

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**Gebe Ratlara Gece Gündüz Sevofluran
Uygulanmasının Yenidoğan Ratlarda Öğrenme ve
Bellek Üzerinde Etkileri**

DR.FİDAN ZAMANOVA

UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2020

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKULTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON
ANABİLİM DALI

**Gebe Ratlara Gece Gündüz Sevofluran
Uygulanmasının Yenidoğan Ratlarda Öğrenme ve
Bellek Üzerinde Etkileri**

DR.FİDAN ZAMANOVA

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: PROF.DR. ALİ NECATİ GÖKMEN

İÇİNDEKİLER:

TEŞEKKÜR.....	I
TABLO LİSTESİ	II
ŞEKİL LİSTESİ	III
GRAFİK LİSTESİ.....	IV
RESİM LİSTESİ	V
KISALTMALAR	VI
ÖZET.....	1
SUMMARY	2
GİRİŞ VE ÖZET	3
GENEL BİLGİLER	
Genel Anesteziklerin Santral Sinir Sisteminde Etki Mekanizmaları.....	7
Sevofluran	11
Apoptoz	13
Kronobiyoloji ve Anestezi	18
Sirkadiyen Ritmin Anatomik Temelleri	19
Genel Anestezikler için Sirkadiyen Ritim	21
Davranış testleri	
Açık Alan Testi	22
Yükseltimil Artı Testi	23
Moris Su Labirenti Testi	25
GEREC VE YÖNTEM	
Anestezi düzeneği ve başlangıcı	27
Çalışma grupları	29
Davranış Testlerinin Yapılması	30
TARTIŞMA	40
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
KAYNAKLAR.....	48
EKLER Ek 1: ETİK KURUL İZİN BELGESİ	

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hekimlik sanatının ve anesteziyolojinin temel ilkelerini öğrendiğim değerli hocalarım, Sayın Prof. Dr. Erol Gökel'e, Sayın Prof. Dr. Semih Küçükgülü'ye, Sayın Prof. Dr. Ali Necati Gökmen'e, Sayın Prof. Dr. Bahar Kuvaki Balkan'a, Sayın Prof. Dr. Leyla İyilikçi Karaoğlan'a, Sayın Prof. Dr. Hasan Hepağuşlar'a, Sayın Prof. Dr. Ayşe Karcı'ya, Sayın Prof. Dr. Fikret Maltepe'ye, Sayın Prof. Dr. Sevda Özkardeşler'e, Sayın Prof. Dr. Uğur Koca'ya, Sayın Prof. Dr. Çimen Olguner'e, Sayın Prof. Dr. Bülent Serhan Yurtlu'ya, Sayın Prof. Dr. Volkan Hancı'ya, Sayın Doç. Dr. Ferim Güneç'e, Sayın Doç. Dr. Yüksel Erkin'e, Sayın Doç. Dr. Aydın Taşdöğen'e, Sayın Doç. Dr. Dilek Ömür Arça'ya, Sayın Doç. Dr. Elvan Öçmen'e, Doç. Dr. Şule Özbilgin'e, Sayın Doç. Dr. Hale Aksu Erdost'a, değerli bilgilerinden yararlandığım ve eğitimime katkıda bulunan uzmanlarımız Sayın Uzm. Dr. Nilay Boztaş'a, Sayın Uzm. Dr. İçten Ezgi İnce'ye, Sayın Uzm. Dr. Gül İnan'a, Sayın Uzm. Dr. Sibel Büyükçoban'a, Sayın Uzm. Dr. Mine Sarı'ya, Sayın Uzm. Dr. Zeynep Tuncer'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez araştırmamı yapmaya başladığım ilk günden bitimine kadar tüm çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen, destekleyen ve katkı sunan danışman hocam Prof. Dr. Ali Necati Gökmen'e,

Tez çalışmamın her aşamasında büyük bir sabır ve özveriyle katkıda bulunan ve deneysel uygulamasında bilgi ve deneyimlerini özveri ile paylaşan Sayın Uzm. Dr. Sibel Büyükçoban'a,

Uzmanlık eğitimi ve tez çalışmam sürecinde desteğini ve sevgisini her zaman hissettiğim Anesteziyoloji ve Reanimasyon ABD Sekreteri Emine Çetinkaya'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca beraber çalıştığımız tüm asistan arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük emekleri bulunan, her zaman yanımda olan, desteklerini ve sevgilerini hep hissettiren aileme,

Sevgi ve saygılarımla sonsuz teşekkür ederim.

FİDAN ZAMANOVA

TABLO LİSTESİ:

SAYFA No:

TABLO 1 Açık Alan Davranış Testi

35

TABLO 2 Yükseltilmiş Arti Davranış Testi

37

TABLO 3 Moris Su Labirenti Testi

38



ŞEKİL1 Genel anestezi ve eksitator mediatörler	9
ŞEKİL2 Nörotoksite ve volatil anestezi	16
ŞEKİL3 Talamus ve serebral kortekste apoptotik yollara anestezinin etkisi.	18
ŞEKİL4 Memeli sirkadiyen ritminin şeması.	20



RESİM LİSTESİ:

SAYFA No:

RESİM1	Açık alan davranış test alanı	23
RESİM2	Yükseltilmiş Artı Labirent Testi(YALT)	25
RESİM 3	Morris su labirenti test alan	26
RESİM 4	Yenidoğan dönemindeki sıçan yavruları	27
RESİM 5	Deney düzeneği	28



GRAFİK 1 Deney Grupları

30



KISALTMALAR:

NKH- Nörol Kök Hücre

SCN- Suprakiazmatik Nukleus

SSS-Santral Sinir Sistemi

GABA- γ -aminobutirik asid

NMDA- N-metil-D-aspartat

İPSA -İnhibitör postsinaptik akım

CA1 -Cornu Ammonis 1

MAC- Maksimal Alveolar

NGF -sinir büyüme faktörü

BDNF -beyin kaynaklı nörotrofik faktör

NT -nörotrofik faktör

Trk- Tropomiyozin reseptör kinaz reseptörleri

HT-5-hidroksitriptamin

NE-norepinefrin

NPY-nöropeptid Y

PVN- Paraventriküler nükleus

AADT –Açık Alan Davranış Testi

YALT- Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

MSLT-Moris Su Labirent Testi

ÖZET:

Gebe Ratlara Gece Gündüz Sevofluran Uygulanmasının Yenidoğan Ratlarda Öğrenme ve Bellek Üzerinde Etkileri

Dr.Fidan Zamanova, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,

Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı, İZMİR

Amaç: Anestezi uygulamalarında kullanılan bazı ilaçlar gelişmekte olan hayvan sinir sisteminde histopatolojik değişikliklere neden olur. Bu gözlemler anestezik ajanların gebe hastalarda kullanımlarıyla ilgili kaygılar ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmanın amacı sirkadiyen ritmin sevofluranın neden olduğu nörotoksisite üzerine olası etkilerini araştırmaktır.

Yöntem: Bizim çalışmamızda sekiz gebe rat randomize olarak önce iki gruba (gece ve gündüz) ayrıldı. Sonra tekrar kontrol ve sevofluran grubu olarak iki gruba ayrıldı. Böylece toplam dört grup oluşturuldu. Her gruptaki iki anne rattan bir akut biri kronik grup olarak adlandırıldı. Gece-sevofluran grubuna saat 21:00-23:00 saatlerinde, gündüz-sevofluran grubuna 09:00-11:00 saatlerinde 3,0% volüm sevofluran ve 6 L/dk %100 O₂ uygulandı. Gece-kontrol grubuna saat 21:00-23:00 saatlerinde, gündüz-kontrol grubuna 09:00-11:00 saatlerinde 6 L/dk %100 O₂ uygulandı. Her gruptaki iki anne rattan doğan yenidoğan ratlar çalışmaya alındı. Akut gruplar postpartum ilk gününde histopatolojik inceleme için Nestin Tünel testi ile nöroapoptosis açısından değerlendirilmesi planlandı. Kronik gruplar postnatal 28. Gününde Açık Alan Davranış Testi(AADT), Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (YALT) Moris Su Labirent Testi (MSLT) testleri uygulandı.

Bulgular: Gece-gündüz sevofluran uygulanan gebe ratlardan doğan ratlar arasında yapılan davranış testlerin sonuçlarında Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (YALT), Moris Su Labirent Testi (MSLT) anlamlı fark bulunmadı, Açık Alan Davranış Testi(AADT) anlamlı fark bulundu.

Sonuç: Gece sevofluran uygulanan gebe ratlardan doğan yenidoğan ratların anksiyete ve lokomotor duyusu üzerinde negatif etkisi gündüz sevofluran uygulanan gebe ratlardan doğan yenidoğan ratlara göre daha az olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Sevofluran, rat, Açık Alan Davranış Testi(AADT), Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (YALT) Moris Su Labirent Testi (MSLT)

SUMMARY:

Objective: Some drugs used in anesthesia practice cause histopathological changes in the developing animal nervous system. These observations have raised concerns regarding the use of anesthetic agents in pregnant patients. The aim of this study is to investigate the possible effects of circadian rhythm on neurotoxicity caused by sevoflurane.

Method: In our study, eight pregnant rats were randomly divided into two groups (day and night). Then they were again divided into two groups as control and sevoflurane group. Thus, a total of four groups were formed, two mother rats in each group were named as acute and one chronic group. 3.0% volume sevoflurane and 6 L / min 100% O₂ were administered to the night-sevoflurane group between 21:00 and 23:00 hours and to the day-sevoflurane group at 09:00 to 11:00 hours. 6 L / min of 100% O₂ was administered to the night-control group between 21:00 and 23:00 and to the day-control group at 09:00 to 11:00. Newborn rats born from two mother rats in each group were included in the study. Acute groups were planned to be evaluated in terms of neuroapoptosis with the Nestin Tunnel test for histopathological examination on the first day of postpartum. Open Field Behavior Test (OFT), Elevated Plus Maze Test (EPM) Moris Water Maze Test (MWM) tests were applied to chronic groups on the postnatal 28th day.

Results: No significant difference was found in the results of the behavior tests performed between rats born from pregnant rats who were administered day and night sevoflurane, Elevated Plus Maze Test (EPM), Moris Water Maze Test (MWM), and a difference with Open Field Behavior Test (OFT) was found.

Conclusion: The negative effects of newborn rats born from nocturnal sevoflurane on anxiety and locomotor sensation were found to be less than newborn rats born with daytime sevoflurane.

Keywords: Sevoflurane, rat, Open Field Behavior Test (OFT), Elevated Plus Maze Test (EPM), Moris Water Maze Test (MWM).

GİRİŞ:

Anestezik ajanların gelişmekte olan beyine nörotoksik etki yapma olasılığı, hastalar, ebeveynler ve klinisyenler için büyük önem taşımaktadır. Geleneksel olarak gebelerde genel anesteziğin güvenli olduğu bilinmesine karşın, deneysel çalışmalarda inhalasyon ajanların gelişimini tamamlamamış memeli beyinde toksik etkilerinin olabileceği bildirilmiştir. Anestezi uygulamalarında kullanılan bazı ilaçlar gelişmekte olan hayvan santral sinir sisteminde histopatolojik ve öğrenme-bellek üzerinde değişikliklere neden olmaktadır.¹ Yapılan çalışmalar, yenidoğan hayvanlarda erken beyin gelişiminin kritik hızlı büyüme safhasında anestezik ilaçların kullanılmasının, nörodejeneratif değişikliklere ve yetersiz öğrenmeye neden olabileceğini gösterilmiştir.² Özellikle tekrarlayan sevofluran uygulamalarında öğrenme bellek etkilendiğini gösteren çalışmalar mevcuttur.²

Dolayısıyla gebelerde ve çocuklarda anestezi uygulamasının yarar ve zarar oranlarının çok iyi belirlenmesi gerekmektedir. İnsanlarda gebeliğin 28. haftası ile postnatal 24. ayları arasındaki dönem beyin gelişiminin en hızlı olduğu dönemlerdir.³ Anesteziklerin nörotoksitesi özellikle bu dönemdeki ve 4. yaşın altındaki çocuklarda araştırılmaktadır.

Obstetrik anestezi uygulamaları; anne ve fetal organ sistemlerinin hemen tümünü etkileyebilen uygulamalardır. Anestezik ilaçların çoğu (opioidler, lokal anesteziğin, inhalasyon anesteziği) plasentayı kolaylıkla geçer. Günümüzde kullanılan inhalasyon ajanlarının fetüs üzerinde etkileri ve doğumdan sonra çocuğun büyümesi ve hatta öğrenme üzerine etkileri tam olarak açıklanamamıştır.⁴ Bu ajanların santral sinir sistemi üzerine etkilerinin tam olarak anlaşılması ve bilinmesi oldukça önemlidir.⁵

İntrauterin fetal cerrahi yöntemleri geliştikçe, ikinci trimester fetal cerrahi için tercih edilen bir dönem olmuştur. İntrauterin cerrahi işlemlerinde genellikle uzun süreli genel anestezi gerekmektedir.⁶

Sevofluran, klinik uygulamada en sık kullanılan inhalasyon anesteziğidir ve hamilelik sırasında ilk tercih edilen ajandır.⁷ Sevofloranın % 2 konsantrasyonu, cerrahi için gerekli olan

yeterli derinlikte anestezi sağlayan ve uterus gevşemesini koruyabilen en düşük inhalasyon konsantrasyonudur; Bununla birlikte, konsantrasyon %3.5'i aştığında, sevofluran, annenin kardiyovasküler sisteminde baskılanmasına ve fetüsün yaşamını tehlikeye sokacak dolaşım değişikliklerine neden olacaktır. Bu nedenle, klinik uygulamada % 2 ile % 3.5 konsantrasyonda sevofluran kullanılmaktadır. Ayrıca genel anestezi uygulaması, bebeklerde nörogelişimsel hasara ve bilişsel işlev bozukluğuna neden olabilir.⁸

Gebe kadınların anesteziye maruz kalma olasılıkları daha düşük olduğundan, maternal anestezi maruziyetinin fetüse etkisi üzerine yapılan çalışmaların çoğu, erken gebelikte anestezi ilaçların teratojenik etkilerine ve neonatal Apgar skoru ve asit-baz dengesi üzerindeki etkilerine odaklanmıştır.⁹

Günümüze kadar, maternal maruziyetin genel anesteziye maruz kalmasının uzun süreli nöro-davranışsal etkileri hakkında sınırlı sayıda çalışma vardır. Gebeliğin ikinci trimesterde % 1.4 izofluran (1.3 minimum alveolar konsantrasyonu) ile tek bir anestezi uygulamasına maruz kalmanın, yavrularda uzun süreli hafıza bozulmasına neden olduğü bildirilmiştir.^{10, 11}

Bununla birlikte, ikinci trimesterde sevofluran maruziyetinin uzun süreli etkileri konusunda yetersiz ve çelişkili bilgiler mevcuttur.¹²

Ratlarda sinirsel gelişme, insanlardakine benzer ve ratlarda 14 günlük gebelik, insanlarda ikinci trimestere eşittir. Her ne kadar nörogelişimsel zaman dilimi sıçanlar ve insanlar arasında farklılık gösterse de, gelişmekte olan hipokampüste nöral kökhücre (NKH) proliferasyonu ve apoptozu benzerdir.¹³

Nöro-embriyolojik açıdan bakıldığında, ikinci trimester sinir gelişiminde kritik derecede önemli bir dönemdir. Bu süre zarfında, NKH'lar beyinde bulunur. Nörogelişim, NKH'lerin çoğalması, farklılaşması, apoptozisi ve NKH göçü yoluyla elde edilen, karmaşık ve dinamik bir morfolojik ve işlevsel değişiklik sürecidir.¹⁴ Bu nedenle, NKH'lerin sayısı ve işlevsel durumu, nörogelişimsel süreci doğrudan etkilemektedir. Ayrıca, beyin gelişimi, bölgedeki çevresel ve ilaç etkileri ile kolayca değiştirilebilir. İkinci üç aylık dönemde kemirgenlerde, abdominal ultrasonografi gibi nispeten invazif olmayan bir uygulama bile nöronların kortekse göç etmesini önleyebilir.¹⁵ Ayrıca, birinci ve ya ikinci trimesterde maternal etanol alımı, embriyonik gelişim sırasında beyinde nöronal proliferasyon, göç ve kortikal formasyonu bozabilir, bu davranışsal anormalliklere neden olabilir.^{16, 17} Bu nedenle,

ikinci trimesterde anesteziğin kullanımı, NKH sayısını ve fonksiyonel durumunu etkileyerek davranışsal bozukluklara neden olabilir.

Anesteziğin ajanlara genel olarak baktığımızda bazı durumlarda hücre ölümüne neden olduğu açıktır. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda anesteziye bağlı nörogenezisin bozulduğu dendritik dallanmanın değiştiği, astroglial gelişimin bozulduğu, mitokondriyal dejenerasyon gibi değişikliklerin olduğu saptanmıştır.¹⁸

İnsanlarda genellikle genel anestezi sonrası, günün hangi zamanında olduğuna dair farkındalıklarında azalma, uyku ritminde bozulma ve yorgunluk şikayetleri ortaya çıkmaktadır. Bu değişikliklerin genel anesteziğin sirkadiyen ritim genlerini etkilemesi sonucu olabileceği ileri sürülmüştür. Memelilerde egemen olan sirkadiyen ritim, hipotalamusta suprachiasmatic nükleusta (SCN) lokalizedir. Normal günlük ışık döngüsünde 24 saat; 12 saat gündüz, 12 saat gece olarak düzenlenmektedir.¹⁹ Retinaya ışık gelmesi ile “retinohipotalamik yol” adı verilen bir sinir demeti üzerinden SCN aktive olmaktadır. Retinadaki ışık durumundan haberdar edilen SCN, diğer beyin bölgelerini uyararak canlının vücut ritimlerinin düzenlenmesini sağlamaktadır.²⁰ Sirkadiyen ritim organizmanın çevreye uyumuna yardım ederek uyku-uyanıklık düzeninin ayarlanmasından sorumlu olmasının yanı sıra; hücre döngüsü proteinleri, büyüme ve pıhtılaşma faktörleri, immün fonksiyon gibi pek çok genin ekspresyonunu düzenlemekte ve doku büyümesi, kan basıncının kontrolü, kalp atımı, kan şekerinin düzenlenmesi gibi önemli fizyolojik işlemler ile doku homeostazında kritik rol oynamaktadır.¹⁹

Gökmen ve ark. tarafından yapılan tez çalışmasında, gelişmekte olan ratlara uygulanan izofloran anestezi sonucunda oluşan nöronapoptotik etkinin uygulama zamanına (gece/gündüz) bağlı olarak değiştiğini, gece uygulamasının talamus paraventricüler nükleus, korteks ve hipokampus CA1 bölgelerinde daha az nöroapoptotik etki oluşturduğu histokimyasal olarak gösterilmiştir.²¹ Poulsen ve ark'ları. çalışmalarında, anesteziğin ajanlar ve sirkadiyen ritim arasındaki ilişkinin önemli ve güncel bir araştırma konusu olduğunu, bu ilişkinin açıklanması

ve moleküler yolların tanımlanması ile standart anestezi protokollerinin geliştirilebileceğini savunmaktadırlar.²²

AMAC

Gebe ratlara gece ve gündüz sevofluran uygulamasının yenidoğan ratlarda nörotoksisite, anksiyete, öğrenme ve bellek üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.



GENEL BİLGİLER:

Günümüzde çeşitli anestezi ajanları kullanılmaktadır. Kullanılan anestezi ajanlarının insanlar üzerindeki çoğu etkileri bilinmemekte, aynı zamanda bu ajanların neden olduğu bilinmeyen farklı etkiler sürekli olarak araştırılmaktadır. Obstetrik anestezide kullanılan anestezi ajanlarının gelişmekte olan santral sinir sistemine (SSS) etkileri halen en sık araştırılan konular sırasındadır. Kullanılan volatil anestezi ajanlarının beyin gelişimi ve öğrenme üzerine etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Anestezide kullanılan volatil ajanların gelişmekte olan SSS üzerindeki etkilerini bilmek, obstetrik anestezi uygulamalarını daha güvenli yapacaktır.

Genel Anestezilerin Santral Sinir Sisteminde Etki Mekanizmaları

Genel anestezi, ilaca bağlı geri dönüşümlü bir durumdur fizyolojik stabilitenin korunmasıyla birlikte bilinç kaybı, amnezi, antinosisepsizyon ve hareketsizlikten oluşur.

1847'de, eter anestezisinin ilk halka açık gösterisinden sadece 1 yıl sonra, Von Bibra ve Harless ilk genel anestezi mekanizması teorisini önerdiler. O zamandan beri, genel anestetiklerin bilinci ve diğer sinirsel işlevleri nasıl bastırdığını anlamak, anesteziyoloji alanında temel bilimsel soru olmuştur.²³

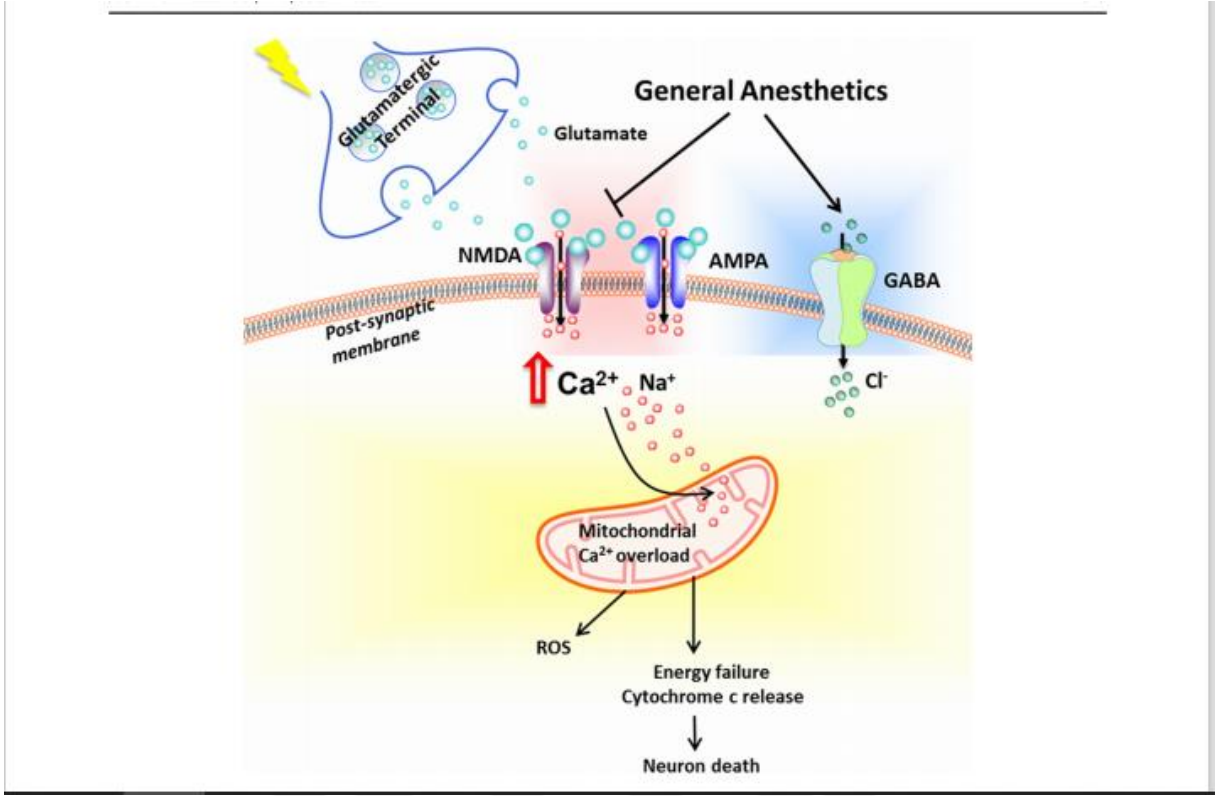
Daha fazla hücresel ve hayvan çalışması, GA'ların sitotoksik ve nörotoksik etkileri hakkında önemli ve ikna edici kanıtlar sağlamıştır. Dahası, insan dışı primatlar üzerine yapılan araştırmalar, kemirgen araştırmalarındaki sonuçlarla uyumlu olarak, ketamin, sevofuran veya izofurana erken yaşta maruz kalmanın bilişsel, yürütme, hafıza ve motivasyon temelli görevlerde kalıcı düşüşe yol açabileceğini ve kaygıyı artırabileceğini bulmuştur.²⁴

Ratlarla yapılan çalışmalarda anestezi ajanlarının rat beyinde (Şekil 1) ve özellikle hipokampus bölgesinde yaptığı değişiklikler sık olarak araştırılmıştır. Bunun nedeni, hipokampus bölgesinin SSS'de kullanılan anestezi ajanlarının sinaptik transmisyon üzerine etkilerinin en iyi gösterilebildiği bölge olmasıdır. Hipokampus afferent ve efferent yapılar, nörotransmitterler ve birçok katmandan meydana gelen (gyrus dentatus, hipokampus, fimbria hippocampi) limbik bir yapıdır. Aynı zamanda anestezi ajanlarının ana hedef bölgelerinden biridir.)²⁵

Hayvan çalışmaları, hipokampusta farmakolojik müdahale öğrenme yeteneği ve hafıza depolama kaybına neden olduğunu gösterdi.^{26, 27} Ek olarak, hipokampus ve prefrontal korteksde değişiklikler, yaşlanma sırasında kognitif fonksiyon ve hafızadaki bozukluklarla neden olur.²⁸

Hipokampüste, internöronlar içinde GABA ve onun sentezleyici enzimleri bulunur. Bu nöronların fonksiyonu eksitatör sinaptik akımların ve piramidal hücre deşarjının inhibisyonunu yapar.²⁹ Tüm nöron popülyasyonunun %10 nunu GABAerjik internöronlar oluşturur. Hipokampus ve diğer kortikal bölgelerdeki nöronal aktivitenin uyarılabilirliğinde ve senkronizasyonunda GABAerjik internöronlar önemli rol oynamaktadır.^{29,45} Bununla birlikte, cerrahi girişimlerde sık kullanılan anestezi ajanlarının global ve lokal beyin fonksiyonlarında rol oynayan inhibitör internöronlar üzerinde hücresele ve moleküler düzeyde etkileşimleri henüz tam olarak bilinmemektedir.²⁹

GABA, memeli SSS'sinde en bol bulunan inhibitör nörotransmitterdir. Nöronal ağ aktivitesinin GABA aracılı inhibisyonu, uyku başlangıcı temelini oluşturur. Propofol ve halojenli eterler gibi yaygın anestezi ilaçlar, kısmen GABA'nın etkisini artırarak bilinçsizliğe neden olur.³⁰ Spesifik anatomik kısıtlamalara sahip birçok nörotransmitter ve nöromodülatörün aksine, GABA sinyali kortikal ve subkortikal alanlar boyunca dağıtılır. Bu küresel bolluğa rağmen, GABA tip A reseptörleri (GABAAR'lar) beyin uyarımını kontrol etmekten daha fazlasını yapar ve aşırı aktiviteyi önler (örneğin, nöbetler).³¹



Şekil1. Genel anestezi ve eksitator mediatörler³²

GABA A Reseptör'ler, 5 alt birimden oluşan pentamerik proteinlerdir.³³ Tercih edilen alt birimi, farklı beyin bölgelerine özel olarak dağıtılmıştır. $\alpha 4$, $\alpha 5$ veya $\alpha 6$ alt birimlerini içeren alt birim kombinasyonları genellikle ekstra sinaptik konumlara lokalize olur.³⁴ Her bir GABAAR alt tipi farklı biyofiziksel ve farmakolojik özellikler sergilediğinden, bu reseptörler uyku ve anestezi için önemli beyin ağlarının işlevini çeşitli şekillerde etkiler. Örneğin, kemirgenden alınan beyin dilimi kayıtlarını kullanan deneyler talamus ve hipokampus, ekstrasinaptik GABAAR'ların anestezi ajanlarının etkilerine daha duyarlı olduğunu ortaya koymaktadır.³⁵ Muhtemelen anestezi uygulamasının kesilmesinden sonra, düşük seviyelerde anestezi talamik ve parahipokampal ağlarda normal ağ işlevini bozmaya devam ederek normal uyanma davranışı için gerekli olan bilişsel işlevlerin yeniden kurulmasını engeller (dikkat, çalışma belleği ve duyuşal bilgilerin entegrasyonu). Ayrıca, ex vivo beyin dilimi preparatlarında GABAAR'ları antagonize etmeye odaklanan farmakolojik araştırmalar, genel anestezi den çıkmayı hızlandırmak için yeni stratejiler belirleyebilir.³⁶ GABAAR'ların farmakolojik antagonizasyonu için birçok seçenek bulunmasına rağmen, nöbet oluşumuna yönelik endişe, bu alandaki araştırmaları anlaşılır bir şekilde engellemiştir.

Genel anestezipler SSS'de iki mekanizma üzerinden etki göstermektedirler.³⁷

1. GABAA reseptörleri yoluyla inhibisyonda artırmak yoluyla (benzodiyazepinler, barbitüratlar, propofol, etomidat, izofluran, enfluran ve halotan)

2. NMDA reseptörlerinin eksitasyonunda azalma yoluyla (ketamin, N₂O, xenon)

Volatil anestezipler ajanlar memeli SSS'nde nöronal aktiviteyi deprese eder ve GABAA reseptör-iyon kanal kompleksinden Cl⁻ akımının inhibisyonunu arttırlar. Ayrıca konsantrasyona bağımlı şekilde, spontan olarak, neokortikal nöronların aksiyon potansiyel ateşlemelerini deprese ederler.^{38,39}

Volatil anesteziplerin sinaptik GABAA reseptörleri üzerinde; 1- Decay Phase' da uzama 2- İnhibitör postsinaptik akım'ların (İPSA) pik amplitüdünün azalması 3- Glutamat salınımını inhibe etme gibi özellikleri bulunmaktadır.²⁹

Birçok çalışmada anesteziplerin, nöron kültürlerinde GABAA reseptörleriyle ilgili sinaptik akımları ve in vivo olarak cornu ammonis 1'deki (CA1) piramidal hücrelerde ve beyin kesitlerinde Decay Phase'ı uzattığı bulunmuştur.⁴⁰ İnhibitör akımların bu şekilde uzaması sinaptik inhibisyonun kuvvetlenmesi ve SSS'nin anesteziplere bağılı depresyonunun artması ile sonuçlanır. Literatürde, genel anesteziplerin hipokampüsteki etkilerinin, inhibitör nöronlar üzerinden olduğu gösterilmiştir.⁴⁰

Genel anestezipte kullanılan volatil anesteziplerin hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda çıkan sonuçlara göre öğrenme ve bellek üzerinde bozukluk, nörolojik defisit potansiyel nedenlerdendir.⁴¹

Sevofluran

Metil propil eterdir. Tamamen florlaşmış olmasına rağmen eter molekülündeki propil halkası nedeni ile desflurandan daha güçlüdür.⁴² İlk kez 1968'de ABD'de Regan tarafından sentezlenmiş ve 1990'da Japonya'da klinik kullanıma sokulmuştur.

Sevofluranın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Sevofluran flor ile halojenlenmiş bir inhale ajandır. ⁴³ Fluorometil-2,2,2- trifluoro-1-(trifluorometil) etil eter kimyasal formülüdür. Oda sıcaklığı ve basıncında, sevofluran renksiz, yanıcı ve patlayıcı olmayan, az veya hiç kokusuz bir sıvıdır

Oda sıcaklığında bir şişede stabil olarak saklanabilir ve neredeyse iki yıldan fazla süre boyunca bozulmadan kaldığı gösterilmiştir ⁴⁴. İzofluran, halotan ve enfluran gibi sevofluran yüksek kaynama noktası ve düşük buhar basıncı nedeniyle klasik vaporizatörlerde kullanılabilir. ⁴⁵ Sevofluran hızlı indüksiyon ve anestezi derinliğinin kontrolünü sağlayan, düşük çözünürlüğü sayesinde hızlı derlenmeye olanak veren potent bir inhale anesteziktir. ⁴⁶ Desfluran dışındaki diğer tüm anesteziklerden daha hızlı indüksiyon ve uyanma sağlayabilmektedir. Hızlı derlenme özelliği hastanın operasyon odası ve anestezi sonrası yoğun bakım ünitesinden hızlı taburculuğa olanak vermektedir. ⁴⁵ Sevofluran MAK değeri %2 olup buhar basıncı 160 mmHg (200C)' dir ⁴⁴

Sevofluranın Metabolizma ve Biyotransformasyonu

Sevofluran diğer florlanmış volatil anestezipler gibi organik ve inorganik florid metabolitlerine biyotransforme olur. Sitokrom p-450 sevofluran oksidasyonunu katalize eder.⁴⁷ Sitokrom p-450 karaciğer mikrozomal enzimi (özellikle 2E1 izoformu) sevofluranı halotana göre dörtte bir oranında metabolize eder (%5' e karşı %20). Fakat etanol veya fenobarbital tedavisi ile indüklenebilir.⁴⁷ Sevofluranın primer organik metaboliti heksafloroisopropanol (HFIP)' dir. HFIP (heksafloroizopropanol) tanımlanmış tek organik florür metabolitidir ve hızlıca glukronik asitle konjuge olur. Sevofluran karbondioksit absorbanıyla reaksiyon sonucu Compound A, B, C, D, E, F diye adlandırılan bileşiklerin oluşumuna yol açar. Compound A bileşiğinin sıçanlarda renal hasarı indükleyen kortikomedüller nekroza neden olduğunu gösterilmiştir.

Sevofluranın Santral Sinir Sistemine Etkisi

İzofluran ve Desfluranda olduğu gibi sevofluran da normokapnide serebral kan akımı ve kafa içi basıncın artmasına neden olur, fakat bazı çalışmalar serebral kan akımında azalma göstermişlerdir. Yüksek sevofluran konsantrasyonlarında serebral kan akımının otonöregülasyonu bozulabilir. Serebral metabolik oksijen ihtiyacı azalır ve nöbet aktivitesi bildirilmemiştir.⁴³

Pediyatrik, yetişkin ve yaşlı hastalarda postoperatif kognitif bozukluğu (POCD) ve postoperatif deliryum (POD) gibi davranışsal sonuçlara inhalasyon anestezisinin potansiyel etkisi de ilgi konusu olmuştur.⁴⁸

Klinik uygulama

Sevofluran, klinik kullanım için 1990 yılından beri kullanılan inhalasyon anestezisiğidir. İzofluran veya halotan gibi daha eski inhalasyon ajanlarına kıyasla sevofluranın en önemli özelliği kandaki düşük çözünürlüğüdür. Bu, 'eski' inhalasyon ajanlarına göre daha hızlı alım ve

indüksiyon, anestezi derinliğinin gelişmiş kontrolü ve daha hızlı eliminasyon ve iyileşme ile sonuçlanır. Daha hızlı farmakokinetik, 0.69'luk düşük kan / gaz bölme katsayısının bir sonucudur. 47,2'lik bir petrol / gaz bölme katsayısı ile sevofluranın minimum alveolar konsantrasyonu (MAK) % 2,05'tir. Alınan ilacın% 2-5'i karaciğer tarafından metabolize edilir. Sevofluranın farmakokinetiği çocuklarda, obez hastalarda veya böbrek yetmezliği olan hastalarda değişmez.

Sevofluran, hava yolu tahrişi olmaması, hemodinamik özellikleri ve düşük keskinliği nedeniyle çocuklarda maske indüksiyonu için tercih edilen ajan olarak tanımlanmıştır.

Sevofluranın farmakokinetiği ve hoş kokusu, pediatrik anestezide bariz bir avantaj olan maske indüksiyonunu mümkün kılar.⁴⁹

Apoptoz

Apoptoz kelimesi ilk olarak 1972 tarihli bir makalede morfolojik olarak farklı bir hücre ölümü türü olarak Kerr Wyllie ve Currie tarafından kullanılmıştır.^{27,50} Hücre proliferasyonu ve ölümü normal dokularda denge halinde olmaktadır. Normal dokularında bu denge hali doku hacminin stabillliğini sağlar. Hücre ölümü embriyoda organogenez sırasında, yetişkin hücrelerde diferansiyasyon sırasında fizyolojik olarak gerçekleşirken, çeşitli hasarlanma sırasında patolojik işlem olarak da gerçekleşebilir. Apoptoz, enerji bağımlı bir olay olup, membran fragmanları içinde hücrenin parçalanmasıyla karakterizedir. Beyin gelişiminde önemli bir rol oynar. Apoptoz sonucu gelişen beyinde hücrelerin %50'si ölür. İmmatür hücrelerin matür hücrelere göre apoptoze daha duyarlıdır.⁵¹

Apoptoz ve nekroz farkı morfolojik ve biyokimyasal kriterlerle karakterizedir. Nekrozda sitolizis ve doku inflamasyonu varken apoptozda organize kromatin kondensasyonu ve plazma membran bütünlüğü vardır. Birçok çalışmada apoptozun periferik ve santral sinir sisteminde önemli bir rol oynadığı, fizyolojik ve patolojik hücre ölümünü düzenlediği görülmüştür. Morfolojik olarak nekroz ise hücrenin şişmesi, endoplasmik retikulumun

dilatasyonu, mitokondrinin bozulması ve plazma membranının rüptürü ile apoptoz ise nükleer kromatinin parçalanması, sitoplazma ve çekirdeğin kondenzasyonu ve DNA fragmentasyonu ile karakterizedir. ⁵²Apoptoz sonrası, hücre yüzey membranı balonlaşır vesferik apoptotik şekiller ortaya çıkar. ⁵³ Apoptozda en önemli değişiklik hücre nükleusunda gerçekleşir; organeller ve membran sağlamdır.

Apoptoz başarısızlığı ve bunun sonucu vücutta hasarlı hücrelerin birikmesi çeşitli kanser türlerine neden olabilir. Son zamanlarda apoptozun bir dizi alt türlerinin var olduğu ve apoptoz, nekroz ve otofaji arasında bir örtüşme olduğu ortaya çıktı. ²⁷

SSS gelişimi sırasında sinaptogenez evresinin herhangi bir aşamasında meydana gelen patoloji, apoptotik kaskadda hayatta bağdaşmayan şiddetli migrasyonel defektlere neden olabilir. İnsanlarda gebeliğin 6. ayında başlayan ve doğumdan sonra 3 yaşına kadar devam eden süreç beyin gelişim sürecidir. SSS gelişim evresinde meydana gelen geçici değişiklikler bile, gelişen beyin hücrelerinin milyonlarcasında apoptotik dejenerasyonu tetikleyebilir. İmmatür memeli beyinde nöronal apoptoz, sinaptogenez periyodunda NMDA reseptörlerinin geçici blokajıyla veya GABAA reseptörlerinin aşırı uyarımıyla tetiklenebilir. ⁵⁴

Genel Anesteziklerin Neden Olduğu Nöroapoptoz

Hayvanlarda yapılan prelinik çalışmalar, anestezik ve sedatif ajanların (ASA'lar) beyin gelişiminde nörotoksisiteye ve uzun vadeli kognitif bozukluğa nasıl neden olduğuna dair güçlü kanıtlar sağlamıştır. ⁵⁵

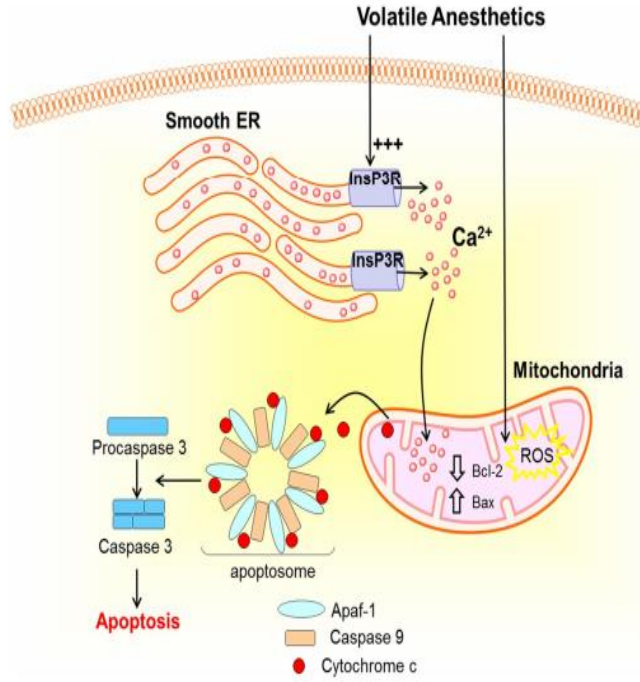
Yıllar içinde, hücrel ve hayvan çalışmaları, genel anestetiklerin sitotoksik ve nörotoksik özellikleri hakkında önemli ve ikna edici kanıtlar ortaya çıkardı. Jevtovic-Todorovic ve ark.'nın öncü çalışmasından bu yana, postnatal 7. günde sıçanlarda nitroz oksit, izofluran ve midazolam karışımına 6 saat maruz kalma uzun vadeli öğrenme eksikliklerine neden oldu. ³⁷ Rutin GA'lara (izofluran ^{56,57}, sevofluran, propofol ⁵⁸, ketaminin ⁵⁹) erken postnatal dönemde maruz kaldıklarında kemirgenlerde kalıcı bilişsel, davranışsal ve hafıza yetersizliği oluşturabildiğini göstermişlerdir.

In vitro çalışmaları, GA'nın neden olduğu nörotoksisitede mitokondri ve içsel (mitokondriyal) apoptozun rolünü tutarlı bir şekilde bildirmiştir. Nöronal kültürde ve olgunlaşmamış kemirgenlerden elde edilen beyin diliminde, izofluran maruziyeti, anti-apoptotik BCL 2 / pro-apoptotik Bax oranını önemli ölçüde azalttı, reaktif oksijen türlerini (ROS) artırdı ve mitokondri ve kaspaz 3 bölünmesinden sitokrom C salınımını teşvik etti.^{59,60,61,62}

Retrospektif kohort çalışmaları, çok sayıda anestezi maruziyet turunda ve 2-4 yaşın altındaki küçük yaş çocuklarda, çocukluk ve ergenlik dönemindeki öğrenme güçlüğü ve akademik başarısızlıkla ilişkilendirildi.⁷ Öte yandan, 3 yaşından küçük pediatrik hastalarda tek, kısa anestetik maruziyetinin nörobilişsel veya davranışsal engelli kişilerle ilişkili olmadığı bulunmadı.⁶³ Bununla birlikte, bir çalışma, anesteziye hem tekli hem de çoklu maruz kalmanın dil ve soyut muhakeme eksiklikleri ile bağlantılı olduğunu bildirdi.⁶⁴ Pediatrik Anestezi Nörogelişim Değerlendirmesi (PANDA) çalışması da, GA'ya maruz kalan deneklerde, 8-15 yaşlarındaki maruz kalmamış kardeşlerine kıyasla bilişsel, davranışsal ve hafıza kapasitesinde önemli bir düşüş gözlemlenmemiştir.⁶⁵

Son 20 yılda, insan olmayan primatlar da dahil olmak üzere hayvan çalışmalarından elde edilen daha fazla kanıt, GA ajanlarının gelişmekte olan memeli beyinde nöro-apoptoza ve diğer nörodejeneratif değişikliklere neden olma potansiyelini göstermiştir. Genelde doğum sonrası erken dönemde GA'lara maruz kalmanın, SSS'de uzun vadeli morfolojik ve fonksiyonel değişiklikleri tetiklediği ve bunun da nörobilişsel performansın bozulmasına neden olabileceği gösterilmiştir.⁶⁶

Normal sinaptogenez sırasında, sinaptik temas geliştiremeyen nöronlar, apoptoz olarak da bilinen programlanmış hücre ölümüne uğrayacaktır. Nöronal gelişim, göç, farklılaşma ve sinaptogenez ile ilgili olarak, hepsini etkileyen ana faktörlerden ikisi uyarıcı ve inhibe edici nörotransmitterlerdir. Esas olarak nörogeneze katkıda bulunan en önemli uyarıcı nörotransmitter, esas olarak NMDA reseptörünü aktive ederek etki eden glutamattır. Olgunlaşmamış beyinde, GABA reseptörü uyarıcıdır ve aktivasyonu, olgunlaşmamış nöronda depolarizasyona yol açar. Gelişme sırasında, hücre içi klorür konsantrasyonu azalır ve GABA reseptörü, yetişkin beyinde uyarıcı olmaktan inhibitör reseptöre geçiş yapar. Nörogenezde yer alan diğer önemli faktörler, sinir büyüme faktörü (NGF) ve beyinden türetilmiş nörotrofik faktör (BDNF) gibi büyüme faktörleridir. Bu faktörler esas olarak progenitor hücrelerin farklılaşmasını, akson ve dendrit oluşumunu ve ayrıca nöronal hücre sağkalımını düzenler.⁶⁷



Şekil 2. Nörotoksite ve volatil anestezi.³²

Genel anestetiklerin beyin gelişimi üzerindeki sitotoksik ve nörotoksik etkisinin moleküler mekanizmaları kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. In-vitro ve in-vivo çalışmalar, anestetiklerin apoptozu iki olası yoldan indüklediğini ortaya çıkarmıştır: iç yol ve dış yol. Ekstrinsik yol, tümör nekroz faktörü (TNF) reseptörleri aracılığıyla aktive edilir. Hücre içinden gelen sinyallere yanıt olarak intrinsik yol başlatılırken, bu, anti-apoptotik BCL-2 / pro-apoptotik Bax oranının düşmesi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artması ve sitokrom C'nin hücreden salınmasının teşvik edilmesi ile mitokondri ve kaspaz-3 bölünmesini aktive etmekte sonuçlanır. GA'lar, GABA reseptörünün uyarıcı olduğu dönemde apoptoz sürecini hızlandırır.⁶⁷

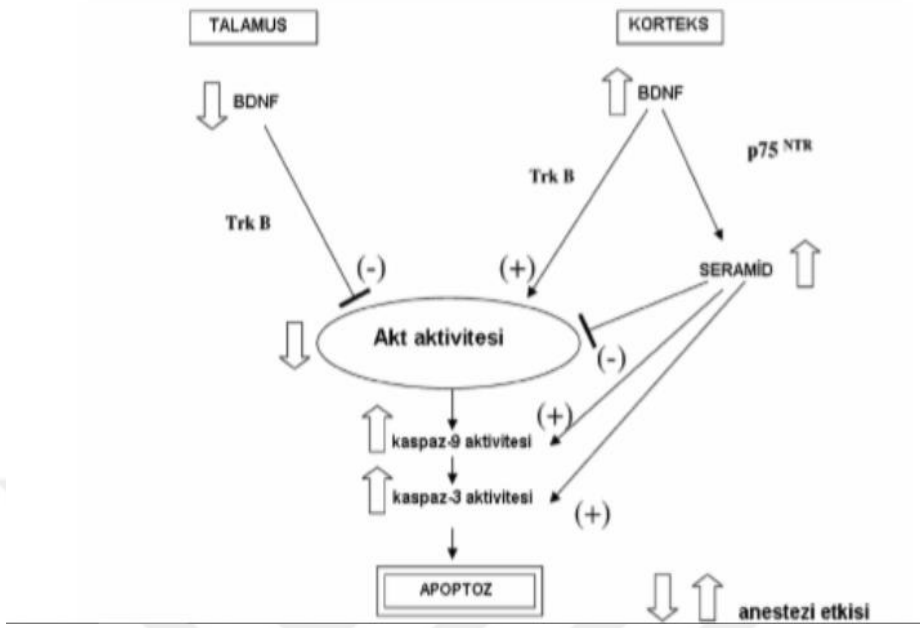
Nörotrofinlerin farklı biyolojik fonksiyonlarını düzenleyen sinyal ileti sistemleri iki farklı (Trk (Tropomyozin reseptör kinaz) reseptörleri ve p75 nörotrofik reseptörü (p75NTR)) plazma membran reseptörü üzerinden gerçekleşir. Güncel veriler p75NTR nin temel fizyolojik fonksiyonlarının Trk reseptör aktivasyonunu ve sinyalizasyonu kontrol etmek ve ayrıca Trk-bağımsız sinyal transdüksiyon kaskadını aktive etmektedir.⁶⁸ Trk bağımlı ve bağımsız kaskadlar

nöronların major sağkalım yolağında temel faktör olan Akt serin/treonin kinazın aktivasyonunu (fosforilasyonunu) düzenler.⁶⁹

Nörotrofinler nöronlar tarafından sentezlenir, salınırlar ve biyosentezleri ve sekresyonları nöronal aktiviteye bağımlıdır.⁷⁰ Nöronal aktivitenin aşırı baskılanması nörotrofinler tarafından regüle edilen sağkalımı sağlayan sinyalleri bozabilir.⁷¹ Nörotrofinle indüklenen hücre sinyal sistemine göre apoptoz engellenir veya tetiklenir.⁷²

Nöronal depresyonu indükleyen farmakolojik ajanların önde gelen örneği olan genel anestezi ajanlarıyla ilgili güncel çalışmalarda GABAerjik anesteziiklerden barbitüratların, benzodiyazepinlerin, volatil anesteziiklerin (örn.sevofluran) veya NMDA antagonisti ketaminin, kliniğe uygun dozlarının, gelişmekte olan rat beyinde sinaptogenez sırasında, masif ve yaygın apoptotik nörodejenerasyonu tetiklediği gösterilmiştir.^{37,73,74} Ciddi olarak etkilenmiş beyin bölgelerinin ultrastrüktürel analizinde immatür nöronlardaki nükleer ve sitoplazmik değişiklikler “fizyolojik” hücre ölümüyle benzerdir ancak genel anesteziiklere maruz kalan nöronlarda normal oluşan sinaptogenezin bozulduğu ve çok sayıda nöronu “gereksiz” kategorisinde algılayarak ölümüne neden olduğunu gösterecek şekilde, normal hücre ölümünden çok fazla oranda ve yoğunlukta bulunmuştur.⁶⁷

Sık kullanılan anestetik ajanların nörotrofinlerin fonksiyonlarını değiştirip değiştiremediği ve anesteziyle indüklenen gelişimsel nöroapoptoza nörotrofinlerin aracılık edip etmediği araştırılan Lu ve ark⁶⁷ genel anesteziiklerin, gelişmekte olan beyinde bolca bulunan iyi tanımlanmış bir nörotrofik faktör olan BDNF⁷² üzerindeki modülatör rolü üzerinde çalışmışlardır. Bu çalışmada, araştırmacılar gelişmekte olan beyinde ciddi apoptotik nörodejenerasyon ve yaşamın kalanında belirgin uzun dönemli öğrenme/bellek bozukluğunu indüklediği gösterilen ³⁷midazolam, izofluran ve N₂O’i içeren klinikle uyumlu anestezi kokteyli kullanmışlardır. Bu çalışmayla gelişmekte olan gelişmekte olan rat beyindeki klinikte kullanılan anesteziiklerin indüklediği nöroapoptotik hasarın, en azından kısmen, BDNF aracılı apoptotik kaskad üzerinden düzenlendiğine dair kanıtlar ilk kez sunulmuştur. Bu veriler temel alındığında anestezi iki mekanizma ile nörotrofin-aracılı apoptotik yolları aktive eder: hem Trk-bağımlı hem de Trk- bağımsız, p75NTR-bağımlı apoptotik kaskadları aktive eder ve her bir yolağın önem beynin belirli bölgelerine spesifiktir⁶⁷ (Şekil.3)



Şekil 3. Talamus ve serebral kortekste apoptotik yollara anestezinin etkisi.(BDNF:Beyin kaynaklı nörotrofik faktör, Akt:serin treonin kinaz)⁶⁷

Kronobiyoloji ve Anestezi

Kronobiyoloji, canlı organizmanın organizasyonundaki biyolojik ritimleri inceler. Biyolojik ritimler, zaman içinde periyodik ve öngörülebilir olan farklı biyolojik fenomenleri içerir. Aydınlık veya karanlıktaki gibi sabit durumlar süresince devamlılıklarından da anlaşılacağı gibi genetik olarak tanımlanmışlardır. Senkronize ediciler olarak tanımlanan aydınlık-karanlık, dinleme-aktivite, açlık-beslenme ve diğer çevresel koşulların döngülerindeki geçici değişiklikler organizmaya geçici işaretler verir ve böylece dönemlerini bu biyolojik ritimlere kabul ettirirler. Bu nedenle bu ritimler sirkadiyen (yaklaşık 24 saat olan bir dönem), ultradiyen (1 günden daha kısa bir dönem) infradiyen (haftalar, aylar veya mevsimler süren bir dönem) gibi farklı dönemler şeklinde nitelendirilebilir. Bu ritimler, gün boyunca insan vücudunda, kan basıncını, immün sistem aktivitesini, kan koagülasyonunu ve gastrik ve renal fonksiyonları etkileyerek değiştirir. Neredeyse tüm hormonlar sirkadiyen ritimlerle düzenlenir. Örneğin kortizol en düşük konsantrasyonlarına uyku sırasında düşer ve sabah erken saatlerde en yüksek konsantrasyonlarına ulaşır.⁷⁵

Biyolojik ritimler jet lag ve mesai saatleri gibi sosyoekolojik faktörler kadar hastalık ve ilaçlardan da etkilenir. Varolan klinik veriler, belirti ve semptomların zaman içinde sabit olmadığını ve genellikle siklik paterne sahip olduklarını göstermiştir. İnme ve kalp krizlerinin çoğu günün herhangi bir saatiyle karşılaştırıldığında sabahları oluşur ve osteoartriti olan hastalar sabahları geceye göre daha az ağrı duyma eğilimindedir. Çalışmalar ayrıca kemoterapi, astım ve osteoartrit tedavilerinin, ilaçlar dikkatlice seçilmiş zamanlarda yapıldığında daha fazla efektif ve daha az toksik olabileceğini göstermiştir. İlaç uygulaması için gün içinde zaman seçerek tıbbi tedavide sirkadiyen ritmin göz önüne alınmasına kronoterapi denir. Hastalığın sirkadiyen paterni temelinde ilaç uygulamasıyla ilaç etkileri optimize edilebilir ve yan etkiler azaltılabilir.⁷⁶

Sirkadiyen Ritmin Anatomik Temelleri

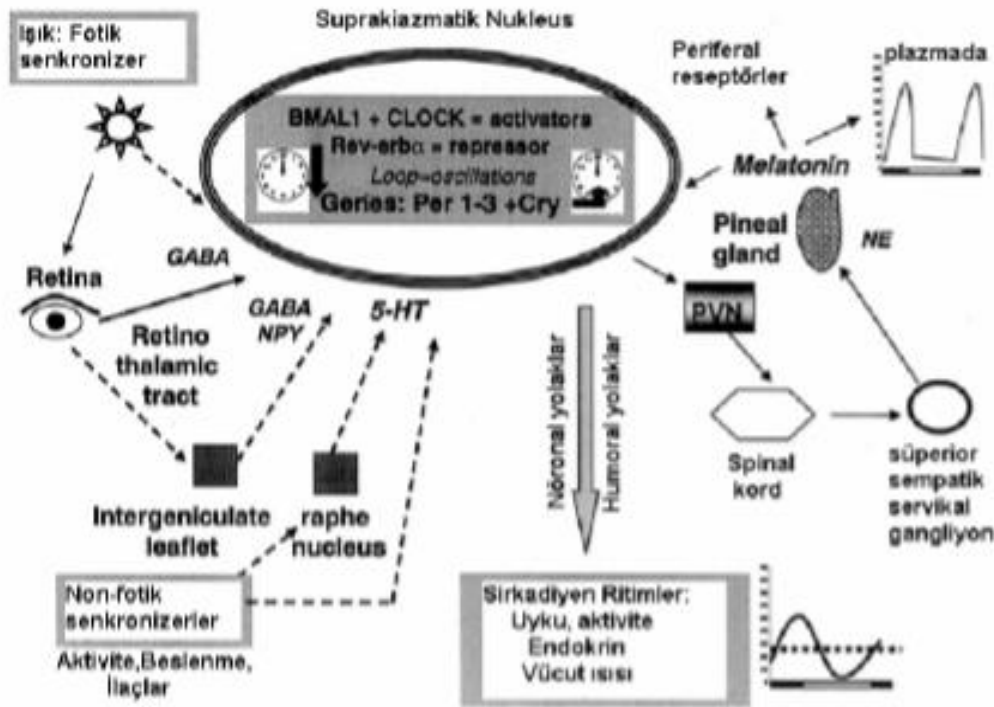
Sirkadiyen saat, prokaryotlardan insanlara kadar tüm organizmalarda sirkadiyen ritimler üretir. Memelilerde, merkezi sirkadiyen saat hipotalamusun üst kiyazmatik çekirdeklerinde (SCN) bulunur. Sirkadiyen ritimlerin temel biyokimyasal temeli, sirkadiyen saat genlerinin otomatik düzenleyici geri bildirim döngüsüne dayanır. Sirkadiyen ritimlerin temel biyokimyasal temeli, sirkadiyen saat genlerinin otomatik düzenleyici geri bildirim döngüsüne dayanır. Bu genler, diğerlerinin yanı sıra, ekspresyonu ve protein ürünleri yaklaşık 24 saatlik bir süre boyunca salınan clock, Bmal1, period ve cryptochrome'u içerir. Sirkadiyen saatin herhangi bir şekilde bozulması, onun yürüttüğü davranış ve fizyolojideki sirkadiyen ritimleri etkileyecektir.⁷⁹ İnsanların yaşamı, dünyanın dönüşüne adaptasyon sağlayan zamansal bir programı temsil eden bir iç saat tarafından düzenlenir.⁷⁶

Vücutta yaklaşık 24 saatlik bir süre boyunca kendini tekrar eden ve bu ritmi dış uyaranların yokluğunda sürdüren herhangi bir biyolojik süreç, 'sirkadiyen ritim' olarak adlandırılır. Sirkadiyen sistem, uyku-uyanma döngüleri, vücut ısısı, kalp atış hızı kan basıncı (BP), hormon sekresyonu, metabolizma ve bağışıklık sistemi gibi birçok fizyolojik değişkeni etkiler.⁷⁷

Işıkla senkronize olabilme yeteneği, organizmaların zamansal değişimlere ve doğal ışık koşullarına uyum sağlar. Retina hücrelerinde melanopsin reseptörlerinin aktivasyonu, sırasıyla aydınlık ve karanlık saatlerde SCN nöronları üzerindeki N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini aktivasyonuna ve farklı sirkadiyen proteinlerin transkripsiyonel indüksiyonuna yol açar.⁷⁸

Ritmisenin düzenlenmesi, santral bir merkeze (pacemaker) ve bu merkezi dış çevreye bağlayan girdi yollarına ve çıkış yollarına (senkronize ediciler) gereksinim gösterir. Memelilerde, birincil sirkadiyen saat, hipotalamusun tabanındaki üst kiyazmatik çekirdekte bulunur. Periferik dokularda da sirkadiyen saatler bulunmuştur. Genetik ve biyokimyasal teknikler, sirkadiyen ritimlerin oluşumunda doğrudan rol oynayan birkaç geni tanımlamıştır, 'saat genleri' olarak adlandırılmıştır.⁷⁹

Suprakiazmatik nükleus fotik uzantı içerir. Retinada yer alan fotoreseptörler retinotalamik yol ile doğrudan suprakiazmatik nükleusa uzanır. Glutamat bu sinaptik bağlantıda temel sinyal molekülüdür. Fotik bilgi ayrıca dolaylı olarak da genikulohipotalamik yoldan daha fazla intergenikulat yaprak yoluyla suprakiazmatik nükleusa ulaşabilir. GABA tip A ve nöropeptid Y bu sinaptik bağlantıda sinyal molekülü olarak işlev görür. Sirkadiyen pacemaker ayrıca lökomotor aktivite, ilaçlar ve beslenme gibi non-fotik senkronize edicilerle de ayarlanabilir. Asetilkolin, histamin ve serotonin suprakiazmatik nükleusun kontrolünde yer alır.⁷⁵ Şekil 4



Şekil 4. Memeli sirkadiyen ritminin şeması. (GABA = γ -amino-butirik asid 5-HT=5-hidroksitriptamin; NE=norepinefrin; NPY=nöropeptid Y; PVN= Paraventricüler nükleus)⁷⁵

İnsanlarda kullanılan yeni anestezi ajanlarının çoğu için çalışmalar eksik olsa da, son bulgular anestezi ilaçlarıyla ilgili çalışmalarda kronobiyojinin dikkate alınması gerektiğini bir kez daha vurgulamaktadır. Uygun araştırma protokollerinin tasarlanabilmesi için farmakokinetik ve farmakodinamik analizlerde sirkadiyen ritimler dikkate alınmalıdır. Klinik anestezi uygulaması için kronobiyojinin etkileri, ağrı yönetimi, kas felcinin izlenmesi ve anestezi monitörlerinin derinliği için hasta kontrollü cihazların kullanılması nedeniyle muhtemelen daha az önemlidir.⁷⁹

Genel Anestezi için Sirkadiyen Ritim

Postoperatif dönemde sirkadiyen ritimlerin değişmesinin sonuçları etkilediği gösterilmiştir. Anestezi, gündüz uygulama ve anestetiklerin tipi, N-metil D-aspartat reseptör antagonistleri veya gama-aminobütirik asit reseptör agonistleri ile ilişkili olarak saati etkiler. Cerrahi stres ve travmaya neden olur kortizol, sitokinler ve melatoninin sirkadiyen salınımında değişiklik oluşur.⁷⁸

Genel anestezi, ilaca bağlı bir bilinçsizlik durumuna neden olur ve doğal uykuya benzer fizyolojik olmayan bir süreçtir.⁸⁰ Amacı, hastaların uyarılara tepkisiz kaldığı ve dolayısıyla açık amneziye yol açtığı bir duyuşal yoksunluk durumu yaratmaktır. Postoperatif uyku bozuklukları, postoperatif yorgunluk, şiddetli anksiyete ve depresyon, duygusal ayrılma ve deliryum gibi postoperatif sonuçlar üzerinde ciddi olumsuz etkilere ve hatta hastalarda artmış ağrı duyarlılığına veya postoperatif ağrıya neden olabilir.⁸¹ Birkaç çalışma ayrıca, sirkadiyen ritimlerin ön hipotalamusta bulunan bir ana iç merkezi saat tarafından kontrol edildiğini gösterdi. Sadece uyku-uyanıklık döngüsü, hormonlar ve metabolizma gibi biyolojik ritimleri üretip düzenlemekle kalmaz, aynı zamanda gerekli genel anestezi dozajını da etkiler. Bunun ameliyat sonrası iyileşme ve uyku kalitesi üzerinde farklı etkileri olabilir.^{81,82}

Birçok çalışma genel anestezi için zamansal değişiklikler yayınlamıştır. Bu çalışmalar daha yeni anestezi ajanları olan propofol, desflurane ve sevofluranın keşfinden önce yapılmıştır. Ancak eski ajanlarla yapılan farmakokinetik çalışmalar, daha yeni ajanlar için olası uygulanabilirlikleri nedeniyle ilgi çekmektedir. Başlangıç çalışmaları bu ilaçların toksisitesindeki ve etkinliğindeki sirkadiyen değişiklikleri araştırmıştır.⁸⁴

Önceki tüm hayvan çalışmaları, genel anestetiklerin maksimum hipnotik etkisinin genellikle insanlarda gece vakti olan dinlenme fazında elde edildiğini göstermiştir. Sıçanlarda,

35 mg / kg pentobarbital enjeksiyonu ile indüklenen ortalama anestezi süresi, saat 09: 00'da 53 dakika ile aynı doz 19: 00'da verildiğinde 90 dakika arasında değişmektedir.⁸⁵ Diğerleri, pentobarbitalin etkinliğinin 17:00 ile 20:00 saatleri arasında maksimum olduğunu göstermiştir. Challet vd.⁸² yakın zamanda, sıçanlarda propofol anestezi süresinin, uygulama saatine bağlı olarak üç kat genlik varyasyonu sergilediğini gösterdiler. En uzun süre doğal uyku periyodunda meydana geldi (gün içinde 30 dakika, gece 10 dakika yani sıçanlar için aktivite fazı)

DAVRANIŞ TESTLERİ:

Açık Alan Davranış Testi (Open Field Test-OFT)

Açık alan davranış testi, 1934 yılında Hall tarafından, dışkı sayısının ölçümü yoluyla hayvanların duygusal durumunu değerlendirmek amacıyla tasarlanmıştır. Hayvan psikolojisinde davranışların ölçümü en çok kullanılan yöntemlerden biri haline gelmiştir. Test oldukça popüler olup, primatlar, buzağı, domuz, kuzu, tavşan, tavuk, bal arısı ve ıstakoz dahil olmak üzere birçok türde kullanılmıştır.⁸⁶ Testin bu kadar yaygın kullanılmasının nedenleri arasında, basit ve ekonomik olması, ön deneme gerektirmemesi, verilerin kolay ve net olarak toplanabilmesi sayılabilir. Test alanının çok farklı biçimleri (daire, kare veya dikdörtgen) ve versiyonları vardır (Resim1). Test alanında aydınlatma önemlidir ve ışıklandırma bazen test alanı üzerinde, bazen şeffaf zeminin altında bazen de kırmızı ışık kullanılmaktadır.⁸⁷ Hayvan, test alanının merkezine veya yüzü duvara dönük olacak şekilde yerleştirilir ve davranışları 2-20 dk arasında değişmekle birlikte genelde 5 dk boyunca kaydedilir. Test süresince, hayvanların köşelere, kenarlara ve merkez alana giriş sıklığı, buralarda geçirdiği süreler, öz bakım (grooming) ve iki ayaküstüne kalkma (rearing) davranışları daha sonra değerlendirmek üzere kaydedilir.

Rodentler, noktürnal hayvanlar olup genellikle sosyal gruplar halinde, küçük tünellerde, kapalı ve karanlık yerlerde yaşamaya alışkın olduklarından, aydınlık ve açık alanlardan korkarlar. Bu ortamda hayvanın hareketliliğini etkileyen faktörler şunlardır: hayvana özgü spontan aktivite, geniş ve aydınlık ortamın uyandırdığı korku ile yeni ortamdan kaynaklanan merak ve keşfetme isteğidir ⁸⁶. Rodentler spontan olarak test aparatının duvar kenarlarını merkez alana tercih ederler ve burada daha çok vakit geçirme eğiliminde olurlar ⁸⁶ Ayrıca hayvanın öz bakım (grooming) davranışı da yeni bir çevreye girdiğinde artmakta ve aynı çevrede vakit geçirdikçe azalmaktadır. OF testinde açık alana bırakılan hayvanın lokomotor aktivitesi, keşfetme ve anksiyete durumları eş zamanlı olarak değerlendirilmektedir. Fare ve sıçanlarda davranışsal tercihlerin yanı sıra tam felçten normal harekete kadar değişen motor fonksiyonlarının değerlendirilmesinde de kullanılır ^{88,89,90}



Resim1: Açık alan davranış test alanı

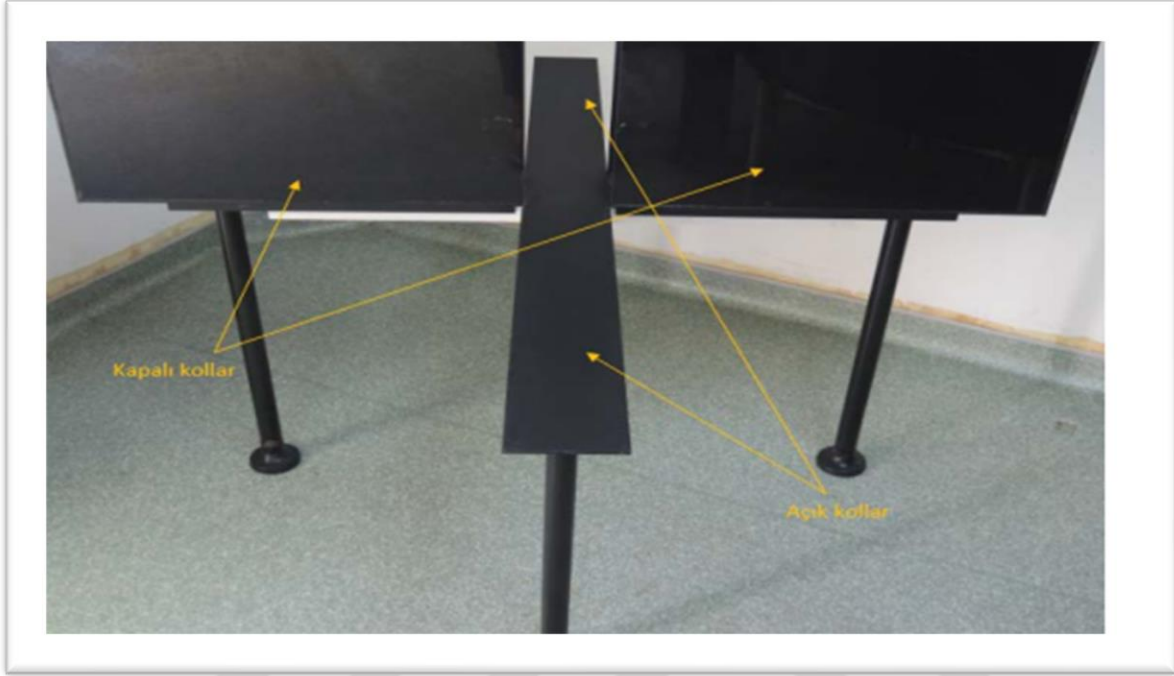
Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze-EPM)

Yükseltilmiş artı labirent testi, rodentlerin anksiyeteye gösterdikleri tepki davranışlarının ölçülmesine yarayan artı (+) şeklinde basit bir alettir (Şekil 5). Bu test, File ve ark. tarafından, rodentlerin anksiyeteye verdikleri yanıtları değerlendirmede kullanılan basit bir metot olarak tanımlanmıştır⁹¹. Montgomery' nin çalışmasından esinlenerek ve modifiye edilerek ilk olarak Handley ve Mithani tarafından anksiyetenin değerlendirilmesinde ve ilaçların anksiyoselektif etkilerinin taranmasında kullanılmıştır^{92,93,94}. Bu yazarlar, açık kollarda geçirilen zamanı, kapalı kollarda geçirilen zamana oranlayarak rodentlerin anksiyete davranışının değerlendirilebileceğini tarif etmişlerdir (resim 2)⁹⁵. Ayrıca yaşa bağlı üremenin etkileri ile doğum öncesinde, esnasında veya sonrasında maruz kalınan çeşitli stresörlerin etkilerinin değerlendirilmesinde de kullanılabilirliği belirtilmiştir⁹⁴

Günümüzde ise, anksiyete hastalıklarının alt tipleri olan, anksiyete, fobi ve post travmatik stres kadar, bağımlılık, hormonlar, ağrı, öğrenme ve hafıza ile ilişkili duyguların biyolojik temellerinin anlaşılmasına yönelik olarak geniş çapta kullanılmaktadır. Aynı zamanda korku ve anksiyete ile ilişkili beyin bölgelerinin belirlenmesinde, yaşa bağlı üremenin ve doğum öncesi, esnası ve sonrasındaki çeşitli stresörlere maruziyetin etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılabilir. EPM testinin çok kullanılmasının nedenleri arasında, ekonomik, hızlı ve basit tasarımının olması, iki yönlü ilaç duyarlılığının test edilebilmesi, uzun deneme prosedürlerinin olmaması, su/yemek kısıtlaması ve elektrik şoku içermemesi sayılabilir⁹⁴.

Rodentler, EPM de açık kollara az girer, vaktinin çoğunu kapalı kollarda harcarlar. Rodentlerin EPM test alanında, donması/hareketsiz kalması, defekasyon ve açık kollara oranla, kapalı kollarda daha fazla vakit geçirmesi, anksiyete ile ilişkili davranışlardır⁹⁵

Standart yükseltilmiş artı labirent, yerden yüksekliği 55 cm, uzunlukları 50 x 10 cm² olan ve birbirlerini dik açıyla kesen dört koldan oluşmaktadır. Bu kollardan karşılıklı olan ve kapalı olarak adlandırılan kol 40 cm yükseklikte duvarla kapatılmıştır. (Resim 2)



Resim.2 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi(YALT)

Morris Su Labirenti (MSLT) Testinin yönetimi:

Bilimsel çalışmalarda farklı öğrenme ve bellek mekanizmalarını araştırmak için çeşitli davranış testleri geliştirilmiştir. Rodentlerin yaşam alanları genellikle, toprak altında 600-700 m uzunluğunda olabilen labirentlerden oluşmaktadır. Dolayısıyla bu yaşam tarzı için güçlü bir mekânsal belleğe ihtiyaçları vardır ve mekânsal bellek fare ve sıçanlarda oldukça kuvvetlidir

MWM testi, ilk olarak nörobilimci Richard G. Morris tarafından uzun süreli uzamsal belleği ve uzamsal belleğin kazanımını da içeren hipokampusu bağımlı öğrenmenin test edilmesi için kurulmuştur⁹¹. Nörobiyoloji ve nörofarmakoloji alanında, uzamsal öğrenme ve bellek çalışmalarında yoğun olarak kullanılmaktadır. Alzheimer hastalığı gibi nörokognitif hastalıkların rodent modellerinin değerlendirilmesinde MWM önemli bir rol oynamaktadır⁹¹

Test, apı 1-2,5 m arasında değişen, daire Şeklinde suyla doldurulmuő bir havuz ve havuzun içine gizlenmiő kk bir kaçıő platformu olan ortamda yapılmaktadır (Resim 3). Deneysel hayvanlarının, tür, soy, yaş, cinsiyet, vct ağırlığı ve fiziksel gelişim gibi çeşitli zellikleri MWM performansını etkileyebilmektedir^{91,93} MWM testinde uzamsal öğrenme performansı hayvanların yaőı arttıkça azalmaktadır. Bu durumun, hipokampal oluőunun morfolojisi ve fonksiyonundaki deęiőikliklerden kaynaklanabileceği belirtilmiőtir.

alıőmalara göre, rodentlerde erkekler diőilerden daha iyi yüzmekte ve fareler ise sıçanlara göre daha iyi yüzmektedir. Soylar arasında ise albino Spraque-Dawley sıçanlar, Wistar-Kyoto sıçanlardan daha iyi performans sergilemiőtlerdir. Ayrıca evresel faktörlerin (sıcaklık, ışık ve gürültü vb) strese sebep olabileceği ve stresli hayvanların MWM testinde kötü performans sergiledikleri kanıtlanmıőtır^{91,93}. İnsan ve hayvanların her ikisinin de kognitif fonksiyonlarının stresten etkilendiği bilinmektedir. Stres akılda tutma performansını da etkilemektedir. Adrenal steroid hormonların salgılanması stresin bir sonucu olup hafıza durumunu direkt olarak etkilemektedir⁹⁴.



Resim 3: Morris su labirenti test alanı

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu onayı alındıktan sonra (EK-1) Multidisipliner Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda yapıldı. Postnatal Wistar cinsi, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, 8 dişi rat çalışmaya alındı. Çalışmada kullanılacak Wistar dişi ratlar wistar erkek ratlarla aynı kafese konarak çiftleştirildi ve ertesi gün alınan vaginal smearleri pozitif olanlar gebelik 0. günü olarak kaydedildi. Gebeliğin 14. gününe kadar düzenli 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusunda bekletilmiş, oda sıcaklığı 22-24 °C olan, nem oranı %40-60 arasında izlenen 4 gebe rat gündüz grubuna 4 gebe rat gece grubuna (toplam 8 gebe rat) rastgele gruplara ayrıldı. Çalışmaya alınan gebe ratlardan doğan yavrular çalışmaya alındı. (Resim4)

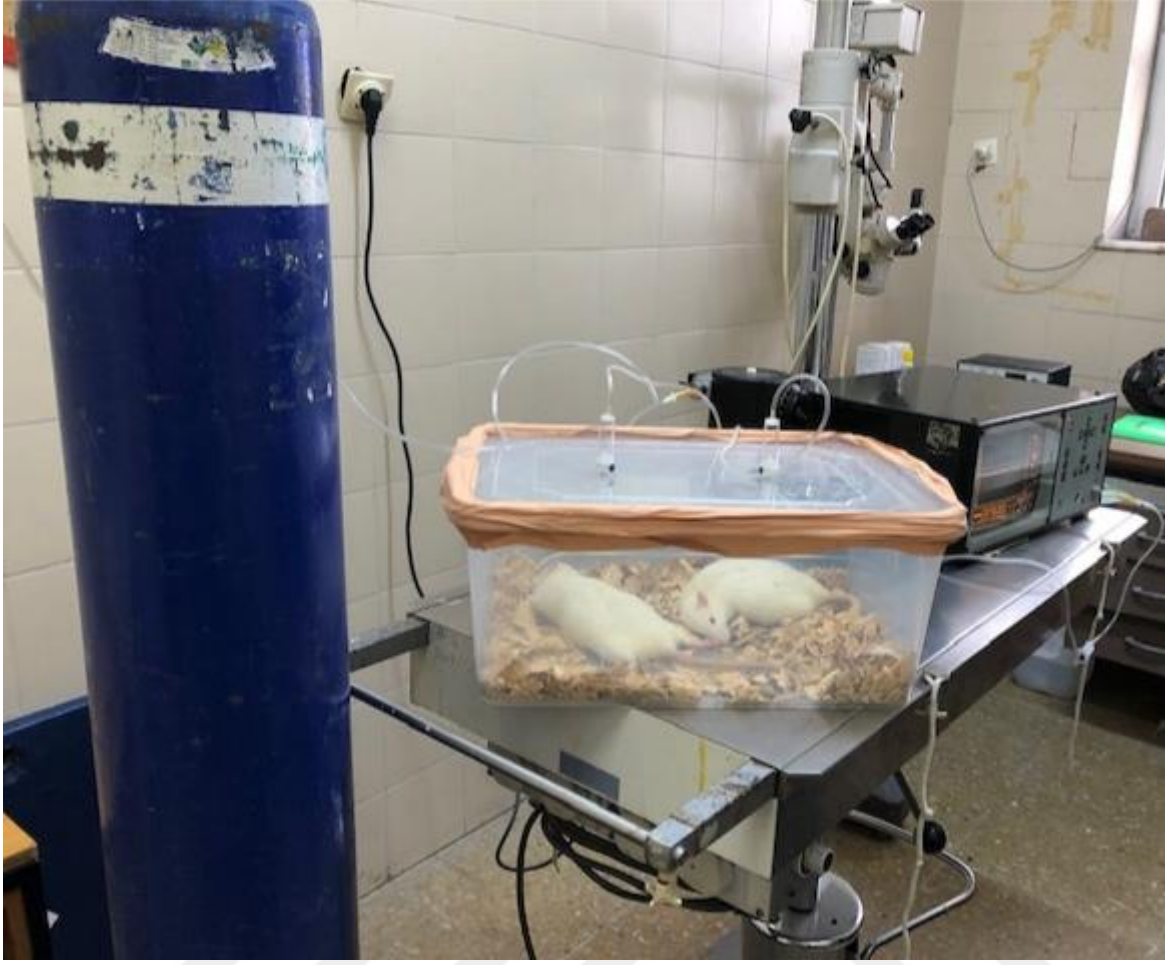


Resim4: Yenidoğan dönemindeki sıçan yavruları

Volatil anestezi ajan uygulaması

Anestezi düzeneği ve başlangıcı:

Her gebe deneysel hayvanı için ayrı olmak üzere 1000 mL hacimli gaz giriş ve çıkış sistemi bulunan plastik kutular kullanıldı. Plastik kutular vaporizatör (*Sevofluran, Vapor 19.1, Abbott Lab, Almanya*) ile 6 L/dk akım hızında %100 oksijen içinde %3,0 konsantrasyonda sevofluran (*Sevoflurane, Abbott Lab. İstanbul/Türkiye*) girişi sağlandı. Gaz karışımının monitorizasyonu, ortak giriş hattına bağlanan anestezi gaz monitörü (*Anesthesia Gas Monitoring 1304, Denmark*) ile izlenerek sabit tutuldu. Plastik kutular 37°C sabit sıcaklıkta su banyosuna yerleştirildi. Deneysel hayvanları 2 saat süre ile bu kutularda gaz karışımı soludular. (Resim 5)



Resim 5: Deney düzeneği

Anestezi İdamesi: İnspire edilen oksijen ve uygulanan volatil ajanın konsantrasyonu düzeyleri anestezi gaz monitöründen izlenerek sabit tutuldu.

Anestezi sonlandırılması: Volatil anestezi uygulaması 2 saatlik sürenin sonunda kesildi ve 6L/dk akım hızında %100 oksijen verilerek deneklerin derlenmeleri sağlandı. Volatil ajan uygulaması gece grubu için karanlıkta ortamda ışık açılmadan kırmızı ışıkta yapıldı.

Çalışma grupları:

Gündüz Sevofluran Grubu (GÜ-SEVO): Gebeliğin 14. gününde 09:00-11:00 fanus içinde 6 L/dk %100 O₂ ile %3,0 volüm sevofluran uygulandı. Bu 2 gebe rattan doğan yavru ratlar GÜ-SEVO grubuna alındı ve akut GÜ-SEVO (n:8); kronik GÜ-SEVO (n:8) gruplarına ayrıldı.

Gündüz Oksijen Grubu (GÜ-OKSİ): Gebeliğin 14. Gününde saat 09:00-11:00 arası fanus içinde 6 L/dk %100 O₂ uygulandı. Bu 2 gebe rattan doğan yavru ratlar GÜ-OKSİ grubuna alındı ve akut GÜ-OKSİ (n:8) ile kronik GÜ-OKSİ (n:8) gruplarına ayrıldı.

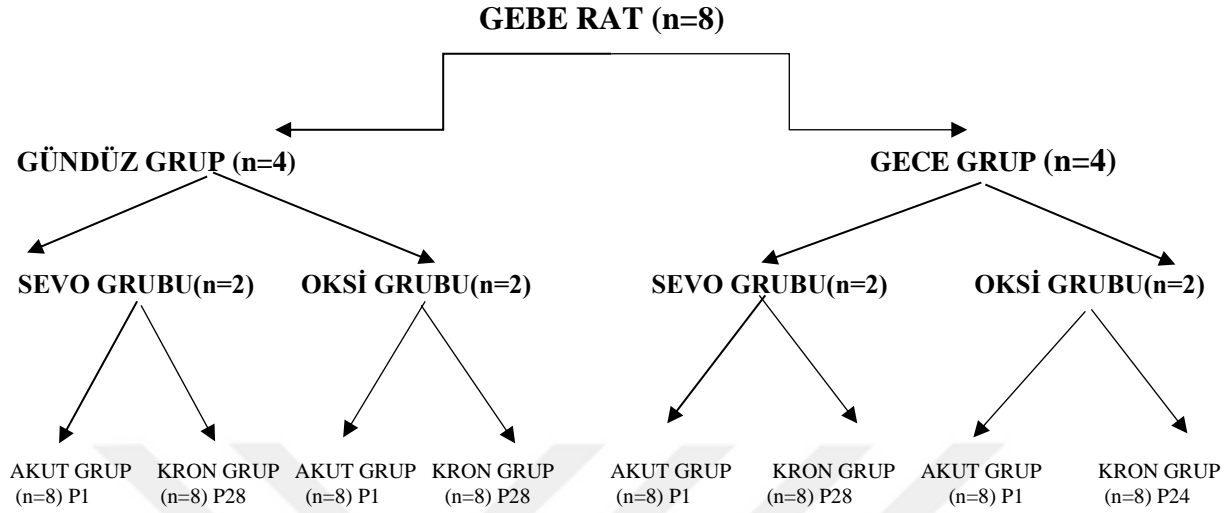
Gece Sevofluran Grubu (GE-SEVO): Gebeliğin 14. Gününde 21:00-23:00 saatleri arasında fanus içinde 6 L/dk %100 O₂ ile %3,0 volüm sevofluran uygulandı. Bu 2 gebe rattan doğan yavru ratlar GE-SEVO grubuna alındı ve akut GE-SEVO (n:8); kronik GE-SEVO (n:8) gruplarına ayrıldı.

Gece Oksijen Grubu (GE-OKSİ): Gebeliğin 14. Gününde saat 21:00- 23:00 arası fanus içinde 6 L/dk %100 O₂ uygulandı. Bu gebe rattan doğan yavru ratlar GE-OKSİ grubuna alındı ve bu grup akut GE-OKSİ (n:8) ile kronik GE-OKSİ (n:8) gruplarına ayrıldı.

Deneyin yapılması:

Sekiz gebe rat gebeliğinin 14 cü gününde rastgele her grupta 4 gebe rat olacak şekilde 2 gruba ayrıldı. İlk gruptaki 4 gebe rat 2 gruba ayrılarak her grupta 2 rat olacak şekilde gündüz saat 09:00-11:00 arası GÜ-SEVO grubu olarak %3,5 sevofluran uygulandı, diğer 2 gebe rata GÜ-OKSİ 6 L/dk O₂ uygulandı. Diğer 4 gebe rat 2 gruba ayrılarak her grupta 2 rat olacak şekilde gece saat 21.00-23:00 arası GE-SEVO grubu %3,5 sevofluran, diğer 2 gebe rata GE-OKSİ 6 L/dk O₂ uygulandı. Tüm gruptaki doğan yavrular akut grup ve kronik grup olarak ikiye ayrıldı. **Akut** gruplara doğduktan hemen 24 saat içinde kraniyotomi uygulandı histolojik değerlendirme için ayrıldı. **Kronik** gruplara doğduktan 28 gün sonra davranış testleri uygulandı ve kognitif fonksiyonları değerlendirildi.

Deney grupları:



Grafik :1

Akut Gruplar

Akut gruptaki yenidoğan ratlara (n:32) kraniyotomi uygulandı ve çıkarılan beyin dokuları %10 formalaldehide konuldu ve daha sonra histopatolojik değerlendirme yapılmak üzere saklandı.

Kronik Gruplar

Kronik gruplardaki yenidoğan ratlara (n:32) postnatal 28.günde açık alan davranış testi (AADT, yükseltmiş artı labirent testi (YALT), Morris su labirenti testi (MSLT) uygulandı.

Davranış Testlerinin Yapılması

Yavrular 28 günlük olduklarında, sırasıyla AADT, YALT, MSLT testleri uygulandı. Bütün davranış testleri gündüz saat 8:00-14:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. ^{91, 92} Davranış odası sıcaklığı 20-24 °C, nisbi nem %40-60 arasında ve aydınlatma 20 lüks olacak şekilde ayarlandı. Bütün davranış çalışmalarının kaydedilmesi ve verilerin toplanmasında video izleme sistemi (Shanghai Mobile Datum Ltd, Shanghai City, Çin) davranış yazılımı paketi kullanıldı.

Açık Alan Davranış Testi (AADT) (*Open Field Test*)

Çalışmamızda gruplar arasında lokomotor aktivite, stres ve anksiyete davranışları arasındaki fark değerlendirilmek için AADT seçildi. Açık alan davranış test alanı kare, 60 x 60 cm² ölçülerinde olup, zemini siyah, duvarlar 40 cm yükseklikte ve şeffaftır (Resim1). Test alanı, bilgisayar ekranında 16 kareye bölünmüş olarak görüldü. Bu karelerden merkezdeki 4 tanesi test alanının merkezi, her köşede yer alan dört kare test alanının köşelerini, kalan kareler ise test alanının kenarı olarak tanımlandı. Alanın merkezine bırakılan sıçanın davranışları 5 dakika boyunca bilgisayar yazılımı (video izleme sistemi -Shanghai Mobile Datum Ltd, Shanghai City, Çin) tarafından kaydedildi. Hayvanın tanımlanmış bölgelerde hareketli ve hareketsiz olarak geçirdiği süreler, iki arka ayaküstüne kalkış sıklığı, yürüdüğü mesafe parametreleri gözlemlendi ve bunlar bilgisayar tarafından analiz edildi.^{88,89,90} Her denemeden sonra test alanı % 10' luk etil alkol ile silinip kurulandı. Sonuçları değerlendirmek için alınan toplam mesafe, ortalama hız, merkeze, kenarlara, köşelere ilk giriş zamanları, frekansları, hareketli ve hareketsiz kaldıkları süreler bakıldı.

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (YALT) (*Elevated Plus Maze*)

Bu çalışmada, yavru sıçanların, açık ve kapalı kollarda geçirilen zaman, buralara ilk giriş süreleri, hareketli ve hareketsiz kaldığı süreler arasında fark olup olmadığını değerlendirmek için YALT seçildi. Böylece gece-gündüz sevofluran uygulanmış anne sıçanlardan doğulan yavrularda yarattığı stres ve anksiyete ile ilgili davranışlar değerlendirildi. Test edilecek sıçan dört kolun kesiştiği orta alana, açık kollardan birisine bakacak şekilde tarafsız alana yerleştirilmiş ve davranışları 5 dakika boyunca bilgisayar yazılımı kullanılarak videoya kaydedildi. Hayvanın açık ve kapalı kollara giriş sıklığı ve kollarda geçirdiği süre ve bilgisayar izleme sistemi ile labirent içinde kat ettiği mesafe ölçüldü. Her denemeden sonra test alanı %10' luk etil alkol ile silinip kurulandı.⁹¹

Morris Su Labirenti Testi (MSLT) (*Morris Water Maze*)

Çalışmamızda, gece-gündüz sevofluran uygulamasının deneklerin öğrenme ve bellek yetenekleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için MSLT kullanıldı. Morris su tankı, 123 cm

çapında, 65 cm yüksekliğinde bir tank olup, yaklaşık 43 cm yüksekliğine kadar suyla doldurularak ve suyun sıcaklığı 25 ± 1 °C olacak şekilde ayarlandı. Tank alanı, hipotetik olarak 4 eşit parçaya bölünerek kuzey, güney, doğu, batı olarak tanımlandı. Çapı 12 cm olan bir platform suyun 1 cm aşağısında kalacak şekilde dörtte birlik kadranslardan birinin (bu çalışma için güneydoğu çeyreği) merkeze yakın noktasına yerleştirildi. Tankın bulunduğu odada üç farklı yönde duvarlara hayvanın yönünü belirlemede kullanabileceği ipuçları (örneğin, farklı renkte geometrik şekillerde kartonlar) yerleştirildi. Dördüncü yön belirleyici ise her gün aynı noktada duran araştırmacıdır. Test, her sıçana günde 4 deneme yündürmesi yaptırılacak şekilde ardışık 4 günde uygulandı. İlk 4 gün sıçanın tanka hangi yönlerden hangi sırayla bırakılacağı (bu çalışma için 1. günden başlayarak sırasıyla batı-güney-doğu-kuzey, kuzey-doğu-güney-batı, doğu-kuzey-batı-güney, güney-batı-kuzey-doğu ve kuzey yönleri) önceden belirlendi. Her yüzme seansında sıçanların platformu bulmaları için 60 saniye verildi. Platformu bulan sıçanların platformda 10 saniye kalmalarına izin verildi. Bu süre içerisinde platformu bulamayan sıçanlar, deneyi yapan kişi tarafından nazikçe platforma doğru yönlendirildi ve platform üzerinde 20 saniye kalmalarına izin verildi. Deneyin son günü olan 5. gün ise platform kaldırıldı ve hayvanlar tek seans olarak 60 saniye yündürüldü. Bu süre içerisinde hayvanın, platformun bulunduğu çeyreğe ilk giriş süresi ve burada geçirdiği süre kaydedildi. Sıçanlar yüzme seanslarından sonra altlarına kağıt havlu yerleştirilerek elektrikli ısıtıcı-lamba ile ısıtıldı.

Araştırmada Kullanılacak İstatistiksel Yöntemler:

İstatistiksel analiz SPSS Windows istatistik programının 23.0 versiyonu kullanılarak yapılacak. Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Bu çalışmada; gebe ratlar iki bağımsız faktöre göre (sirkadiyen ritm ve anestezi grup) akut ve kronik dönemde sonlanım değişkenleri karşılaştırıldı. Akut dönem için karşılaştırılacak sonlanım apoptotik hücre sayısı ve kronik dönem için karşılaştırılacak sonlanımlar öğrenme ve bellek testleridir. Bu karşılaştırmalarda parametrik koşullar sağlandığında faktöriyel dizayn ANOVA ile çözümlenmeler gerçekleştirildi. Farkın hangi faktörden kaynaklandığı çok değişkenli post hoc analizlerle belirlendi. Çoklu karşılaştırma testlerinde varyans homojenliğine göre Bonferroni veya Games Hovel test uygulandı. Tüm karşılaştırmalarda $p < 0.05$ istatistik anlamlılık sınır değeri kabul edildi.

BULGULAR:

Çalışma planımızda akut grupta bulunan tüm yenidoğan ratlarda histolojik değerlendirme yapılması planlandı ve bu kapsamda tüm akut gruptaki yenidoğan ratların sakrifikasyonları yapılarak beyinleri çıkarıldı. Çıkarılan beyin dokusu %10'luk formaldehite konularak saklandı. Covid 19 pandemisi nedeniyle üniversitemiz Bilimsel Araştırmalar Projesine fon için başvuruldu. Bugüne kadar yanıt gelmediği için materyaller saklanarak daha sonra çalışmak üzere saklanıyor. Bu kısım tez zamanına yetişmediği için çıkarılmak zorunda kaldı.

Her gruptaki erkek dişi oranına bakıldığında GÜ-SEVO grubunda 5 erkek 3 dişi rat, GÜ-OKSİ grubunda ise 5 erkek 3 dişi, GECE-SEVO grubunda 2 erkek 5 dişi rat, GECE-OKSİ 4 erkek 4 dişi yenidoğan rat bulundu. Bizim çalışmamızın sonuçları erkek dişi rat oranına göre değerlendirme yapılmadı ileri çalışmalarda bu değerlendirme yapılabilir.

Açık alan davranış testi sonuçları (AAT)

Açık alan davranış testi ortalama hızları (cm/s); GÜ-SEVO: $35,8 \pm 6,2$, GÜ-OKSİ: $38,1 \pm 9,0$ GE-SEVO: $40,2 \pm 5,4$ GE-OKSİ: $36,3 \pm 8,5$ olarak ölçüldü. Açık alan testi 2*2 faktöriyel dizayn sonuçları ile değerlendirilen 28 günlük ratların ortalama hızları dört grup, gece-gündüz ve sevofluran-oksijen karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,634$, $p_{gecegün}=0,223$, $p_{sevooks}=0,089$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

Alınan toplam mesafe (cm); GÜ-SEVO: $10666,9 \pm 1179,1$, GÜ-OKSİ: $11399,6 \pm 2683,2$, GE-SEVO: $12012 \pm 1599,4$, GE-OKSİ: $10769,1 \pm 2513,8$ cm olarak bulundu. Alınan toplam mesafe dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,591$ $p_{gecegün}=0,212$; $p_{sevooks}=0,108$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

Ratların hareketli olduğu toplam süre (s) GÜ-SEVO: $264,4 \pm 20,7$, GÜ-OKSİ: $275,4 \pm 17,0$ GE-SEVO: $278,4 \pm 6,6$, GE-OKSİ: $25,8 \pm 15,8$ olarak ölçüldü. Ratların hareketli olduğu toplam süre dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,348$, $p_{gecegün}=0,348$; $p_{sevooks}=0,670$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

Hareketsiz olduğu toplam süre (s) GÜ-SEVO: $34,0 \pm 21,0$, GÜ-OKSİ: $24,0 \pm 17,4$, GE-SEVO: $20,9 \pm 6,3$, GE-OKSİ: $25,8 \pm 15,8$ olarak ölçüldü. Ratların hareketsiz olduğu toplam süre (s) dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında ($p_{full}=0,419$, $p_{gecegün}=0,322$, $p_{sevooks}=0,654$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

İlk giriş zamanı değerlendirildiğinde (s); merkeze; GÜ-SEVO: $7,1 \pm 11,0$, GÜ-OKSİ: $12,1 \pm 16,3$, GE-SEVO: $11,9 \pm 13,9$, GE-OKSİ: $4,0 \pm 11,0$ olarak bulundu. Merkeze ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,567$, $p_{gecegün}=0,724$, $p_{sevooks}=0,768$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. Köşe; GÜ-SEVO: $20,5 \pm 11,5$, GÜ-OKSİ: $2,0 \pm 2,24$, GE-SEVO: $6,9 \pm 3,6$, GE-OKSİ: $7,1 \pm 8,7$ olarak bulundu. Köşeye ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,391$, $p_{gecegün}=0,891$, $p_{sevooks}=0,883$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı. Kenarlara; GÜ-SEVO: $27,5 \pm 5,5$, GÜ-OKSİ: $0,9 \pm 0,94$, GE-SEVO: $0,9 \pm 1,2$, GE-OKSİ: $3,1 \pm 3,4$ olarak bulundu Kenarlara ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,306$, $p_{gecegün}=0,594$, $p_{sevooks}=0,213$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 1).

Merkez, kenar ve köşedeki giriş sıklığı, kalış süreleri arasında anlamlı fark saptandı. Sevofluran uygulanan ratlardan doğan yenidoğan ratlar oksijen uygulananlara göre daha az kenarlarda kalırken ($p=0,004$), merkezde kalış süreleri de anlamlı ($p=0,019$) fark bulundu. Merkezde kalış süresi tüm model ANOVA F testi anlamlı bulunmuştur ve bu farkın her iki faktörden (gece-gündüz) ve anestezi (sevo-oksi) uygulamasından kaynaklandığı posthoc testlerle saptanmıştır ($p_{full}=0,015$, $p_{gecegün}=0,020$, $p_{sevooks}=0,019$ Tablo1.)

Gece sevofluran uygulanan ratlardan doğan ratlar gündüz sevofluran uygulanan ratlardan doğan ratlara göre kenar ve köşelerdeki frekansları daha fazla bulundu (sırasıyla $p=0,006$; $p=0,003$), merkez ve köşelerdeki kalış sürelerinin de de (sırasıyla $p=0,020$; $p=0,001$) anlamlı fark saptandı. Köşede kalış süresinde olan istatistiksel farkı, posthoc testlerle yalnızca gece-gündüz uygulamasından kaynaklandığı görüldü ($p_{full}=0,001$, $p_{ge-gü}=0,001$ Tablo1.)

Tablo 1. Açık Alan Davranış Testin sonuçları

	GÜNDÜZ		GECE		p ^{full*}	p ^{gecegün**}	p ^{sevoks**}
	SEVO	OKSİ	SEVO	OKSİ			
Giriş sıklığı							
Merkez	10,7±2,2	15,0±4,8	12,1±2,6	13,6±5,8	0,217	1,000	0,060
Kenar	27,5±7,0	40,9±8,0	24,4±5,5	27,9±9,6	0,001	0,006	0,004
Köşe	20,5±4,0	26,4±6,6	20,3±5,3	15,0±4,2	0,002	0,003	0,864
Kalış süresi(s)							
Merkez	27,6±4,4	40,78±23,6	40,6±8,8	59,8±23,4	0,015	0,020	0,019
Kenar	124,4±26,5	124,32±15,7133	127,1±22,7	126,8±24,4	0,991	0,747	0,975
Köşe	91,0±70,3	133,43±34,4	35,7±4,37	36,9±8,7	0,001	0,001	0,129
Ortalama Hız (cm/s)	35,8±6,2	38,1±9,0	40,2±5,4	36,3±8,5	0,634	0,233	0,089
İlk giriş zamanı (s)							
Merkeze	7,1±11,0	12,1±16,3	11,9±13,9	4,0±11,0	0,567	0,724	0,768
Kenarlara	27,5±5,5	0,9±0,94	0,9±1,2	3,1±3,4	0,392	0,891	0,883
Köşelere	20,5±11,5	2,0±2,24	6,9±3,6	7,1±8,7	0,306	0,594	0,213
Alınan toplam mesafe (cm)	10666,9±1179,1	11399,6±2683,2	12012±1599,4	10769,1±2513,8	0,591	0,212	0,108
Hareketli olduğu toplam süre (s)	264,4±20,7	275,4±17,0	278,4±6,6	272,2±15,7	0,348	0,348	0,670
Hareketsiz kaldığı toplam süre (s)	34,0±21,0	24,0±17,4	20,9±6,3	25,8±15,8	0,419	0,322	0,654
Grooming							
Median	17,5	14,5	22,5	11,0		0,576***	
(min-max)	(7,0-24,0)	(7,0-31,0)	(10,0-31,0)	(5,0-24,0)			
Rearing							
Median	4,0	5,0	4,0	3,0		0,070***	
(min-max)	(2,0-6,0)	(2,0-8,0)	(1,0-7,0)	(1,0-9,0)			

*İki faktörlü ANOVA F test full model p **Post hoc between grup Bonferroni test

*** Kruskal wallis p değeri: Nonparametrik 2*2 faktöriyel karşılaştırma testi

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Sonuçları (YALT)

Yükseltilmiş artı labirent testinde ratların ortalama hızları (cm/s); GÜ-SEVO: 3,9 ±0,5, GÜ-OKSİ: 3,9±0,8, GE-SEVO: 3,3± 0,4, GE-OKSİ: 3,5± 0,4 olarak ölçüldü. YALT 2*2 faktöriyel dizayn sonuçları ile değerlendirilen 28 günlük ratların ortalama hızları dört grup, gece-gündüz ve sevofluran-oksijen karşılaştırıldığında (sırasıyla p_{full}=0,634, p_{gecegün}=0,223, p_{sevoks}=0,089) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2).

Alınan toplam mesafe (cm); GÜ-SEVO: 1169,5±138,7, GÜ-OKSİ: 1166,4 ±232,4, GE-SEVO: 981,0± 126,0, GE-OKSİ; 1043,4±116,3 cm olarak bulundu. Alınan toplam mesafe dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla p_{full}=0,797, p_{gecegün}=0,340, p_{sevoks}=0,854) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2).

Açık kollara ilk giriş zamanı değerlendirildiğinde (s); GÜ-SEVO: $13,6 \pm 5,9$, GÜ-OKSİ: $32,8 \pm 11,3$, GE-SEVO: $2,3 \pm 2,3$, GE-OKSİ: $25,8 \pm 11,0$ olarak bulundu. Açık kollara ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,525$, $p_{gecegün}=0,944$, $p_{sevooks}=0,367$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. Kapalı kollara ilk giriş zamanları; GÜ-SEVO: $14,4 \pm 6,4$, GÜ-OKSİ: $11,4 \pm 6,0$, GE-SEVO: $16,8 \pm 6,7$, GE-OKSİ: $3,1 \pm 1,4$ olarak bulundu. Kapalı kollara ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,743$, $p_{gecegün}=0,074$, $p_{sevooks}=0,902$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 2).

Merkeze giriş sıklığı değerlendirildiğinde; GÜ-SEVO: $13,9 \pm 8,4$, GÜ-OKSİ: $12,1 \pm 8,2$, GE-SEVO: $9,4 \pm 6,0$, GE-OKSİ: $12,5 \pm 7,2$ olarak bulundu. Merkeze giriş sıklıkları dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,698$, $p_{gecegün}=0,454$, $p_{sevooks}=0,802$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı.

Kapalı kollara giriş sıklığı değerlendirildiğinde; GÜ-SEVO: $4,1 \pm 2,4$, GÜ-OKSİ: $3,0 \pm 3,1$, GE-SEVO: $2,6 \pm 1,9$, GE-OKSİ: $2,5 \pm 1,9$ olarak bulundu. Kapalı kollara giriş sıklıkları dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,525$, $p_{gecegün}=0,248$, $p_{sevooks}=0,467$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı.

Açık kollara giriş sıklığı değerlendirildiğinde; GÜ-SEVO: $3,3 \pm 2,7$, GÜ-OKSİ: $3,5 \pm 3,0$, GE-SEVO: $2,8 \pm 2,0$, GE-OKSİ: $4,1 \pm 2,1$ olarak bulundu. Açık kollara giriş sıklıkları dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,743$, $p_{gecegün}=0,944$, $p_{sevooks}=0,367$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 2).

Merkezde kalış süresi değerlendirildiğinde; GÜ-SEVO: $44,0 \pm 32,2$, GÜ-OKSİ: $23,8 \pm 17,7$, GE-SEVO: $15,1 \pm 11,9$, GE-OKSİ: $24,5 \pm 16,7$ olarak bulundu. Merkezde kalış süresi dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,066$, $p_{gecegün}=0,069$, $p_{sevooks}=0,472$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. Kapalı kollarda kalış süresi değerlendirildiğinde; GÜ-SEVO: $23,6 \pm 15,5$, GÜ-OKSİ: $24,0 \pm 27,1$, GE-SEVO: $12,2 \pm 10,6$, GE-OKSİ: $13,2 \pm 8,1$ olarak bulundu. Kapalı kollara giriş sıklıkları dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,241$, $p_{gecegün}=0,074$, $p_{sevooks}=0,902$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. Açık kollarda kalış süresi değerlendirildiğinde; GÜ-SEVO: $44,0 \pm 32,2$, GÜ-OKSİ: $28,7 \pm 22,4$, GE-SEVO: $23,9 \pm 13,8$,)

GE-OKSİ: $62,6 \pm 55,1$ olarak bulundu. Açık kollarda kalış süreleri dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,241$ $p_{gecegün}=0,493$, $p_{sevooks}=0,309$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 2).

Tablo 2. Yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları

	GÜNDÜZ		GECE		p_{full}^*	$p_{gecegün}^{**}$	$p_{sevooks}^{**}$
	SEVO	OKSİ	SEVO	OKSİ			
Frekans							
Kapalı Kollar	$4,1 \pm 2,4$	$3,0 \pm 3,1$	$2,6 \pm 1,9$	$2,5 \pm 1,9$	0,525	0,248	0,467
Açık Kollar	$3,3 \pm 2,7$	$3,5 \pm 3,0$	$2,8 \pm 2,0$	$4,1 \pm 2,1$	0,743	0,944	0,367
Merkez	$13,9 \pm 8,4$	$12,1 \pm 8,2$	$9,4 \pm 6,0$	$12,5 \pm 7,2$	0,698	0,454	0,802
Kalış süresi (s)							
Kapalı Kollar	$23,6 \pm 15,5$ $38,1 \pm 36,7$	$24,0 \pm 27,1$	$12,2 \pm 10,6$	$13,2 \pm 8,1$	0,346	0,074	0,902
Açık Kollar	$44,0 \pm 32,2$	$28,7 \pm 22,4$	$23,9 \pm 13,8$ $15,1 \pm 11,9$	$62,6 \pm 55,1$	0,241	0,493	0,309
Merkez		$23,8 \pm 17,7$		$24,5 \pm 16,7$	0,066	0,069	0,472
Ortalama Hız (cm/s)	$3,9 \pm 0,5$	$3,9 \pm 0,8$	$3,3 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,4$	0,784	0,328	0,865
İlk giriş zamanı (s)							
Açık Kollara	$13,6 \pm 5,9$	$32,8 \pm 11,3$	$2,3 \pm 2,3$	$25,8 \pm 11,0$	0,525	0,238	0,679
Kapalı Kollara	$14,4 \pm 6,4$	$11,4 \pm 6,0$	$16,8 \pm 6,7$	$3,1 \pm 1,4$	0,346	0,854	0,057
Alınan toplam mesafe (cm)	$1169,5 \pm 18,7$	$1166,4 \pm 232,4$	$981,0 \pm 126,0$	$1043,4 \pm 116,3$	0,797	0,340	0,854

*İki faktörlü ANOVA F test full model p

**Post hoc between grup Bonferroni test

Morris Su Labirenti Testi (MSLT)

Morris Su Labirenti Testinde ratların ortalama hızları (cm/s); GÜ-SEVO: $268,6 \pm 35,8$, GÜ-OKSİ: $291,7 \pm 39,1$, GE-SEVO: $280,3 \pm 34,2$, GE-OKSİ: $294,5 \pm 21,0$ olarak ölçüldü. MSLT 2*2 faktöriyel dizayn sonuçları ile değerlendirilen 28 günlük ratların ortalama hızları dört grup, gece-gündüz ve sevofluran-oksijen karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,434$, $p_{gecegün}=0,630$, $p_{sevooks}=0,351$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 3).

Alınan toplam mesafe (cm); GÜ-SEVO: 16036,0±2162,2, GÜ-OKSİ: 17464,1 ±2359,4, GE-SEVO: 16808,2±2073,6, GE-OKSİ: 17516,4±1410,7 cm olarak bulundu. Alınan toplam mesafe dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,472$, $p_{gecegün}=0,681$, $p_{sevooks}=0,392$) bulundu ve anlamlı fark saptanmadı (Tablo 3).

Güney batı zonuna ilk giriş zamanı değerlendirildiğinde (s); GÜ-SEVO: 2,9±2,0, GÜ-OKSİ: 3,8± 3,5, GE-SEVO: 3,4± 1,8, GE-OKSİ: 4,6± 2,5 olarak bulundu. Güney batı zonuna ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,597$, $p_{gecegün}=0,661$, $p_{sevooks}=0,392$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 3).

Platforma ilk giriş zamanı değerlendirildiğinde (s); GÜ-SEVO: 7,47±1,91, GÜ-OKSİ: 7,48 ± 2,22, GE-SEVO: 14,4 ± 6,28, GE-OKSİ: 17,8 ± 11,8 olarak bulundu. Platforma ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,354$, $p_{gecegün}=0,630$, $p_{sevooks}= 0,351$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 3).

Güney batı zonuna giriş sıklığı değerlendirildiğinde; GÜ-SEVO: 11,0± 2,3, GÜ-OKSİ: 10,9 ±2,8, GE-SEVO: 11,1 ±3,9, GE-OKSİ: 9,6±4,9 olarak bulundu. Platforma ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,851$, $p_{gecegün}=0,688$, $p_{sevooks}=0,175$) saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 3).

Güney batı zonunda kaldığı süre değerlendirildiğinde (s); GÜ-SEVO: 23,3± 4,1, GÜ-OKSİ: 20,8± 4,0, GE-SEVO: 24,7 ± 6,4, GE-OKSİ: 20,1±8,3 olarak bulundu. Güney batı zonuna ilk giriş zamanı dört grup, gece-gündüz grubu ve sevofluran-oksijen grubu karşılaştırıldığında (sırasıyla $p_{full}=0,412$, $p_{gecegün} = 0,811$, $p_{sevooks}=0,075$), saptandı ve anlamlı fark bulunmadı. (Tablo 3).

Tablo3. Moris su labirenti testi sonuçları

	GÜNDÜZ		GECE		p ^{full*}	p ^{gece**}	p ^{sevooks**}
	SEVO	OKSİ	SEVO	OKSİ			
Frekans							
Güneybatı zonuna giriş sıklığı	11,0± 2,3	10,9 ±2,8	11,1 ±3,9	9,6±4,9	0,851	0,685	0,558
Kalış Süresi (s)							
Güneybatı zonunda kaldığı süre	23,3± 4,1	20,8± 4,0	24,7 ± 6,4	20,1±8,3	0,412	0,860	0,115
Hız (cm/s) ortalama	268,6± 35,8	291,7± 39,1	280,3 ± 34,2	294,5± 21,0	0,434	0,548	0,131
Platforma ilk giriş zamanı (s)	7,47± 1,91	7,48 ± 2,22	14,4 ± 6,28	17,8 ± 11,8	0,354	0,630	0,351
Güneybatı zonuna ilk giriş zamanı(s)	2,9±2,0	3,8± 3,5	3,4± 1,8	4,6± 2,5	0,597	0,458	0,257
Alınan toplam mesafe (cm)	16036,0±2162,2	17464,1 ±2359,4	16808,2±2073,6	17516,4±1410,7	0,472	0,577	0,155

*İki faktörlü ANOVA F test full model

p^{**}post hoc between grup Bonferroni test

TARTIŞMA:

Çalışmamızda gebe ratlara iki saat süresince % 3 konsantrasyonda sevofluran gece ve gündüz uygulanmasından sonra doğan 28 günlük ratlarda nörokognitif disfonksiyon üzerindeki etkilerini araştırdık. Bunun için yenidoğan ratlar postnatal 28. günde açık alan davranış testi, yükseltilmiş artı labirent testi ve Moris su labirenti testi uygulandı.

Açık alan davranış testinde ise gece sevofluran ve gündüz sevofluran alan gruplar arasında anlamlı fark bulundu. Gece anestezi uygulanan gebe ratlardan doğan ratlarda stres ve anksiyete üzerindeki etkisi gündüz anestezi uygulanan gebe ratlardan doğan ratlara göre daha az olduğu bulundu. Bu sonuçlara göre gündüz anestezi uygulamalarının stres ve anksiyete üzerinde etkisinin daha fazla olduğu saptandı.

Gebe anestezisinin yenidoğan ve çocuklardaki etkisini halen bilim insanlarının dikkatini çekmektedir. Halen dünyada gebede en çok kullanılan ajan sevoflurandır.⁹¹ Ancak yenidoğanlarda ve çocuklarda ameliyatlara ve klinik işlemler sırasında yaygın olarak kullanılan sevofluran ile ilgili çalışmalarda, sevofluranın beyin gelişimi üzerindeki nörotoksik etkileri gösterilmiştir.^{93,94,95} Bu nörotoksik etkiler, yaşamın ilerleyen dönemlerinde nörobilişsel ve davranışsal bozukluklara yol açabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle gebelik sırasında ve yenidoğanlarda sevofluran kullanımının güvenilir olup olmadığı sorgulanmaktadır. Çok sayıda çalışmada, sevofluranın toksisitesini sinaptik plastisite, oksidatif stres ve nöral enflamasyondaki değişiklikler yoluyla gösterdiğini gösterilmiştir.⁹⁶ Tüm bu bilgiler ışığında klinik uygulamada yaygın olarak kullanılanlara göre daha yüksek konsantrasyonlarda (ör. 1.0-1.5 MAC) anesteziye maruz kalabilir⁹⁷. Doğum kusurlarını düzeltmek için fetal cerrahi gibi bazı cerrahi prosedürlerin de tekrarlanması gerekebilir. ⁹⁸Aslında, hem klinik öncesi hem de geriye dönük çalışmalardan elde edilen kanıtlar, nörotoksisite riskinin anestezik ajanlara maruz kalmanın tek seferde değil, tekrarlanan şekilde arttığını gösterdi ⁹⁸

Ratlarda nöral gelişim insanlardakine benzerdir ve ratlardaki 14 günlük gebelik, insanlarda gebelik süresinin ortasına denk gelmektedir. Nörogelişimsel zaman çerçevesi içinde incelendiğinde ratlar ve insanlar arasında farklılık olduğu gösterilse de, gelişen hipokampusta nöral kök hücre (NSC) proliferasyonu ve apoptoz benzerdir⁹⁹. Nöro-embriyolojik açıdan bakıldığında, ikinci üç aylık dönem sinir gelişiminde kritik öneme sahip bir dönemdir. Bu dönemde NSC'ler beynin her yerinde bulunur. Nörogelişim, NSC'lerin çoğalması, farklılaşması, apoptozisi ve göçü yoluyla elde edilen karmaşık ve dinamik bir morfolojik ve fonksiyonel değişim süreçlerini içermektedir. ¹⁰⁰Bu nedenle NSC'lerin sayısı ve fonksiyonel durumu, nörogelişimsel süreci doğrudan etkiler. Ayrıca, ikinci trimesterde beyin gelişimi çevresel ve ilaç etkileriyle kolaylıkla değiştirilebilir. Ratlarda, abdominal ultrasonografi gibi invazif olmayan bir müdahale bile nöronların kortekse göç etmesini önlediği saptanmıştır.¹⁰¹ Ayrıca, birinci veya ikinci trimesterde annenin etanol alımı, embriyonik gelişim sırasında beyindeki nöronal proliferasyonu, göçü ve kortikal oluşumunu bozarak davranış anormalliklerine neden olabilir^{102,103,104,105,106,107,108} Bu nedenle, ikinci trimesterde anestetik kullanımının NSC sayısı ve fonksiyonel durumu etkilemesi ve davranışsal bozukluklara neden olması olasılık dahilindedir. Bu nedenle, deneyler için gebeliğin ikinci trimesterına denk gelen 14. günde anestezi uyguladık. Çalışmamıza benzer şekilde 2. trimesterde anestezi uygulaması ¹⁰⁹⁻¹²¹gebe insanda 2. Trimesterde^{122,123} anestezi uygulamalarının etkilerini gösterdikleri çalışmalarda bulunmaktadır.

Gebe ratları 2 saat süreyle 1,5 MAK (% 3) sevoflurana maruz bırakmayı seçtik. Çünkü bu süre klinik uygulamada en sık karşılaşılan süre olduğu için tercih edilmiştir. Sevofluran uygulanması gereken doz aralığını %2-3.5 arasında olması, yeterli cerrahi derinliği sağlamak ve kardiovasküler sistemi baskılanması gibi yan etkiler oluşturmayacak, fetüsün hayatını riske

sokmayacak doz aralığı olması gereklidir.¹²⁴ Ayrıca, klinik yüksek konsantrasyonlarda sevofluran kullanımı (örn. 1.0-1.5 minimum alveolar konsantrasyon [MAK]) tipik olarak uterusun kasılmasını azaltmak ve doğum eylemi riskini en aza indirmek için kullanılır. Bizim çalışmamıza benzer şekilde ratlarda 2 saat süreyle %3 sevofluran^{125,126}, Zheng H ve ark.¹¹² 2013 ise %2,5 sevofluran uygulamasını 2-6 saat süreyle uygulamışlardır. Çalışmamızdan farklı olarak ikinci trimestırda sevofluran uygulaması C57BL farelerinde 2 gün süreyle uygulanmıştır.^{127,128} Yeni Zelanda tavşanlarında ikinci trimestırda %4 konsantrasyonda sevofluran 2 saat süreyle uygulamışlardır.

Açık alan testini, keşif ve lokomotor aktivitenin yanı sıra anksiyete ile ilgili davranışı değerlendirmek için tasarlanmıştır.¹²⁹ Açık alan davranış testinde ise gece sevofluran ve gündüz sevofluran alan gruplar arasında anlamlı fark bulundu. Gece anestezi uygulanan gebe ratlardan doğan ratlarda stres ve anksiyete üzerindeki etkisi gündüz anestezi uygulanan gebe ratlardan doğan ratlara göre daha az olduğu bulundu. Çalışmamızla benzer şekilde Wang Y ve ark 2018¹³⁰ G14 gününde %3 sevofluran uyguladıkları açık alan testi ile anksiyete davranışını değerlendirdikleri çalışmalarında sadece P28. gündeki ratlarda (gençliğe eşdeğer) erken dönemde depresyon benzeri davranışların görüldüğünü bildirmişlerdir. Ancak bu çalışma gebe ratlara gündüz uygulanan sevofluran bulgularımızla uyumludur. Gece sevofluran uygulamasının neden anksiyeteyi azalttığı konusunda bilgi vermemektedir. Bulgularımıza zıt olacak şekilde fetal dönem boyunca hem tekli hem de çoklu sevofluran maruziyetinin erkek farelerde yetişkin yaştaki davranışı etkilemediğini bildiren çalışmalarda bulunmaktadır.¹³¹ Benzer şekilde Palanisamy ve ark.¹⁰⁹, gebeliğin 14. gününde utero 4 saat boyunca %1,4 izoflurana maruz kalan sıçanların anksiyeteyi azalttığını göstermişlerdir. Tüm bu çelişkili sonuçların nedenleri arasında ilk olarak davranış testlerinin yapıldığı yaşın önemi ortaya çıkmaktadır. Fötal anestezi uygulamasının olumsuz etkilerinin değerlendirildiği birçok çalışmada davranış testleri P30. günde gerçekleştirildiği daha sonraki yaşlarda yapılan çalışmalarda hiçbir farkın olmadığı bildirilmiştir^{111,113,131,132,133}. İkinci olarak cinsiyet önemlidir.¹³⁴ Çalışmamızda erkek rat sayısı daha fazla idi. Cinsiyete bağlı anksiyete incelendiğinde dişi ratlarda daha fazla görüldüğü bildirilmektedir^{134,135}

Yükseltilmiş artı labirent testi (YALT), yüksek ve açık alanlardaki kemirgenlerin doğal davranışlarına dayanan laboratuvar hayvanlarında anksiyete benzeri davranışları değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.¹³⁶ Çalışmamızda gece gündüz anestezi uygulamasının P28

günde YALT'ın açık kollarında harcanan zaman giriş sayısı karşılaştırılmasında fark olmadığı saptanmıştır. Çalışmamızdaki ratların çoğunluğu erkek cinsiyetindeydi. Bizim çalışmamıza benzer şekilde, erkek farelerde izoflurana erken maruziyetin anksiyete üzerinde etkisinin olmaması, daha önce YALT ile bildirilmişti.¹³⁷ Çalışmamızın sonuçlarından farklı olarak genel anesteziye erken maruz kalmanın, yükseltilmiş artı labirent testi ile değerlendirildiğinde genç yetişkin sıçanlarda anksiyete benzeri davranışın gelişiminin arttığı bildirilmiştir¹³⁸. Ayrıca bu çalışmada anksiyetede bu değişiklik, kontrollerine kıyasla GA ile tedavi edilen dişi ratlarda daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Bu cinsiyet farklılığının nedenini YALT'de yetişkin erkek sıçanların genellikle açık kollarını keşfetmekten kaçındıkları bilinmesine dayanmaktadır.¹³⁹ Sevofluranın farelere P4 – P6'da uygulandığında, erkeklerin genç yetişkinlikte kadınlardan daha duyarlı olduğu anksiyete benzeri davranışa neden olduğunu öne süren yayın bulunmaktadır.^{140,141} Satomoto ve ark. (2009)⁹⁵, %3 sevoflurana maruz kalan 6 günlük farelerde kapsamlı bir sosyal davranış analizi yaptıkları çalışmalarında sevofluran kaynaklı anormal sosyal davranışlar kavramını ve hayatın sonraki dönemlerinde korku koşullandırmasında önemli eksikliklerin ortaya çıktığı bildirmişlerdir. Ayrıca sevofluran uygulanan farelerin sosyal hafıza geliştirmedeğini ve "sosyal etkileşim testindeki kontrollere kıyasla bir sosyal hedefle etkileşimin azaldığını" saptanmışlardır.

Moris su labirenti testi (MSLT), kemirgenlerde, özellikle hipokampal işlevle doğrudan ilişkili öğrenme ve hafıza için, spatial öğrenmeyi ve hafızayı değerlendirmenin güvenilir bir yöntemidir⁹² Moris su labirenti testi, denemeleri sırasında, yavru sıçanların öğrenme yeteneğini yansıtan platformunu bulma süresi (*escape latency*) olarak tanımlandı. Orijinal platform bulunduğu kadranda harcanan zaman, hedef kadran süresi olarak tanımlandı ve orijinal platform alanını geçen zamanlar, platform geçiş süreleri olarak tanımlandı. Hem hedef kadran süresi hem de platform geçiş süreleri yavru ratların hafıza yeteneği konusunda bize bilgi vermektedir. Yavrular, MSLT denemeleri sırasında platformu nasıl bulacaklarını öğrenmeye çalışırken, bu bir dereceye kadar bize bellek konusunda bilgi vermektedir. Bu nedenle, bellek bileşenlerini öğrenme yeteneğinden ayırmak çok zordur, ancak platformunu bulma süresi temel olarak öğrenme yeteneğini yansıtır. Çalışmamızda ikinci trimesterde %3 konsantrasyonda uygulanan sevofluranın yavru ratlarda öğrenme ve bellek üzerinde etkisi olmadığını saptadık. Bu sonucumuz anestezi için tamamen aynı protokolü kullanan Lee ve ark 2017, ne tek ne de tekrar tekrar maruz kalma, yavru farelerde uzun süreli davranış anormalliklerine neden

olmadığını gösteren çalışma ile uyumludur.¹³¹ Wu ve ark 2018¹⁴² G14. günü tek ve tekrarlayan üç sevofluran anestezisi epizodunun uzun dönem etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında gebeliğin ortasında sevoflurana 2 saatlik tek bir maruz kalmanın MSLT ile ölçülen öğrenme ve bellek bozukluğuna neden olmadığını göstermişlerdir. Ancak sevoflurana 2 saatlik üç maruziyet, cerrahi veya klinik çalışmalarda kontrol edilemeyen diğer ilişkili çevresel, ebeveyn ve gebelik faktörlerinin yokluğunda öğrenme ve bellek üzerinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte Suehara ve ark,¹³³ üçüncü trimesterdaki (G17) 6 saat boyunca %1,5 konsantrasyonda sevofluran verilen gebe farelerden doğan yavrulardaki kısa süreli öğrenme ve hafıza bozukluğuna neden olmadığını gösterildiği çalışma ile de uyumludur. Çalışmamızdan farklı olarak Wang Y ve ark 2018¹³⁰ G14 gününde %3 sevofluran uyguladıkları MSLT ile öğrenme ve belleği değerlendirdikleri çalışmalarında sadece P28. gündeki ratlarda (gençliğe eşdeğer) erken dönemde öğrenme ve bellekte azalma görüldüğünü saptamışlardır. Bu tutarsızlığın altında yatan mekanizmaların bilinmediğini ancak sevofluranın farklı beyin bölgelerindeki toksisitesi (prefrontal korteks-duygusal değişiklikler; hipokampus öğrenme güçlüğü) farklı olabilirken, iyi bilinen bir fenomen olan bilişsel gelişim üzerindeki öğrenme etkilerinin dışlanamadığını bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada G14 gününde 2 saat %3 sevoflurane uygulamasının MSLT testi ile öğrenme ve belleğin araştırıldığı ve P28. günde öğrenme ve bellekte azalma olduğu bildirilmiştir¹⁴³. Bu çalışmaya benzer Zheng ve ark¹¹² Üçüncü trimesterde (G18'de) uygulanan %2,5 sevofluran anestezisinin, P31'deki yavru farelerde öğrenme ve hafıza bozukluğuna neden olduğu saptanmıştır. Yakın zamanda Yu ve ark¹⁴⁴ üçüncü trimesterde % 1,8 sevofluran uygulamasının yavru ratlarda zamana bağlı bir şekilde öğrenme ve belleği bozduğunu göstermiştir. Ayrıca geç gebelik sırasında birden fazla %2,5 sevoflurana birden fazla maruz kalma, yavru farelerde öğrenme ve hafıza bozukluğuna neden olduğu bildirilmiştir.¹³² Tüm bu bilgiler ışığında sevofluran konsantrasyonunun yavrularda öğrenme ve hafıza üzerindeki etkisinde önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Anestezinin neden olduğu öğrenme ve hafıza bozukluğunun anestezik tipi, anesteziklerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, anestezik dozajı ve anestezik maruz kalma süresi ile ilişkili olduğu saptanmıştır¹³³

Genel anestezinin omurgalı ve omurgasız hayvanlarda yapılan deneysel çalışmada sirkadiyen saat üzerindeki faz etkisini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır.¹⁴⁵Faz kaymasının nedeni olarak santral sirkadiyen saat genlerinin ekspresyonuna etki eden anestezik maddeler aracılığıyla olduğu bildirilmektedir.¹⁴⁵ Santral sirkadiyen saat genlerinin faz kaymaları daha sonra bu genler tarafından yönlendirilen birçok fizyolojik ve davranışsal ritimlerde kaymalara neden olabilir anestetik ajan izofluran, sevofluran, propofol ve ketaminin kemirgenlerde ve diğer hayvanlarda günlük davranış ritimlerinde zamana bağlı değişimlere neden olduğu gösterilmiştir. Volatil (sevoflurane, izofluran) ve intravenöz (propofol) anestezikleri gibi GABA agonistleri, sirkadiyen ritim üzerinde farklı etkiler ortaya çıkarmaktadır¹⁴⁵. Farelere uygulanan sevofluran anestezisi, uygulama zamanından bağımsız olarak dinlenme aktivitesi ritminde faz gecikmesine neden olur.¹⁴⁶ Sıçanlara uygulanan propofol, uykudan uyanıklığa geçişte verildiğinde bir saatlik faz ilerlemelerini tetiklediği bildirilmiştir¹⁴⁷, ancak günün diğer zamanlarında faz kayma etkisi gösterilmemiştir.^{147,148} İzofluran anestezisi, yalnızca sıçanlarda aktif faz sırasında uygulandığında dinlenme aktivitesi döngülerinin iki saatlik faz kayması yaptığı saptanmıştır.¹⁴⁹ Bunun zıttı olarak bal arısına sabahın erken saatlerinde uygulanan izofluran (aktif faz), faz gecikmesine neden olur, ancak sübjektif gece uygulandığında (dinlenme fazı) faz kaymasına neden olmadığı bildirilmiştir.
150,151

Genel anestezi uygulamasının sirkadiyen ritimi etkilemesi sonucunda davranışsal parametreler den öğrenme ve hafıza da etkilenme oluşmaktadır. Ancak literatürde gece gündüz anestezi uygulaması sonucunda yenidoğan ratların davranış testlerinin bildirildiği yayın bulunmamaktadır. Yalnızca Cheeseman ve ark, 2012¹⁵⁰ çalışmalarında izofluran anestezisinin sirkadiyen ritmi değiştiren etkisi, en az üç gün boyunca güçlü günlük ışık döngülerinde tutulan bal arılarında zaman-mekan öğrenme davranışının devam ettiği bildirdikleri çalışma dışında başka çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada bal arılarında yapılmasına rağmen bizim çalışmamızın öğrenme ve bellek üzerine etkileri ile benzer sonucu vermiştir. Bu çalışmadan farklı olarak 18 aylık erkek sıçanlarda ve 10 haftalık erkek farelerde iki saat süreyle 1 MAK uygulanan izofluranın, Barnes labirentinde bilişsel performansı bozduğu saptanmıştır. İki saatlik anestezi uygulanması sıçanlarda ve farelerde, kontrollere kıyasla daha zayıf öğrenme becerileri gösterdiği bulunmuştur.¹⁵²

Song ve ark 2018¹⁵³ farelerin aktif fazı sırasında %1,3 izoflurana 5 saat maruz kalması hafızanın ve sirkadiyen ritimleri bozulmasına, bu etkinin yaşlı (18 aylık) farelerde genç farelere göre daha uzun sürdüğünü bildirmişlerdir. Dört saat süreyle uygulanan 1MAK' izofluran uygulandıktan bir hafta sonra MSLT ile ölçülen öğrenme ve bellek etkilerinin bozulduğunu saptamışlardır.¹⁵⁴ Buna karşın sevofluranın genç erişkinlerde (8– 10 haftalık) ve yaşlı sıçanlarda (15-21 aylık) öğrenme ve belleğini bozmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada, deneylerin farklı sirkadiyen zamanlarında gerçekleştirildiği için doğrudan sonuçları karşılaştırılabilir olmadığı bildirilmektedir. Fang ve ark. 2012 yedi günlük erkek sıçanların sevofluran anestezi uygulamasından sonra MSLT ile ölçülen bellek ve lokomotor aktivite performansı altı hafta sonra geçici olarak kötüleştiği bildirilmiştir. Bunun aksine, genç yetişkin erkek farelerin (dokuz haftalık) sevoflurana (ve desflurana) tek bir dört saatlik maruziyeti veya ardışık beş gün boyunca iki saat maruz kaldıktan sonra MSLT ile ölçülen bellek ve lokomotor aktivite performansı üzerinde herhangi bir etki bulunmadığı gösterilmiştir.¹⁵⁴

Bu çalışmanın kısıtlılıkları birincisi, deneysel tasarımımda gebe ratl anestezi sırasında oksijenasyon için sürekli olarak monitörize edilmedi. İkinci olarak ratlara nosiseptif uyarılar olmadan anestezi uygulandı. Klinikte gebelere sadece anestezi değil aynı zamanda cerrahi prosedürler de uygulanmaktadır. Üçüncü olarak erken yaşta tekrarlanan ağrı ve stres, gelişen nöronlarda hasara ve daha sonra davranışsal zorluklara neden olacağından hamilelik sırasında cerrahi stimülasyonun neden olduğu maternal stres, yavruların gelişimsel yetersizliğine neden olabilir.

Sonuç ve Öneriler:

Bizim çalışmamızdaki gebe ratlara gece (21:00-23:00) ve gündüz (09:00-11:00) saatlerinde 2 saat boyunca % 3 konsantrasyonda sevofluran uygulaması sonrası doğan ratların 28. Gününde bakılmış olan açık alan test sonucuna göre gece anestezi alan gebe ratlardan doğulmuş ratların lokomotor ve anksiyete duyusunda anlamlı fark saptadık. Öğrenme ve bellek üzerinde anlamlı fark saptanmadı.

Genel anesteziklerin etkilerinin sirkadiyen değişiklikler, bu ajanların istenmeyen etkilerini azaltmak üzere anestezi pratiğine uygulanabilir. Bununla birlikte genel anestezi ajanları ile ilgili kronofarmakolojik çalışmaları anestezi pratiğine uyarlamadan önce daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.



KAYNAKLAR:

1. Disma N, Mondardini MC, Terrando N, Absalom AR, Bilotta F. A systematic review of methodology applied during preclinical anesthetic neurotoxicity studies: important issues and lessons relevant to the design of future clinical research. *Paediatr Anaesth*. 2016;26:6–36. doi:10.1111/pan.12786
2. Satomoto M. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Japanese J Anesthesiol*. 2010;59(SUPPL. NOVEMBER):628–637.
3. Song SY, Meng XW, Xia ZY, vd. *Cognitive impairment and transcriptomic profile in hippocampus of young mice after multiple neonatal exposures to sevoflurane*. C 11.; 2019. doi:10.18632/aging.102326
4. Hirotsu A, Iwata Y, Tatsumi K, Miyai Y, Matsuyama T, Tanaka T. Maternal exposure to volatile anesthetics induces IL-6 in fetal brains and affects neuronal development. *Eur J Pharmacol*. 2019;863(June):172682. doi:10.1016/j.ejphar.2019.172682
5. Orliaguet G, Vivien B, Langeron O, Bouhemad B, Coriat P, Riou B. Minimum alveolar concentration of volatile anesthetics in rats during postnatal maturation. *Anesthesiology*. 2001;95(3):734–739. doi:10.1097/00000542-200109000-00028
6. Hoagland MA, Chatterjee D. Anesthesia for fetal surgery. *Paediatr Anaesth*. 2017;27(4):346–357. doi:10.1111/pan.13109
7. Dong Y, Zhang G, Zhang B, vd. The common inhalational anesthetic sevoflurane induces apoptosis and increases β -amyloid protein levels. *Arch Neurol*. 2009;66(5):620–631. doi:10.1001/archneurol.2009.48
8. Sun L. Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development. *Br J Anaesth*. 2010;105 Suppl:61–68. doi:10.1093/bja/aeq302

9. Arnaout L, Ghiglione S, Figueiredo S, Mignon A. Effects of maternal analgesia and anesthesia on the foetus and the newborn. *Rev Sage - Femme*. 2008;7(3):155–165. doi:10.1016/j.jgyn.2007.11.010
10. Kong F, Xu L, He D, Zhang X, Lu H. Effects of gestational isoflurane exposure on postnatal memory and learning in rats. *Eur J Pharmacol*. 2011;670(1):168–174. doi:10.1016/j.ejphar.2011.08.050
11. Palanisamy A, Baxter MG, Keel PK, Xie Z, Crosby G, Culley DJ. Rats exposed to isoflurane in utero during early gestation are behaviorally abnormal as adults. *Anesthesiology*. 2011;114(3):521–528. doi:10.1097/ALN.0b013e318209aa71
12. Davidson AJ, Sun LS. Clinical Evidence for Any Effect of Anesthesia on the Developing Brain. *Anesthesiology*. 2018;128(4):840–853. doi:10.1097/ALN.0000000000001972
13. Khalaf-Nazzal R, Francis F. Hippocampal development - Old and new findings. *Neuroscience*. 2013;248:225–242. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.05.061
14. Urbán N, Guillemot F. Neurogenesis in the embryonic and adult brain: Same regulators, different roles. *Front Cell Neurosci*. 2014;8(NOV):1–19. doi:10.3389/fncel.2014.00396
15. Ang ESBC, Gluncic V, Duque A, Schafer ME, Rakic P. Prenatal exposure to ultrasound waves impacts neuronal migration in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(34):12903–12910. doi:10.1073/pnas.0605294103
16. Carneiro LMV, Diógenes JPL, Vasconcelos SMM, vd. Behavioral and neurochemical effects on rat offspring after prenatal exposure to ethanol. *Neurotoxicol Teratol*. 2005;27(4):585–592. doi:10.1016/j.ntt.2005.06.006

17. Kuwagata M, Ogawa T, Shioda S, Nagata T. Observation of fetal brain in a rat valproate-induced autism model: a developmental neurotoxicity study. *Int J Dev Neurosci*. 2009;27(4):399–405. doi:10.1016/j.ijdevneu.2009.01.006
18. Vutskits L, Gascon E, Tassonyi E, Kiss JZ. Effect of ketamine on dendritic arbor development and survival of immature GABAergic neurons in vitro. *Toxicol Sci*. 2006;91(2):540–549. doi:10.1093/toxsci/kfj180
19. Hastings M, O’Neill JS, Maywood ES. Circadian clocks: Regulators of endocrine and metabolic rhythms. *J Endocrinol*. 2007;195(2):187–198. doi:10.1677/JOE-07-0378
20. Schibler U. The daily rhythms of genes, cells and organs. *EMBO Rep*. 2005;6(SUPPL. 1). doi:10.1038/sj.embor.7400424
21. Gökmen N, Barış İ, Öçmen E, Yılmaz O, Günerli A, Kavaklı İH. Gündüz uygulanan izofluran anestezisi beyinde ve periferik bir organ olan karaciğerde sirkadiyen saat genlerini baskılar. *Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Dern Derg*. 2017;45(4):197–202. doi:10.5152/TJAR.2017.68466
22. Poulsen RC, Warman GR, Sleight J, Ludin NM, Cheeseman JF. How does general anaesthesia affect the circadian clock? *Sleep Med Rev*. 2018;37:35–44. doi:10.1016/j.smrv.2016.12.002
23. Perouansky M. The quest for a unified model of anesthetic action: A century in Claude Bernard’s shadow. *Anesthesiology*. 2012;117(3):465–474. doi:10.1097/ALN.0b013e318264492e
24. Slikker W, Zou X, Hotchkiss CE, vd. Ketamine-induced neuronal cell death in the perinatal rhesus monkey. *Toxicol Sci*. 2007;98(1):145–158. doi:10.1093/toxsci/kfm084

25. Brioni JD, Varughese S, Ahmed R, Bein B. A clinical review of inhalation anesthesia with sevoflurane: from early research to emerging topics. *J Anesth.* 2017;31(5):764–778. doi:10.1007/s00540-017-2375-6
26. Pastalkova E, Serrano P, Pinkhasova D, Wallace E, Fenton AA, Sacktor TC. Storage of spatial information by the maintenance mechanism of LTP. *Science (80-)*. 2006;313(5790):1141–1444. doi:10.1126/science.1128657
27. D’Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int.* 2019;43(6):582–592. doi:10.1002/cbin.11137
28. Kolosova NG, Vitovtov AO, Muraleva NA, Akulov AE, Stefanova NA, Blagosklonny M V. Rapamycin suppresses brain aging in senescence-accelerated OXYS rats. *Aging (Albany NY)*. 2013;5(6):474–484. doi:10.18632/aging.100573
29. Nishikawa K, MacIver MB. Agent-selective effects of volatile anesthetics on GABAA receptor-mediated synaptic inhibition in hippocampal interneurons. *Anesthesiology*. 2001;94(2):340–347. doi:10.1097/00000542-200102000-00025
30. Kelz MB, García PS, Mashour GA, Solt K. Escape From Oblivion: Neural Mechanisms of Emergence From General Anesthesia. *Anesth Analg.* 2019;128(4):726–736. doi:10.1213/ANE.0000000000004006
31. Hannah R, Cavanagh SE, Tremblay S, Simeoni S, Rothwell JC. Selective suppression of local interneuron circuits in human motor cortex contributes to movement preparation. *J Neurosci.* 2018;38(5):1264–1276. doi:10.1523/JNEUROSCI.2869-17.2017
32. Wu Z, Zhang Y, Zhang Y, Zhao P. Sirtuin 2 Inhibition Attenuates Sevoflurane-Induced Learning and Memory Deficits in Developing Rats via Modulating Microglial Activation. *Cell Mol Neurobiol.* 2020;40(3):437–446. doi:10.1007/s10571-019-00746-9
33. Chatterjee, Nimrat Walker G. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol Behav.* 2017;176(10):139–148. doi:10.1038/s41586-018-0255-3.Structure

34. Spiegel I, Bichler EK, García PS. The influence of regional distribution and pharmacologic specificity of GABAAR subtype expression on anesthesia and emergence. *Front Syst Neurosci.* 2017;11(August):1–13.
doi:10.3389/fnsys.2017.00058
35. Belelli D, Peden DR, Rosahl TW, Wafford KA, Lambert JJ. Extrasynaptic GABA_A receptors of thalamocortical neurons: A molecular target for hypnotics. *J Neurosci.* 2005;25(50):11513–11520. doi:10.1523/JNEUROSCI.2679-05.2005
36. Bichler EK, Elder CC, García PS. Clarithromycin increases neuronal excitability in CA3 pyramidal neurons through a reduction in GABAergic signaling. *J Neurophysiol.* 2017;117(1):93–103. doi:10.1152/jn.00134.2016
37. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, vd. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci.* 2003;23(3):876–882. doi:10.1523/jneurosci.23-03-00876.2003
38. Antkowiak B, Helfrich-Förster C. Effects of small concentrations of volatile anesthetics on action potential firing of neocortical neurons in vitro. *Anesthesiology.* 1998;88(6):1592–1605. doi:10.1097/00000542-199806000-00024
39. Shanghai Seventh People's Hospital, Shanghai, China, 2 Department of Nuclear Medicine, 10th People's Hospital, Tongji University, Shanghai, China. 2014;(1):789–797.
40. Nishikawa KI, MacIver MB. Membrane and synaptic actions of halothane on rat hippocampal pyramidal neurons and inhibitory interneurons. *J Neurosci.* 2000;20(16):5915–5923. doi:10.1523/jneurosci.20-16-05915.2000
41. Durieux M, Davis PJ. Editorial: The safety of key inhaled and intravenous drugs in pediatrics (SAFEKIDS): An update. *Anesth Analg.* 2010;110(5):1265–1267.
doi:10.1213/ANE.0b013e3181d5a656
42. (YÜKSEL Keçik. *Temel Anestezi.2. baskı. Güneş Tıp Kitabevi .84*

43. John F. Butterworth, D.C.M., John D. Wasnick. (2013) Inhalation anesthetics. G. E. Morgan & M. S. Mikhail (Ed.). Clinical anesthesiology (4 bs., s. 153-173). New York: Lange Medical Books/McGraw Hill, Medical Pub. Division).
44. Young J, Apfelbaum JL. Inhalational Desflurane Anesthetics : and Sevoflurane. Rev Lit Arts Am. 1995;8180(95):564–577.
45. Brown, B. (1995) Sevoflurane: Introduction and Overview. *Anesthesia & Analgesia*, 81 (6S), 1S-3S.,)(Bedi, A.,Howard Fee, J.P. (2001) Inhalational anaesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol*, 14 (4), 387-392.
46. Green, W.B., Jr. (1995) The ventilatory effects of sevoflurane. *Anesth Analg*, 81 (6 Suppl), S23-26.
47. Kharasch, E.D. (1995) Biotransformation of sevoflurane. *Anesth Analg*, 81 (6 Suppl), S27-38.
48. Michael Behne, Hans-Joachim Wilke, Sebastian Harder Sevofluranın Klinik Farmakokinetiği; *Klinik Farmakokinetik* 36 , sayfaları13 - 26 (1999)
49. Schindler E, Hempelmann G. Durchblutung und metabolismus von leber und splanchnikusgebiet unter sevofluran. *Anaesthesist*. 1998;47(SUPPL. 1):19–23. doi:10.1007/PL000024

50. Chandler JR, Myers D, Mehta D, vd. Emergence delirium in children: A randomized trial to compare total intravenous anesthesia with propofol and remifentanyl to inhalational sevoflurane anesthesia. *Paediatr Anaesth*. 2013;23(4):309–315. doi:10.1111/pan.12090
51. Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *J Intern Med*. 2005;258(6):479–517. doi:10.1111/j.1365-2796.2005.01570.x
52. Van De Berg WDJ, Schmitz C, Steinbusch HWM, Blanco CE. Perinatal asphyxia induced neuronal loss by apoptosis in the neonatal rat striatum: A combined TUNEL and stereological study. *Exp Neurol*. 2002;174(1):29–36. doi:10.1006/exnr.2001.7855
53. Conti AC, Raghupathi R, Trojanowski JQ, McIntosh TK. Experimental brain injury induces regionally distinct apoptosis during the acute and delayed post-traumatic period. *J Neurosci*. 1998;18(15):5663–5672. doi:10.1523/jneurosci.18-15-05663.1998
54. Ikonomidou C, Bittigau P, Koch C, vd. Neurotransmitters and apoptosis in the developing brain. *Biochem Pharmacol*. 2001;62(4):401–405. doi:10.1016/S0006-2952(01)00696-7
55. Liu X, Ji J, Zhao GQ. General anesthesia affecting on developing brain: evidence from animal to clinical research. *J Anesth*. 2020;34(5):765–772. doi:10.1007/s00540-020-02812-9
56. Stratmann G, Sall JW, May LDV, vd. Isoflurane differentially affects neurogenesis and long-term neurocognitive function in 60-day-old and 7-day-old rats. *Anesthesiology*. 2009;110(4):834–848. doi:10.1097/ALN.0b013e31819c463d
57. Stratmann G, Sall JW, May LDV, Loepke AW, Lee MT. Beyond anesthetic properties: The effects of isoflurane on brain cell death, neurogenesis, and long-term neurocognitive function. *Anesth Analg*. 2010;110(2):431–437. doi:10.1213/ane.0b013e3181af8015

58. Yu D, Jiang Y, Gao J, Liu B, Chen P. Repeated exposure to propofol potentiates neuroapoptosis and long-term behavioral deficits in neonatal rats. *Neurosci Lett*. 2013;534(1):41–46. doi:10.1016/j.neulet.2012.12.033
59. Shu Y, Patel SM, Pac-Soo C, vd. Xenon pretreatment attenuates anesthetic-induced apoptosis in the developing brain in comparison with nitrous oxide and hypoxia. *Anesthesiology*. 2010;113(2):360–368. doi:10.1097/ALN.0b013e3181d960d7
60. Wei H, Kang B, Wei W, vd. Isoflurane and sevoflurane affect cell survival and BCL-2/BAX ratio differently. *Brain Res*. 2005;1037(1–2):139–147. doi:10.1016/j.brainres.2005.01.009
61. Zhang Y, Dong Y, Wu X, vd. The mitochondrial pathway of anesthetic isoflurane-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 2010;285(6):4025–4037. doi:10.1074/jbc.M109.065664
62. Flick RP, Katusic SK, Colligan RC, vd. Cognitive and behavioral outcomes after early exposure to anesthesia and surgery. *Pediatrics*. 2011;128(5):1053–1061. doi:10.1542/peds.2011-0351
63. Hansen TG, Pedersen JK, Henneberg SW, vd. Academic performance in adolescence after inguinal hernia repair in infancy: A nationwide cohort study. *Anesthesiology*. 2011;114(5):1076–1085. doi:10.1097/ALN.0b013e31820e77a0
64. Ing C, DiMaggio C, Whitehouse A, vd. Long-term differences in language and cognitive function after childhood exposure to anesthesia. *Pediatrics*. 2012;130(3). doi:10.1542/peds.2011-3822
65. Pharmaceuticals C, Pharmaceuticals M, Bernier R, vd. HHS Public Access Author manuscript. 2017;315(21):2312–2320. doi:10.1001/jama.2016.6967. Corresponding
66. Sinner B, Becke K, Engelhard K. General anaesthetics and the developing brain: An overview. *Anaesthesia*. 2014;69(9):1009–1022. doi:10.1111/anae.12637

67. Lu LX, Yon JH, Carter LB, Jevtovic-Todorovic V. General anesthesia activates BDNF-dependent neuroapoptosis in the developing rat brain. *Apoptosis*. 2006;11(9):1603–1615. doi:10.1007/s10495-006-8762-3
68. Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol*. 2000;10(3):381–391. doi:10.1016/S0959-4388(00)00092-1
69. Dudek H, Datta SR, Franke TF, vd. Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase Akt. *Science (80-)*. 1997;275(5300):661–665. doi:10.1126/science.275.5300.661
70. Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science (80-)*. 1995;270(5236):593–598. doi:10.1126/science.270.5236.593
71. Bittigau P, Sifringer M, Genz K, vd. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(23):15089–15094. doi:10.1073/pnas.222550499
72. Bibel M, Barde YA. Neurotrophins: Key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev*. 2000;14(23):2919–2937. doi:10.1101/gad.841400
73. Hayashi H, Dikkes P, Soriano SG. Repeated administration of ketamine may lead to neuronal degeneration in the developing rat brain. *Paediatr Anaesth*. 2002;12(9):770–774. doi:10.1046/j.1460-9592.2002.00883.x
74. Johnson SA, Young C, Olney JW. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the developing brain of nonhypoglycemic mice. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2008;20(1):21–28. doi:10.1097/ANA.0b013e3181271850
75. Chassard D, Bruguerolle B. Chronobiology and Anesthesia. *Anesthesiology*. 2004;100(2):413–427. doi:10.1097/00000542-200402000-00034

76. Orts-Sebastian A, Ludin NM, Pawley MDM, Cheeseman JF, Warman GR. Impact of anaesthesia on circadian rhythms and implications for laboratory experiments. *Exp Neurol*. 2019;311(September):318–322. doi:10.1016/j.expneurol.2018.09.017
77. Das C, Lucia MS HK and TJ. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol Behav*. 2017;176(3):139–148. doi:10.1177/1089253214553066.Circadian
78. Coppola S, Caccioppola A, Chiumello D. Internal clock and the surgical ICU patient. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2020;33(2):177–184. doi:10.1097/ACO.0000000000000816
79. Chassard D, Duflo F, De Queiroz Siqueira M, Allaouchiche B, Boselli E. Chronobiology and anaesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2007;20(3):186–190. doi:10.1097/ACO.0b013e328136c55e
80. Selvadurai S, Maynes JT, McDonnell C, vd. Evaluating the effects of general anesthesia on sleep in children undergoing elective surgery: An observational case-control study. *Sleep*. 2018;41(8):1–10. doi:10.1093/sleep/zsy094
81. Mashour GA, Lipinski WJ, Matlen LB, vd. Isoflurane anesthesia does not satisfy the homeostatic need for rapid eye movement sleep. *Anesth Analg*. 2010;110(5):1283–1289. doi:10.1213/ANE.0b013e3181d3e861
82. Challet E, Sylviane G, Pevet P, Oberling P, Pain L. Reciprocal relationships between general (propofol) anesthesia and circadian time in rats. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32(3):728–735. doi:10.1038/sj.npp.1301081
83. Song B, Li Y, Teng X, Li X, Yang Y, Zhu J. Comparison of morning and evening operation under general anesthesia on intraoperative anesthetic requirement, postoperative sleep quality, and pain: A randomized controlled trial. *Nat Sci Sleep*. 2020;12:467–475. doi:10.2147/NSS.S257896
84. Matthews JH, Marte E, Halberg F. A Circadian susceptibility-resistance cycle to fluothane in male B1 mice. *Can Anaesth Soc J*. 1964;11(3):280–290. doi:10.1007/BF03002209

85. Scheving LE, Vedral DF, Pauly JE. A circadian susceptibility rhythm in rats to pentobarbital sodium. *Anat Rec.* 1968;160(4):741–749. doi:10.1002/ar.1091600409
86. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *Eur J Pharmacol.* 2003;463(1–3):3–33. doi:10.1016/S0014-2999(03)01272-X
87. Roth KA, Katz RJ. Stress, behavioral arousal, and open field activity-A reexamination of emotionality in the rat. *Neurosci Biobehav Rev.* 1979;3(4):247–263. doi:10.1016/0149-7634(79)90012-5
88. Sheets AL, Lai PL, Fisher LC, Basso DM. Quantitative Evaluation of 3D Mouse Behaviors and Motor Function in the Open-Field after Spinal Cord Injury Using Markerless Motion Tracking. *PLoS One.* 2013;8(9). doi:10.1371/journal.pone.0074536
89. Kanari K, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Multidimensional structure of anxiety-related behavior in early-weaned rats. *Behav Brain Res.* 2005;156(1):45–52. doi:10.1016/j.bbr.2004.05.008
90. Mathis V, Cosquer B, Barbelivien A, vd. The lateral habenula interacts with the hypothalamo-pituitary adrenal axis response upon stressful cognitive demand in rats. *Behav Brain Res.* 2018;341(2010):63–70. doi:10.1016/j.bbr.2017.12.016
91. Murdoch H, Scrutton M, Laxton CH. Choice of anaesthetic agents for caesarean section: a UK survey of current practice. *Int J Obstet Anesth* 2013 Jan;22:31-5.)
92. Bromley-Brits K, Deng Y, Song W. Morris Water Maze test for learning and memory deficits in Alzheimer’s disease model mice. *J Vis Exp.* 2011;(53):2–6. doi:10.3791/2920
93. Alvarado MC, Murphy KL, Baxter MG. Visual recognition memory is impaired in rhesus monkeys repeatedly exposed to sevoflurane in infancy. *Br J Anaesth.* 2017;119(3):517–523. doi:10.1093/bja/aew473

94. Lin D, Liu J, Kramberg L, Ruggiero A, Cottrell J, Kass IS. Early-life single-episode sevoflurane exposure impairs social behavior and cognition later in life. *Brain Behav.* 2016;6(9):1–14. doi:10.1002/brb3.514
95. Satomoto M. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Japanese J Anesthesiol.* 2010;59(SUPPL. NOVEMBER):628–637.
96. Shen X, Dong Y, Xu Z, vd. Selective anesthesia-induced neuroinflammation in developing mouse brain and cognitive impairment. *Anesthesiology.* 2013;118(3):502–515. doi:10.1097/ALN.0b013e3182834d77
97. Oluyinka O. Olutoye, Andre N. Gay, Fariha Sheikh vd In-utero radiofrequency ablation in fetal piglets: lessons learned *J Pediatr Surg.* 2016 Apr; 51(4): 554–558. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2015.07.014
98. Dean B. Andropoulos, M.D., M.H.C.M., and Michael F. Greene, M.D. Anesthesia and Developing Brains — Implications of the FDA Warning *n engl j med* 376;10 nejm.org March 9, 2017
99. Sanes DH, Reh TA, Harris WA (2005) *Development of the nervous system.* Oxford: Academic Press, UK
100. Urbán N, Guillemot F (2014) Neurogenesis in the embryonic and adult brain: same regulators, different roles. *Front Cell Neurosci* 8:396
101. Ang ES Jr, Gluncic V, Duque A, Schafer ME, Rakic P (2006) Prenatal exposure to ultrasound waves impacts neuronal migration in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:12903-12910
102. Carneiro LM, Diógenes JP, Vasconcelos SM (2005) Behavioral and neurochemical effects on rat offspring after prenatal exposure to ethanol. *Neurotoxicol Teratol* 27:585-592.
103. Hausknecht KA, Acheson A, Farrar AM (2005) Prenatal alcohol exposure causes attention deficits in male rats. *Behav Neurosci* 119:302-310

104. Manent JB, Jorquera I, Mazzucchelli I (2007) Fetal exposure to GABA-acting antiepileptic drugs generates hippocampal and cortical dysplasias. *Epilepsia* 48:684-693.
105. Cuzon VC, Yeh PW, Yanagawa Y, Obata K, Yeh HH (2008) Ethanol consumption during early pregnancy alters the disposition of tangentially migrating GABAergic interneurons in the fetal cortex. *J Neurosci* 28:1854-1864
106. Hellemans KG, Verma P, Yoon E, Yu W, Weinberg J (2008) Prenatal alcohol exposure increases vulnerability to stress and anxiety-like disorders in adulthood. *Ann N Y Acad Sci* 1144:154-175.
107. Guerri C, Bazinet A, Riley EP (2009) Foetal alcohol spectrum disorders and alterations in brain and behaviour. *Alcohol Alcohol* 44:108-114.
108. Kuwagata M, Ogawa T, Shioda S, Nagata T (2009) Observation of fetal brain in a rat valproate-induced autism model: a developmental neurotoxicity study. *Int J Dev Neurosci* 27:399-405
109. Palanisamy A, Baxter MG, Keel PK, et al. Rats exposed to isoflurane in utero during early gestation are behaviorally abnormal as adults. *Anesthesiology* 2011; 114(3):521–8.
110. Kong FJ, Tang YW, Lou AF, et al. Effects of isoflurane exposure during pregnancy on postnatal memory and learning in offspring rats. *Mol Biol Rep* 2012;39(4): 4849–55
- 111 . Kong F, Xu L, He D, et al. Effects of gestational isoflurane exposure on postnatal memory and learning in rats. *Eur J Pharmacol* 2011;670(1):168–74.
112. Zheng H, Dong Y, Xu Z, et al. Sevoflurane anesthesia in pregnant mice induces neurotoxicity in fetal and offspring mice. *Anesthesiology* 2013;118(3):516–26.
113. Zhao T, Li Y, Wei W, et al. Ketamine administered to pregnant rats in the second trimester causes long-lasting behavioral disorders in offspring. *Neurobiol Dis* 2014;68:145–55

114. Zhao T, Li C, Wei W, et al. Prenatal ketamine exposure causes abnormal development of prefrontal cortex in rat. *Sci Rep* 2016;6:26865.
115. . Dong C, Rovnaghi CR, Anand KJ. Ketamine exposure during embryogenesis inhibits cellular proliferation in rat fetal cortical neurogenic regions. *Acta Anaesthesiol Scand* 2016;60(5):579–87.
- 116 . Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, et al. Ketamine-induced neuroapoptosis in the fetal and neonatal rhesus macaque brain. *Anesthesiology* 2012;116(2): 372–84
- 117 . Creeley C, Dikranian K, Dissen G, et al. Propofol-induced apoptosis of neurones and oligodendrocytes in fetal and neonatal rhesus macaque brain. *Br J Anaesth* 2013;110(Suppl 1):i29–38.
118. Koo E, Oshodi T, Meschter C, et al. Neurotoxic effects of dexmedetomidine in fetal cynomolgus monkey brains. *J Toxicol Sci* 2014;39(2):251–62.
- 119 . Chien LN, Lin HC, Shao YH, et al. Risk of autism associated with general anesthesia during cesarean delivery: a population-based birth-cohort analysis. *J Autism Dev Disord* 2015;45(4):932–42.
120. Creagh O, Torres H, Rivera K, et al. Previous Exposure to Anesthesia and Autism Spectrum Disorder (ASD): A Puerto Rican Population-Based Sibling Cohort Study. *Bol Asoc Med P R* 2015;107(3):29–37.
121. Slikker W Jr, Zou X, Hotchkiss CE, et al. Ketamine-induced neuronal cell death in the perinatal rhesus monkey. *Toxicol Sci* 2007;98(1):145–58.
122. Chien LN, Lin HC, Shao YH, et al. Risk of autism associated with general anesthesia during cesarean delivery: a population-based birth-cohort analysis. *J Autism Dev Disord* 2015;45(4):932–42.

123. . Creagh O, Torres H, Rivera K, et al. Previous Exposure to Anesthesia and Autism Spectrum Disorder (ASD): A Puerto Rican Population-Based Sibling Cohort Study. *Bol Asoc Med P R* 2015;107(3):29–37.
124. Kimizuka M, Tokinaga Y, Azumaguchi R, Hamada K, Kazuma S, Yamakage M. Effects of anesthetic agents on contractions of the pregnant rat myometrium in vivo and in vitro. *J Anesth*. 2020 Oct 24. doi: 10.1007/s00540-020-02866-9
125. Wang Y, Wu C, Han B (2016) Dexmedetomidine attenuates repeated propofol exposure-induced hippocampal apoptosis, PI3K/AKT/ Gsk-3beta signal disruption, and juvenile cognitive deficits in neonatal rats. *Mol Med Rep* 14:769-775
126. Li Y, Liang G, Wang S, Meng Q, Wang Q, Wei H (2007) Effects of fetal exposure to isoflurane on postnatal memory and learning in rats. *Neuropharmacology* 53:942-950
127. Dongdong Chai¹, Jia Yan¹, Chunzhu Li vd Research Paper Sevoflurane inhibits neuronal migration and axon growth in the developing mouse cerebral cortex Research Paper 2020. 12-7: 6436-6455,
128. Van der Veecken L, Van der Merwe J, Devroe S, vd. Maternal surgery during pregnancy has a transient adverse effect on the developing fetal rabbit brain. *Am J Obstet Gynecol*. 2019;221(4):355.e1-355.e19. doi:10.1016/j.ajog.2019.07.029
129. Prut L, Belzung C (2003) The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 463:3–33.],
130. Yuan Wang , Shao-Wei Yin , Nan Zhan vd High-concentration sevoflurane exposure in mid-gestation induces apoptosis of neural stem cells in rat offspring *Neural Regen Res*. 2018 Sep;13(9):1575-1584. doi: 10.4103/1673-5374.237121.

131. Lee S, Chung W, Park H, Park H, Yoon S, Park S, et al. Single and multiple sevoflurane exposures during pregnancy and offspring behavior in mice. *Paediatr Anaesth* 2017; 27: 742-51.].
132. Fang F, Song R, Ling X, Peng M, Xue Z, Cang J. Multiple sevoflurane anesthesia in pregnant mice inhibits neurogenesis of fetal hippocampus via repressing transcription factor Pax6. *Life Sci* 2017; 175: 16-22.,
133. Suehara T, Morishita J, Ueki M, Ueno M, Maekawa N, Mizobuchi S. Effects of sevoflurane exposure during late pregnancy on brain development of offspring mice. *Paediatr Anaesth* 2016; 26: 52-9.
134. Lee S, Chung W, Park H, Park H, Yoon S, Park S, et al. Single and multiple sevoflurane exposures during pregnancy and offspring behavior in mice. *Paediatr Anaesth* 2017; 27: 742-51
135. Chung W, Yoon S, Shin YS. Multiple exposures of sevoflurane during pregnancy induces memory impairment in young female offspring mice. *Korean J Anesthesiol.* 2017 Dec;70(6):642-647
136. Boscolo A, Ori C, Bennett J, Wiltgen B, Jevtovic-Todorovic V. Mitochondrial protectant pramipexole prevents sex-specific long-term cognitive impairment from early anaesthesia exposure in rats. *Br J Anaesth* 2013; 110 Suppl 1: i47-52
137. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc* 2007; 2:322-328.).
138. Kodama M, Satoh Y, Otsubo Y, Araki Y, Yonamine R, Masui K, Kazama T (2011) Neonatal desflurane exposure induces more robust neuroapoptosis than do isoflurane and sevoflurane and impairs working memory. *Anesthesiology* 115:979–991.
139. Diana P, Joksimovic SM, Faisant A, Jevtovic-Todorovic V. Early exposure to general anesthesia impairs social and emotional development in rats. *Mol Neurobiol.* 2020 Jan;57(1):41-50

140. Imhof JT, Coelho ZM, Schmitt ML, Morato GS, Carobrez AP. (1993) Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. *Behav Brain Res* 56:177-80
141. Xu C, Tan S, Zhang J, Seubert CN, Gravenstein N, Sumners C, Vasilopoulos T, Martynyuk AE (2015) Anesthesia with sevoflurane in neonatal rats: developmental neuroendocrine abnormalities and alleviating effects of the corticosteroid and Cl⁻ importer antagonists *Psychoneuroendocrinology* 60:173–181.
142. Ziyi Wu , Xingyue Li , Yi Zhang vd Effects of Sevoflurane Exposure During Mid-Pregnancy on Learning and Memory in Offspring Rats: Beneficial Effects of Maternal Neural Regen Res. 2018 Sep;13(9):1575-1584. doi: 10.4103/1673-5374.237121.
- 143 . Li X, Wu Z, Zhang Y, Xu Y, Han G, Zhao P. Activation of autophagy contributes to sevoflurane-induced neurotoxicity in fetal rats. *Front Mol Neurosci.* 2017;10(December):1–13. doi:10.3389/fnmol.2017.00432.
144. Yu Q, Feng N, Hu Y, Luo F, Zhao W, Zhao W, Liu Z, Li M, Xu L, Wu L, Liu Y. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) alleviates the learning and memory impairment in rat offspring caused by maternal sevoflurane exposure during late gestation. *J Toxicol Sci.* 2019;44(3):177-189.)
145. Orts-Sebastian A, Ludin NM, Pawley MDM, Cheeseman JF, Warman GR. Impact of anaesthesia on circadian rhythms and implications for laboratory experiments. *Exp Neurol.* 2019 Jan;311:318-322; Poulsen, R.C., Warman, G.R., Sleight, J., Ludin, N.M., Cheeseman, J.F., 2018. How does general anaesthesia affect the circadian clock? *Sleep Med. Rev.* 37, 35–44.).
146. Kadota, K., Iijima, N., Ohe-Hayashi, Y., Takumi, K., Higo, S., Sakamoto, A., Ozawa, H., 2012. Time-dependent repression of mPer2 expression in the suprachiasmatic nucleus by inhalation anesthesia with sevoflurane. *Neurosci. Lett.* 528, 153–158.

147. Challet, E., Sylviane, G., Pevet, P., Oberling, P., Pain, L., 2007. Reciprocal relationships between general (propofol) anesthesia and circadian time in rats. *Neuropsychopharmacology* 32, 728–735.
148. Dispersyn, G., Pain, L., Touitou, Y., 2009. Circadian disruption of body core temperature and rest-activity rhythms after general (propofol) anesthesia in rats. *Anesthesiology* 110, 1305–1315.
149. Kikuchi, T., Tan, H., Mihara, T., Uchimoto, K., Mitsushima, D., Takase, K., Morita, S., Goto, T., Andoh, T., Kamiya, Y., 2013. Effects of volatile anesthetics on the circadian rhythms of rat hippocampal acetylcholine release and locomotor activity. *Neuroscience* 237, 151–160.
150. Cheeseman, J.F., Winnebeck, E.C., Millar, C.D., Kirkland, L.S., Sleigh, J., Goodwin, M., Pawley, M.D.M., Bloch, G., Lehmann, K., Menzel, R., Warman, G.R., 2012. General anesthesia alters time perception by phase shifting the circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 7061–7066.
151. Ludin, N.M., Cheeseman, J.F., Merry, A.F., Millar, C.D., Warman, G.R., 2016. The effects of the general anaesthetic isoflurane on the honey bee (*Apis mellifera*) circadian clock. *Chronobiol. Int.* 33, 128–133.
152. Lin Cao, Liaoliao Li, Daowei Lin, Zhiyi Zuo vd Isoflurane Induces Learning Impairment That Is Mediated by Interleukin 1 β in Rodents Published: December 12, 2012 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051431>
153. Song, J., Chu, S., Cui, Y., Qian, Y., Li, X., Xu, F., Shao, X., Ma, Z., Xia, T., Gu, X., 2018. Circadian rhythm resynchronization improved isoflurane-induced cognitive dysfunction in aged mice. *Exp. Neurol.* 306, 45–54.

154. Kilicaslan A., Belviranli M., Okudan N Nurullahoglu E. Vd Single and repeated sevoflurane or desflurane exposure does not impair spatial memory performance of young adult mice . *Fundam Clin. Pharmacol* 27,641-649