevoflurane da, tüm uçucu anestezikler gibi N-metil-d-aspartat reseptörlerini uyardığından, bilişsel performansı artırmak için ilerleyen süreçte yapılacak olan çalışmalar için benzer bir mekanizma üzerinden etkilerinin araştırılması uygun olacaktır.

Chen ve ark. çalışmasında (93) erkek Sprague Dawley 18 aylık sıçanlar, 2 saat boyunca %3 Sevoflurane inhalasyon anestezisi uygulamışlar ve sıçanlara %3 NaOH (0.01 M) içeren fosfat tamponlu salin içinde çözülmüş berberine gibi bir flavanoid olan Chrysin 25, 50 ve 100 mg/kg/gün dozlarında 7 gün boyunca gavaj ile uygulanmıştır. Sıçanların kaygı davranışlarını ölçmek için yapılan yükseltilmiş artı labirent testinde; Sevoflurane anestezisinin sıçanlarda merkezde kalma süresinin arttığı, distal açık kollarda kalma süresinin azaldığı, ancak Chrysin alan sıçanlarda doza bağımlı bir şekilde anksiyeteyi önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermişlerdir. Sevoflurane anestezisinin yeni nesne tanıma testinde yeni nesne seçim oranında keskin bir düşüş

olduğunu vurgulamışlardır. Ancak yedi gün boyunca sürekli uygulanan Chrysin tanıma indeksini düzelttiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak Sevoflurane maruziyetinden sonra chrysin uygulaması yapılmıştır. Çalışmamızda berberine Sevoflurane maruziyetinin öncesinde 7 gün boyunca verilmiş olup yükseltilmiş artı labirent testinde gruplar arasında farklılık görülemedi, bu çalışmada ise Chrysin alan gruplarda Sevoflurane'in anksiyetede azalma. sağlanması Sevoflurane maruziyetinden sonra uygulanmış olması nedeniyle açıklanabilir. Flavanoidler stabil olmayan ve biyoyararlanımları düşük olan maddeler oldukları için bu tür davranış testlerini flavanoid takviyesinin hemen ardından yapmakta fayda olduğunu söyleyebiliriz. Bizim çalışmamızda da benzer olarak kontrol ve berberine grubunun Sevoflurane grubundan daha iyi yeni nesne seçim oranına sahip olduğu gösterilmiştir. Sevoflurane grubunun eski cismi hatırlamasında bozukluk olduğu ve yeni nesneye yönelemediği şeklinde yorumlanabilmektedir.

Zhang ve ark. çalışmasında (94) Sevoflurane anestezisinden sonra berberine gibi bir flavanoid olan luteolosidin uygulanan sıçanlarda hipokampustaki nöronların apoptozunu etkileyip etkilemediğini belirlemek için, hipokampusta TUNEL immünofloresansı yapılmış olup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Sevoflurane, hipokampusun CA1 ve DG bölgelerindeki apoptotik nöronların sayısını önemli ölçüde artırdığı ve luteolosid ön tedavisinin, Sevoflurane anestezisinin neden olduğu hipokampal nöronal apoptozu azalttığı gösterilmiştir. Luteolosid de berberine gibi bir flavanoiddir. Bizim çalışmamızdaki gibi luteolosid Sevoflurane maruziyetinden önce vermeye başlanmıştır. Bizim çalışmamızda tek doz 50mg/kg berberine uygulanmış olup farklı dozlarda berberine kullanılarak ve dozlar arasında karşılaştırma yapılarak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmaya benzer şekilde Sevoflurane maruziyetinden sonra yeni nesne seçme oranı bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Yeni nesne tanıma testinde kullanılan kutu bizim çalışmamıza göre daha büyüktür. Bizim çalışmamızda 30x30x40cm ebatları kullanılmıştır. Alanın geniş olması sıçanların seçme algılarını daha iyileştirebilir. Bizim çalışmamızda da TUNEL boyama kullanılarak apoptoz incelendiğinde hem kortekste hem hipokampusta berberinin Sevoflurane ile oluşan hasarı düzelttiği gösterildi.

Saha ve ark. çalışmasında (95) erkek Wistar sıçanlarında 6 hafta boyunca iki günde bir Pentilentetrazol (PTZ) (30 mg/kg) intraperitoneal uygulamasıyla epilepsi modeli oluşturmuşlardır. Üç farklı dozda berberine (50, 100 ve 200 mg/kg) ve nano-berberine (25, 50, 100 mg/kg) uygulayarak PTZ ile epilepsi oluşturulan sıçanlarda nöbet skoru, nöbet geçiren rat yüzdesi, histopatolojik skor, oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz açısından incelenmiştir. Nano-berberine grubundaki hayvanların hiçbirinde nöbet görülmemiştir. Çalışmada bu durumu Nano-berberinin, SOD, GSH gibi antioksidanların seviyelerini önemli ölçüde arttırmasıyla açıklamışlardır. Berberine verilen grupta ise SOD, GSH düzeylerini önemli ölçüde arttırmadığı sonucuna varmışlardır. Bu sonuçlar, Nano-berberine grubundaki sıçanların plazmasında elde edilen daha yüksek berberine konsantrasyonundan dolayı olabilir, berberine grubu ile karşılaştırıldığında Nano-berberinin daha iyi antioksidan özelliklerinin olduğunu göstermişlerdir. Biz çalışmamızda %0,9'luk izotonik salin ile karıştırıcı yardımıyla berberine hidroklorürü çözerek hemen işlemden önce taze olarak hazırladık. Her ne kadar histolojik olarak TUNEL boyama ile berberine grubunun Sevoflurane grubuna göre apoptozu istatistiksel olarak anlamlı azalttığı sonucuna varsak da, davranış testlerinde anlamlı bir fark bulamamızın nedeni berberine verilmesinden sonra geçen sürede plazmadaki hızlı metabolizması, eliminasyonunun yavaş olması, yarı ömrünün kısa olması sebebiyle yeterli düzeye ulaşamaması olabileceğini düşünmekteyiz. Yeni nano formülasyonlar ile oluşturulan berberine türevlerinin biyoyararlanımının daha iyi olması ile bu durumun önüne geçilmesi sağlanabilir. Nano-berberine ile yapılacak araştırmaların hem Sevoflurane'a göre hem kontrol grubuna göre daha anlamlı sonuçlar vereceği öngörülmektedir. Bizim çalışmamızda nano-berberine uygulanmamış olması dezavantaj olarak değerlendirilmiştir.

Guo ve ark. çalışmasında (86) 100 adet Sprague-Dawley türü, erkek sıçanlar kullanılmış olup sıçanların 48'ine tek Sevoflurane inhalasyon anestezisi, 52'sine tekrarlayan Sevoflurane inhalasyon anestezisi uygulanmıştır. Çalışmanın alt gruplarını kontrol, %1,5 Sevoflurane ve %2,5 Sevoflurane olarak belirlemişlerdir. Sevoflurane maruziyetinden 1 ve 4 hafta sonra yapılan Morris su tankı testi sonuçları incelendiğinde; kaçış süresi bir kez Sevoflurane inhalasyon verilen grupta birinci haftada tekrarlayan Sevoflurane inhalasyonu alan gruba göre daha düşük saptanmıştır.

Aynı değer dördüncü haftada bakıldığında yine Sevoflurane tek inhalasyon alan grupta daha düşük bulunmuştur. Alt gruplar incelendiğinde %2,5 Sevoflurane inhalasyonu alan grupta kontrol grubuna göre kaçış süresi hem birinci haftada hem de dördüncü haftada daha uzun tespit edilmiştir. Hipokampustaki piramidal hücrelerdeki BDNF ekspresyonuna bakıldığında tek inhalasyon ve tekrarlayan inhalasyon alan gruplarda kontrol grubuna göre BDNF ekspresyonu daha düşük bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bir kez 6 saat boyunca %3 Sevoflurane uygulanmış olup morris su tankı testi maruziyetten 1 gün sonra yapılmış ancak istatistiksel olarak gruplar arasında fark bulunamazken BDNF düzeyinde berberine ve Sevoflurane+berberine gruplarında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatürde Sevoflurane inhalasyonu sonrası postoperatif kognitif bozulmanın olduğuna dair birçok çalışmada, farklı mekanizmalar araştırılmıştır. Berberine'nin antioksidan ve antiinflamasyonu özellikleriyle ilgili çalışmalar mevcuttur. Klinik pratikte yaşlı hastalarda Sevoflurane anestezisi sonrası nörokognitif bozuklukların yaygın bir şekilde görüldüğünden dolayı anestezi öncesi berberine uygulamasının nöroprotektif etkilerini incelemek amaçlı yapmış olduğumuz bu deneysel çalışmada davranış testlerinde ve moleküler düzeydeki analizlerde farklı veriler elde edilmiştir. Dendritik uzanımları ve sinaptik aralığı düzenleyen, uzun süreli potansiyelizasyon üzerine etkileyerek hafıza ve öğrenmeyi regüle eden miRNA9, 124, 132,134 ve 138 ile BDNF'in hipokampal, frontal ve serum düzeyleri ölçüldüğünde Berberine'in Sevoflurane'in bozduğu etkileri düzelttiği gösterildi. Aynı şekilde TUNEL boyama ile hipokampus ve kortekste apoptotik indeksin ve hasar skorunun berberine gruplarında istatistiksel olarak anlamlı oranda azaldığı sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte davranış testlerinden Morris Su Tankı Testinde, Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemesi kliniğe yansımadağı şeklinde yorumlanmıştır.

Kliniğe yansımadağı için berberinin nano formulasyon şeklinde verilmesi, daha uzun süre uygulanması ve Sevoflurane maruziyetinden sonraki süreçte berberine uygulamasının devam edildiğı literatüre katkı sağlayacak çalışmalar yapılması gerekmektedir.

**KAYNAKLAR**

1. V. Erden, K. Erkalp, Z. Yangin, H. Delatioglu, S. Kiroglu, S. Ortaküz, B. Ozdemir, The effect of labor on Sevoflurane requirements during cesarean delivery, *Int. J. Obstet. Anesth.* 20 (2011) 17–21,
2. M. Satomoto, Y. Satoh, K. Terui, H. Miyao, K. Takishima, M. Ito, J. Imaki, Neonatal exposure to Sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice, *Anesthesiology* 110 (2009) 628–637,
3. Yi W, Li D, Guo Y, Zhang Y, Huang B, Li X (2016) Sevoflurane inhibits the migration and invasion of glioma cells by upregulating microRNA-637. *Int J Mol Med* 38(6):1857–1863
4. Xu H, Mei XP, Xu LX (2018) The effect of pre- and after-treatment of Sevoflurane on central ischemia tolerance and the underlying mechanisms. *J Dent Anesth Pain Med* 18(1):1–8
5. Kvolik S, Glavas-Obrovac L, Bares V, Karner I (2005) Effects of inhalation anesthetics halothane, Sevoflurane, and isoflurane on human cell lines. *Life Sci* 77(19):2369–2383
6. Muller-Edenborn B, Roth-Z'graggen B, Bartnicka K, Borgeat A, Hoos A, Borsig L, Beck-Schimmer B (2012) Volatile anesthetics reduce invasion of colorectal cancer cells through down-regulation of matrix metalloproteinase-9. *Anesthesiology* 117(2):293–301
7. Wang Y, Yin SW, Zhang N, Zhao P. High-concentration Sevoflurane exposure in mid-gestation induces apoptosis of neural stem cells in rat offspring. *Neural Regen Res.* 2018;13(9):1575–84.
8. Wu Z, Li X, Zhang Y, Tong D, Wang L, Zhao P. Effects of Sevoflurane Exposure During Mid-Pregnancy on Learning and Memory in Offspring Rats: Beneficial Effects of Maternal Exercise. *Front Cell Neurosci.* 2018;12:122.
9. Zhang J, Dong Y, Zhou C, Zhang Y, Xie Z. Anesthetic Sevoflurane reduces levels of hippocalcin and postsynaptic density protein 95. *Mol Neurobiol.* 2015;51(3):853 –63.

10. Esener (Kayhan) Z. Anesteziye Kullanılan Araç-Gereçler.Klinik Anestezi. Ankara Logos Yayıncılık; 2004. p. 136.
11. Baum J, Nunn G, Lawin P. Low flow anaesthesia: the theory and practice of low flow, minimal flow and closed system anaesthesia: Butterworth-Heinemann Medical; 2001.
12. Yıldırım A, Göksu H, Toprak Ç, Kılıç R, Yaşar M. İzofluran, desfluran ve Sevoflurane ile uygulanan düşük akımlı anesteziye, anestezi kalitesi ve güvenilirliğinin karşılaştırılması. Fırat Tıp Dergisi. 2006;11(3):170-4.
13. Baum JA. In: Tomatır E, editor. Düşük akımlı anestezi, minimal akımlı ve kapalı sistemli anesteziye kuram ve uygulama İstanbul: Nobek Tıp Kitapevleri; 2002. p. 190-200.
14. Higuchi H, Wada H, Usui Y, Goto K, Kanno M, T. S. Effects of probenecid on renal function in surgical patients anesthetized with low-flow Sevoflurane. Anesthesiology. 2001;Jan;94:21-31.
15. Edwards D A, Shah H P, Cao W, Gravenstein N, Seubert C N, and Martynyuk A E. Bumetanide alleviates epileptogenic and neurotoxic effects of Sevoflurane in neonatal rat brain. Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists. 2010;112(3):567-575.
16. Redhu S, Jalwal G K, Saxena M, and Shrivastava O. A comparative study of induction, maintenance and recovery characteristics of Sevoflurane and halothane anaesthesia in pediatric patients (6 months to 6 years). Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology. 2010;26(4):484.17.
17. Leung LS, Luo T. Cholinergic Modulation of General Anesthesia. Curr Neuropharmacol.2021;19(11):1925-1936.
18. Baxter Corporation. Sevoflurane Product Monograph: Sevoflurane USP, Liquid (for Inhalation). Date of Revision: February, 21, 2019. Mississauga, Ontario.
19. Evers A S, Crowder C M, and Balzer J R. Genel Anestezikler. Editör: Brunton L L, Çeviri: Süzer Ö. İçinde: Goodman Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009;341-368.

20. Denker Ç ve Tural B Z. İnhalasyon Anestezikleri Etki Mekanizmaları ve Komplikasyonları. Editör: Özatamer O, Batislam Y. İçinde: Anesteziye Güncel Konular II. Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2010; 25-44.
21. Preckel B and Bolten J. Pharmacology of modern volatile anaesthetics. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2005;19(3):331-348.
22. Montagrin A, Saiote C, Schiller D. The social hippocampus. *Hippocampus*. 2018 Sep;28(9):672-679.
23. Kogan, J. H., Frankland, P. W., & Silva, A. J. (2000). Long-term memory underlying hippocampus-dependent social recognition in mice. *Hippocampus*, 10, 47–56.
24. Ji, J., & Maren, S. (2007). Hippocampal involvement in contextual modulation of fear extinction. *Hippocampus*, 17, 749–758.
25. Jones, C. E., & Monfils, M.-H. (2016). Dominance status predicts social fear transmission in laboratory rats. *Animal Cognition*, 19, 1051– 1069
26. Scoville WB, Miller B. J. *Neurol. Neurosurg. Psychiatr.*, 1957, 20,11.
27. Szuhany, K.L.; Bugatti, M.; Otto, M.W. A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *J. Psychiatr. Res.* 2015, 60, 56–64. [
28. Knaepen, K.; Goekint, M.; Heyman, E.M.; Meeusen, R. Neuroplasticity-exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: A systematic review of experimental studies in human subjects. *Sports Med.* 2010, 40, 765–801.
29. Numakawa, T.; Odaka, H.; Adachi, N. Actions of Brain-Derived Neurotrophin Factor in the Neurogenesis and Neuronal Function, and Its Involvement in the Pathophysiology of Brain Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 3650.
30. Bartkowska, K.; Paquin, A.; Gauthier, A.S.; Kaplan, D.R.; Miller, F.D. Trk signaling regulates neural precursor cell proliferation and differentiation during cortical development. *Development* 2007, 134, 4369–4380

31. Edelman E, Cepeda-Prado E, Franck M, Lichtenecker P, Brigadski T, Leßmann V. Theta burst firing recruits BDNF release and signaling in postsynaptic CA1 neurons in spike-timing-dependent LTP. *Neuron*. 2015;86(4):1041–54
32. Mizui T, Ishikawa Y, Kumanogoh H, Lume M, Matsumoto T, Hara T, et al. BDNF pro-peptide actions facilitate hippocampal LTD and are altered by the common BDNF polymorphism Val66Met. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(23):E3067–74. 27. Schinder AF, Poo M. The neu
33. Elliott E, Atlas R, Lange A, Ginzburg I. Brain-derived neurotrophic factor induces a rapid dephosphorylation of tau protein through a PI-3 Kinase signalling mechanism. *Eur J Neurosci*. 2005;22(5):1081–9.
34. Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116(2), 281-297.
35. Bartel, D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136(2), 215-233.
36. Sun Q, Tripathi V, Yoon JH et al MIR100 host gene-encoded lncRNAs regulate cell cycle by modulating the interaction between HuR and its target mRNAs. *Nucleic Acids Res* 2018 Nov 2;46(19):10405-10416.
37. Mai Thi Nguyen, Wan Lee, Saturated fatty acid-inducible miR-103-3p impairs the myogenic differentiation of progenitor cells by enhancing cell proliferation through Twinfilin-1/F-actin/YAP1 axis, *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 10.4196/kjpp.2023.27.3.277, 27, 3, (277-287), (2023).
38. Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 15(8), 509-524.
39. Winter, J., Jung, S., Keller, S., Gregory, R. I., & Diederichs, S. (2009). Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol*, 11(3), 228-234.
40. Gündoğdu, R., & Çelik, V. (2009). RNA interferans (RNAi) Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 25 (1-2), 34 – 47.

41. Hitit, M., Kurar, E., & Güzeloğlu, A. (2015). MikroRNA Biyogenezi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 10(3), 211-218.
42. Gangaraju, V. K., & Lin, H. (2009). MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 10(2), 116-125.
43. Bioavailability of berberine: challenges and solutions
44. Berberine improves negative symptoms and cognitive function in patients with chronic schizophrenia via anti-inflammatory effect: a randomized clinical trial
45. Physicochemical Characterization of Berberine Chloride: A Perspective in the Development of a Solution Dosage Form for Oral Delivery
46. Berberine: Botanical Occurrence, Traditional Uses, Extraction Methods, and Relevance in Cardiovascular, Metabolic, Hepatic, and Renal Disorders
47. Research progress on berberine with a special focus on its oral bioavailability
48. Finkbeiner, S. The Autophagy Lysosomal Pathway and Neurodegeneration. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2020, 12, a033993. [CrossRef]
49. Habtemariam, S. Berberine pharmacology and the gut microbiota: A hidden therapeutic link. *Pharmacol. Res.* 2020, 155, 104722. [CrossRef] [PubMed]
49. Rezaee, R.; Monemi, A.; SadeghiBonjar, M.A.; Hashemzaei, M. Berberine Alleviates Paclitaxel-Induced Neuropathy. *J. Pharmacopunct.* 2019, 22, 90–94. [CrossRef] [PubMed]
50. Shang, X.F.; Yang, C.J.; Morris-Natschke, S.L.; Li, J.C.; Yin, X.D.; Liu, Y.Q.; Guo, X.; Peng, J.W.; Goto, M.; Zhang, J.Y. Biologically active isoquinoline alkaloids covering 2014–2018. *Med. Res. Rev.* 2020, 40, 2212–2289. [CrossRef] [PubMed]
51. Kong, Y.R.; Tay, K.C.; Su, Y.X.; Wong, C.K.; Tan, W.N.; Khaw, K.Y. Potential of Naturally Derived Alkaloids as Multi-Targeted Therapeutic Agents for Neurodegenerative Diseases. *Molecules* 2021, 26, 728. [CrossRef]
52. Aski, M.L.; Rezvani, M.E.; Khaksari, M.; Hafizi, Z.; Pirmoradi, Z.; Niknazar, S.; Mehrjerdi, F.Z. Neuroprotective effect of berberine chloride on cognitive

- impairment and hippocampal damage in experimental model of vascular dementia. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2018, 21, 53–58.
53. Shou, J.W.; Cheung, C.K.; Gao, J.; Shi, W.W.; Shaw, P.C. Berberine Protects C17.2 Neural Stem Cells From Oxidative Damage Followed by Inducing Neuronal Differentiation. *Front. Cell Neurosci.* 2019, 13,395. [CrossRef]
54. Sun, K.; Luo, Z.L.; Hu, C.; Gong, T.L.; Tang, G.H.; Wu, S.P. Protective effect and immune mechanism of berberine on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi* 2020, 36, 656–661. [PubMed]
55. Goldman, D. M. Berman & G. Cargnelli: On the mechanism of vasodilating action of berberine: possible role of inositol lipid signaling system. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1992, 261, 318–323
56. Zuo, F., Nakamura, N., Akao, T., Hattori, M., 2006. Pharmacokinetics of berberine and its main metabolites in conventional and pseudo germ-free rats determined by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition* 34 (12), 2064–2072.
57. Zhu, L., Zhang, D., Zhu, H., Zhu, J., Weng, S., Dong, L., et al. (2018). Berberine Treatment increases Akkermansia in the gut and improves high-fat diet-induced atherosclerosis in Apoe<sup>-/-</sup> mice. *Atherosclerosis* 268, 117–126.57. Bova, S., R. Padrini, W.
58. Chiou, W., M. H. Yen & C. F. Chen: Mechanism of vasodilatory effect of berberine in rat mesenteric artery. *Eur. J. Pharmacol.* 1991, 204, 35–40.
59. Zhang, W., Xu, J. H., Yu, T., and Chen, Q. K. (2019). Effects of berberine and metformin on intestinal inflammation and gut microbiome composition in db/db mice. *Biomed. Pharmacother. = Biome. Pharmacother.* 118:109131
60. Tian, Y., Cai, J., Gui, W., Nichols, R. G., Koo, I., Zhang, J., et al. (2019). Berberine Directly Affects the Gut Microbiota to Promote Intestinal Farnesoid X Receptor Activation. *Drug Metab. Dispos.* 47 (2), 86–93.
61. Sun, R., Yang, N., Kong, B., Cao, B., Feng, D., Yu, X., et al. (2017). Orally Administered Berberine Modulates Hepatic Lipid Metabolism by Altering

- Microbial Bile Acid Metabolism and the Intestinal FXR Signaling Pathway. *Mol. Pharmacol.* 91 (2), 110–122
62. Shi, Y., Hu, J., Geng, J., Hu, T., Wang, B., Yan, W., et al. (2018). Berberine treatment reduces atherosclerosis by mediating gut microbiota in Aop<sup>e</sup>-/- mice. *BioMed. Pharmacother.* 107, 1556–1563.
  63. Ruan, H., Zhan, Y. Y., Hou, J., Xu, B., Chen, B., Tian, Y., et al. (2017). Berberine binds RXR $\alpha$  to suppress beta-catenin signaling in colon cancer cells. *Oncogene* 36 (50), 6906–6918.
  64. Qin, C., Zhang, H., Zhao, L., Zeng, M., Huang, W., Fu, G., et al. (2018). Microbiota transplantation reveals beneficial impact of berberine on hepatotoxicity by improving gut homeostasis. *Sci. China Life Sci.* 61 (12), 1537–1544.
  65. Habtemariam, S. (2016). Berberine and inflammatory bowel disease: A concise review. *Pharmacol. Res.* 113 (Pt A), 592–599. d
  66. Eissa, L. A., Kenawy, H.II, El-Karef, A., Elsherbiny, N. M., and El-Mihi, K. A. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of berberine attenuate hepatic fibrosis induced by thioacetamide injection in rats. *Chem. Biol. Interact.* 294, 91–100.
  67. Wang J, Yu Z. Insights into prevention mechanisms of bioactive components from healthy diets against Alzheimer's disease. *J Nutr Biochem* 2023 Jun 8;119:109397.
  68. Zhang JY, Yang HZ, Su H et al. Berberine and Ginsenoside Rb1 Ameliorate Depression-Like Behavior in Diabetic Rats. *Am J Chin Med* 2021;49(5):1195-1213.
  69. Hussein HM, Elmegied AA, Ghareeb DA. Neuroprotective effect of berberine against environmental heavy metals-induced neurotoxicity and Alzheimer's-like disease in rats. *Food Chem Toxicol* 2018 Jan;111:432-444.
  70. Boccardi V, Poli G, Cecchetti R, Bastiani P, Scamosci M, Febo M, Mazzon E, Bruscoli S, et al. miRNAs and Alzheimer's Disease: Exploring the Role of

- Inflammation and Vitamin E in an Old-Age Population. *Nutrients*. 2023 Jan 26;15(3):634.
71. Chen ML, Hong CG Inhibition of miR-331-3p and miR-9-5p ameliorates Alzheimer's disease by enhancing autophagy. *Theranostics* 2021; 11(5): 2395-2409.
  72. Abuelezz NZ, Nasr FE, AbdulKader MA, Bassiouny AR, Zaky A. MicroRNAs as potential orchestrators of Alzheimer's disease-related pathologies: insights on current status and future possibilities. *Front Aging Neurosci*. 2021;13: 743573.
  73. Sanuki A, Ohtsuka T, Ishibashi M, Gradwohl G, Nakanishi S, Guillemot F, Kageyama R (1999) Hes1 and Hes5 as notch effectors in mammalian neuronal differentiation. *Embo J* 18(8):2196–2207.
  74. Shao J, Yu JY, Chung KH, Deo M, Thompson RC, Turner DL (2008) MicroRNA miR-124 regulates neurite outgrowth during neuronal differentiation. *Exp Cell Res* 314(14):2618–2633.
  75. Dutta F, Akerblom M, Sachdeva R, Barde I, Verp S, Gentner B, Trono D et al (2012) MicroRNA-124 is a subventricular zone neuronal fate determinant. *J Neurosci* 32(26):8879–8889.
  76. Angelopoulou E, Paudel YN, Piperi C (2019) miR-124 and Parkinson's disease: a biomarker with therapeutic potential. *Pharmacol Res* 150:104515.
  77. Hafez HA, Kamel MA, Osman MY, Osman HMY, Elblehi SS, Mahmoud SA (2021) Ameliorative effects of astaxanthin on brain tissues of Alzheimer's disease-like model: cross talk between neuronal-specific microRNA-124 and related pathways. *Mol Cell Biochem* 476(5):2233–2249.
  78. Pejhan, S.; Del Bigio, M.R.; Rastegar, M. The MeCP2E1/E2-BDNF-miR132 Homeostasis Regulatory Network Is Region-Dependent in the Human Brain and Is Impaired in Rett Syndrome Patients. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020, 8, 763.
  79. Klein, M.E.; Liroy, D.T.; Ma, L.; Impey, S.; Mandel, G.; Goodman, R.H. Homeostatic regulation of MeCP2 expression by a CREB-induced microRNA. *Nat. Neurosci.* 2007, 10, 1513–1514.

80. Shen, J., Li, Y., Qu, C., Xu, L., Sun, H., Zhang, J., 2019. The enriched environment ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors and cognitive impairment by activating the SIRT1/miR-134 signaling pathway in hippocampus. *J. Affect. Disord.* 248, 81–90.
81. Chang X, Tian Y. Environmental enrichment holds promise as a novel treatment for anesthesia-induced neurocognitive disorders. *Neurotoxicol Teratol.* 2022 Nov-Dec;94:107133.
82. Huang W, Liu X, Meng F. miR-134 regulates ischemia/reperfusion injury-induced neuronal cell death by regulating CREB signaling. *J Mol Neurosci.* 2015 Apr;55(4):821-9.
83. Bicker S, Lackinger M, Schrott G. MicroRNA-132, -134, and -138: a microRNA troika rules in neuronal dendrites. *Cell Mol Life Sci* 2014 Oct;71(20):3987-4005.
84. Liu CM, Wang RY, Saijilafu, Jiao ZX, Zhang BY, Zhou FQ (2013) MicroRNA-138 and SIRT1 form a mutual negative feedback loop to regulate mammalian axon regeneration. *Genes Dev* 27(13):1473–1483
85. M.H. Ji, L. Dong, M. Jia, W.X. Liu, M.Q. Zhang, L.S. Ju, et al., Epigenetic enhancement of brain-derived neurotrophic factor signaling pathway improves cognitive impairments induced by isoflurane exposure in aged rats, *Mol. Neurobiol.* 50 (2014) 937–944
86. Shanbin Guoa , Lidan Liub , Cong Wangb , Qian Jiangb , Yunxia Dongb , Yue Tianb. Repeated exposure to Sevoflurane impairs the learning and memory of older male rats. *Life Sciences* 192 (2018) 75-83.
87. Li C, Wang F, Miao P, Yan L, et al. miR-138 Increases Depressive-Like Behaviors by Targeting SIRT1 in Hippocampus. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2020 Apr 9;16:949-957.
88. Han M, Wu X, Li J, Han S, Rong J. Effects of Remote Ischemic Preconditioning on Postoperative Cognitive Dysfunction in Elderly Patients

with Laparoscopic Cholecystectomy. *International Journal of General Medicine* 961-971.

89. Lv JM, Zhang LM, Wang JX, Shao Jj, et al. Abdominal surgery plus Sevoflurane exposure induces abnormal emotional changes and cognitive dysfunction in aged rats. *Behav Brain Res* 2023 Mar 28;442:114328.
90. Abdelkareem E, Tayee EM, Taha AM, Abdelellatif MS. Effect of Sevoflurane and Isoflurane on Post-Anaesthesia Cognitive Dysfunction in Normal and Type II Diabetic Rats. *Arch Razi Inst.* 2023 Feb 28;78(1):151-159.
91. Callaway JK, Jones C, et al. Sevoflurane anesthesia does not impair acquisition learning or memory in the Morris water maze in young adult and aged rats. *Anesthesiology* 2012 Nov;117(5):1091-101.
92. Rammes G, Starker LK, Haseneder R, Berkmann J, Plack A, Zieglgänsberger W, Ohl F, Kochs EF, Blobner M: Isoflurane anaesthesia reversibly improves cognitive function and longterm potentiation (LTP) via an up-regulation in NMDA receptor 2B subunit expression. *Neuropharmacology* 2009; 56:626-36
93. Chen C, Zeng J, Luo B, Li S. Chrysin Attenuates Oxidative Stress to Alleviate Sevoflurane-Induced Cognitive Impairments in Aged Rats *Psychiatry Investig* 2023 May;20(5):430-438.
94. Zhang X, Li M, Yue Y, Zhang Y, Wu A. Luteoloside Prevents Sevoflurane-induced Cognitive Dysfunction in Aged Rats via Maintaining Mitochondrial Function and Dynamics in Hippocampal Neurons. *Neuroscience* 2023 Apr 15;516:42-53.
95. Saha L, Kumari P, Rawat K et al. Neuroprotective effect of Berberine Nanoparticles Against Seizures in Pentylentetrazole Induced Kindling Model of Epileptogenesis: Role of Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, and Anti-Apoptotic Mechanisms. *Neurochem Res* 2023 Jun 17.

