

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANA BİLİM DALI

STEREOTAKTİK RADYOCERRAHİNİN LONG EVANS RAT
MODELİNDE OLUŞTURULAN ALKOL BAĞIMLILIĞI
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
Dr. ALPEREN SÖZER

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MESUT EMRE YAMAN

ANKARA
EKİM 2023

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANA BİLİM DALI**

**STEREOTAKTİK RADYOCERRAHİNİN LONG EVANS RAT
MODELİNDE OLUŞTURULAN ALKOL BAĞIMLILIĞI
ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ALPEREN SÖZER**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MESUT EMRE YAMAN**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-
2021-7155 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
EKİM 2023**

I. KABUL ve ONAY

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

Beyin ve Sinir Cerrahisi Ana Bilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: .../.../202..

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ÜYE

ÜYE

II. TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği'nde uzmanlık eğitimimde bana yol gösteren hocalarım, başta Fonksiyonel Nöroşirurji ile tanışmamı sağlayan, ancak engin bilgi ve tecrübelerinden yeterince istifade etmek için maalesef zamanımızın elvermediği rahmetli hocam Prof. Dr. Şükrü AYKOL olmak üzere; ihtisasım süresince eğitimime büyük katkıları olan, aynı zamanda ilk tez danışmanım ve bu tezin her aşamasında hiçbir konuda desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet Memduh KAYMAZ'a; uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum Prof. Dr. Fikret Hüseyin DOĞULU'ya; özel olarak tasarladığı stereotaktik çerçeve sayesinde bölümümüzde Stereotaktik Radyocerrahi'nin hayvan deneylerinde kullanılabilmesini sağlayan ve bu tasarımı bizimle de paylaşarak bu çalışmayı mümkün kılan Prof. Dr. Gökhan KURT'a; stereotaktik radyocerrahi ve bu çalışmadaki uygulaması konusunda tasarım aşamasından beri defalarca değerli bilgi ve tecrübelerine başvurduğumuz Prof. Dr. Ömer Hakan EMMEZ'e; asistanlığımın başladığı günden beri her sıkıntımızda yanımızda olan, her alanda elinden gelen hiçbir desteği esirgemeyen Prof. Dr. Alp Özgün BÖRCEK'e; beyin cerrahisi eğitimim süresince üzerimde çok büyük emekleri olan Doç.Dr. Aydemir KALE'ye; Doç.Dr. Emrah ÇELTİKÇİ'ye ve Dr. Öğr. Üyesi Burak KARAASLAN'a;

Bu çalışmada hedeflemenin bel kemiğini oluşturan manyetik rezonans görüntülemelerin yapılmasını mümkün kılan ve takip görüntülemelerinin değerlendirilmesi dahil radyoloji ile ilgili her basamağında değerli emekleri olan Radyoloji Ana Bilim Dalı hocamız Prof. Dr. Nil TOKGÖZ'e;

Histopatolojik preparatların anatomik bütünlük içerisinde görüntülenmesi ve incelenmesini sağlayan Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'ndan Dr. Öğr. Üyesi Pelin BAYIK'a;

Beyin Cerrahisi yolculuğuna beraber başladığımız, asistanlığın her aşamasında birbirimize destek olduğumuz ve bu tezin her aşamasında emeği olan eş kıdemlim Dr. Mustafa Çağlar ŞAHİN'e;

Çalışmadan elde ettiğimiz video görüntülerinin hatasız işlendiğinden emin olmak için onlarca mini program kodlayan kardeşim Batuhan SÖZER'e;

Bu çalışmanın planlandığı ilk günden itibaren deney hayvanları kursu dâhil her aşamasında yanımda olan, çalışmanın bütün basamaklarını benimle birlikte yürüten, her zaman en büyük destekçim, sevgili eşim Ekin SÖZER'e;

GKSRC uygulanması sırasında, mükemmel bir titizlikle her aşamada elinden gelen bütün yardımı sağlayan “Gamma Knife Ünitesi” ve “Prof. Dr. Kemali BAYKANER İntraoperatif MR Ünitesi” personeline;

Tüm eğitim hayatım ve bu tezin hazırlanması sürecinde maddi, manevi desteklerini her zaman hissettiğim, beni bugünlere getiren anne ve babama;

Ve tabi ki; her zaman bana inanan, güvenen bu tez çalışmasına birlikte başladığımız günden son anına kadar hiçbir desteği esirgemeyen çok saygıdeğer tez danışmanım Prof. Dr. Mesut Emre YAMAN'a;

Saygı, sevgi, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasına katkıda bulunan, Biyolojik Efektif Doz hesaplamalarıyla ilgili yurtdışı gözlemciliği TÜBİTAK 2214/A bursu kapsamında desteklenmiştir.

Dr. Alperen SÖZER

III. İÇİNDEKİLER

I. KABUL ve ONAY	I
II. TEŞEKKÜR	II
III. İÇİNDEKİLER.....	IV
IV. KISALTMALAR	VII
V. ŞEKİLLERİN LİSTESİ	VIII
VI. GRAFİKLERİN LİSTESİ.....	VIII
VII. TABLOLARIN LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Bağımlılık Nörofizyolojisi.....	5
2.2 Stereotaktik Hedef Olarak Nucleus Accumbens	6
2.3 Sıçanlarda Alkol Bağımlılığı Modeli ve Kinin.....	7
2.4 Nucleus Accumbens'in Stereotaktik Hedeflenmesi ve Doz Seçimi.....	8
2.5 Biyolojik Efektif Doz (BED).....	9
2.6 Davranış Deneyleri	11
2.7 Transkardiyak Fiksator Perfüzyonu.....	12
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	14
3.1 Hayvanların Barındırılması	14

3.2	Grupların Dağılımı ve Maskeleyme	15
3.3	Çalışmanın Genel Hatları	15
3.4	Ağırlık ile Tüketim Verilerinin Toplanması ve Analizi	19
3.4.1	Kinin Testi.....	20
3.5	Davranış Deneyleri	20
3.5.1	Açık Alan Testi (AAT).....	21
3.5.2	Bilye Gömme Testi (BGT).....	22
3.5.3	Yükseltilmiş Artı Labirent (YAL).....	23
3.5.4	Zorlu Yüzme Testi (ZYT)	25
3.5.5	Yeni Obje Tanıma (YOT)	25
3.6	Stereotaktik Radyocerrahi Müdahale ve Sham Anestezi Uygulaması ...	27
3.7	Kontrol MRG.....	30
3.8	Transkardiyak Fiksator Perfüzyonu ve Histopatolojik İnceleme	30
3.9	Biyolojik Efektif Doz Hesaplanması	32
3.10	Verilerin İstatistiksel Analizi.....	32
4.	BULGULAR	34
4.1	Deneyi Tamamlayamayan Hayvanlar ve Ek Bulgular	34
4.2	GKSRC Uygulaması.....	35
4.3	Ağırlık Değişimine Dair Bulgular	36
4.4	Alkol Tercih Oranı Değişimine Dair Bulgular	42

4.5	Kinin Testi Sonuçlarından Elde Edilen Bulgular	43
4.6	Davranış Deneylerinden Elde Edilen Bulgular.....	46
4.7	Radyolojik Bulgular.....	49
4.8	Histopatolojik Bulgular	49
5.	TARTIŞMA	51
5.1	Nöromodülasyon ve Fonksiyonel Kullanımı.....	51
5.2	Nöromodülasyon ile Bağımlılık Tedavisi.....	53
5.3	Nöromodülasyon ile Ağırılık Yönetimi	58
5.4	Nöromodülasyonun Davranış Üzerine Etkileri	59
5.5	Radyomodülasyon ve Elektrofizyolojik Stimülasyon	61
6.	SONUÇ	63
7.	KAYNAKLAR.....	65
8.	ÖZET.....	71
9.	SUMMARY	72
10.	ÖZGEÇMİŞ	73

IV. KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NAcc	: Nucleus Accumbens
DBS	: Derin Beyin Stimülasyonu
RF	: Radyofrekans
GKSRC	: Gamma Knife Stereotaktik Radyocerrahi
BED	: Biyolojik Efektif Doz
AAT	: Açık Alan Testi
BGT	: Bilye Gömme Testi
YAL	: Yükseltilmiş Artı Labirent
ZYT	: Zorlu Yüzme Testi
YOT	: Yeni Obje Tanıma
GDM	: Genel Doğrusal Model
GKS	: Deney Grubu
KTR	: Kontrol Grubu

V. ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1: Çalışma protokolünün şematize edilmiş hali.	17
Şekil 2: AAT için kullanılan aparat.....	24
Şekil 3: YAL için kullanılan aparat.....	24
Şekil 4: YOT testi için kullanılan aparat	26
Şekil 5: Modifiye stereotaktik çerçevenin örnek uygulaması	29
Şekil 6: Örnek planlama görüntüsü	29
Şekil 7: Kontrol MRG'de bilateral ödem görünümü	50
Şekil 8: Hedef bölgeyi gösteren hematoksilen eozin boyalı preparatlar	50

VI. GRAFİKLERİN LİSTESİ

Grafik 1: Dişilerde Vücut Ağırlığı Tahmini Marjinal Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi	37
Grafik 2: Erkeklerde Vücut Ağırlığı Tahmini Marjinal Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi	37
Grafik 3: GKSRC Sonrası Kinin Testi Çevresi ve Uygulama Sırasındaki Tercih Oranlarının Karşılaştırılmasında Tahmini Marjinal Ortalamalar	45

VII. TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 1: Analizlere katılan sıçanların gruplara göre dağılımı.....	34
Tablo 2: Vücut Ağırlığı - Tahmini Marjinal Ortalamalar – Dönemlere Göre - Her iki cinsiyet	38
Tablo 3: Vücut Ağırlığı - Tahmini Marjinal Ortalamalar - Dönemlere Göre - Dişi Cinsiyet.....	39
Tablo 4: Kinin Testi Alkol Tercih Oranı Değişimleri- Tahmini Marjinal Ortalamalar - Dişi Cinsiyet.....	45

1. GİRİŞ ve AMAÇ

*Only the neurosurgeon dares to improve upon five billion years of
evolution in a few hours...*

Frank Vertosick, Jr., M.D.

DSM-V ölçütlerine göre “Alkol Kullanım Bozukluğu” aşağıdaki kriterlerden en az ikisini içeren, klinik olarak işlev kaybı veya rahatsızlığa yol açan problematik bir alkol kullanımı modelinin 12 aylık bir süre içinde meydana gelmesi olarak tanımlanmıştır.

1. Alkol genellikle planlanan/niyet edilenden daha büyük miktarlarda veya daha uzun bir süre boyunca alınması,
2. Alkol kullanımını azaltmak veya kontrol etmek için ısrarcı bir istek veya başarısız çabalar olması,
3. Alkol elde etmek, alkol kullanmak veya etkilerinden kurtulmak için gerekli faaliyetlere çok zaman harcanması,
4. Alkol kullanmak için güçlü bir istek veya dürtü duyulması,
5. İşyerinde, okulda veya evde temel rol yükümlülüklerini yerine getirememesi ile sonuçlanan tekrarlayan alkol kullanımı,

6. Alkolün, kalıcı/tekrarlayan sosyal veya kişilerarası sorunlara neden olması ya da bu sorunların alkolün etkisiyle şiddetlenmesine rağmen alkol kullanımına devam edilmesi,

7. Önemli sosyal, mesleki veya eğlenceli faaliyetlerden alkol kullanımı nedeniyle vazgeçilmesi veya bunların azaltılması,

8. Fiziksel olarak tehlikeli olduğu durumlarda dahi tekrarlayan alkol kullanımı,

9. Alkolün neden olduğu veya şiddetlendirdiği, kalıcı veya tekrarlayan fiziksel veya psikolojik bir sorun olduğu bilinmesine rağmen alkol kullanımına devam edilmesi,

10. Aşağıdakilerden biriyle tanımlandığı şekliyle tolerans:

a. Sarhoşluk veya istenen etkiyi elde etmek için belirgin şekilde artan miktarda alkol ihtiyacı,

b. Aynı miktarda alkolün sürekli kullanımıyla belirgin şekilde azalmış bir etki,

11. Aşağıdakilerden birinin gösterdiği üzere geri çekilme:

a. Alkol için karakteristik yoksunluk sendromu;

Alkol kullanımının kesilmesinden (veya azalmasından) sonra birkaç saat ila birkaç gün içinde gelişen;

- i. Otonomik hiperaktivite (örn. Terleme veya 100 atım/dk'den yüksek nabız hızı),
- ii. El titremesinde artış,
- iii. Uykusuzluk,
- iv. Mide bulantısı veya kusma,
- v. Geçici görsel, dokunsal veya işitsel halüsinasyonlar veya yanılsamalar,
- vi. Psikomotor ajitasyon,
- vii. Anksiyete,
- viii. Jeneralize tonik-klonik nöbetler,

b. Yoksunluk semptomlarını hafifletmek veya önlemek için alkol (veya benzodiazepin gibi yakından ilişkili bir madde) alınması. (1)

Alkol kullanım bozukluğu; bireyler ve toplum üzerinde yıkıcı etkileri olan, yaygın bir olgudur. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 12 aylık alkol kullanım bozukluğu yaygınlığının 12-17 yaşları arasında %4,6 ve 18 yaş ve üzeri yetişkinlerde %8,5 olduğu tahmin edilmektedir. Bozukluk oranları yetişkin erkeklerde (%12,4) yetişkin kadınlara (%4,9) göre daha yüksektir. Yetişkinler arasında alkol kullanım bozukluğunun 12 aylık sıklığı orta yaşlarda azalmakta olup, en yüksek 18-29 yaş arası (%16,2) ve en düşük 65 yaş ve üstü (%1,5) bireylerde görülmektedir (1).

Ülkemizde 2016 yılında yapılan bir çalışmada yaşam boyu alkol kullanımı sıklığı %28,3; son 12 ayda ve son 1 ayda alkol kullanımı sırasıyla %14,3 ve %10,1

olarak bulunmuştur (2). Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2016 yılında yayınladığı alkol kullanımı hakkındaki küresel raporundaki ülkemizle ilgili bir infografik de bulunmaktadır. Bu infografikte, alkol kullanım bozukluğu ve alkol bağımlılığı prevalansı sırasıyla erkeklerde %8,1 ve %2,5; kadınlarda %1,7 ve %0,7; her iki cinsiyet için ise %4,8 ve %1,6 olarak rapor edilmiştir. Aynı yıl için DSÖ Avrupa Bölgesinin rapor edilen prevalansları sırasıyla %8,8 ve %3,7 düzeylerindedir (3).

Nucleus Accumbens (NAcc); bağımlılık, obsesif kompulsif bozukluk ve depresyon gibi bir çok psikiyatrik, davranışsal ve bilişsel sürecin merkezinde yer alan bir yapı olarak psikiyatri alanında ilgi çeken güncel bir hedeftir (4). Bu hedefin daha önce derin beyin stimülasyonu (DBS) ve radyofrekans (RF) ablasyon yöntemleri aracılığıyla bağımlılıkla ilgili olarak hedeflenmesinden ve yayınlanmış sonuçlarından tezin ilerleyen bölümlerinde bahsedilmiştir. Ancak literatürde radyocerrahi ile nöromodülasyonu konusunda yayınlanmış bir çalışma bu tezin yazıldığı tarih itibarıyla bulunmamaktadır.

Bu tezde alkol bağımlılık modeli oluşturulmuş sıçanlarda, Gamma Knife Stereotaktik Radyocerrahi (GKSRC) ile NAcc bölgesinde nöromodülasyon sağlanmasının; alkol tüketiminin, bağımlılık durumunun ve davranış deneyleri aracılığı ile de psikiyatrik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Bağımlılık Nörofizyolojisi

Bağımlılık davranışının nöroanatomik ve nörofizyolojik bağlantıları yıllar boyunca çok çalışılmış bir kavram olup, çok fazla teori ortaya atılmıştır. Ancak bütün teorilerin uzlaştığı nokta; medial prefrontal korteks, bazal ganglionlar ve genişletilmiş amigdaladan oluşan üçlü bir kompleksin rol aldığı, dopamin aracılı bir mekanizma olduğudur. Bağımlılık yapıcı maddeler, duygulanımı meydana getiren limbik sistemle yakın ilişkideki bu döngünün dopaminerjik kontrolünü bozarak ödül ceza sistemi üzerinden etki etmektedir. Bağımlılık yapıcı maddelerden alkol ve nikotinin bu sisteme ilk giriş noktası ventral tegmental alandır. Buradaki reseptörlerine bağlandıktan sonra hem opioid peptid salgılayan hem de dopaminerjik nöronlar vasıtasıyla bu etki NAcc'a iletilir. Opioidler ile kannabinoidler ise hem ventral tegmental alanda hem de NAcc bölgesinde reseptörlere sahiptirler ve etkilerini hem alkol ve nikotin ile aynı yoldan geçerek hem de direkt olarak NAcc bölgesindeki reseptörleri ile gösterebilirler. Uyarıcı vasıftaki uyuşturucu maddeler ise ventral tegmental alanın dopaminerjik nöronlarından nörotransmitter salınımını NAcc'daki sinaptik kavşakta uyarak etki gösterirler (5).

Birçok etki eden yolak, nörotransmitter ve bölge tanımlanmış olmasına karşın, bütün teoriler ve yollar bu bölgelerin tam da ortasında yer alan ve ak madde çalışmaları ile anatomik olarak da her birine güçlü bağlantıları gösterilmiş

olan NAcc'da kesişmektedir (4). Bilinen bağımlılık yapıcı maddeler için tanımlanmış bütün yolların merkezinde olması, bu bölgenin nöromodülasyonunun spesifik bir madde için değil ancak aynı nörofizyolojik yolları kullanan bütün maddelere genişletilebilecek bir etki göstermesini mümkün kılmaktadır.

2.2 Stereotaktik Hedef Olarak Nucleus Accumbens

NAcc'ın bağımlılık ile ilgili olarak hedeflendiğini rapor eden ilk çalışma 2003 yılında Çin'de 28 opioid bağımlısı insan üzerinde yapılan RF ablasyon çalışmasıdır (6). Aynı dönemlerde Rusya'da da benzer çalışmalar yürütülmüş, ancak her iki ülkede de yasal nedenlerle bu çalışmalar durdurulmuştur (7). İlk DBS uygulaması ise 2007'de çok ağır agorafobi ve panik atak nedeniyle DBS planlanan bir hastaya uygulanan NAcc hedefli DBS sonrasında eşlik eden alkol tüketiminde görülen dramatik düşüşün tarif edildiği raporda izlenmiştir (8). Bu çalışmanın belki de en önemli özelliği, hasta veya hekimi tarafından bu ağır alkolizmin tedavisine yönelik ek bir çaba olmaksızın tedavinin bir yan etkisi olarak alkol tüketiminin kendiliğinden azalmasıdır. Daha sonra aynı ekip tarafından alkolizm nedeniyle uygulanan bir tedavide de benzer başarı elde edildiği rapor edilmiştir (9).

Bu alanda çalışmalar sonraki yıllarda hız kazanmış, 2021 yılında yayınlanan bir sistematik derlemede bu tarihe kadar rapor edilen; 13'ü DBS, 346'sı RF ablasyon olmak üzere toplam 359 bağımlılık ilişkili olarak NAcc hedeflenen vaka

incelenmiş, umut verici sonuçlar izlenmiş olmakla beraber prospektif çalışmaların yetersizliği nedeniyle kesin önerilerde bulunulamamıştır (10). GKSRC veya herhangi bir stereotaktik radyocerrahi modalitesine dair insanda veya hayvanda uygulama rapor eden bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

2.3 Sıçanlarda Alkol Bağımlılığı Modeli ve Kinin

Bu çalışma için oluşturulacak bağımlılık modelinin, hipotezin temelinde yatan ana bileşenleri test edebilmesi için belli özelliklere sahip olması gereklidir. Model seçimi yapılırken, özellikle görünüş geçerliliğinin yüksek olmasına dikkat edilmiştir. Bağımlılık modellerinin oluşturulmasında çeşitli yöntemler tanımlanmıştır. Bu çalışmada, %20'lik alkol solüsyonu ile “iki şişeli seçime dayalı, aralıklı erişim şeması” kullanılmıştır (11). Özellikle, tüketimin tercihe dayalı olması ve hızlı bağımlılık oluşturmaya bu yöntemin tercih edilmesinde etkili olmuştur.

Bağımlılığın önemli bileşenlerinden biri olarak tanımlanan “zararlı etkinin görülmesine karşın davranışa devam etme” durumunu test edebilmek için normalde itici tatların standart uygulamasında kullanılan kinin ile acılaştırma yöntemine başvurulması planlanmıştır. Tercih edilen bağımlılık modeli ile birlikte daha önce uygulayan ve bağımlılık durumuna dair değerlendirme sağladığı sonucuna ulaşan çalışmalar referans alınmıştır. Bu çalışmalar alkol bağımlılığı geliştirilen sıçan modellerinde kininin doz bağımlı olarak bağımlılık durumuna göre tüketimi etkilediğini göstermektedir (12).

2.4 Nucleus Accumbens'in Stereotaktik Hedeflenmesi ve Doz Seçimi

Sıçanlarda homolog beyin bölgelerin tespiti ve hedeflenmesine yönelik hazırlanmış histoloji ve radyoloji temalı stereotaksi atlasları mevcuttur ve bu gibi çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (13,14). Sıçan nucleus accumbensi; lateral ventriküllerin anterior hornunun inferiorunda, olfaktör bulbdan gelen liflerin posteriorunda ve anterior komissürün anteriora uzanan liflerinin etrafında, bilateral olarak hemisferlerin medial yüzüne yakın yerleşimdedir.

Doz seçimi konusunda literatürde direkt olarak uygulanabilecek bir model bulunamadığından mevcut literatürden çıkarımlarda bulunarak ilerlenmiştir. Epilepsi için yapılan bir çalışmada 30 Gy kadar düşük ve tespit edilebilen herhangi bir histopatolojik değişiklik oluşturmayan dozlarda dahi etki gösterilebildiği belirtilmiştir (15). Bu çalışmanın amacı herhangi bir etki olup olmadığının tespiti olduğu için, çalışmanın tamamlanabilmesine olanak sağlayacak en yüksek dozun seçilmesi prensibine göre hareket edilmiştir. Çalışma ekibimizin daha önceki deneyimlerinden kıyasla bu bölgelere 120 – 140 Gy uygulanan sıçanlarda GKSRC müdahalesi sonrasında planlanan 4 aylık takip sırasında fazla kayıp olabileceği öngörülmüş, bu nedenle maksimum doz hedefin merkezinde 100 Gy olacak şekilde bir doz planı ile uygulama yapılmıştır.

2.5 Biyolojik Efektif Doz (BED)

Günümüzde GKSRC planlaması, klasik olarak hedef dokuya uygulanan kümülatif fiziksel doza dayalı olarak yapılmaktadır. Dokuda oluşturulan etkinin dokunun karakteristik özelliğine ve dozun uygulama şemasına göre değiştiği düşüncesi daha uzun aralıklarla planlanan fraksiyone radyoterapide uzun zamandır uygulanan bir kavram olsa da, son zamanlarda GKSRC için de uygulama şeması ve süresinin etkide anlamlı farklılıklar oluşturduğuna dair araştırmalar çoğalmaktadır (16–19). Bu parametrelere göre hesaplanarak standartlaştırılan doz, biyolojik efektif doz (BED) olarak tanımlanmaktadır.

Biyolojik efektif doz; Denklem 1’de gösterilen formül kullanılarak fiziksel dozun, doku tamir parametreleri ile bir fonksiyonu olarak hesaplanabilmektedir (18).

Denklem 1: BED hesaplanmasında kullanılan denklem

$$BED = D_T + \frac{1}{\alpha/\beta} \left[\frac{\Phi(\Xi, \mu_1) + c\Phi(\Xi, \mu_2)}{1 + c} \right] \sum_{i=1}^n d_i^2$$

Formülde yer alan D_T , uygulanan fiziksel dozu, μ_1 ve μ_2 farklı hızlardaki tamir süreçlerinin yarı ömrünün bir fonksiyonunu ($\mu = \ln 2/t_{(1/2)}$), c ise bu iki süreç arasında paylaşılan etkinin yavaş sürece atfedilen dağılım katsayısını, d_i her bir atış (fraksiyon) tarafından sağlanan dozu temsil etmektedir.

Dokunun radyasyon duyarlılığı en önemli faktörlerden biri olup, α/β oranı ile formülde temsil edilmektedir. Bu değer; doku spesifik olarak, hücre sağ kalım çalışmaları ile hesaplanmaktadır.

Güncel literatürde yaygın olarak kullanılan santral sinir sistemine ait parametreler daha önce sıçan servikal spinal kordunda yapılan çalışmaların sonuçlarını referans almaktadır (20,21). Beyin ile ilgili net çalışmalar bulunmamakta birlikte α/β oranı olarak 2'nin uygun olduğuna dair yoruma dayalı yayınlar mevcuttur (22). Daha güncel bir çalışma, α/β oranı için 2 ve literatürde son dönemde sıklıkla kullanılan 2,47 oranlarını karşılaştırmıştır ve ikisinin de orijinal makalelerde belirtilen yarı ömürlerle birlikte kullanılabilir olduğuna dair görüş bildirmektedir (23).

Formül içerisinde kullanılan Φ fonksiyonunun bir değişkeni olan Ξ , doz uygulama protokolünün temsili olup; ilgilenilen noktanın tedavi süresince aldığı fiziksel doz, bu dozun uygulanma ve ara verilme sürelerini içermektedir. Bu fonksiyon farklı senaryolar için farklı şekilde tanımlanmış olup genel fonksiyon Denklem 2'de gösterilmiştir (24).

Denklem 2: Tamir süreçleri ile ilgili lineer kuadratik fonksiyon

$$\Phi(\Xi, \mu) = \frac{\frac{2}{\mu} \sum_{j=1}^N \left[d_j^2 \frac{\left\{ \delta t_j - \frac{1}{\mu} (1 - e^{-\mu \delta t_j}) \right\}}{\delta t_j^2} - \frac{1}{\mu} \sum_{i=1}^{j-1} d_i d_j \frac{e^{-\mu(t_j - t_i)} (e^{\mu \delta t_i} - 1) (e^{-\mu \delta t_j} - 1)}{\delta t_i \delta t_j} \right]}{\sum_{k=1}^N d_k^2}$$

Her ne kadar çalışma tasarımı klasik yöntemlere bağlı kalınarak fiziksel doz tabanlı planlama üzerinden yapılmış olsa da literatür karşılaştırmalarında daha sağlıklı ilişkiler kurabilmek adına, uygulanan BED değerleri hesaplanmış ve gelecek çalışmalar için literatüre katkıda bulunması amacıyla bildirilmiştir.

2.6 Davranış Deneyleri

Çalışmada hedeflenen NAcc bölgesi, daha önce yer verilen literatürde bahsedildiği üzere, çeşitli psikiyatrik durumlar için de hedeflendiği rapor edilmiş bir bölgedir. Aynı zamanda duygulanımı kontrol eden limbik sistem ve motor uzantıları ile yakın ilişkide olup bu bölgeye yapılacak olan müdahalede etki/yan etki profilinin tam olarak anlaşılabilmesi için bu fonksiyonların da değerlendirilmesi gerekli görülmüştür.

Sıçanlarda bu fonksiyonların değerlendirilebilmesi için çeşitli testler literatürde tanımlanmıştır. İlgili literatür incelendiğinde test protokollerinin birbiri ile farklılık gösterdiği görülmüştür.

Açık alan testi (AAT), tigmotaksi ile anksiyete ve katedilen mesafe ile genel hareketliliğin değerlendirilmesi için kullanılan bir test olup, sıçanlar için 80x80 cm'den 210x210 cm'e kadar değişen arenalarda uygulamaları literatürde görülmektedir (25,26).

Bilye gömme testi (BGT), kemirgenlerde tekrarlayan ve obsesyon ilişkili davranışların değerlendirilmesinde kullanılan bir testtir. Bu testte eşit aralıklarda yerleştirilmiş 15-20 adet bilyenin bulunduğu, 5 cm kalınlıkta standart talaş içeren kafese denek bırakılarak, sabit bir zaman sonunda gömülü halde bulunan bilyeler sayılır. Tekrarlayan uygulamalara uygunluğu çalışılmış bir testtir (27).

Yükseltilmiş artı labirent (YAL), AAT ile benzer şekilde anksiyete düzeyini ölçmeyi hedefleyen bir testtir. Yerden belli bir yükseklikte bulunan

platformun karşılıklı iki kolu kapalı, diğer iki kolu ise açıktır. AAT ile ardışık ve tekrarlayan uygulamalara uygunluğu literatürde değerlendirilmiştir (25).

Zorlu yüzme testi (ZYT), depresyon ölçeği olarak ufak değişikliklerle birlikte uzun yıllardır kullanılmaktadır. Sıçanın çıkması mümkün olmayan su dolu bir kaptan kaçma çabası ve umutsuzluğu gösteren hareketsizlik periyotlarının ölçülmesi ile veri elde edilir. Genellikle 15 dakikalık bir habitüasyon oturumundan 24 saat sonra uygulanan 5 dakikalık testin verisi kullanılır (28). AAT ile peşpeşe uygulamaları ve tekrarlayan uygulamalara uygunluğu literatürde değerlendirilmiştir (29,30).

Yeni obje tanıma (YOT), hayvanların doğasında bulunan yeniliğe karşı olan merakına dayalı olarak hafızayı ölçen bir testtir. Yüksek bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesi için test bataryasına eklenmiştir. AAT ile aynı platformda uygulanabilen testin ilk uygulamasında özdeş iki obje ile karşılaşan deneklerin 24 saat sonra objelerden biri değiştirilerek test tekrarlandığında verdiği tepkiler değerlendirilmektedir (31).

2.7 Transkardiyak Fiksator Perfüzyonu

Beyin dokusu, kendi doğasından kaynaklı özellikleri nedeniyle elde edilmesi ve işlenmesi süreçlerinde büyük özen isteyen ve hassas bir dokudur. Anatomik bütünlüğünün korunması, hedef bölgenin tanınabilmesi için hayati önem arzettiğinden bu alandaki çalışmalarda sıklıkla diğer dokulardan farklı elde etme

yöntemlerinin kullanıldığı görülmektedir. Literatürde birçok farklı şekli (tamponize olan/olmayan mayilerle, formol/formaldehit kullanılarak, vb.) rapor edilmiş olup; temel prensibi dolaşım sistemindeki kan uzaklaştırıldıktan sonra fiksator maddenin perfüzyonuyla anatomik bütünlük bozulmadan fiksasyonu sağlamaktır (32–36).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Hayvanların Barındırılması

Bu çalışma Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. Yerel Etik Kurulu'nun 03.07.2021 tarih ve 561 sayılı onayı ile 25.10.2021 ve 16.06.2022 tarihleri arasında Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmaya Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen 36 adet Long-Evans sıçan (18 erkek, 18 dişi) ile başlanmıştır. Hayvanlar 7 haftalık iken çalışmanın yürütüleceği merkeze transfer edilmiş, burada çalışmanın yürütüleceği 425 x 266 x 185 mm ebatlarında standart polipropilen Euro Tip III kafeslerde *Populus tremula* (titrek kavak) ağacından üretilmiş 5x5x1 mm talaş altlık (Tapvei, Estonya) ile her kafeste bir hayvan olacak şekilde yerleştirilmiştir. Standart 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü (08:00 – 20:00 arası aydınlık periyot olacak şekilde) uygulanmıştır. Sıcaklık 22 ± 1 °C ve bağıl nem $50 \pm 5\%$ olacak şekilde kontrollü ortam sağlanmıştır. Standart sıçan yemi (3 kcal/gr, %23 protein ve %3 yağ içeren pelet yem – Bil-Yem, Ankara) ve içme suyu hayvanın kendi isteği ile sınırsız olarak tüketebileceği şekilde, anestezi öncesi açlık hariç olmak üzere, bütün çalışma boyunca sağlanmıştır. Bir haftalık karantina ve alışma periyodunun ardından sıçanlar 8 haftalık iken deneye başlanmıştır. İnsani sonlandırma ölçütleri; %20'nin üzerinde kilo kaybı ve genel durumu bozan ağır nörolojik defisit olarak belirlenmiştir.

3.2 Grupların Dağılımı ve Maskeleyme

Sıçanlar kafeslere yerleştirildikten sonra iki kafes askısına bir askıda erkekler bir askıda dişiler yer alacak şekilde bölüştürülmüştür. Her iki askının en üst iki rafına 5'er, 3. ve 4. raflarına 4'er hayvan yerleştirilmiştir. Sıçanlar, stereotaktik radyocerrahi uygulamasının yapılacağı haftaya kadar gruplara ayrılmamıştır. Uygulama günü geldiğinde her iki askıdan satırlar arasındaki dağılım düzgün olacak şekilde (5 hayvan barındırılan satırların birinden 3, diğer tüm satırlardan 2 şer hayvan) tüketim takiplerini yapan ve davranış deneylerini yürüten ekibin dışındaki bir laboratuvar personeli tarafından kura çekilerek belirlenmiştir. Bu hayvanlar stereotaktik müdahalenin yapılacağı Gazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Gamma Knife Ünitesi'ne gönderilmiştir. Planlama dolayısıyla deney ve kontrol gruplarının dağılımını bilen araştırma ekibi üyeleri bu aşamadan itibaren tüketim takibi ve davranış deneyi uygulamalarına fiilen katılmamıştır.

3.3 Çalışmanın Genel Hatları

Çalışma süresince sıçanların günlük olarak tükettiği yem miktarı ağırlık (g), alkollü su ve su miktarı hacim (ml) cinsinden bir ondalık basamağa kadar ölçülerek kaydedilmiştir. Ölçümler her gün döngünün aydınlık kısmının başlangıcında alınmıştır.

Alkol bağımlılığının sağlanması için sıçanlara 2. haftadan itibaren gün aşırı 24 saatlik periyotlarla, içme suyu şişesine özdeş ve ek bir şişe içerisinde %20 etil alkol karışımı sunulmuştur (iki şişeli seçime dayalı aralıklı erişim şeması). Alkol karışımının hazırlanmasında; hacmen %96 etil alkol ihtiva eden, şeker kamışından üretilmiş, tarımsal kökenli, tıbbi kullanım amaçlı etil alkol (Alkokim, Ankara) kullanılmıştır. Karışım hacim hesabı gözetilerek yapılmış, oda sıcaklığına geldiğinde ise dansimetre ile kontrol edilmiş ve dansimetre ile 3 günde bir ölçüm yapılarak alkol konsantrasyonunun korunduğu takip edilmiştir. Etkilerinin ölçülmesi planlanan stereotaktik radyocerrahi uygulaması, sıçanların bağımlı hale gelmesi için 3,5 aydan uzun bir süre bırakacak şekilde çalışmanın 16. ve 17. haftalarında planlanmıştır. Çalışma takviminin şematize hali Şekil 1’de verilmiştir.

Çalışmanın 2. haftasından 20. haftasının sonuna kadar belirtilen şemada seçime dayalı olarak alkol tüketimine izin verildikten sonra 4 haftalık bir zorunlu yoksunluk periyodu planlanmış, bu süreçte 21. ve 24. haftalar arasında alkol erişimi sağlanmamıştır. Bu periyodun sonrasında çalışmanın sonuna kadar tekrar aynı konsantrasyonda ve düzende serbest alkol erişimine izin verilmiştir.

Alkolden kaçınma davranışını tetikleyebilmek ve bunun etkilerini gözlemleyebilmek amacıyla çalışmanın 2 farklı noktasında; stereotaktik radyocerrahi müdahale öncesi test olarak 14. haftada ve müdahale sonrası test olarak 29 ve 30. haftalarda kinin testleri uygulanmıştır.

İstatistiksel analizler açısından çalışma A, B, C, D, E, F, G olarak isimlendirilen 7 döneme bölünmüştür. Dönemler belirlenirken davranış deneyi uygulanan veya kinin testi yapılan haftalar herhangi bir döneme dâhil edilmemiştir.

%20 Etanol																Yoksunluk								%20 Etanol								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	
Krt	Dvr						Dvr*					Dvr			●	●			Dvr				Dvr				Dvr				Dvr^	
A		B		C		D		E		F		G		↑		↑		G		↑		↑		F		↑		G		↑		*

Şekil 1: Çalışma protokolünün şematize edilmiş hali.

Krt: Karantina Dönemi, Dvr: Davranış deney bataryası, Dvr* Zorlu yüzme testi çıkartılmış uygulama, Dvr^: Yeni Obje Tanıma testi eklenmiş uygulama,

• : Stereotaktik Radyocerrahi Müdahale/Sham uygulaması, K: Kinin uygulaması (0,02 g/L), K*: Yüksek doz kinin uygulaması (0,1 g/L) A, B, C, D, E, F, G: Çalışma dönemleri, ayrıntılar metinde açıklanmıştır.

Çalışma dönemleri benzer özellik gösterilmesi beklenen ardışık 2-4 haftalık periyotlardan oluşturulmuştur. A dönemi, sıçanların 9-11 haftalık olduğu ve halen hızlı gelişme gösterdikleri, aynı zamanda da alkol ile ilk tanıştıkları ve alkol tüketiminin yeni bir kavram olduğu 2,3 ve 4. haftalardan oluşmaktadır. B dönemi, yenilik kavramının azalmaya başladığı ve büyümenin yavaşladığı dönemi kapsamaktadır. C dönemi, bağımlılığın oturmasının beklendiği, sıçanların artık 2 aydan uzun süredir alkol tüketiminin olduğu 9-12. haftalar arası 4 haftalık dönemi kapsamaktadır. Bu dönemin sonunda ilk kinin testi uygulanmıştır. D dönemi, radyocerrahi uygulamalarının tamamlanmasını takip eden 18 ve 19. haftalardan oluşmakta olup takip eden 20. hafta davranış deneyi ile birlikte uygulamanın erken dönem etkilerini temsil etmektedir. E dönemi, 21-23. haftalar arasındaki alkol erişimine izin verilmeyen zorunlu yoksunluk dönemini temsil etmektedir. Çalışmanın 24. Haftasında yoksunluk durumu devam ediyor olmasına karşın bu haftada alınan besin ve su tüketimi ölçümleri uygulanan davranış deneyi nedeniyle ortalamalara dâhil edilmemiştir. F dönemi, yoksunluk döneminin hemen arkasından alkol erişiminin tekrar serbest bırakıldığı ilk iki hafta olan 25 ve 26. haftaları incelemektedir. G dönemi, 28 ve 31. haftaların ortalamasından oluşmakta olup çalışmanın son dönemidir. Aradaki haftalar yürütülen kinin testinden dolayı farklı özelliklerle incelendiğinden bu döneme dâhil edilmemiştir.

Çalışma süresince bağımlılık ve test edilen müdahalenin davranışsal etkilerini anlamak adına daha önce literatürde tanımlanmış bir takım davranışsal testler uygulanmıştır. Davranış deneyleri öngörülen dönüm noktaları olan; çalışmanın başlangıcı, bağımlılaşma sürecinin tamamlandığı varsayılan 13. hafta,

yoksunluk periyodunun başlangıcından hemen önce olan 20. hafta, yoksunluk sürecinin sonu olan 24. hafta, kontrol kinin testi öncesi 27. hafta ve çalışmanın tamamlanmasını takiben sakrifikasyonun hemen öncesinde 32. haftada uygulanmıştır. Her test için tüm çalışma süresindeki değerlerin ortalamaları, GKSRC uygulaması öncesi testlerin ortalaması (2, 8 ve 13. haftalar), ışınlama sonrası testlerin ortalaması (20, 24, 27 ve 32. haftalar) alınarak bu elde edilen verilerle analizler yapılmıştır.

3.4 Ağırlık ile Tüketim Verilerinin Toplanması ve Analizi

Her çalışma haftasının ilk gününde sıçanlar tartılarak veriler elektronik ortamda kaydedilmiştir ve bu ağırlık ait olduğu haftanın bütün günlerinin hesaplamalarında kullanılmıştır. Kafeslerin mama haznelerine bilinen miktarda yem konularak her gün aydınlık döngünün başında tartılmış, ölçümler arasındaki ağırlık farkı günlük olarak gram cinsinden elektronik ortamda kaydedilmiştir. Aynı şekilde su ve (verildiği günlerde) alkol şişelerinde bilinen hacimde sıvı konulmuştur. Her günün başında mezür ile ölçüm yapılarak bir önceki günün tüketim miktarı elde edilmiş ve kaydedilmiştir. Sıçanların sunulan miktar tarafından sınırlanmadan tüketim gösterebilmeleri için her döngü başında en az 80 gr yem, 100 ml su veya alkol bulunması sağlanmıştır. Eksilen besin miktarı (g) haftalık vücut ağırlığına oranlanarak besin tüketimi (g/kg) hesaplanmıştır. Eksilen alkollü su miktarı, eksilen toplam (alkollü + alkolsüz) su miktarına oranlanıp yüz ile

çarpılarak tercih yüzdesi (%) hesaplanmıştır. Besinden ve alkolden gelen kaloriler toplanarak kalori alımları hesaplanmış, ilgili haftalardaki ağırlıklara bölünmesiyle ağırlık düzeltilmiş kalori alımları verisi elde edilmiştir. Daha önce tanımlanan dönemlere göre gruplanan verilerin ortalamaları alınarak istatistiksel yöntemlerle değerlendirilmiştir.

3.4.1 Kinin Testi

Kinin Monohidroklorid Dihidrat (CAS-No: 6119-47-7) molekülünün %90 saflıkta toz preparatından (145920-10G, Sigma Aldrich, ABD) çözelti hazırlanarak, alkol karışımı içerisindeki nihai konsantrasyonları 14. ve 29. haftalarda 0,02 g/L; 30. haftada 0,1 g/L olacak şekilde alkol şişelerine eklenmiştir. Kinin testleri sonrasında normale dönüşlerde alkol şişeleri detaylı temizlikten geçirilerek tat etkisinin uzaklaştırılması sağlanmıştır.

3.5 Davranış Deneyleri

Bilye gömme testi (BGT), obsesif davranış kalıplarının, Porsolt yüzme testi/zorlu yüzme testi (ZYT) depresif duygulanımın, açık alan testi (AAT) ve yükseltilmiş artı labirent (YAL) testleri ise anksiyete ilişkili davranış kalıplarının değerlendirilmesi için kullanılmıştır. Yeni obje tanıma testi (YOT) tekrarlayan uygulamalar için uygun bir test olmadığından sadece deney sonunda 32. Haftada

bellek ve öğrenme gibi yüksek kortikal fonksiyonların test edilmesi için kullanılmıştır. Bunlara ek olarak bağımlılaştırma sürecinin ortası olan 8. haftada ek bir davranış deneyi uygulaması yapılmış, ancak bu uygulamada stres yükü çok fazla olan ZYT uygulanmamıştır.

Davranış deney bataryası, aralıklı erişim şemasına göre alkol almadıkları günün ertesi günü, her test gününde aynı sıra takip edilerek, 10:00 - 17:00 saatleri arasında, aydınlık döngüde uygulanmıştır. Test bataryasında sıralama belirlenirken testlerin yüklediği stres düzeyine göre hareket edilmiş, AAT, BGT, YAL, ZYT sıralaması takip edilmiştir. Çalışmanın sonundaki 32. Hafta testlerinde YOT testinin her iki aşaması ayrı günlerde bataryanın geri kalanından önce uygulanmıştır. Her test protokolüne dair detaylar aşağıda belirtilmiştir.

BGT harici davranış deneyleri video kamera sistemiyle (Novacom, Ankara) kayıt altına alınmış, açık kaynak FFmpeg kütüphanesi (37) ile uygun formata dönüştürülerek ANY-maze™ (sürüm 7.16 (64-bit), Stoelting Europe, Dublin, İrlanda) yazılımı ile analiz edilmiştir.

3.5.1 Açık Alan Testi (AAT)

AAT uygulamasında şeffaf pleksi malzemeden üretilerek dış yüzeyi opak mat gri film ile kaplanmış 100 cm x 100 cm x 40 cm ebatlarında AAT aparatı kullanılmıştır (Şekil 2). Her sıçan 5 dakika süre ile test edilmiştir. Sanal olarak arenanın tam merkezinde, toplam arena alanının %36'lık kısmını oluşturan 60 cm

x 60 cm alan merkez bölgesi olarak belirlenmiştir. Arenanın merkezinde ışık akısı 145 lux duvar kenarlarında 135 lux ölçülmüştür. Akrilik materyallerin testler arası temizliğinde bağımlılıkla ilgili koku ipucu oluşturmaması için alkol kullanılmamış, bunun yerine testler arasında ev tipi elektroliz makinesi aracılığı ile tuzlu sudan elde edilen HOCl çözeltisi ile aparatlar silinmiştir. Sıçanlar arenanın merkezine konularak test başlatılmış, 300 saniye boyunca, belirtilen analiz programı vasıtasıyla ölçümler toplanmıştır.

Merkez girişlerinin belirlenmesinde kıstas olarak sıçanın merkez noktasının merkez alan sınırlarını geçmesi belirlenmiştir. Sıçanın sadece baş bölgesinin merkezde olduğu, gövdesinin dışarda kaldığı süreler “merkeze kafa uzatma süresi” olarak sayılmıştır. Hareketsizlik, sıçanın mesafe katetmediği süre olarak tanımlanmıştır.

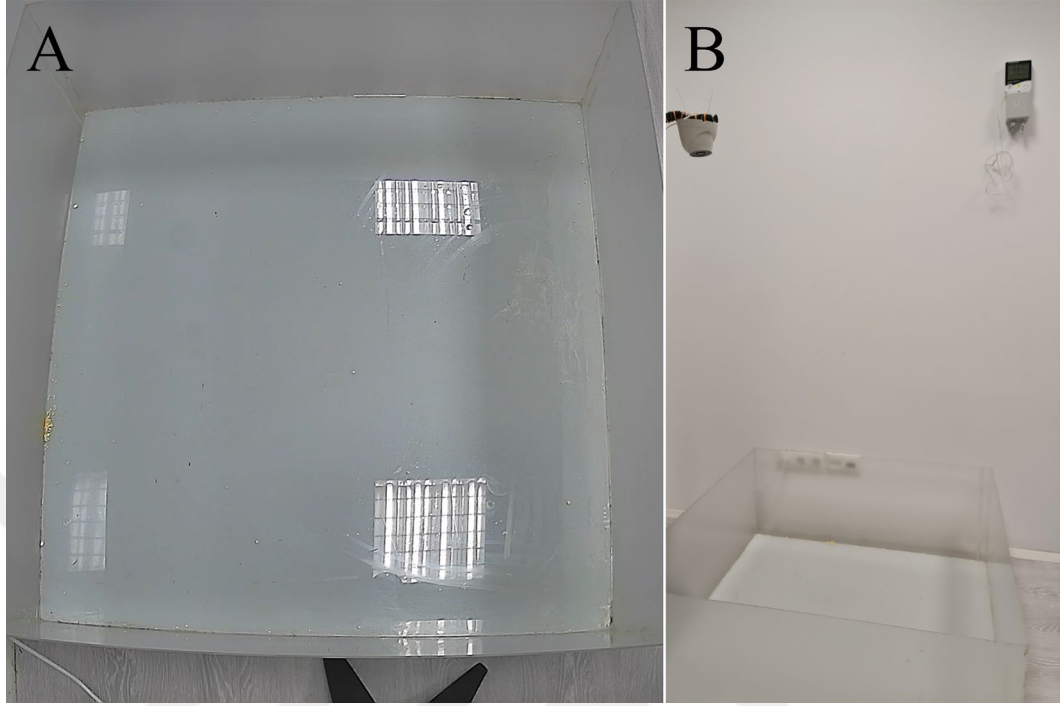
3.5.2 Bilye Gömme Testi (BGT)

Bilye gömme testi için kendi ev kafeslerine özdeş, 5 cm kalınlığında talaş içeren 15 adet 1 cm çapında cam bilyenin 3 x 5 düzeninde eşit aralıklarla dizildiği poliüretan kafesler hazırlanmıştır. Sıçanlar AAT'den sonra bu kafesler içerisinde 15 dk zaman geçirmiştir. Süre sonunda sıçan kafesten alınarak kaç adet bilyenin gömülü olduğu sayılmıştır. En az 2/3'üne kadar gömülü olan bilyeler gömülü kabul edilmiştir. Testin yapıldığı ortamdaki ışık akısı 35 lux olarak ölçülmüştür.

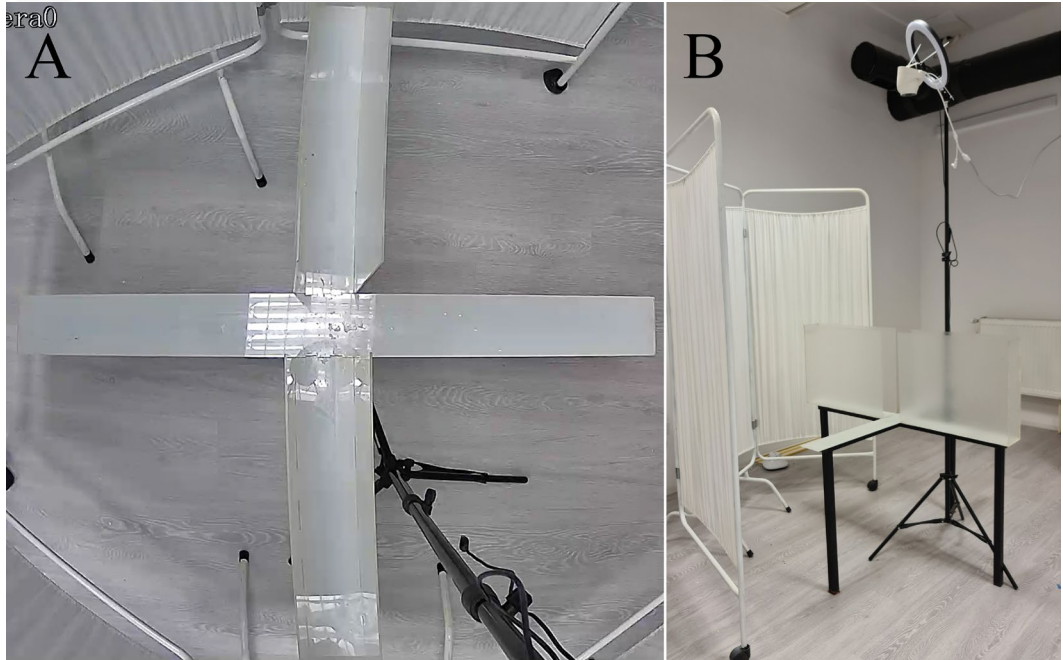
3.5.3 Yükseltilmiş Artı Labirent (YAL)

YAL uygulaması için, AAT ile aynı malzemeden üretilmiş, metal ayaklar üzerinde yerden 60 cm yükseklikte duran, 10 cm genişliğinde ve 50 cm uzunluğundaki 4 kolu artı şeklinde, ortada 10x10 cm bir alanda birbirine bağlanan ve karşılıklı iki kol kenarında 40 cm yükseklikte duvarları olan labirent kullanılmıştır (Şekil 3). Labirentin merkezinde ışık akısı 170 lux, açık kollarda 160 lux, kapalı kollarda ise 140 lux olarak ölçülmüştür. Akrilik materyallerin testler arası temizliğinde bağımlılıkla ilgili koku ipucu oluşturmaması için alkol kullanılmamış, bunun yerine ev tipi elektroliz makinesi aracılığı ile tuzlu sudan elde edilen HOCl çözeltisi ile testler arasında aparatlar silinmiştir.

Sıçanlar labirentin merkezine yüzü açık kola bakacak şekilde konularak test başlatılmış, 300 saniye boyunca, belirtilen analiz programı vasıtasıyla veriler toplanmıştır.



Şekil 2: AAT için kullanılan aparat
A: Kamera kaydı görüntüsü. B: kamera düzeneği



Şekil 3: YAL için kullanılan aparat.
A: Kamera kaydı görüntüsü. B: Kamera düzeneği

3.5.4 Zorlu Yüzme Testi (ZYT)

Zorlu yüzme testi, 25 cm x 25 cm x 100 cm ebatlarında şeffaf pleksi malzemedен yapılmış ortamda, 25°C sıcaklığında 30 cm su yüksekliği ile uygulanmıştır. Testin yapıldığı alanda ışık akısı 70 lux olarak ölçülmüştür. Asıl test aşamasından önce öğrenme aşaması olarak 1. hafta yapılan normal davranış deneylerinden 1 gün sonra 15 dakika zorlu yüzme uygulanmıştır. Bu aşamada veri toplanmamıştır. İlk çalışma haftasına dair zorlu yüzme verisi bu alışma uygulamasından 24 saat sonraki asıl testten elde edilmiştir. Hareketsizlik, suyun yüzeyinde kalmak için zorunlu olanlar dışında (kaçmak, tırmanmak veya çıkış yolu bulmak amaçlı) hareket olmaması ile tanımlanmıştır. Sıçanlar suya bırakıldığında test başlatılmış, görüntüler kaydedilerek 300 saniye boyunca, belirtilen analiz programı vasıtasıyla veriler toplanmıştır.

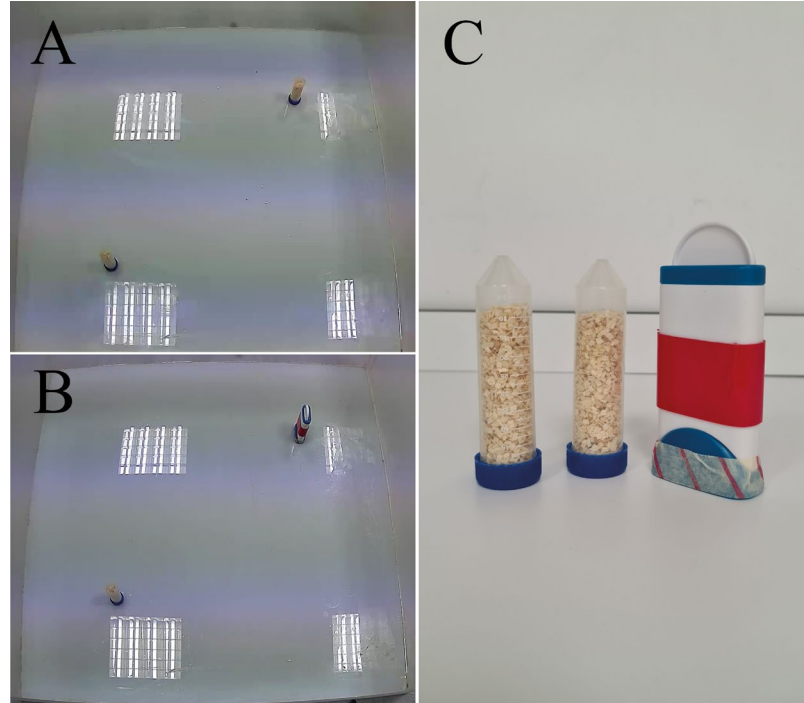
3.5.5 Yeni Obje Tanıma (YOT)

AAT ile aynı donanım kullanılarak uygulanan YOT testinde, arenanın merkezinde ışık akısı 145 lux duvar kenarlarında 135 lux ölçülmüştür. Ek olarak benzer boyutlarda ikisi birbirine özdeş (tanıdık) ve biri diğerlerinden farklı (yeni) üç obje (Şekil 4C) kullanılmıştır. Test objeleri sıçanlar tarafından devrilmemesi ve sürüklenmemesi için çift taraflı bant ile sabitlenmiştir.

Akrilik materyallerin ve test objelerinin testler arası temizliğinde bağımlılıkla ilgili koku ipucu oluşturmaması için alkol kullanılmamış, bunun yerine testler arasında ev tipi elektroliz makinesi aracılığı ile tuzlu sudan elde edilen HOCl çözeltisi ile aparatlar silinmiştir.

Test iki aşamalı olarak planlanmıştır. “A” aşaması, 33. hafta testlerinin en başında özdeş objeler yerleştirilerek Şekil 4A’da görüldüğü şekilde uygulanmıştır. “B” aşaması bu aşamadan 24 saat sonra Şekil 4B’de görüldüğü üzere kuzeybatı objesi yeni obje ile değiştirilerek uygulanmıştır.

Her iki aşamada da sıçanlar arenanın merkezine konularak test başlatılmış, 300 saniye boyunca, belirtilen analiz programı vasıtasıyla veriler toplanmıştır.



Şekil 4: YOT testi için kullanılan aparat

A: 1. Aşama kamera görüntüsü. B: 2. aşama kamera görüntüsü. C: Kullanılan objeler.

3.6 Stereotaktik Radyocerrahi Müdahale ve Sham Anestezi Uygulaması

Uygulama gününün bir gece öncesinden sıçanlar aç bırakılmış, uygulama gününde ise taşıma kafesleri ile Gazi Üniversitesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Gamma Knife Ünitesi'ne getirilmişlerdir. Burada uygulama sırası gelen sıçana ketamin 50 mg/kg, xylazin 5 mg/kg i.m. uygulanarak genel anestezi sağlanmıştır. Sıçanlar uyutulduktan sonra Şekil 5'te görülen, daha önce aynı merkez ve cihaz ile yürütülmüş başka sıçan çalışmalarında da (38–40) kullanılmış olan özel yapım stereotaktik çerçeveye yerleştirilmiştir.

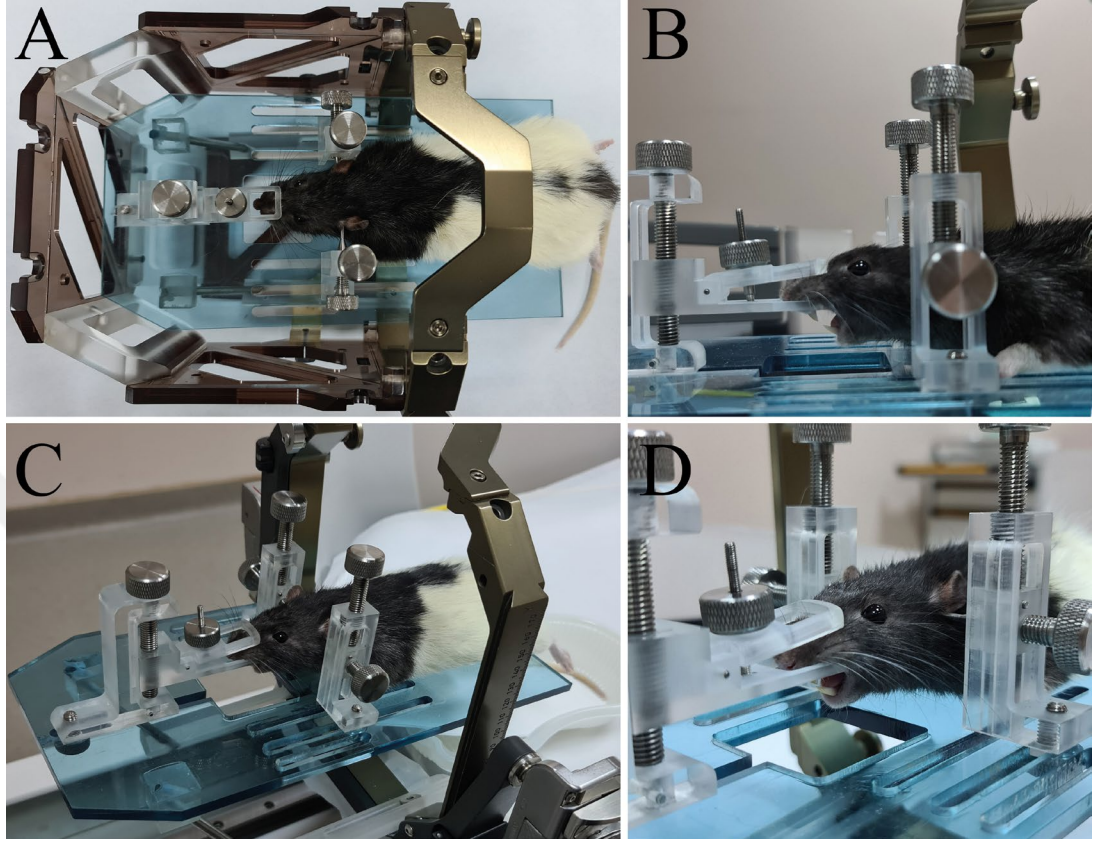
Çerçeveye yerleştirilme sırasında bregma lambda ekseninin çerçevenin Z eksenine, interaurikuler hattın ise çerçevenin X eksenine tamamen paralel olmasına özen gösterilmiştir. Çerçeveye yerleştirilme sonrası MRG ile uyumlu başlık (Şekil 5 sol üst panel) takılarak 3T MRG cihazı (Siemens MAGNETOM Verio, Almanya) kullanılarak planlama çekimi yapılmıştır. Planlamada kullanılan T1 MPR görüntüleri 1 mm kalınlığında, boşluksuz, RT: 1750 ET:2,93 IT:900 parametreleri ile elde edilmiştir. T2 koronal kesit görüntülerinden de planlamada destek alınmış, bu görüntüler 1 mm kalınlığında, 7 mm aralıkla RT: 3500 ET:101 parametreleri ile elde edilmiştir.

MRG sonrası sıçanlar stereotaktik radyocerrahi uygulama ünitesine (Gamma Knife Perfexion®, Leksell, İsveç) yerleştirilmiş, çekilen MR görüntüleri planlama sistemine (Leksell GammaPlan®, Leksell, İsveç) aktarılmıştır. Literatürde tanımlanmış radyoloji atlasları (41) ve histolojik stereotaksi atlasları (13) rehberliğinde, bregma, olfaktör bulb ve seçilebildiğinde anterior komissür yapıları

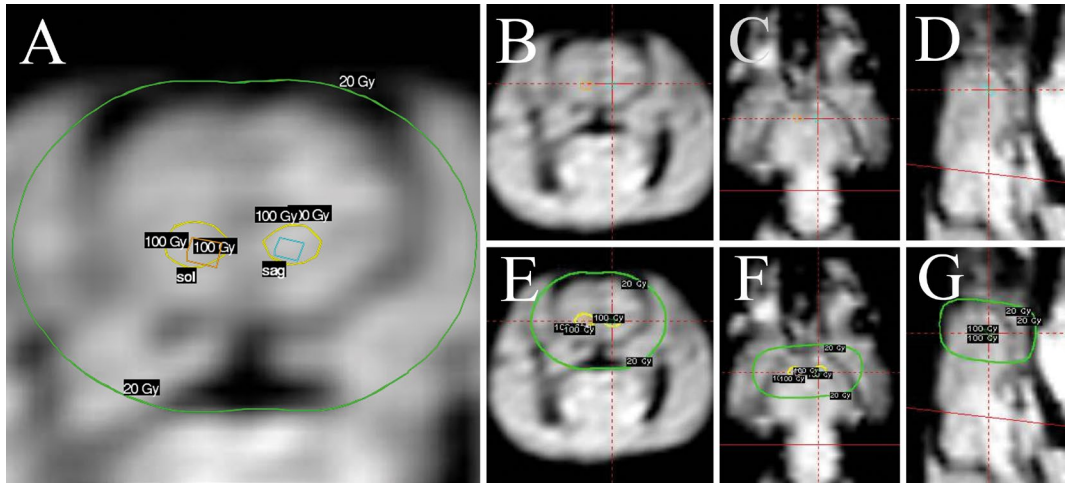
referans alınarak hedef nucleus accumbens yapıları tanınmıştır. Temel olarak koronal strun 2 mm n, orta hattın 1,2 mm laterali ve bregmanın 7,5 mm inferioru hedeflenmiş, bahsedilen diğr yapılar tanınabildiğinde bu yapıların göreceli ilişkisi göz önüne alınarak hedef teyidi sağlanmıştır. İki ayrı matriste %100 izodoz 100 Gy olacak şekilde bilateral Nucleus Accumbens hedeflerine 4 mm kolimatör ile birer atış planlanmıştır. Toplam doz hesabı ile iki atış sonunda oluşan 100 Gy izodoz eğrisi hedefleri kapsayacak şekilde planlama yapılmıştır. rnek planlama görüntüsü şekil 6'da gösterilmiştir. Anestezi derinliği ışınlamanın başlangıcında ve iki atış arası pozisyon değişimi sırasında pençe sıkma yanıtı değerlendirilerek takip edilmiştir. Olası bir anestezi yetersizliğine karşı bütün hayvanlar ışınlama süresince sistem kamerasından takip edilmiştir.

ışınlama tamamlandıktan sonra sıçanlara diğr bacadan 0,5 mg/kg metilprednizolon uygulanarak çerçeveden ayrılmış, derlenme kafeslerinde uyanmaları sağlanarak sonrasında kendi kafeslerine alınmışlardır.

Kontrol grubu sıçanlara da aynı dozlarla anestezi uygulanarak 125 dk sonrasında deney grubu ile aynı dozda metilprednizolon uygulanarak derlenme kafesi sonrası kendi kafeslerine alınmışlardır.



Şekil 5: Modifiye stereotaktik çerçevenin örnek uygulaması
A: Yukarıdan görünüm. B: Sol yandan görünüm. C: Oblik görünüm. D: Yakın çekim.



Şekil 6: Örnek planlama görüntüsü
A: Koronal kesit, sarı hat 100 Gy izodoz eğrisi, yeşil hat 20 Gy izodoz eğrisi, turuncu hat sol nucleus accumbens, turkuaz hat sağ nucleus accumbens. B: İzodoz eğrileri olmadan hedef işaretlemeleri, koronal kesit; C: Aksiyel kesit; D: Sagittal Kesit. E: İzodoz eğrileri ile planlama görüntüleri, koronal kesit; F: Aksiyel kesit; G: Sagittal Kesit.

3.7 Kontrol MRG

Çalışma programının sonunda GKSRC ilişkili değişiklik olup olmadığını görmek amacıyla, uygulamadan 15 hafta sonra deney grubunun hayatta kalan üyelerinin tamamına (n = 17) ve kontrol grubundan rastgele seçilmiş 2'si erkek 2'si dişi olmak üzere toplam 4 sıçana MRG uygulanmıştır.

T1 MPR görüntüleri 1 mm kalınlığında, kesit atlamadan, RT: 1340 ET:2,96 IT:900 parametreleri ile elde edilmiştir. T2 koronal kesit görüntüleri; 1 mm kalınlığında, 1,3 mm aralıkla RT: 3000 ET:90 parametreleri ile elde edilmiştir. FLAIR görüntüler MPR uygun, 1 mm kalınlığında, kesit atlamadan, RT: 6000 ET:395 IT:2100 parametreleri ile elde edilmiştir.

3.8 Transkardiyak Fiksator Perfüzyonu ve Histopatolojik İnceleme

Deney sonunda tüm deney grubu ve MRG yapılan 4 kontrol grubu sıçanda histopatolojik inceleme yapılması planlanmıştır. Durulama mayisi olarak, 5000 IU/l heparinli serum fizyolojik, elektronik pH metre aracılığı ile enjeksiyonluk sodyum bikarbonat kullanılarak pH 7.4 olacak şekilde titre edilmiştir. Fiksator olarak aynı şekilde nötralize edilen %10 formol hazırlanmıştır. İnfüzyon torbaları operasyon masasından 150 cm yüksekte tutulmuş, setin havası durulama mayisi ile alınmıştır.

İşlem uygulanacak sıçanlar yüksek doz intraperitoneal ketamin ve ksilazin ile tam cerrahi anestezi sağlanarak operasyon masasına alınmıştır. Toraks “Y” veya

“U” şeklinde insizyonlarla açılarak anterior aksiller hat boyunca kotlar kesilerek sternum ve göğüs kafesinin ön parçası kaldırılmış, kalp ortaya konulmuştur. Apekten 16 G intraket ile girilerek kanül ucunun aorta oturması sağlanmıştır. Sonrasında kurulan infüzyon sistemi ile bağlantı yapılmış ve önce irrigasyon sıvısı açılarak ilk damlalar görüldükten sonra sağ atrium kesilerek eksanguinasyon için yol açılmıştır. Durulama mayisi tükendikten sonra sisteme hava girmesine izin vermeden derhal üç yollu musluk vasıtası ile fiksator perfüzyonuna geçilmiştir. Bu esnada üst ekstremit ve mimik kaslarının fasikülasyonları (fiksasyon tremoru) tekniğin başarılı uygulandığının ölçütü olarak değerlendirilmiştir. İşlem boyunca her rat için 250 ml durulama mayisi ve 250 ml fiksatorün 5er dakikada perfüzyonu sağlanmıştır.

Fiksasyon sonrası kranium açılarak beyinler çıkartılmış ve aynı fiksator içerisinde sallanan platforma alınmıştır. Sallanan platformda 1 saatin sonunda hipokampus seviyesinin posteriorundan, koronal planda kesilmiş, 23 saat daha sallanan platformda tutulduktan sonra normal fiksatife alınmıştır.

Standart doku takibi işlemleri uygulanarak parafin bloklar elde edilmiş, bunlardan değişen kalınlıkta kesitler alınarak hematoksilin eozin boyası uygulanarak preparatlar incelenmiştir.

3.9 Biyolojik Efektif Doz Hesaplanması

BED hesaplamaları için her sıçanın her hedef matrisine ait doz protokolleri cihaz sisteminden dışa aktarılmıştır. Bu alanda daha önce yapılmış örnek bir çalışma bulunmaması nedeniyle insan santral sinir sistemi ile ilgili en güncel yayınlar referans alınmış, ortak bir dil oluşturulabilmesi için bu yayınlarla aynı parametreler kullanılmıştır (17–19). Doku sabiti (α/β) 2,47; kısa ve uzun tamir yarı-ömürleri sırasıyla 0,19 ve 2,16 saat; dağılım katsayısı ise 0,98 olarak belirlenmiştir. Daha önce belirtilen Denklem 1 ve Denklem 2, python programlama dilinde kodlanarak ilgili verilerin sonuçları hesaplanmış, fiziksel doz ile karışmaması için yazı içerisinde Gy_{2,47} birimi ile belirtilmiştir.

3.10 Verilerin İstatistiksel Analizi

Tüketim ve ağırlık verilerinin analizinde IBM SPSS Statistics v.27.0 (IBM, ABD) istatistik paket programı kullanılmıştır. Ağırlık, dönemler boyunca tüketimler ve davranış deneyi ortalama verilerinin karşılaştırılmasında genel doğrusal model (GDM) ile iki ve üç yönlü tekrarlayan ölçümler ANOVA (RMANOVA) analizi yapılmıştır. Varsayımların kontrolü için, değişkenlerde Shapiro Wilk normallik testi, hata varyanslarında Levene testi uygulanmış ve Studentleştirilmiş rezidüellerin tamamının ± 3 aralığında olduğu kontrol edilerek aykırı değer olmadığından emin olduktan sonra bu rezidüeller için Shapiro Wilk testi uygulanmıştır. Maulchy testinin istatistiksel olarak anlamlı izlendiği

durumlarda ε belirtilerek p değeri Greenhouse-Geisser düzeltmesine göre rapor edilmiştir. Ortak değişkene göre düzeltme yapılan istatistiklerde, ilgili ortak değişkenin normal dağılıma uygunluğu da Shapiro Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Davranış deneyi verilerinin karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan ve varsayımları karşılaştıran değişkenler RMANOVA ile karşılaştırılırken, normal dağılıma uymayan parametrik veriler için Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Kategorik değişken sonuçlarının karşılaştırılmasında Fisher's exact test kullanılmıştır. Tüm istatistiksel testlerin yorumlanmasında, %95 güven seviyesine karşılık gelecek şekilde, alfa seviyesi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Deneyi Tamamlayamayan Hayvanlar ve Ek Bulgular

Deneyin başlangıcından radyocerrahi uygulamasına kadarki takipte herhangi bir hayvan kaybı olmamıştır. Deneyin bu ve sonraki noktalarında; 5 kontrol grubu (1 dişi, 4 erkek) ve 1 deney grubu (erkek) olmak üzere toplam 6 denek deneyi tamamlayamadan kaybedilmiştir. Bu bahsedilen hayvanlardan; kontrol grubu dişi sham uygulaması sırasında anestezi komplikasyonu sonucu, Deney grubu erkek ise GKSRC uygulamasını takip eden 17. günde ölmüş olup nekropside beyinde shift herniasyon veya kanamaya dair aşikar bulgu izlenmemiştir. Kontrol grubu 4 erkek sıçanın nekropsilerinde ölüm nedenini belirlemeye yönelik spesifik bulgu izlenmemiştir. Deneyin tamamlanmasından önce ölen bu hayvanlar analizlere dahil edilmemiştir.

Analizlere katılan sıçanların gruplara göre dağılımı Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Analizlere katılan sıçanların gruplara göre dağılımı
KTR: Kontrol Grubu, GKS: Deney Grubu

Cinsiyet (n)		Alt-Grup	Sayı (n)
Dişi	17	D-KTR	8
		D-GKS	9
Erkek	13	E-KTR	5
		E-GKS	8
TOPLAM	30		
KTR	13		
GKS	17		

Belirtilen bu durumlara ek olarak deney grubu erkek sıçanlardan (E-GKS) bir adedinin davranış deneylerinde oldukça aykırı sonuçlar vermesi nedeniyle bu sıçan davranış deneyi analizlerinden çıkartılmıştır (n = 29). Yeni obje tanıma testi değerlendirilirken her iki aşama boyunca hiçbir objeye ilgi göstermemiş olan iki sıçan analizlerden çıkartılmıştır (n = 27).

4.2 GKSRC Uygulaması

Planlanan tedavi, ortalama $124,06 \pm 2$ (2,32) dakika sürmüş (n = 18), tüm atışlar için odak noktasındaki doz uygulama hızı 1,41-1,42 Gy/dk olarak ölçülmüştür. Doz referans noktası her atışın merkezinden 0.1-0.2 mm uzaklıktadır. Her iki taraf için de alınan dozun $87,34 \pm 2$ (1,50) kadarı o taraf için yapılan atıştan gelirken kalan doz karşı taraf ışınlanırken alınmıştır. Uygulama sırasında herhangi bir hayvanda ek doz anestezi ihtiyacı olmamıştır.

Her bir hedef matrisin 100 Gy fiziksel doz alan referans noktası için BED, $\alpha/\beta = 2,47$ Gy olacak şekilde hesaplanmıştır. Ortalama $2476,35 \text{ Gy}_{2,47} \pm 2$ (14,47) uygulandığı görülmüştür. Denekler arası farklılık incelendiğinde herhangi bir kümelenme görülmemiştir. BED değerleri sıralandığında uygulama sırası ile paralellik göstermediği izlenmiştir. Sağ taraf ($2476,15 \pm 2$ (8,50)) ve sol taraf ($2476,55 \pm 2$ (6,21)) için hesaplanan BED değerleri eşli örneklem T-Test ile karşılaştırılmış, anlamlı fark izlenmemiştir ($t(17) = 0,214$ p = 0,833).

4.3 Ağırlık Değişimine Dair Bulgular

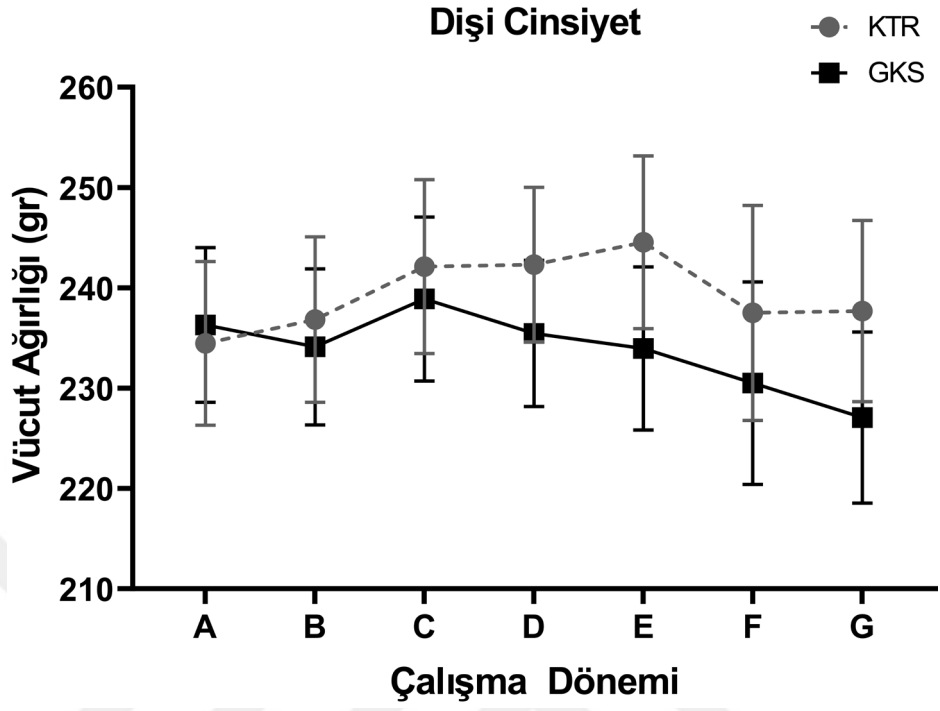
Deneye başlanılan 8 haftalık hayvanların ($n = 36$) ağırlık ortalamaları; erkekler için $336,77 \pm 2$ (31,40) gr (minimum: 301 gr, maksimum: 362 gr), dişiler için ise $239,38 \pm 2$ (16,94) gr (minimum: 227 gr, maksimum: 256 gr) olarak izlenmiştir.

Çalışmayı tamamlamış olan sıçanlar ($n = 30$) ile GDM kullanılarak üç yönlü miks RMANOVA analizi yapılmıştır ($\epsilon = 0,487$). Analiz sonucunda döneme göre ağırlık ortalaması ile grup ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir üç yönlü etkileşim varlığı görülmemiştir ($F(2,924:76,035) = 0,907$. $p = 0,440$. Parsiyel $\eta^2 = 0,034$).

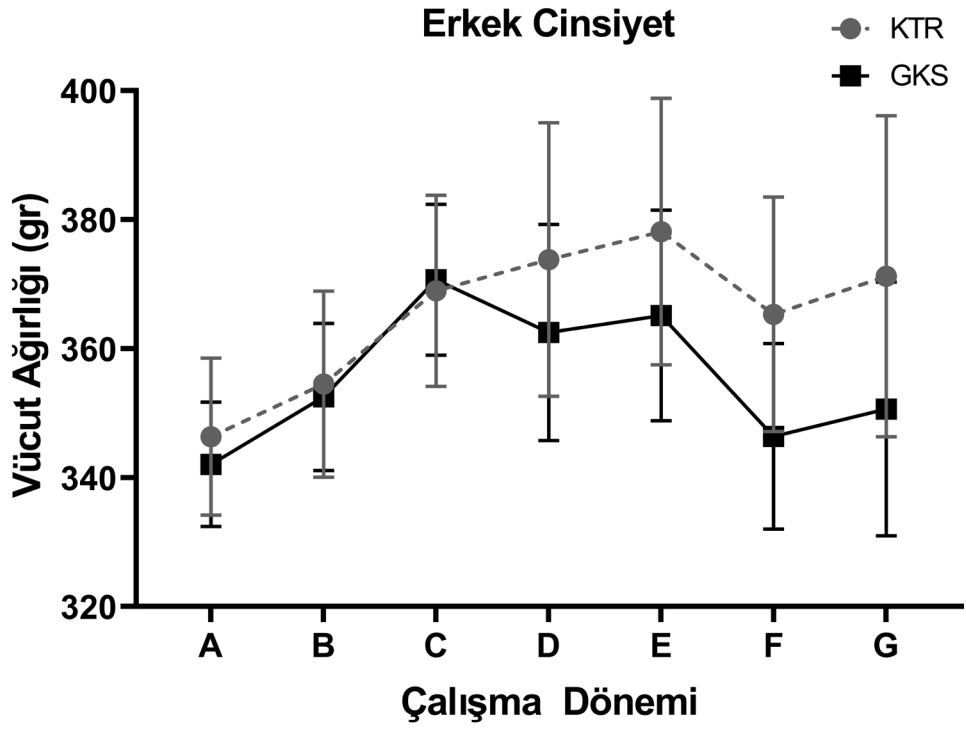
İki yönlü etkileşimlerde ise hem cinsiyet hem grup açısından sırasıyla;

- Zaman x Cinsiyet: $F(2,924:76,035) = 7,302$. $p = 0,000$. Parsiyel $\eta^2 = 0,219$;
- Zaman x Grup: $F(2,924:76,035) = 3,975$. $p = 0,012$. Parsiyel $\eta^2 = 0,133$

ile anlamlı fark bulunduğu sonucuna ulaşılmıştır.



Grafik 1: Dişilerde Vücut Ağırlığı Tahmini Marjinal Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi
Hata Çubukları: %95 GA



Grafik 2: Erkeklerde Vücut Ağırlığı Tahmini Marjinal Ortalamalarının Zamana Göre Değişimi
Hata Çubukları: %95 GA

Cinsiyetler arası fark incelendiğinde, tahmini marjinal ortalamalara dayalı olarak; erkeklerin dişilere göre ortalama 124,021 gr (%95 GA 113,982 - 134,059) daha ağır olduğu tespit edilmiştir. Zaman x Cinsiyet ilişkisinin değerlendirildiği eşleştirmeli karşılaştırmalarda ortalama farkı güven aralıklarının en düşük alt sınırı 99,949 gr ile A döneminde, en yüksek üst sınırı ise 144,845 gr ile E döneminde görülmüştür.

Gruplar arası fark incelendiğinde, tahmini marjinal ortalamalara dayalı olarak; KTR'lerin GKS'ye göre anlamlı fark gösterdiğine dair kanıt olmasa da ($F(1:26)=2,475$. $p = 0,128$. Parsiyel $\eta^2 = 0,087$), Bonferoni düzeltmesi uygulanarak Zaman x Grup ilişkisinin değerlendirildiği eşleştirmeli karşılaştırmalarda F ve G dönemlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür. Tablo 2'te görüldüğü gibi D döneminden itibaren istatistiksel anlamlı farklılık oluşturmada da güven aralığının alt ve üst sınırları arasındaki simetrinin bozulması dikkati çekmiştir.

Tablo 2: Vücut Ağırlığı - Tahmini Marjinal Ortalamalar – Dönemlere Göre - Her iki cinsiyet

Çalışma dönemi	Grup (A)	Grup (B)	Ortalama Fark (A-B)	Standart Hata	p değeri ^a	Fark için %95 Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
A	Kontrol	Deney	1,227	4,311	0,778	-7,635	10,088
B	Kontrol	Deney	2,344	4,737	0,625	-7,393	12,082
C	Kontrol	Deney	0,765	4,913	0,877	-9,335	10,865
D	Kontrol	Deney	9,084	6,002	0,142	-3,253	21,421
E	Kontrol	Deney	11,794	6,066	0,063	-0,675	24,262
F	Kontrol	Deney	**12,963	6,050	**0,042	0,526	25,399
G	Kontrol	Deney	**15,603	7,042	**0,036	1,129	30,078
**. Ortalama fark 0,05 seviyesinde istatistiksel açıdan anlamlıdır.							
a. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferoni düzeltmesi uygulanmıştır							

Gruplar arası farkın kaynağına yönelik ileri analizler devam ettirilmiştir. Veri seti cinsiyete göre ikiye bölünerek analiz iki yönlü RMANOVA olarak tekrarlanmıştır ($\epsilon = 0,695$). Dişilerde Zaman x Grup ilişkisi incelendiğinde; $F(4,172:62,575) = 4,703$. $p = 0,002$. Parsiyel $\eta^2 = 0,239$ ile gruplar arası anlamlı fark bulunduğu sonucuna ulaşılmıştır. Eşleştirmeli karşılaştırmalar sonucunda istatistiksel açıdan anlamlı farkı oluşturan spesifik bir dönem görülmemiştir (Tablo 3).

Tablo 3: Vücut Ağırlığı - Tahmini Marjinal Ortalamalar - Dönemlere Göre - Dişi Cinsiyet

Çalışma dönemi	Grup (A)	Grup (B)	Ortalama Fark (A-B)	Standart Hata	p değeri ^a	Fark için %95 Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
A	Kontrol	Deney	-1,838	5,264	0,732	-13,058	9,382
B	Kontrol	Deney	2,722	5,317	0,616	-8,611	14,055
C	Kontrol	Deney	3,236	5,587	0,571	-8,673	15,145
D	Kontrol	Deney	6,868	4,977	0,188	-3,740	17,476
E	Kontrol	Deney	10,579	5,559	0,076	-1,271	22,428
F	Kontrol	Deney	7,000	6,906	0,327	-7,719	21,719
G	Kontrol	Deney	10,632	5,830	0,088	-1,794	23,058
**. Ortalama fark 0,05 seviyesinde istatistiksel açıdan anlamlıdır.							
a. Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır							

Erkek cinsiyette ise ($\epsilon = 0,428$); Zaman x Grup ilişkisi incelendiğinde; $F(2,567:28,242) = 1,649$. $p = 0,205$. Parsiyel $\eta^2 = 0,130$ ile gruplar arası anlamlı fark olduğuna dair kanıt bulunamamıştır.

Ağırlık değişimi üzerindeki etkinin kalori alımındaki herhangi bir değişim veya etkiden kaynaklı olup olmadığını değerlendirebilmek için analizlere devam edilmiştir.

Kalori alımları toplam kalori alımı ve ağırlık düzeltilmiş kalori alımı olarak iki şekilde ele alınarak RMANOVA ile değerlendirilmiştir. Toplam kalori alımı verisi tüm sıçanlarda birlikte cinsiyet ve gruba göre incelendiğinde ($\epsilon = 0,588$) döneme göre kalori alımı ortalaması ile grup ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir üç yönlü etkileşim varlığı görülmemiştir ($F(3,529:91,752) = 0,832$. $p = 0,496$. Parsiyel $\eta^2 = 0,031$).

İki yönlü etkileşimler incelendiğinde Dönem x Grup ilişkisinde anlamlı fark varlığına dair kanıt izlenmemiştir ($F(3,529:91,752) = 1,132$. $p = 0,346$. Parsiyel $\eta^2 = 0,042$).

Aynı incelemeler ağırlığa göre düzeltilmiş kalori ortalamaları ile yürütülmüş ($\epsilon = 0,589$) dönem, grup ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir üç yönlü etkileşim varlığı görülmemiştir ($F(3,537:91,962) = 0,710$. $p = 0,570$. Parsiyel $\eta^2 = 0,027$).

İki yönlü etkileşimler incelendiğinde Dönem x Grup ilişkisinde anlamlı fark varlığına dair kanıt izlenmemiştir ($F(3,537:91,962) = 0,963$. $p = 0,424$. Parsiyel $\eta^2 = 0,042$).

Deney ve kontrol grupları arasındaki meydana gelen ağırlık farkının kalori alımından bağımsız olabileceği hipotezini test etmek amacıyla ağırlığa göre düzeltilmiş kalori alımı ortak değişken olarak eklenerek ağırlık değişimi farkı analizleri RMANCOVA olarak tekrarlanmıştır. Düzeltme parametresi olarak her sıçanın bütün çalışma haftaları boyunca ölçülen haftalık düzeltilmiş kalori alım ortalamalarının ortalaması alınarak hesaplanan değişken kullanılmıştır.

Analizler veri seti cinsiyete göre bölünerek yürütülmüştür. Dişilerde ($\varepsilon = 0,711$) kalori alımına göre düzeltmeye karşın zaman içindeki değişimin gruplar arasında farklılık gösterdiği görülmüştür $F(4,264:59,696) = 4,563$ $p = 0,002$. Parsiyel $\eta^2 = 0,246$. Eşleşmeli karşılaştırmalar için tahmini marjinal ortalamalar 342,4483 cal/kg düzeltilmiş kalori alımına göre hesaplanmış, düzeltme yapılmamış olan analizde de olduğu gibi eşleştirmeli karşılaştırmalar sonucunda istatistiksel açıdan anlamlı farkı oluşturan spesifik bir dönem görülmemiştir. Erkeklerde önceki analizlere benzer şekilde istatistiksel açıdan anlamlı fark izlenmemiştir.

Genel hareketliliğin bir ölçütü olarak sıçanların açık alan testinde katettiği toplam mesafe değerlendirilmiştir. Bu değişkenlerin gruplar arasındaki karşılaştırmaları ilgili bölümde verilmiştir. Deney ve kontrol grupları arasındaki meydana gelen ağırlık farkının genel hareketlilik farkından kaynaklı olabileceği hipotezini test etmek amacıyla AAT’de katettikleri toplam mesafelerin ortalamaları ortak değişken olarak eklenerek ağırlık değişimi farkı analizleri tekrarlanmıştır. İlk aşamada düzeltme parametresi olarak her sıçanın bütün davranış deneyleri boyunca ölçülen AAT toplam mesafe değerlerinin ortalaması alınarak, hesaplanan tüm çalışma süresindeki ortalama mobilite parametresi kullanılmıştır. İkinci aşamada ise her iki değişkendeki farkların da çalışmanın ikinci yarısında görülmüş olmasından hareketle sadece ışınlama sonrası 20. 24. 27. ve 32. haftalardaki performanslarının ortalaması kullanılarak düzeltme yapılmıştır.

RMANCOVA analizi veri seti cinsiyete göre bölünerek yürütülmüştür. Dişilerde ($\varepsilon = 0,650$) hareketliliğe göre düzeltmeye karşın zaman içindeki değişimin gruplar arasında farklılık gösterdiği görülmüştür $F(3,903:54,640) = 4,921$ $p = 0,002$.

Parsiyel $\eta^2 = 0,260$. Eşleşmeli karşılaştırmalar için tahmini marjinal ortalamalar 11,9493 m katedilen mesafe değerine göre hesaplanmış, düzeltme yapılmamış olan analizde de olduğu gibi eşleşmeli karşılaştırmalar sonucunda istatistiksel açıdan anlamlı farkı oluşturan spesifik bir dönem görülmemiştir. Erkeklerde benzer şekilde istatistiksel açıdan anlamlı fark izlenmemiştir. Aynı analiz sadece ışınlama sonrası değerlerin ortalaması ile düzeltilerek tekrarlandığında nihai çıkarımlar değişmemiştir ($\epsilon = 0,655$, $F(3,933:55,059) = 4,755$ $p = 0,002$. Parsiyel $\eta^2 = 0,254$).

4.4 Alkol Tercih Oranı Değişimine Dair Bulgular

Çalışma süresince genel olarak dişiler ortalama %34,843 (%95 GA 32,807 – 36,879), erkekler ise ortalama %36,899 (%95 GA 34,815 – 38,983) alkol tercihi göstermiştir. RMANOVA uygulandığında ($\epsilon = 0,687$) döneme göre alkol tercihi ile cinsiyet ve grup arasında istatistiksel olarak anlamlı üç yönlü bir ilişki bulunduğuna ($F(3,433:89,263) = 0,698$ $p = 0,574$. Parsiyel $\eta^2 = 0,026$) veya tercih oranının zamana göre değişiminin gruplar arasında farklılık gösterdiğine ($F(3,433:89,263) = 1,797$ $p = 0,146$. Parsiyel $\eta^2 = 0,065$) dair bulgu izlenmemiştir.

4.5 Kinin Testi Sonuçlarından Elde Edilen Bulgular

Çalışmanın 14 ve 29. haftalarındaki düşük doz (DD) ve 30. haftasındaki yüksek doz (YD) kinin testleri sırasındaki alkol tercih oranları incelenmiştir.

Kinin uygulamasının etkisinin anlaşılabilmesi için 14. hafta ortalaması hemen öncesindeki 4 haftanın ortalamasından meydana gelen C periodu ile karşılaştırılmıştır. Tüm veri seti bir arada değerlendirildiğinde Zaman x Cinsiyet etkileşiminde istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğu izlenmiştir $F(1,26) = 11,929$ $p = 0,002$. Parsiyel $\eta^2 = 0,315$. Veri seti cinsiyete göre bölünerek analiz tekrarlanmıştır. Sıçanlar bu noktada henüz gruplara ayrılmamış olsalar da gruplar arası istatistikler de yapılarak rapor edilmiştir.

Erkeklerde kinin testi ile alkol tercihinde istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğuna ($F(1,11) = 1,774$ $p = 0,210$ Parsiyel $\eta^2 = 0,139$) veya etkinin gruplar arasında farklılık gösterdiğine dair bulgu izlenmemiştir ($F(1,11) = 0,180$ $p = 0,680$ Parsiyel $\eta^2 = 0,016$).

Dişilerde kinin uygulanmasının istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüşe neden olduğu görülse de ($F(1,15) = 16,657$ $p < 0,001$ Parsiyel $\eta^2 = 0,526$) bu etkinin gruplar arasında farklılık gösterdiğine dair bulgu izlenmemiştir ($F(1,15) = 0,031$ $p = 0,862$ Parsiyel $\eta^2 = 0,002$).

Basit ana etkiler Bonferroni düzeltmesi uygulanarak çift karşılaştırmalarıyla incelendiğinde tanımlanan düşük doz kinin uygulamasının dişilerde, alkol tercih oranında ortalama 5,537 puanlık (%95 GA 2,645 – 8,428) düşüşe yol açtığı görülmüştür (Bonferroni düzeltilmiş $p < 0,001$). Gruplar ayrı ayrı ele alındığında Tablo 4'te görüldüğü üzere etki açısından farklılık görülmemiştir.

Erkeklerde izlenen ortalama 2,881 puanlık (%95 GA (-1,879) – 7,640) artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğuna dair kanıt izlenmemiştir (Bonferroni düzeltilmiş $p < 0,210$).

GKSRC sonrası kinin testlerini çevreleyen 28 ve 31. haftaların ortalamasından oluşan G dönemi verileri ile 29. ve 30. hafta verileri ayrı ayrı karşılaştırılmıştır.

Veri seti cinsiyete göre ikiye bölünerek G dönemi ve 29. hafta karşılaştırılmıştır. Erkeklerde çalışmanın bu aşamasında kinin uygulaması ile alkol tercihinde istatistiksel açıdan anlamlı fark geliştiğine ($F(1,11) = 0,403$ $p = 0,538$ Parsiyel $\eta^2 = 0,035$) veya etkinin gruplar arasında farklılık gösterdiğine dair bulgu izlenmemiştir ($F(1,11) = 0,958$ $p = 0,349$ Parsiyel $\eta^2 = 0,080$).

Dişilerde bu aşamada da kinin uygulanmasının istatistiksel olarak anlamlı şekilde tercih oranında düşüşe neden olduğu görülmüştür ($F(1,15) = 5,718$ $p = 0,030$ Parsiyel $\eta^2 = 0,276$). Basit ana etki değerlendirmesi ortalama 4,689 puanlık bir tercih düşüşü olduğunu göstermiştir (%95 GA 0,509 – 8,869 $p = 0,030$). Tahmini marjinal ortalamalar etkinin kaynağına yönelik incelendiğinde, Tablo 4'te görüldüğü gibi etkinin deney grubundaki farklılıktan kaynaklandığı görülse de; eldeki sayısal veriler GDM ile bu etkinin gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık gösterdiğine dair yeterli kanıt sunamamıştır ($F(1,15) = 3,511$ $p = 0,081$ Parsiyel $\eta^2 = 0,190$).

Aynı şekilde G dönemi ve yüksek doz kinin uygulanan 30. hafta karşılaştırıldığında erkek cinsiyet için istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğuna yönelik bulgu elde edilememiştir. Dişi cinsiyet için ise bu uygulamanın istatistiksel

4.6 Davranış Deneylerinden Elde Edilen Bulgular

Genel mobilite ölçütü olarak sıçanların açık alan testi süresince katettiği toplam mesafe değerlendirilmiştir. Toplam katedilen mesafe ölçütünün çalışma boyunca ve GKSRC uygulaması sonrası ortalamaları daha önce belirtildiği üzere ağırlık değişimleri analiz edilirken ortak değişken olarak kullanılmıştır.

Veri seti cinsiyete göre bölünerek yürütülen RMANOVA ile tekrarlı ölçümler olarak GKSRC öncesi ve sonrası toplam katedilen mesafe karşılaştırılmıştır ($n = 29$). Sırasıyla dişi ve erkek cinsiyet için; $F(1,15) = 30,528$ $p < 0,001$ Parsiyel $\eta^2 = 0,671$ ve $F(1,10) = 25,790$ $p < 0,001$ Parsiyel $\eta^2 = 0,721$ ile çalışmanın ilk yarısı ve ikinci yarısı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülsede bu etkinin gruplar arasında farklılık gösterdiğine dair kanıt izlenmemiştir (Dişiler: $F(1,15) = 2,100$ $p = 0,168$ Parsiyel $\eta^2 = 0,123$; Erkekler: $F(1,10) = 4,212$ $p = 0,067$ Parsiyel $\eta^2 = 0,296$).

Anksiyete ilişkili davranışın bir komponenti olarak tigmotaksi davranışının incelenmesi için deney süresince merkeze olan metre cinsinden ortalama uzaklık RMANOVA ile incelendiğinde dişilerde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. Erkek cinsiyette ise zaman grup etkileşimiyle istatistiksel açıdan anlamlı fark olduğu görülmüştür ($F(1,10) = 6,381$ $p = 0,030$ Parsiyel $\eta^2 = 0,390$). Erkeklerin tahmini marjinal ortalaması 56,3 cm (%95 GA 55 – 57,7) olarak izlenmiştir. Çift karşılaştırmalarında; KTR grubunda görülen ortalama 0,4 cm (%95 GA -1,7 – 2,5) değişim istatistiksel açıdan anlamlı izlenmemesine karşın GKS

grubunda izlenen 2,7 cm (%95 GA 0,9 – 4,4) azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Bonferroni düzeltilmiş $p = 0,007$).

Anksiyete ilişkili davranışın korku komponentinin bir göstergesi olarak ele alınan toplam hareketsiz geçirilen sürenin veri seti bölünmeden yapılan RMANOVA analizinde çalışmanın GKSRC öncesi ve sonrası dönem ortalamalarında istatistiksel açıdan anlamlı değişim gösterdiğini ortaya koymuştur ($F(1,25) = 71,677$ $p < 0,001$ Parsiyel $\eta^2 = 0,741$). Bu değişimin cinsiyetler arasında farklılık gösterdiğine dair bulgu elde edilmemiştir ($F(1,25) = 1,585$ $p = 0,220$ Parsiyel $\eta^2 = 0,060$). Ancak değişimin gruplar arası farklı olduğu $F(1,25) = 9,081$ $p = 0,006$ Parsiyel $\eta^2 = 0,266$ ve bu gruplar arası farkın cinsiyetler arasında da farklılık gösterdiği görülmüştür ($F(1,25) = 6,693$ $p = 0,016$ Parsiyel $\eta^2 = 0,211$).

Veri seti cinsiyete göre bölünerek tekrar RMANOVA ile değerlendirildiğinde; her iki cinsiyette de dönemler arasında değişim olduğu görülmekle beraber bu değişimin sadece erkek cinsiyette gruplar arası anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır ($F(1,10) = 21,473$ $p < 0,001$ Parsiyel $\eta^2 = 0,682$). Hareketsiz geçirilen süre toplam tahmini marjinal ortalamasının 172,471 sn (%95 GA 149,590 – 195,352) olduğu erkek cinsiyette KTR grubunun süresi ortalama 95,467 sn (%95 GA 69,843 – 121,090) artış gösterirken, GKS grubunun 25,693 sn (%95 GA 4,037 – 24,349) artış gösterdiği dikkati çekmiştir.

Anksiyete ölçütlerinden bir diğeri olan YAL, obsesif davranış paterninin göstergesi olarak kullanılan BGT’de veya depresyon ölçeği olarak çalışmaya dahil edilen ZYT’de gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark izlenmemiştir.

Bilişsel işlevlerin değerlendirilmesi için kullanılan YOT testinde biri KTR biri GKS olmak üzere iki erkek sıçanın herhangi bir objeye ilgi göstermediği görülmüştür, bu sıçanlar analizlerden çıkartılmıştır. Veri seti bölünmeksizin ($n = 27$) oluşturulan 2×2 tablo ile KTR ($n = 12$) ve GKS ($n = 15$) gruplarının ikinci aşamada ilk inceledikleri obje konusunda farklılık gösterip göstermediği değerlendirilmiştir. GKS grubu sıçanların %80'inin ($n = 12$) ikinci aşamada ilk olarak yeni objeye yöneldiği görülürken, KTR grubunun ancak %33,3 kadarı ($n = 4$) ilk olarak yeni objeye yönelmiştir. Fisher's exact test ile değerlendirildiğinde ilk seçilen obje ile grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki olduğu görülmüştür ($p = 0,022$). Aynı yöntem kullanılarak cinsiyetler karşılaştırıldığında (erkekler %50, $n = 5$; dişiler %64,7, $n = 11$) istatistiksel açıdan anlamlı ilişki görülmemiştir ($p = 0,687$). Grup karşılaştırması veri seti cinsiyete göre bölünerek tekrarlandığında dişilerde (GKS %77,8 $n = 7$; KTR %50 $n = 4$) istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar görülmemiştir. Erkeklerde ise GKS grubunun %83,3'ü ($n = 5$) önce yeni objeyi incelerken KTR grubunun tamamının öncelikle tanıdık objeye yöneldiği görülmüştür (Fisher's exact $p = 0,048$).

Ayrım indeksi (yeni obje süresi – eski obje süresi / yeni + eski obje süresi) gruplar arasında Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında GKS (sıra ortalaması = 14,73) ve KTR (sıra ortalaması = 11,82) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır ($U = 101$, $z = 0,960$, $p = 0,337$).

4.7 Radyolojik Bulgular

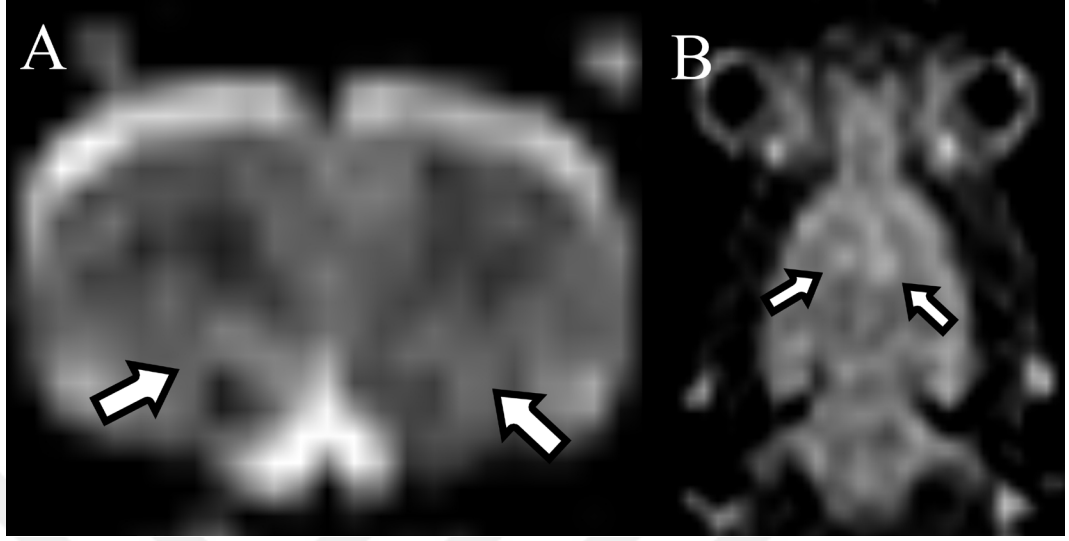
Çalışmanın sonunda çekilen kontrol MRG sonuçları incelendiğinde, kullanılan cihazın kısıtlamalarına bağlı olarak optimum kalitede değerlendirme sağlanamamış olduğu görülmüştür. Bazı sekanslarda ve bazı deneklerde T2A sekansta hiperintens ödem alanı düşündürülen sinyal değişiklikleri izlenmiş olsa da hedef bölgede ödem varlığını veya yokluğunu kesin olarak belirlemek için yeterli olmadığı kanaatine varılmıştır. İzlenebilen ödem alanlarının hedef bölge ile uyumlu olduğu görülmüştür. Şekil 7’de, örneklerin birinde izlenen ödem ile uyumlu hiperintens patolojik MR sinyal değişikliği gösterilmiştir.

Belirtilen nedenlerle radyolojik sonuçların sistematik değerlendirilmesinin mümkün olmadığına karar verilmiştir.

4.8 Histopatolojik Bulgular

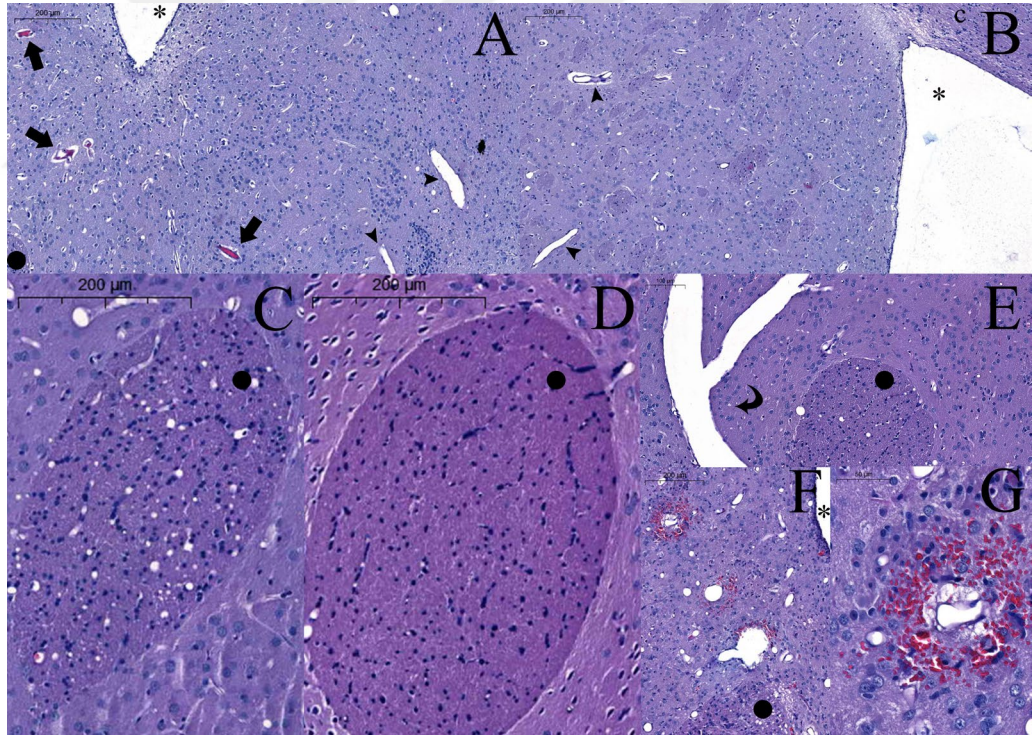
Hematoksilen eozin boyalı preparatlar incelendiğinde herhangi bir denek veya kesitte aşık nekroz alanı izlenmemiştir. Hedef bölgeye uyan anatomik yerleşimde perivasküler mikrohemoraji, küçük damarların hyalen materyal ile obliterasyonu ve vasküler telenjiektazi sporadik olarak izlense de bu değişikliklerin sistematik değerlendirmeye olanak sağlayacak ölçüde homojen olmadığı görülmüştür.

Daha önce literatürde radyasyon ilişkili değişiklik olarak tariflenmiş ve bu çalışma preparatlarında rastlanmış değişiklik örnekleri Şekil 8’de gösterilmiştir. Hedef bölge dışında hedef sapması düşündürecek herhangi bir radyasyon ilişkili histopatolojik bulguya rastlanmamıştır.



Şekil 7: Kontrol MRG'de bilateral ödem görünümü

Oklar: ödem alanları. A: T2 ağırlıklı MRG - koronal kesit. B: FLAIR sekansı - aksiyel kesit



Şekil 8: Hedef bölgeyi gösteren hematoxilen eozin boyalı preparatlar

*: Lateral ventrikül, •: Anterior komissür. A: Deney grubu, oklar: hyalen materyal ile oblitere damarlar; ok başları: benzer çaplı normal damarlar (x10). B: Deney grubu, A ile aynı preparatın aynı kesiti, kaudat nükleus tarafı görüntüsü, ok başları: benzer çaplı normal damarlar; c: Korpus Kallozum (x10). C: Deney grubu, anterior komissür lifleri arasında vakualizasyon (x10). D: Kontrol grubu, C ile aynı düzeyden geçen kesitte normal anterior komissür (x10). E: Deney grubu, kıvrık ok, dilate vasküler yapılar (x10). F: Deney grubu, perivasküler mikrohemorajik alanlar (x10). G: Deney grubu, F ile aynı kesit, yakınlaştırılmış (x40).

5. TARTIŞMA

5.1 Nöromodülasyon ve Fonksiyonel Kullanımı

Nöromodülasyon, sinir dokusundaki aktivitenin dışardan müdahale ile değiştirilmesidir. Bu şekilde istenmeyen nöral aktivitenin normalize edilmesi hedeflenir. Patolojinin olduğu bölgeye direkt olarak uygulanabileceği gibi ilişkili devrenin kilit noktalarına uygulanarak da etki elde edilebilir. Radyasyon ile bu etkilerin elde edilmesine radyomodülasyon denir. GKSRC'nin yaygın fonksiyonel kullanımları (kronik ağrı için talamotomi, hareket bozuklukları için pallidotomi ve obsesif kompulsif bozukluk için anterior kapsülotomi vb.) lezyon ve hücre ölümü ile etki göstermeye dayansa da radyomodülasyon canlı dokuda fonksiyon değişikliğini hedefler (42).

Nöromodülasyonda etkinin tam olarak nasıl oluştuğu ve dahi her zaman aynı şekilde oluşup oluşmadığı konusunda kesin bir fikir birliği olmamakla birlikte, bu konuda yapılan eski bir çalışmada radyasyon uygulamasının hemen ardından doku incelendiğinde voltaj duyarlı sodyum kanalları üzerinde inhibitör etki oluşturduğu gösterilmiştir (43). Domuz beyinde yapılan daha güncel bir nükleer tıp çalışması, fokal radyasyon uygulanan bölgede yapısal MRG incelemesinde 120 Gy doza kadar herhangi bir yapısal değişiklik görülmemesine karşın; 40 Gy'e kadar olan dozlarda glukoz tüketiminde artış görülürken 60 Gy'in üzerindeki dozlarda azalma görüldüğünü, dolayısıyla metabolizma ve aktivitede değişim olduğunu rapor etmektedir (44).

Daha önce sıçanlarda kainik asit enjeksiyonu ile oluşturulan epilepsi modelinde nöromodülasyon ile nöbet sıklığında azalma sağlandığı gösterilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu ve deney grubu sıçanlar karşılaştırıldığında uygulanan düşük doz radyasyondan (30 Gy) beklendiği üzere enjeksiyon ile ilişkili değişiklikler dışında herhangi bir değişiklik olmadan etki edildiği görülmektedir (15). Buna bağlı olarak radyomodülasyon ile etki sağlanabilmesi için histopatolojik değişiklik görülmesi gibi bir ön şart bulunmadığı düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde ilişkili düzenli bir histopatolojik veya radyolojik değişiklik olmadan etki elde edilmiş olması bu mevcut literatür bilgileri ile uyumludur.

Küçük hayvanlarda GKSRC hedeflemesini inceleyen bir çalışma sıçanlarda striatuma uygulanan 150 Gy (%100 izodoz) dozun etkilerini incelemiştir. Bu çalışma özellikle hedef bölgelerin yakın olması ve kullanılan MRG cihazlarının yakın özellikte olması yönüyle bizim çalışmamıza yakınlık göstermektedir. Bu çalışmada iyi tanımlanmış nekrotik değişiklikler izlendiği rapor edilmiştir. Fiziksel dozlar arasında %50 kadar fark olduğu görülse de bizim çalışmamızda iki farklı hedef olması ve doz etkileşimi nedeniyle dokuya uygulanan BED her iki çalışma arasında daha büyük fark göstermektedir. İlgili yayında ışınlamanın süresi ile ilgili bilgi bulunmamaktadır. Ancak tartışabilmek adına bizim çalışmamızda kullanılan odak noktasındaki doz hızı (1,41 Gy/dk) varsayımsal olarak kabul edilerek bu çalışma için BED hesaplanmıştır. Bu çalışmada uygulanan yaklaşık 5115,54 Gy_{2,47} doz bizim çalışma ortalamamız olan 2476,35 Gy_{2,47} değerinin iki katından fazla bir dozu ifade etmektedir (45).

5.2 Nöromodülasyon ile Bağımlılık Tedavisi

NAcc nöromodülasyonu ile bağımlılık tedavisini araştıran çalışmaların çoğunun özellikle opioid bağımlılığını incelediği görülmüştür. RF ablasyon ile ilgili daha fazla veri mevcut olup DBS çalışmaları ancak 2-3'er vaka içeren birkaç vaka serisi düzeyindedir. Radyocerrahi kullanıldığı rapor edilen herhangi bir yayın bulunmamaktadır (10). İlgili aramalar tekrarlandığında bu çalışmanın kapsadığı dönemde de sonrasında da benzer bir çalışma tarafımızca da bulunmamıştır. Bağımlılık nörofizyolojisi kısmında da belirtildiği gibi opioidler devrenin her noktasında reseptörleri bulunan ve dahi diğer maddelerin bağımlılığında da nörotransmitter olarak rol oynayan moleküllerdir. Alkol ve nikotin, ventral tegmental alandaki reseptörlerine bağlandıktan sonra ventral tegmental alandan NAcc'a projekte olan opioid peptid ve dopaminerjik nöronları üzerinden bağımlılık devresine etkilerini iletir (5). Dolayısıyla alkol ve nikotin bağımlılığında NAcc nöromodülasyonunun etkisi incelendiği zaman, bu bölgede direkt etki sağlayan reseptörlerden bağımsız olarak bağımlılık devresinin önemli bir kavşağı olarak sağladığı etki değerlendirilmektedir.

Sıçanlarda NAcc nöromodülasyonu ve bağımlılık ilişkisi üzerine yürütülmüş çeşitli DBS çalışmaları incelenmiştir. Morfin bağımlılığının incelendiği bir çalışmada NAcc bölgesine tek taraflı olarak DBS elektrotları yerleştirilmiş, daha sonra artan dozda morfin uygulaması ile eş zamanlı olarak stimülasyon uygulanmıştır. Morfin uygulaması mekan koşullandırma yöntemi ile uygulanarak, sonuç parametresi olarak her koşullandırma uygulamasından sonraki mekan tercihi ölçülmüştür. Bu çalışmada sıçanların önceden bağımlı hale getirilmesi gibi bir

basamak uygulanmadığı görülmektedir. Tek taraflı DBS uygulamasının sebebi olarak başka çalışmalarda anksiyete ve obsesif kompulsif bozuluk için bilateral uygulamanın ek fayda sağlamadığı tartışılmış olsa da bu çalışmadaki yön seçiminin ne olduğundan veya bu seçimin nedeninden bahsedilmemektedir. DBS yerleştirilmesi sonrası arka ayaklarda spastisite olduğu ve stimülasyon grubundan 3 sıçanın cerrahi sonrası toparlanma aşamasında kaybedildiğinden bahsedilmektedir. Çalışma sonucunda; madde uygulaması ile eş zamanlı NAcc stimülasyonu uygulanan grupta mekan şartlandırmasının sham grubuna kıyasla zayıf, hatta madde uygulanmayan grupla benzer olduğu gösterilmiştir (46).

Eroin bağımlılığının incelendiği başka bir sıçan çalışmasında, NAcc merkez bölgesine uygulanan stimülasyonun, kabuk bölgesine uygulanana göre görsel uyaranlarla tetiklenen arama davranışını baskılama konusunda daha etkili olduğu gösterilmiştir (47).

İnsandaki uygulamalar incelendiğinde, literatürde NAcc DBS uygulaması ile bağımlılığın azaldığını bildiren ilk vaka raporunda etki en detaylı şekliyle rapor edilmiştir. Bu vaka raporuna göre ağır agorafobi ve anksiyete bozukluğu nedeniyle DBS planlanan hastanın, asıl hedeflenen hastalıklarında herhangi bir değişiklik olmamasına karşın eşlik eden alkol kullanım bozukluğu kendiliğinden düzelmiştir. Vaka raporunda, DBS ile ilk stimülasyon anında hastanın “hoş bir iç huzur” duyduğunu sonrasında da alkol tüketmek için duyduğu baskılı isteğin kaybolduğunu belirttiğinden ve alkol tüketiminin herhangi bir ek motivasyon veya gereklilik olmadan günlük 10 içkiden 1-2’ye düşürdüğünden, alkol tüketilmeyen günlerin çoğaldığından bahsedilmektedir (8).

Sıçanlarda NAcc nöromodülasyonu ile alkol tüketimi ilişkisini araştıran 4 çalışma tespit edilerek bu çalışmalar detaylı incelenmiştir. Bu çalışmalardan ilki aynı zamanda DBS ile suistimal edilen maddenin tercih edilmesini inceleyen ilk çalışma olduğunu belirtmektedir. Bu çalışmada hem merkez hem kabuk bölgesine elektrot yerleştirilen grupta, her iki bölgenin de test edilen maksimum doz olan 150 μ A'de yüksek frekans (160 Hz) ile uyarılması sonucunda, uyarım yapılmamış duruma göre vücut ağırlığına göre düzeltilmiş alkol tüketiminde düşüş olduğu gösterilmiştir. Çalışmada tercih oranı parametresi çalışılmamış, alkol erişimi sakkarin destekli 4-6 haftalık alıştırma takvimi ve sonrasındaki test sürecinde günlük 30 dakika sağlanmış ve bu tüketim kaydedilmiştir. Çalışmanın sonuçlarında istatistikleri karşılaştırılan veriler için bir ortalama veya hesaplanmış bir tahmini değişim yüzdesi net olarak belirtilmemiş olmakla beraber, çalışmada sunulan grafikler 0.5 mg/kg düzeylerinden 0.1 mg/kg düzeylerine bir gerileme tariflemektedir (48). Çalışmada Long-Evans sıçanlar kullanılmış olmasına karşın sadece erkek cinsiyet ile çalışılmış olması, sıçan sayılarının ve parametrik sonuçların net sayılarla verilmemiş olması karşılaştırma yapmayı güçleştirmektedir. Bununla beraber istatistiksel olarak anlamlı farklar NAcc bölgesinin nöromodülasyonu ile bağımlılık modellerinde alkol tüketiminin azaltılabileceği konusundaki çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Daha sonraki bir çalışma doğal olarak alkolü tercih eden, seçici yetiştirme yöntemi ile üretilen P sıçanlarda benzer incelemeler yapmıştır. Bu çalışmada DBS ile bir saatlik ölçümlerde tercih oranlarında düşüş sağlandığı gösterilmiştir. Aynı zamanda bu çalışma 4-6 haftalık bir yoksunluk periyodu uyguladıktan sonra 24

saatlik alkol tüketimi ve tercih oranlarını karşılaştırmış, DBS uygulanan grubun alkol tercihinin daha düşük olduğunu göstermiştir (49). Sıçanların grup dağılımı veya ortalamalar belirtilmemiş olsa da çalışmanın grafiklerinden DBS kapalı olan grupta yaklaşık %45 civarlarında olan tercih oranının DBS açık grupta %20 düzeylerinde izlendiği anlaşılmaktadır. Ancak bu çalışmada farkın önemli bir kısmının su tüketimindeki farklardan kaynaklandığı belirtilmekle beraber bizim çalışmamızda su tüketimlerinde gruplar arasında incelenebilecek bir farklılık görülmemiştir.

Takip eden bir çalışma DBS ile birlikte farmakolojik sessizleştirmeyi de değerlendirmiştir. Bu çalışmada dişi P sıçanlar kullanılmıştır. Bilateral NAcc bölgesinin baklofen ve muskarin karışımı ile farmakolojik sessizleştirilmesinin madde arama davranışını azalttığı sonucuna ulaşmışlardır. Aynı deneyin 2. parçası olarak sol taraf NAcc bölgesinin 150 Hz ile unilateral uyarıldığı deneyde ise 100 μ A'de geçici ve zamanla tolerans gelişen, 200 μ A'de ise 3. günde %42 ile başlayıp zamanla oturan, 6. günde %59 azalmaya varan azalma gösterilmiştir. Su tüketimi ile ilgili kayda değer bir farklılık gözlenmediği belirtilmiştir (50). Farmakolojik sessizleştirme kısmında koşullandırma ve lövyeye basışı kullanmaları nedeniyle, DBS deneyinde ise 1 saatlik erişim verisini değerlendirmeleri nedeniyle sonuçları direkt olarak karşılaştırmamız mümkün olmamıştır. Ancak çalışmanın sonuçları genel itibariyle su tüketiminde anlamlı değişim izlenmemesi ve alkol tüketimini azalması yönünden bizim sonuçlarımız ile paralellik göstermektedir.

Literatürde tespit edilen en güncel çalışma fonksiyonel MRG ile stimülasyonun da etkilerini inceleyerek ilerlemiştir. Ancak bu çalışma bugüne

kadarki literatür ve bizim çalışmamızın tam zıttı yönde, NAcc stimülasyonunun relapsı tetikleyebileceği yönünde sonuç bildirmiştir. Bu çalışmanın yönteminde, alıştırma/bağımlılaştırma aşamasının 1 yıl gibi uzun bir süre olması ve bu süre içerisinde düzensiz aralıklarla uzun yoksunluk periyotları eklenmiş olması gibi farklar dikkat çekmiştir. Bu çalışmada uygulanan DBS'in dopamin salınımını destekleyerek relaps sırasındaki etkisini arttırdığına yönelik görüş bildirilmiştir (51). Sıçanların başlangıç yaşı çalışmada belirtilmediğinden müdahale sırasındaki yaşları da bilinmemektedir. Tedavinin uygulandığı andaki yaş durumu veya bunun nöroplastisite ile potansiyel etkileşimleri tartışılmadığından, bu konuları da kapsayacak şekilde tasarlanacak çalışmaların bu konuya daha fazla ışık tutması mümkün görünmektedir.

Bizim çalışmamızda, GKSRC uygulanmış dişi sıçanların normal günlük alkol tercih oranları kontrol grubu ile benzer değişiklikler göstermiştir. Ancak kinin testinde GKSRC uygulanmış grubun tercih oranının normal gruptan farklı şekilde düştüğü görülmektedir. Düşük doz kinin testi sırasında istatistiksel fark bulunamamış olması etkinin yokluğundan çok istatistiksel güç ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Kinin etkilerinin doz bağımlı olduğu bilinmektedir (12), dozu arttırıp süre uzatıldığında etki artarak farkın da belirginleşmesini sağlamış olduğu düşünülmektedir.

Bu bulgular vaka raporunda tarif edilenler ile birlikte değerlendirildiğinde tedavinin irade dışı tüketime zorlayan bağımlılık mekanizmalarını hedef aldığı yönünde değerlendirilmiştir.

5.3 Nöromodülasyon ile Ağırlık Yönetimi

Obezite tedavisine yönelik fonksiyonel nöroşirurjikal tedaviler insanda güncel olarak araştırılmaya devam eden bir konudur. Literatürdeki vaka raporları arasında depresyon için NAcc DBS uygulanan bir hastanın depresyon tedavisine ek olarak kilo kaybı açısından da ek fayda gördüğü gibi raporlar bulunmaktadır (52). Bu konu ile ilgili NAcc nöromodülasyonu aracılığı ile kontrol dışı yeme davranışının önlenmesine yönelik tasarlanmış özgün klinik çalışmalar devam etmektedir (53).

Sıçanlarda ise obezitede nöromodülasyon ile ilişkili olarak üç deneysel çalışma dikkati çekmektedir. Bunların ilki obezite modeli oluşturulmuş sıçanlarda GKSRC kullanılarak hipotalamusun ışınlaması ile ağırlık kontrolü sağlandığını rapor eden çalışmadır. Bu çalışmanın bulgularına göre tüm hipotalamusun %70 izodoz eğrisinde 28 Gy, medial hipotalamusun ise %90 doz eğrisinde 36 Gy doz aldığı bir tedavi planı ile ışınlaması obez sıçanlarda ağırlık ayar noktasını düzelterek kilo kaybı sağlarken normal kilodaki sıçanlar üzerinde bir etki göstermemektedir. İlgili çalışmada besin tüketiminde “kabaca” bir anormallik görülmediğinden bahsedilse de çalışmada objektif ve sayısal bir besin tüketimi takibi yapıp yapılmadığından bahsedilmemektedir (54).

Bir diğer çalışma sıçanlarda NAcc’a uygulanan DBS’in akut uygulaması ile tıknırcasına yeme davranışının kontrol altına alınabildiğini rapor etmektedir. Bu çalışma yeme porsiyonunda belli koşullarda DBS’in düzelme sağladığı

bildirilmesine karşın bu etkinin ağırlık takibine yansıyor yansımadağına dair bilgi vermemektedir (55).

Güncel bir çalışmada ise hipotalamusun paraventriküler çekirdeğine DBS uygulanan sıçanlarda kahverengi yağ dokudaki termogenezin arttığına dair sonuçlar rapor etmektedir. Ancak çalışma paraventriküler nükleusun sempatik sinir sistemi ile kahverengi yağ doku üzerindeki etkisine odaklı yürütölmüş olup, kilo kaybı konusunda etkin olabileceğı yönünde imalarda bulunsa da besin tüketimi veya ağırlık takibi ile ilgili verilere yer vermemektedir (56).

Bizim çalışmamızın tasarımında özel olarak yoğunlaşılan bir çıktı olmaması sebebiyle besin tüketimine göre düzeltmeye rağmen açıklanamayan bu kilo kaybının tam mekanizmasına yönelik bir tespit yapılamamaktadır. Bu konuda NAcc ile hipotalamus arasındaki bağlantılar aracılığı ile mi, hipotalamusun maruz kaldığı düşük doz radyasyon nedeniyle mi yoksa tamamen farklı mekanizmalarla mı bu sonucun oluştuğunun anlaşılabilmesi için bu soruyu araştırarak şekilde tasarlanmış ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.4 Nöromodölasyonun Davranış Üzerine Etkileri

Literatürde NAcc nöromodölasyonu ile bağımlılık ilişkisini inceleyen çalışmaların hiçbirinde sıçanlarda davranış deneylerinin uygulandığına dair bir yayın izlenmemiştir. NAcc nöromodölasyonu ile davranış ilişkisini inceleyen

özgün bir çalışma merkez bölgesine uygulanan stimülasyon ile dürtüsel davranışın kontrol altına alınabildiğini göstermektedir (57).

Çalışmamızda ölçülen parametrelerin çoğunda ilk aşama ve ikinci aşama arasında farklılıklar görünmesine karşın, bu farklılıklar geçen zamanın etkisi olarak yorumlanmış ve bu değişimin gruplar arasındaki farklılığı incelenmiştir. Bu değerlendirme tekrarlayan uygulamalara uygunluğu şaibeli YOT testi için yapılamamış, bu konuda direkt gruplar arası karşılaştırmalar uygulanmıştır.

Erkek cinsiyette, tigmotaksi ve hareketsizliğin GKSRC uygulanan grupta daha az görülmesi, bu grubun çevresi ile daha ilgili ve aktif olduğuna yönelik değerlendirilebilir. Aynı şekilde YOT’de öncelikle yeni objeyi tanımış olmaları da bu hipotezi destekler niteliktedir. YAL’de benzer sonuçların görülmemiş olması AAT’de elde edilen bulguları anksiyeteye genellemeyi güçleştirmektedir. Bu görülen davranışın altyapısına dair eldeki bulgularla yapılacak çıkarımlar varsayımdan öteye gidemeyecek olsa da bağımlılığın getirdiği “madde ilişkili düşüncelerin çevresel farkındalığın önüne geçmesi” durumunun GKS grubunda daha az gözlemlendiğine dair çıkarımlara yönlendirmektedir.

Aynı etkinin dişilerde neden görülmediğine dair çalışmamızda davranış deneylerinden elde edilen verilerin kontrol grubu kayıplarına rağmen neden sadece erkeklerde anlamlı fark gösterdiğini açıklayabilecek bir bulguya ulaşamamış, literatürde de bununla ilgili yönlendirici bir çalışma izlenmemiştir.

5.5 Radyomodülasyon ve Elektrofizyolojik Stimülasyon

DBS, ilk kullanıma girdiğinden beri ayarlanabilirlik ve geri çevrilebilirlik özellikleri ile fonksiyonel nöroşirurji alanında çığır açan bir tedavi modalitesi olarak görülmüştür (58). Diğer nöromodülasyon yöntemlerine (RF ablasyon, GKSRC) kıyasla önemli dezavantajları, yabancı cisim implantasyonu gerektirmesi ve buna bağlı komplikasyon oranlarıdır. Zamanla oldukça azalmış olsa dahi güncel bir meta analiz %16,7 olarak izlediği DBS komplikasyon oranlarının yaklaşık yarısı kadar, %8,6 cihaz, yara yeri ve enfeksiyon/erozyon ilişkili komplikasyon bildirmektedir (59).

Aynı zamanda DBS, hasta başına sarf malzeme olarak maliyeti yüksek bir tedavi olduğundan her sağlık sisteminde, her hastanın erişebileceği bir tedavi yöntemi değildir. RF ablasyon yöntemleri ise uyanık uygulandığında test stimülasyonuna izin vermesi, kalıcı yabancı cisim yerleştirilmesini gerektirmemesi ile ön plana çıkmaktadır. Altyapı maliyeti yüksek olsa da hasta başına maliyeti olmayan stereotaktik radyocerrahi modaliteleri bazı sağlık sistemlerinde daha ulaşılabilir olmakta, ayrıca cerrahi gerektirmemesi yönüyle farklı avantajlar sağlamaktadır.

Fonksiyonel hedefler deneysel boyutta çalışılırken farklı nöromodülasyon yöntemleri ile çalışılması ve etkinlik/yan etki bakımından fark olup olmadığının gösterilmesi modaliteyi hastaya göre seçerek uygulamanın hastalara ulaştırılmasını daha mümkün ve kabul edilebilir kılmaktadır.

Mevcut literatürdeki NAcc hedefli bağımlılık tedavilerinin değerlendirildiği sistematik bir derlemede, tedavi modalitelerinden birinin diğerine üstünlüğü olduğunda dair bulguya ulaşılamamıştır. Aynı derleme sonuçlarına göre RF ablasyon ile uzun dönem yan etkilerin daha sık görüldüğü tespit edilmiş ve bu durum DBS'in ayarlanabilir doğası ile açıklanmış olsa da; RF ablasyon ile rapor edilen bu yan etkilerin hiçbirinin hayat kalitesini etkileyecek ölçüde şiddetli olmadığı da belirtilmiştir (10).

Literatürde stereotaktik radyocerrahi ile NAcc ışınlaması yapılmış bir vaka bulunmadığından karşılaştırma yapılamamıştır.

6. SONUÇ

Nucleus Accumbens, GKSRC ile hedeflendiğinde de daha önce DBS ile gösterildiği gibi bağımlılık tedavisinde kullanılabilecek bir hedeftir. Bu bölgenin radyonöromodülasyonu ile bağımlı dişi sıçanlarda kaçınılacak uyarana rağmen madde tüketimi davranışının azaldığı gösterilmiştir. Tedavi grubunda negatif uyarın yokluğunda kontrol grubuna kıyasla fark görülmemesi, bu etkinin ağır bağımlılık ile ilişkili olan bu davranışa özel olduğunu düşündürmektedir. Eğilimler değerlendirildiğinde, erkek sıçanlarda bu etkinin gösterilememiş olmasının, etkinin yokluğundan ziyade çalışma sırasındaki beklenmeyen denek kayıpları nedeniyle istatistiksel gücün düşmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Erkek sıçanlarda da bu etkinin görülüp görülmeyeceğinin kesin olarak tanımlanması gerekirse, bunun için daha fazla denek sayısı ile ilave çalışmalar gereklidir.

Akut yoksunluk durumunda yapılan davranış deneylerinde deney grubu erkek sıçanlarda azalmış tigmotaksi izlenmiştir. YOT testi sırasında deney grubunun anlamlı şekilde öncelikle yeni objeyi tanımış ve buna yönelmiş olması tedavinin bilişsel yan etkileri olmadığı gibi bağımlılık üzerindeki etkileri sayesinde bu alandaki performansı iyileştirebileceğine yönelik imalar bulundurmaktadır. Bu alandaki değişimin tam olarak anlaşılabilmesi için bu soruya yönelik çalışma modelleri ile ilave çalışmalar gereklidir.

Test edilen uygulama aynı zamanda deney grubunda ağırlık azalması ile sonuçlanmıştır. Bu yan sonuca neden olan mekanizmalar bu çalışmada tam olarak tanımlanmamış olmakla beraber, ağırlık azalmasının besin tüketimi, genel hareketlilik ve toplam kalori alımından bağımsız olduğuna dair bulgular

metabolizma hızı ile ilişkili değişiklikler olabileceğini düşündürmektedir. Metabolizma ve ağırlık yönetimi ile ilgili konular kontrollü deney ortamının oluşturulması için özel tasarım ve donanım gerektirdiğinden (metabolik kafes vb.) bu alanda yorum yapılabilmesi için özel olarak bu araştırma sorusuna yönelik tasarlanmış çalışmalarla değerlendirilmelidir.

DBS ile karşılaştırıldığında farklı avantajları ve dezavantajları olan radyonöromodülasyon yönteminin uygun hastalarda kullanılabilmesini sağlamak için bu yöntemlerle de çalışmaların yürütülüp etkinlik ve güvenliğin araştırılması gereklidir.

Nucleus accumbens bağımlılığı da içeren psikiyatrik birçok durum için güncel bir hedef olma özelliğini devam ettirmektedir. Bağımlılık ile ilgili olarak bu bölgenin hedeflenmesinde GKSRC modalitesi etkinlik göstermiştir. Mevcut GKSRC sistemleri ile sıçanlarda fonksiyonel hedeflere yönelik çalışmalar yürütülmesi mümkündür. Bu çalışmalar yürütülürken artık tek seans ışınlamalarda da geçerliliği artan BED kavramının uygulanması hem uygulamaların standardizasyonu, hem de bilimsel olarak aynı dilin konuşulması açısından önem arz etmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. American Psychiatric Association, American Psychiatric Association, editörler. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. 5th ed. Washington, D.C: American Psychiatric Association; 2013. 947 s.
2. İLHAN MN, ARIKAN Z, KOTAN Z, TUNÇOĞLU T, PINARCI M, TAŞDEMİR A, vd. Prevalence and Socio-Demographic Determinants of Tobacco, Alcohol, Substance Use and Drug Misuse in General Population in Turkey. *Noro Psikiyatr Ars*. Eylül 2016;53(3):205-12.
3. Organisation mondiale de la santé, Organisation mondiale de la santé, Management of Substance Abuse Team. Global status report on alcohol and health 2018. 2018.
4. Baydin S, Yagmurlu K, Tanriover N, Gungor A, Rhoton AL. Microsurgical and Fiber Tract Anatomy of the Nucleus Accumbens. *Operative Neurosurgery*. Eylül 2016;12(3):269-88.
5. Administration (US) SA and MHS, General (US) O of the S. THE NEUROBIOLOGY OF SUBSTANCE USE, MISUSE, AND ADDICTION [Internet]. Facing Addiction in America: The Surgeon General's Report on Alcohol, Drugs, and Health [Internet]. US Department of Health and Human Services; 2016 [a.yer 02 Nisan 2023]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK424849/>
6. Gao G, Wang X, He S, Li W, Wang Q, Liang Q, vd. Clinical Study for Alleviating Opiate Drug Psychological Dependence by a Method of Ablating the Nucleus accumbens with Stereotactic Surgery. *Stereotact Funct Neurosurg*. 2003;81(1-4):96-104.
7. Hall W. Stereotactic neurosurgical treatment of addiction: minimizing the chances of another 'great and desperate cure'. *Addiction*. 2006;101(1):1-3.
8. Kuhn J, Lenartz D, Huff W, Lee S, Koulousakis A, Klosterkoetter J, vd. Remission of alcohol dependency following deep brain stimulation of the nucleus accumbens: valuable therapeutic implications? *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 01 Ekim 2007;78(10):1152-3.
9. Kuhn J, Gründler TOJ, Bauer R, Huff W, Fischer AG, Lenartz D, vd. Successful deep brain stimulation of the nucleus accumbens in severe alcohol dependence is associated with changed performance monitoring. *Addict Biol*. Ekim 2011;16(4):620-3.
10. Navarro PA, Paranhos T, Lovo E, De Oliveira-Souza R, Gorgulho AA, De Salles A, vd. Safety and Feasibility of Nucleus Accumbens Surgery for Drug

Addiction: A Systematic Review. Neuromodulation: Technology at the Neural Interface. 18 Ocak 2021;ner.13348.

11. Simms JA, Steensland P, Medina B, Abernathy KE, Chandler LJ, Wise R, vd. Intermittent Access to 20% Ethanol Induces High Ethanol Consumption in Long-Evans and Wistar Rats. *Alcohol Clin Exp Res*. Ekim 2008;32(10):1816-23.
12. Hopf FW, Chang SJ, Sparta DR, Bowers MS, Bonci A. Motivation for alcohol becomes resistant to quinine adulteration after 3 to 4 months of intermittent alcohol self-administration. *Alcohol Clin Exp Res*. 01 Eylül 2010;34(9):1565-73.
13. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Amsterdam; Boston: Elsevier; 2009.
14. Calabrese E, Badea A, Watson C, Johnson GA. A quantitative magnetic resonance histology atlas of postnatal rat brain development with regional estimates of growth and variability. *NeuroImage*. Mayıs 2013;71:196-206.
15. Maesawa S, Dixon CE, Lunsford LD. Subnecrotic stereotactic radiosurgery controlling epilepsy produced by kainic acid injection in rats. *J Neurosurg*. 2000;93:8.
16. Balamucki CJ, Stieber VW, Ellis TL, Tatter SB, DeGuzman AF, McMullen KP, vd. Does dose rate affect efficacy? The outcomes of 256 Gamma Knife surgery procedures for trigeminal neuralgia and other types of facial pain as they relate to the half-life of cobalt. *JNS*. Kasım 2006;105(5):730-5.
17. Hopewell JW, Millar WT, Lindquist C, Nordström H, Lidberg P, Gårding J. Application of the concept of biologically effective dose (BED) to patients with Vestibular Schwannomas treated by radiosurgery. *J Radiosurg SBRT*. 2013;2(4):257-71.
18. Tuleasca C, Paddick I, Hopewell JW, Jones B, Millar WT, Hamdi H, vd. Establishment of a Therapeutic Ratio for Gamma Knife Radiosurgery of Trigeminal Neuralgia: The Critical Importance of Biologically Effective Dose Versus Physical Dose. *World Neurosurgery*. Şubat 2020;134:e204-13.
19. Millar WT, Hopewell JW, Paddick I, Lindquist C, Håkan Nordström, Lidberg P, vd. The role of the concept of biologically effective dose (BED) in treatment planning in radiosurgery. *Physica Medica*. Eylül 2015;31(6):627-33.
20. Landuyt W, Fowler J, Ruifrok A, Stüben G, van der Kogel A, van der Schueren E. Kinetics of repair in the spinal cord of the rat. *Radiotherapy and Oncology*. 01 Ekim 1997;45(1):55-62.

21. Pop LA, Millar WT, van der Plas M, van der Kogel AJ. Radiation tolerance of rat spinal cord to pulsed dose rate (PDR-) brachytherapy: the impact of differences in temporal dose distribution. *Radiother Oncol.* Haziran 2000;55(3):301-15.
22. Hall EJ, Giaccia AJ. *Radiobiology for the radiologist.* Eighth edition. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019. 597 s.
23. Jones B, Klinge T, Hopewell JW. The influence of the α/β ratio on treatment time iso-effect relationships in the central nervous system. *International Journal of Radiation Biology.* 02 Temmuz 2020;96(7):903-9.
24. Millar WT, Canney PA. Derivation and Application of Equations Describing the Effects of Fractionated Protracted Irradiation, Based on Multiple and Incomplete Repair Processes. Part I. Derivation of Equations. *International Journal of Radiation Biology.* 01 Ocak 1993;64(3):275-91.
25. Rudolfová V, Petrásek T, Antořová E, Frynta D, Landová E, Valeš K, vd. Inter-individual differences in laboratory rats as revealed by three behavioural tasks. *Sci Rep.* 07 Haziran 2022;12(1):9361.
26. Belovicova K, Bogi E, Csatosova K, Dubovicky M. Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdisciplinary Toxicology.* 01 Eylül 2017;10(1):40-3.
27. Menashe N, Salama Y, Steinauer ML, Spaan JM. Do behavioral test scores represent repeatable phenotypes of female mice? *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods.* 01 Mayıs 2022;115:107170.
28. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology.* Şubat 1978;47(4):379-91.
29. Mezdari TJ, Batista GM, Portes AC, Marino-Neto J, Lino-de-Oliveira C. Repeated rat-forced swim test: Reducing the number of animals to evaluate gradual effects of antidepressants. *Journal of Neuroscience Methods.* Şubat 2011;195(2):200-5.
30. Ribeiro DE, Müller HK, Elfving B, Eskelund A, Joca SR, Wegener G. Antidepressant-like effect induced by P2X7 receptor blockade in FSL rats is associated with BDNF signalling activation. *J Psychopharmacol.* 01 Kasım 2019;33(11):1436-46.
31. Lueptow LM. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *J Vis Exp* [Internet]. 30 Ağustos 2017 [a.yer 10 Nisan 2021];(126). Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5614391/>

32. Liang C dong, Li W ling, Liu N, Yin Y, Hao J, Zhao W qing. Effects of gamma knife irradiation on the expression of NMDA receptor subunits in rat forebrain. *Neuroscience Letters*. Temmuz 2008;439(3):250-5.
33. Liu W, Crews FT. Adolescent Intermittent ethanol exposure enhances ethanol activation of the nucleus accumbens while blunting the prefrontal cortex responses in adult rat. *Neuroscience*. 07 Mayıs 2015;293:92-108.
34. Chang SL, Patel NA, Romero AA. Activation and desensitization of Fos immunoreactivity in the rat brain following ethanol administration. *Brain Research*. Mayıs 1995;679(1):89-98.
35. Gage GJ, Kipke DR, Shain W. Whole Animal Perfusion Fixation for Rodents. *J Vis Exp* [İnternet]. 30 Temmuz 2012 [a.yer 08 Nisan 2021];(65). Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3476408/>
36. Holstein GR, Friedrich VLJ, Martinelli GP, Ogorodnikov D, Yakushin SB, Cohen B. Fos expression in neurons of the rat vestibulo-autonomic pathway activated by sinusoidal galvanic vestibular stimulation. *Front Neurol* [İnternet]. 2012 [a.yer 07 Nisan 2021];3. Erişim adresi: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2012.00004/full>
37. Tomar S. Converting Video Formats with FFmpeg. *Linux J*. Haziran 2006;2006(146):10.
38. Aslan A, Kaya ZB, Bulduk EB, Ocal O, Ucar M, Erpolat OP, vd. Prophylactic Bevacizumab May Mitigate Radiation Injury: An Experimental Study. *World Neurosurgery*. Ağustos 2018;116:e791-800.
39. Aslan DA. Yüksek Doz Stereotaktik Radyocerrahi Sonrası Radyasyon Hasarı Üzerine Bevacizumabın Profilaktik Ve Geç Kullanımının Etkileri: Deneysel Rat Çalışması. [Ankara]: Gazi Üniversitesi; 2016.
40. Erpolat OP, Demircan NV, Sarıbas GS, Kuzucu P, Senturk E, Elmas C, vd. A Comparison of Ramipril and Bevacizumab to Mitigate Radiation-Induced Brain Necrosis: An Experimental Study. *World Neurosurgery*. 01 Aralık 2020;144:e210-20.
41. Calabrese E, Badea A, Watson C, Johnson GA. A quantitative magnetic resonance histology atlas of postnatal rat brain development with regional estimates of growth and variability. *NeuroImage*. Mayıs 2013;71:196-206.
42. Schneider MB, Walcott B, Jr JRA, Schneider MB, Walcott B, Jr JRA. Neuromodulation via Focal Radiation: Radiomodulation Update. *Cureus* [İnternet]. 26 Nisan 2021 [a.yer 20 Nisan 2023];13(4). Erişim adresi: <https://www.cureus.com/articles/52385-neuromodulation-via-focal-radiation-radiomodulation-update>

43. Mullin MJ, Hunt WA, Harris RA. Ionizing Radiation Alters the Properties of Sodium Channels in Rat Brain Synaptosomes. *Journal of Neurochemistry*. 1986;47(2):489-95.
44. Yeh CI, Cheng MF, Xiao F, Chen YC, Liu CC, Chen HY, vd. Effects of Focal Radiation on [18F]-Fluoro-D-Glucose Positron Emission Tomography in the Brains of Miniature Pigs: Preliminary Findings on Local Metabolism. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*. 01 Temmuz 2021;24(5):863-9.
45. Tokumaru O, Hayashi M, Katayama Y, Tomida M, Kawakami Y, Kouyama N. Gamma Knife Radiosurgery Targeting Protocols for the Experiments with Small Animals. *Stereotact Funct Neurosurg*. 2007;85(4):135-43.
46. Liu HY, Jin J, Tang JS, Sun WX, Jia H, Yang XP, vd. Chronic deep brain stimulation in the rat nucleus accumbens and its effect on morphine reinforcement. *Addict Biol*. Mart 2008;13(1):40-6.
47. Schippers MC, Gaastra M, Mesman T, Schetters D, van Mourik Y, Denys D, vd. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens core but not shell reduces motivational components of heroin taking and seeking in rats. *Brain Neurosci Adv* [İnternet]. 01 Haziran 2017 [a.yer 12 Şubat 2021];1. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7058223/>
48. Knapp CM, Tozier L, Pak A, Ciraulo DA, Kornetsky C. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens reduces ethanol consumption in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. Mayıs 2009;92(3):474-9.
49. Henderson MB, Green AI, Bradford PS, Chau DT, Roberts DW, Leiter JC. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens reduces alcohol intake in alcohol-preferring rats. *Neurosurgical Focus*. 01 Ağustos 2010;29(2):E12.
50. Wilden JA, Qing KY, Hauser SR, McBride WJ, Irazoqui PP, Rodd ZA. Reduced ethanol consumption by alcohol-preferring (P) rats following pharmacological silencing and deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell: Laboratory investigation. *JNS*. Nisan 2014;120(4):997-1005.
51. Hadar R, Vengeliene V, Barroeta Hlusicke E, Canals S, Noori HR, Wieske F, vd. Paradoxical augmented relapse in alcohol-dependent rats during deep-brain stimulation in the nucleus accumbens. *Transl Psychiatry*. Haziran 2016;6(6):e840.
52. Tronnier VM, Rasche D, Thorns V, Alvarez-Fischer D, Münte TF, Zurowski B. Massive weight loss following deep brain stimulation of the nucleus accumbens in a depressed woman. *Neurocase*. 02 Ocak 2018;24(1):49-53.

53. Shivacharan RS, Rolle CE, Barbosa DAN, Cunningham TN, Feng A, Johnson ND, vd. Pilot study of responsive nucleus accumbens deep brain stimulation for loss-of-control eating. *Nat Med*. Eylül 2022;28(9):1791-6.
54. Vincent DA, Alden TD, Kamiryo T, Lopez B, Ellegala D, Laurent JJ, vd. The Baromodulatory Effect of Gamma Knife Irradiation of the Hypothalamus in the Obese Zucker Rat. *Stereotact Funct Neurosurg*. 2005;83(1):6-11.
55. Doucette WT, Khokhar JY, Green AI. Nucleus accumbens deep brain stimulation in a rat model of binge eating. *Transl Psychiatry*. 15 Aralık 2015;5:e695.
56. Mota CMD, Siler DA, Burchiel KJ, Madden CJ. Acute deep brain stimulation of the paraventricular nucleus of the hypothalamus increases brown adipose tissue thermogenesis in rats. *Neuroscience Letters*. 16 Mart 2023;799:137130.
57. Sesia T, Temel Y, Lim LW, Blokland A, Steinbusch HWM, Visser-Vandewalle V. Deep brain stimulation of the nucleus accumbens core and shell: opposite effects on impulsive action. *Exp Neurol*. Kasım 2008;214(1):135-9.
58. Videnovic A, Metman LV. Deep brain stimulation for Parkinson's disease: Prevalence of adverse events and need for standardized reporting. *Mov Disord*. 15 Şubat 2008;23(3):343-9.
59. Koh EJ, Golubovsky JL, Rammo R, Momin A, Walter B, Fernandez HH, vd. Estimating the Risk of Deep Brain Stimulation in the Modern Era: 2008 to 2020. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*. 13 Ekim 2021;21(5):277-90.

8. ÖZET

STEREOTAKTİK RADYOCERRAHİNİN LONG EVANS RAT MODELİNDE OLUŞTURULAN ALKOL BAĞIMLILIĞI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada bağımlılık tedavisinde umut vadeden bir hedef olan nucleus accumbensin sıçanlarda Gamma Knife stereotaktik radyocerrahi ile hedeflenmesinin etkileri incelenmiştir.

Bağımlılık modeli oluşturulan Long-Evans tipi sıçanların bilateral nucleus accumbens bölgelerine %100 izodozda 100 Gy olacak planda Gamma radyasyon uygulanarak takip edilmiştir. Tüm deney sırasında ağırlık, besin tüketimi, su tüketimi, alkollü su tüketimi kaydedilmiş, davranış deneyleri uygulanmış, yoksunluk periyodu ve kinin uygulamasının etkileri incelenmiştir.

Yüksek doz kinin testi sırasında stereotaktik cerrahi uygulanmış dişi sıçanların alkol tercih yüzdesinde yaklaşık 9 puanlık azalma olduğunu göstermektedir. Kontrol grubu sıçanlarda herhangi bir azalma izlenmemiş olup aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu durum nucleus accumbensin radyonöromodülasyonunun bağımlılık üzerinde etki oluşturabildiği lehine yorumlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: stereotaktik radyocerrahi, nucleus accumbens, bağımlılık, psikoşirurji

9. SUMMARY

INVESTIGATION OF STEREOTACTIC RADIOSURGERY EFFECT ON ALCOHOL ADDICTION IN THE LONG EVANS RAT MODEL

In this study, effect of Gamma Knife stereotactic radiosurgery to nucleus accumbens, a promising target for addiction treatment, in rats was investigated.

An addiction model was developed in Long-Evans rats and the bilateral nucleus accumbens areas were targeted with Gamma radiation according to a plan that would yield 100 Gy at 100% isodose. Food, water, alcohol consumptions and weight were recorded throughout the experiment, behavioral experiments were conducted, and the effects of the withdrawal period and quinine application were examined.

The high-dose quinine test shows that there was an approximate 9-point decrease in the alcohol preference percentage of the female rats on which stereotactic surgery was performed. There was no decrease observed in the control group rats and the difference between groups was found to be statistically significant. These results were interpreted in favor of the ability of the radioneuromodulation of the nucleus accumbens to have an effect on addiction.

Key Words: stereotactic radiosurgery, nucleus accumbens, addiction, psychosurgery