



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**NUKLEUS AKUMBENSE ODAKLANMIŞ ULTRASON UYARIMININ OPIOİD
BAĞIMLILIĞI OLUŞTURULMUŞ RATLARDA OPIOİD KOŞULLU YER TERCİHİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Alperen KILIÇ

Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Erdem DEVECİ

İSTANBUL – 2016

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**NUKLEUS AKUMBENSE ODAKLANMIŞ ULTRASON UYARIMININ OPIOİD
BAĞIMLILIĞI OLUŞTURULMUŞ RATLARDA OPIOİD KOŞULLU YER TERCİHİ
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Alperen KILIÇ

Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Erdem DEVECİ

Bu tez çalışması, 214S249 numaralı TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik
Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir.

İSTANBUL – 2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tezimin her aşamasında değerli tecrübelerini, zamanını ve desteğini esirgemeyen, her zaman pozitif yönde motive eden, değerli hocam ve tez danışmanım, Doç. Dr. Erdem Deveci'ye,

İhtisasım süresince eğitimimde ve tezimin hazırlanmasında bilgi ve tecrübeleri ile bana büyük katkılarda bulunan, sabır ve hoş görüsü ile yanımda olan, bana çok büyük emeği geçen ve her konuda yol gösterici olan, değerli hocam ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İsmet Kırpınara'a

Uzmanlık tezimin tamamlanması sürecinde tez jürisinde bulunan ve yardımcı olan, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri; Doç. Dr. Emel Koçer'e, üniversitemiz Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Vahdettin Görmez'e, Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi Psikiyatri Bölümü'nün değerli öğretim üyesi Prof. Dr. Nazan Aydın'a

Tezimin istatistiksel değerlendirmesinde yardımcı olan, tecrübelerinden istifade ettiğim Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ahmet ÖZTÜRK hocama,

Tezimin bilimsel ve laboratuvar çalışmaları aşamalarında bilgi ve desteğini esirgemeyen Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Ahmet Öztürk'e

Tezimin laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen değerli mesayi arkadaşlarım Dr. Aynur Nabi'ye, Dr. Ayşe Kurtulmuş'a, Dr. Ali Barlas Mırçık'a, Dr. Mesut Sarı'ya, Dr. Büşra Parlakkaya'a,

Tezimin labrotuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen, sabır ve hoşgöruları ile her daim yanımda olan Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi kıymetli çalışanları Vet. Hek. Mert Çelikten'e, Önder Hüseyinbaş'a, Yasin Altınbaş'a, Dr. Nihat DEMİRTAŞ'a, Nurhayat Dönek'e, Dr. Esad GÜVEN'e ve diğer çalışanlarına,

Hayatım boyunca beni hep destekleyen annem Bergüzar Kılıç'a, babam Remzi Kılıç'a, abim Abdurrahman ve kardeşim Alparslan ve Bossan'a,

Her daim yanımda olan ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen eşim Maysa'ya,

En kalbi teşekkürlerimi sunarım.

ALPEREN KILIÇ

ÖZET

Giriş ve Amaç: Bilindiği gibi derin beyin yapılarının spesifik bir şekilde uyarılması konusunda etkili tek yöntem derin beyin stimülasyonu (DBS)'dur. Madde bağımlılığı patogenezinde merkezi öneme sahip nukleus akumbens (NA)'ın DBS ile uyarılmasının morfin bağımlılığı üzerinde olumlu etkileri çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada da invaziv olmayan bir yöntem olan odaklanmış ultrason aracılığı ile yine aynı bölgenin uyarılmasının koşullu yer tercihi modelinde morfinle koşullandırılmış ve sonrasında morfinle koşullandırmaya devam edilen sıçanlarda, morfine bağlı yer tercihinin etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada ağırlıkları 300-490 gr arasında değişen 26 adet Sprague Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Çalışma iki aşamalı olarak tasarlanmıştır. Birinci aşamada sıçanlar serum fizyolojik (SF) ve morfin grubu olarak ikiye ayrılmıştır. 14 günlük koşullanmış yer tercihi (KYT) / conditioned place preference (CPP) protokolü kullanılarak morfinin pekiştirici ve ödüllendirici etkisi değerlendirilmiştir. 3 gün ön test aşaması, 10 gün koşullandırma aşaması sürmüştür. Son gün de tercih testinde morfin arama davranışı ile ödüllendirici etkisi değerlendirilmiştir. Tüm sıçanların kalvariyumlarına cerrahi işlemle miknastis yerleştirilmiştir. Sonrasında ikinci aşamada, morfine koşullandırılmış morfin grubu randomize olarak sahte uyarı alan SHAM grubu ve düşük yoğunluklu odaklanmış ultrason (DYOU) / low intensity focused ultrasound (LIFU) uygulanan ultrason (US) grubu olarak ikiye ayrılmıştır. 10 günlük stimülasyon prosedürü esnasında SF grubu uyarı almamış ve serum fizyolojik enjeksiyonları uygulanarak KYT aparatında koşullandırma protokolüne devam edilmiştir. Bu süre zarfında SHAM grubu sahte ultrason uyarımı almış, US grubu ise DYOU almıştır ve iki gruba morfin ve serum fizyolojik enjeksiyonları ile koşullandırma işlemine tabi tutulmuştur. Ultrason parametrelerimiz; temel frekans: 2,8 MHz, darbe tekrarlama frekansı (DTF) / pulse repetition frequency (PRF): 250 Hz, kullanım oranı (KO) / duty cycle (DC): %50, sonifikasyon süresi (SS) / sonification duration (SD): 300 msn, gecikme (delay): 1700 msn, Isppa (spatial-peak pulse-average intensity / boyutsal tepe dalga ortalama yoğunluğu): 4.06 W/cm², Ispta (spatial-peak temporal-average intensity / boyutsal tepe zamansal ortalama yoğunluğu): 305 mW/cm² olarak belirlenmiştir.

Stimülasyon bittikten bir gün sonra morfine koşullandırılmış ve morfin koşullandırmasına devam edilen sıçanlarda, morfin arama davranışı ile ödüllendirici etkisi

değerlendirilmiştir. İstatiski değerlendirmelerde; ikiden fazla grup kıyaslamalarında non parametrik test Kruskal Wallis, alt grup analizlerinde Dunn testleri kullanılmıştır. İkili kıyaslamalarda farklı gruplar non parametrik test Man Whitney U ile, grup içi değişimler non parametrik test Wilcoxon ile yapılmıştır. Tüm testlerde 0,05 istatistiksel anlamlılık seviyesi olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Çalışmanın birinci aşamasında bütün sıçanlar ön testte yüksek anlamlılıkla siyah alanı tercih ettiler ($p < 0,001$). Morfinin anlamlı düzeyde yer tercihi oluşturduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Çalışmanın ikinci aşamasında NA'ye uygulanan DYOU uyarımı; morfine bağlı yer tercihi geliştirilmiş ve morfinle koşullandırmaya devam edilen US grubundaki sıçanlarda, morfine bağlı yer tercihinin azaltmadı bununla beraber tercihte anlamlı artış da görülmedi. Ultrason stimülasyonu sonrası yer tercihinde US grubu ile SHAM grubu arasında anlamlı farklılık görülmedi ($p > 0,05$). Stimülasyon sonrası ölçümde SHAM grubunda ise morfine bağlı yer tercihinde ciddi düzeyde artış oldu ($p < 0,05$). Ultrason uyarımından önce US grubunun SF grubuna göre morfine bağlı yer tercihi anlamlı olarak yüksek iken ($p < 0,05$), ultrason uyarımı sonrası iki grup arası anlamlı fark görülmedi ($p > 0,05$).

Sonuç: Bu çalışma DYOU uyarımının bağımlılık davranışı üzerine etkilerini inceleyen ilk çalışmadır. Bu çalışma ile ilk defa hayvanlar anestezi altında olmadan, uyanık vaziyette DYOU uyarımı aldılar. Bunun için stimülasyon esnasında hayvanları uyanıkken sabitlemek üzere tarafımızdan tasarlanmış sabitleyici aparat kullanıldı. Hayvanlarda odaklanmış ultrason çalışmalarının tamamına yakını bir gün süre ile gerçekleştirilirken, bu çalışmada ilk defa 10 gün boyunca hayvanlar ultrason uyarımı aldılar.

Çalışmada DYOU uyarımı ile KYT'de morfin arama davranışı oluşturulan ve morfin ile koşullandırmaya devam edilen sıçanlarda morfin arama davranışında anlamlı artış gözlenmedi. Ancak morfin arama davranışında azalma olmadı. Ciddi sosyal bir sorun olan morfin ve diğer opioid bağımlılıklarının tedavisinde alternatif bir yöntem olarak DYOU uyarımı üzerine yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Düşük Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason, Koşullanmış Yer Tercihi, Morfin Bağımlılığı, Nöromadülasyon

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF FOCUSED ULTRASOUND PULSATION OF NUCLEUS ACCUMBENS ON OPIOID CONDITIONED PLACE PREFERENCE IN OPIOID DEPENDENT RATS

Introduction and Objectives: As we know for today, Deep Brain Stimulation (DBS) is the only modality proven to be effective on selective stimulation of the deep brain structures. It was previously reported that by using DBS, stimulation of nucleus accumbens (NA), a region that plays a pivotal role in the pathogenesis of substance addiction, is effective for the treatment of substance addiction. In this study, we used focused ultrasonography, a non-invasive modality, in a place conditioning model to stimulate NAC in rats which have been administered morphine during the experiment, in order to investigate the effect of the stimulation on the conditioned place preference.

Material and Method: In this study 26 Sprague Dawley rats ranging between 300 to 490 gr were used. The study was designed in two stages. In the first stage, rats were divided into two groups: serum physiologic (SF) and morphine. Reinforcement and rewarding effects of morphine were assessed by using a 14-days Conditioned Place Preference (CPP) protocol. CPP protocol was divided into 3-days pre-testing, 10-days conditioning and 1-day preference testing phases. In preference testing, morphine seeking behavior and the rewarding effect were assessed. Magnets are placed surgically on the calvaria of each rat. At the second stage, morphine group (conditioned by the administration of morphine) was divided into two groups: SHAM group, which receive fake stimuli and US group which receive low intensity focused ultrasonographic stimulation. During the 10-days stimulation phase, SF group did not receive any stimulation and CPP procedure was being held simultaneously with SF injections during this phase. SHAM group received fake ultrasound stimulation, whereas US group received low intensity focused ultrasonographic stimulation and both groups were conditioned with SF and morphine injections. We adjusted the ultrasound parameters as follows: fundamental frequency: 2,8 MHz, DTF / PRF: 250 kHz, KO / DC: %50, sonication duration: 300 msn, delay: 1700 msn, Isppa (spatial-peak pulse-average intensity) :4.06 W/cm², Ispta (spatial-peak temporal-averageintensity): 305 mW/cm².

One day after the stimulation procedure was finished, morphine seeking behavior and rewarding effect were assessed in rats which had been and were being administered morphine. In statistical analyses, if more than two groups were compared, Kruskal Wallis non-parametric tests were performed and in sub groups comparisons Dunn Tests were performed. In dual comparisons, two different groups were analysed by non-parametric Man Whitney U test and in-group changes analysed by non-parametric Wilcoxon test. In all tests, 0,05 determined as the statistical significance level.

Results: At the initial stage of our study all rats preferred the black spot significantly ($p < 0.001$). It was reported that morphine induced significant place preference ($p < 0.05$).

At the second stage, it was observed that application of low intensity focused ultrasound to NAC, did not reduce the morphine-induced place preference in US group rats which already developed morphine-induced place preference and were still being conditioned by morphine, on the other hand it also did not increase the preference significantly. There were no significant difference between US and SHAM groups with regards to place preference after ultrasonographic stimulation ($p > 0.05$). On the other hand, morphine-induced place preference increased significantly in SHAM group after ultrasonographic stimulation ($p < 0.05$). Before the ultrasonographic stimulation morphine-induced place preference was significantly higher in US group in comparison with SF group ($p < 0.05$), whereas after the ultrasonographic stimulation the difference between these groups were insignificant ($p > 0.05$).

Conclusion: To the best of our knowledge, our study is the first study that investigates the effects of low density focused ultrasonographic stimulation on the addiction behavior. In this study, the animals were conscious and were not anesthetized during the low density focused ultrasonographic stimulation; therefore it is unique in this manner. We designed and used a fixing material in order to keep the animals in order during the stimulation. Since most of the studies based on focused ultrasound only held for a day, our study is also different in the way ultrasonographic stimulation was performed for 10 days.

In this study we observed that the increase in morphine seeking behavior was avoided by ultrasonographic stimulation in rats in which morphine-induced seeking behavior was established and kept being conditioned with morphine. On the other hand, it did not reduce morphine seeking behavior. Since morphine and other opiate addictions are very

important social problems, we state there is a need for future studies to investigate the effects of low density focused ultrasound as an alternative treatment modality in addiction.

Key Words: Conditioned Place Preference, Low Density Focused Ultrasound, Morphine Addiction, Neuromodulation



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
SEMBOLELR / KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. İlaçların Kötüye Kullanımı ve Madde Bağımlılığı	7
2.1.1. Tanımlar, kavramlar ve genel bilgiler	7
2.1.2. Tarihsel gelişim	9
2.1.3. Bağımlılık türleri	11
2.2. Morfin Bağımlılığı	15
2.3. Madde Bağımlılığının Nörobiyolojisi.....	15
2.4. Deney Hayvanlarında Bağımlılık Oluşturma Modellerinde Pekiştirici ve Ödüllendirici Etki Değerlendirilmesi.....	17
2.4.1. Madde bağımlılığı oluşturulmasında deneysel modeller.....	18
2.4.2. Koşullanmış yer tercihi testi	19
2.5. Deney Hayvanlarında Morfin Bağımlılığı ve Yoksunluğu Oluşturulması.....	20
2.5.1. Bağımlılık oluşturma yöntemleri.....	20
2.5.2. Yoksunluk oluşturma yöntemleri ve yoksunluk belirtilerinin değerlendirilmesi 21	
2.6. Morfin	21
3. NÖROMODÜLASYON	23
3.1. Vagal Stimülasyon	24
3.2. Transkraniyal Manyetik Stimülasyon	25
3.3. Transkraniyel Elektriksel Stimülasyon	27
3.4. Derin Beyin Stimülasyonu.....	29

3.5. Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason (YYOU).....	33
3.6. Düşük Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason (DYOU).....	35
3.7. Amaç	49
4. GEREÇ ve YÖNTEM.....	50
4.1. Deney Hayvanları	50
4.2. Koşullu Yer Tercihi (KYT) Aparatı	50
4.3. İlaçlar ve Uygulamalar.....	50
4.4. Odaklanmış Ultrason Yapılacak Beyin Bölgesinin (Nukleus akumbens) Anatomik Lokalizasyonu ve Ölçüleri	51
4.5. Simülasyon Öncesi Parametre Çalışması	51
4.5.1. Odaklanmış ultrason cihazının oluşturulması ve sınanması: elektronik ve teknik detaylar	51
4.5.2. Odaklanmış ultrason cihazı ile oluşturulan ultrason demetinin çalışmada kullanılacak rat kafasındaki odak alanının fiziksel özelliklerinin gerçek zamanlı olarak belirlenmesi	57
4.6. Simülasyon ile Yapılan Parametre Çalışması	57
4.7. Histolojik İnceleme.....	71
4.8. Deneylerin Yürütülmesi.....	72
4.9. Odaklanmış Ultrason İle Beyin Uyarımı Yapılması.....	79
4.10. İstatistikî Yöntem	79
5. BULGULAR.....	80
5.1. Morfinin Koşullanmış Yer Tercihi Oluşturması.....	80
5.2. Morfinle Koşullanmış Yer Tercihi Geliştirilmiş, Morfin Koşullandırmasına Devam Edilen Sıçanlarda; Düşük Yoğunluklu Odaklanmış Ultrasonun Yer Tercihine Etkisi.....	82
6. TARTIŞMA	85
7. SONUÇ.....	89
8. KAYNAKLAR	91

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Mezolimbik dopamin yolağı	16
Şekil 2: Mezolimbik ödül sistemi	17
Şekil 3: Koşullanmış yer tercihi testi deney modeli	19
Şekil 4: Rat beyni koronal kesitlerinde Nuc. Accumbensin Stereotaksik görüntüleri.....	51
Şekil 5: Sıçan kafatasının geçirgenliğini gösteren veri ile modelin karşılaştırılması.	53
Şekil 6: Sıçan beyninin 7mm derinliğinde yer alan bölgeye ulaşan ve emilen akustik gücün frekansa bağlı grafisi	53
Şekil 7: (a) Elevasyon odaklı, doğrusal bir dizinin, 2.4 MHz frekansında sıçan kafatasında oluşturulan 1 birim basıncın (b) derinliğe göre (c) derinlik ve yanal alanda (d) yanal alanda değişimi	55
Şekil 8: Lateral yönde demet genişliğini gösteren grafikler	56
Şekil 9: Lateral yönde demet genişliğini gösteren grafikler	56
Şekil 10: Rat Kafatasının Görünümü	56
Şekil 11: Kafatası ile perdelenmiş olan Transducerin Bullet Hydrophone ile Karakterizasyonu	58
Şekil 12: Transducer 3D karakterizasyonunun yapıldığı deney ortamı	58
Şekil 13: 10 elemanlı transdüserine göre tanımlı eksenler.....	59
Şekil 14: 9 mm derinliğe odaklı 10 kanallı 2.4 MHz merkez frekanslı transdüserin değişik derinliklerdeki transvers demet şekilleri	60
Şekil 15: Şekil 14'deki transvers demet şekillerinden Z=8.8 mm derinlikte olanının detaylı görüntüsü	61
Şekil 16: Şekil 15'deki tranvers demet şeklinin X eksenini boyunca kesiti	61
Şekil 17: Şekil 15'deki tranvers demet şeklinin Y eksenini boyunca kesiti.....	62
Şekil 18: Tarama sistemi aksiyel demet şeklini açılı demetler için otomatik olarak ölçemediği için açısız olarak oluşturulan demetin aksiyel değişimi	62
Şekil 19: Transdüserin önüne rat kafatası yerleştirildikten sonra genlik hariç aynı sürüş koşullarında transvers demet şeklinin derinliğe göre değişimi	63
Şekil 20: Şekil 19'deki demet şekillerinden Z=6.8 mm derinlikte olanı	64
Şekil 21: Z=6.8 mm derinlikte azimut yönündeki lateral demet şekli	64
Şekil 22: Elevasyon yönünde de ultrason demeti	65

Şekil 23: Açılı olarak odaklandığında aksiyel ölçümler yapamadığımız için sadece 1-5 numaralı elemanlar kullanılarak açısız olarak odaklama yapıldığında elde edilen aksiyel demet şekli.....	65
Şekil 24: Dizinin iki yarısı iki odak noktasına eş zamanlı uyarım yapacak şekilde odaklanmış	66
Şekil 25: Rat kafatası arkasındaki demet şekilleri	67
Şekil 27: Azimut yönündeki demet kesiti	68
Şekil 26: Şekil 25'deki Z=8.15 mm derinlikteki demet şeklinin detaylı hali	68
Şekil 28: Elevasyon yönündeki demet beklenildiği gibi bu yeni uyarım şekli ile bir değişikliğe uğramamıştır	69
Şekil 29: Bu aksiyel demetler de sağ ve sol taraftaki derinliğe bağlı değişimi göstermektedir	69
Şekil 30: Ratlarda ablasyon zonu oluşturulmasına yönelik uygulama.....	70
Şekil 31: Sıçanlardan alınan beyin örneklerinden Bregma noktasından yaklaşık 0.7 mm ileriden alınan kesitlerin görüntüsü	71
Şekil 32: Farklı dozlarda odaklanmış ultrason uygulaması yapılmış sıçanlardan alınan beyin örnekleri.....	72
Şekil 33: Bregma noktasının görünümü	76
Şekil 34: Mıknatısların yapıştırılması	76
Şekil 35: Düşük yoğunluklu odaklanmış ultrason uyarımı görüntüsü	77
Şekil 36: Düşük yoğunluklu odaklanmış ultrason uyarımı görüntüsü	77
Şekil 37: Ön test aşamasında tüm gruptaki sıçanların beyaz ve siyah bölmelerde geçirdikleri süreleri gösteren grafik	80
Şekil 38: Deney 1 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreleri gösteren grafik.....	81
Şekil 39: Deney-2 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreleri gösteren grafik	83

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Deney-1 prosedürü,koşullanmış yer tercihinin oluşturulması (1.-5. günler)	74
Tablo 2 (Devam): Deney-1 prosedürü,koşullanmış yer tercihinin oluşturulması (6.-10. günler).....	74
Tablo 3 (Devam): Deney-1 prosedürü,koşullanmış yer tercihinin oluşturulması (11.-14. günler).....	75
Tablo 4: Deney-2 prosedürü (16.-26. günler).....	78
Tablo 5: Ön test aşamasında tüm gruptaki sıçanların beyaz ve siyah alanda geçirdikleri süreler	81
Tablo 6: Deney 1 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler	82
Tablo 7: Deney 1 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler	82
Tablo 8: Deney-2 şamasında beyaz alanda geçirilen süreler.....	84
Tablo 9: Deney-2 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler	84

SEMBOLELR / KISALTMALAR DİZİNİ

AC	: Alternatif Akım
BDNF	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
dB	: Desibel
DBS	: Derin Beyin Stimülasyonu
DC	: Direkt Akım
DTF / PRF	: Darbe Tekrarlama Frekansı / Pulse Repetition Frequency
DYOU/LIFU	: Düşük Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason / Low Intensity Focused Ultrasound
DYOUD/LIFUP	: Düşük Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason Dalgası / Low Intensity Focused Ultrasound Pulsation
EEG	: Elektro Ensefalogram
EKT	: Elektro Konvulzif Terapi
FDA	: Food and Drug Administration/ Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
fMRG	: Fonsiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme
Hz	: Hertz Frekans birimi
Isppa	: spatial-peak pulse-average intensity / boyutsal tepe dalga ortalama yoğunluğu
Ispta	: spatial-peak temporal-averageintensity / boyutsal tepe zamansal ortalama yoğunluğu
i.p.	: intra peritoneal
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
KES	: Kraniyel Elektriksel Stimülasyon
KO / DC	: Kullanım Oranı / Duty Cycle
KYT/CPP	: Koşullanmış Yer Tercihi / Conditioned Place Preference
MHz	: Mega Hertz
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRrUS	: Manyetik Rezonan Rehberliğinde Ultrason
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NA	: Nukleus akumbens
OKB	: Obsesif Kompulsif Bozukluk
TSSB	: Travmatik Sonrası Stres Bozukluğu
SF	: Serum Fizyolojik
SS / SD	: Sonifikasyon Süresi / Sonification Duration
STN	: Subtalamik Nucleus
tACS	: Transkraniyel Alternatif Akım Stimülasyonu
tDCS	: Transkraniyel Direk Akım Stimülasyonu
tES	: Transkraniyel Elektriksel Stimülasyonu
TMS	: Transkraniyel Manyetik Stimülasyon
TPS / TBD	: Ton Patlaması Süresi / Tone Burst Duration

tRNS	: Transkraniyel Random Noise Stimülasyon
tTMS	: Tekrarlı Transmanyetik Stimülasyon
TUS	: Trankraniyel Ultrason
US	: Ultrason
ve ark.	: ve arkadaşları
VP	: Ventral Pallidum
VTA	: Ventral Tegmental Alan
W/cm²	: Basınç birimi. Watt/santimetre kare
YYOU/HIFU	: Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason / High Intensity Focused Ultrasound
Δ	: Delta
κ	: Kapa
μ	: Mü



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Madde bağımlılığı, bir maddenin tıbbi amaçları dışında kullanılması ve maddeye karşı tolerans gelişmesi ile gittikçe artan miktarlarda kullanılması, kişinin yaşamını olumsuz yönde etkilediği halde madde alımını sürdürmeye devam edilmesi ve madde kullanımı azaltıldığı ya da bırakıldığında yoksunluk belirtilerinin ortaya çıkması ile giden klinik durumdur. Bağımlılık oluşturan maddelerin ortak özelliği kendi kullanımlarını pekiştirmeleridir. Beyindeki ödül mekanizmasına etkileri maddenin keyif vermesine ve kişinin maddeyi tekrar tekrar alması ile bağımlılık gelişmesine neden olmaktadır. Yaşadığı olumsuzluklara rağmen bağımlı kişi, kompulsif bir şekilde bağımlısı olduğu maddeyi almayı sürdürmektedir. [1, 2] Bir madde bağımlılığı türü olan opioid bağımlılığı Amerika Madde Bağımlılığı Derneği tarafından yeterli düzeyde analjezi elde edilmesine rağmen opioid alımı ile ilgili aşırı zihinsel meşguliyet ve opioid kullanımı üzerindeki kontrolün kaybolması olarak tanımlanmaktadır. [3]

Afyon (Opium), Papaver somniferum isimli bir çeşit gelincik bitkisinden üretilmektedir. Afyondan elde edilen morfin, kodein ve tebain gibi doğal ürünler ve heroin gibi birçok yarı sentetik türev opiyatlar olarak ifade edilmektedir. Opioidler kişinin kaygı ve gerginliğini azaltarak veya ortadan kaldırarak bir keyif hali meydana getirmektedir. Devamlı ve uzun süre kullanımı etkilerine tolerans gelişmesine sebep olmaktadır. Güçlü fiziksel bağımlılık oluşturmakta, bu nedenle kötüye kullanılan maddelerin başında gelmektedir.

Bir opioid türü olan morfin ilk çağlardan beri insanlar tarafından güçlü ve etkili bir ağrı kesici olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında duygusal acıyı azaltması nedeniyle öfori, iyi hissetme, rahatlama, sakinleşme gibi hisler arzulandığında yasadışı olarak kullanılmıştır. Tekrarlayan morfin kullanımı merkezi sinir sistemi (MSS)'nin kompleks şekilde hastalanmasına yol açarak bağımlılık gelişimine neden olmaktadır. Bu hastalık genellikle kontrolsüz ve sınırsız şekilde kompulsif olarak ilaç arama ve alma ile karakterizedir. [4] Hastalar sağlığına zarar verdiğini bildikleri halde morfin almaya devam etmektedirler. [5] Hastaların kendi kendilerine zarar vermeleri dışında, morfin bağımlılığının medikal tedavi maliyetleri, suç işleme, AIDS ve hepatitin yayılması gibi sonuçları yüzünden tüm toplum bedel ödemektedir. [6] Epidemiyolojik çalışmalar dünya genelinde 15-64 yaş arası bireylerde opioid kullanımı bozukluğu prevalansının yaklaşık %0,4 oranında olduğunu göstermektedir

[7]. Dünya geneli 2010 yılı tahmini opioid kullanım prevalansı 15-64 yaş arası popülasyonda %0.6-0.8 şeklinde bildirilmiştir (26 milyon ve 37 milyon opioid kullanıcısı). [8]

Opioid (morfin) bağımlılığında, opioid agonist tedavisi opioid tüketiminin azaltılması, psikolojik, psikiyatrik ve somatik sağlığın güçlendirilmesinde etkilidir. [9] Metadon gibi tam ya da kısmi opioid agonistler ve naltrekson gibi antagonistler opioid bağımlılığı tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca Buprenorfin, nalokson ile ya da tek başına kullanılan en yaygın parsiyel agonisttir. [10] Opioid kullanım bozukluğunda esas sorun zorunlu ya da kendi isteği ile oluşan ayıklık sonrası görülen yüksek relaps oranlarıdır. Örneğin bazı çalışmalarda buprenorfin-nalokson idame tedavisine 6 ay devam etme oranları %35-59 arasında değişirken [11-13], hastaların 2 yıl kadar takip edildiği bir çalışmada %38 tedaviye devam etme oranı bildirilmiştir. [14] Bir alfa 2 adrenerjik agonist olan klonidin yoksunlukta görülen otonomik hiperaktiviteyi azalmakta, böylece opiyatların detoksifikasyonunda yarar sağlamaktadır. [15] İlaç yoksunluk sendromu farmakoterapi ve psikoterapi aracılığı ile azaltılabilir olmasına rağmen, nüksün uyardığı ilaç aşermesinde, bu tür yaklaşımların etkileri genellikle çok azdır. [16]

Ventral Tegmental Alan (VTA), Nukleus akumbens (NA) ve Ventral Pallidum (VP)'dan oluşan mezokortikolimbik dopamin ödül devresi madde bağımlılığında kritik bir rol oynamaktadır. [16] NA madde bağımlılığının patogeneğinde merkezi bir role sahiptir ve mezokortikolimbik ödül devresinde önemli bir derin beyin bölgesidir. [17] Arkuat çekirdekten VTA ve NA'ye gelen nöronlar bulunmaktadır. Opiyatlar bu nöronlardan salıverilen nörotransmitter gibi davranmakta ve bu bölgelerden doğal bir endojen opiyat olan enkefalin salınmasına neden olmaktadır. [18, 19] Kodein, morfin ve eroin gibi ekzojen opiyatların mü, delta ve kappa opiyat reseptörlerine, özellikle de mü reseptörlerine agonist etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu reseptörler beynin birçok bölgesinde olmasına rağmen en çok opioidlerin direkt pekiştirici özelliklerini yansıtan bölge olan VTA'da bulunmaktadır. [20] VTA dan NA'ye olan dopaminerjik projeksiyonlar doğal olarak ve madde ile pekişmiş davranışlarda temel rolü oynamaktadır. [21, 22] Kronik uygulamalarda opiyatlar kolaylıkla tolerans ve bağımlılık yapabilmektedir. Kronik opiyat alınması sonucu hızlı bir şekilde opiyat reseptör adaptasyonu meydana gelmektedir.

Morfin bağımlılığının patofizyolojik mekanizmaları üzerine yapılan çalışmaların büyük kısmında, beyin ödül ve motivasyon sistemi ile ilgili NA ön planda olmak üzere

mezokortikolimbik dopamin sisteminin önemi belirtilmektedir. [21] Bu nedenle yukarıda belirtilen tedavi yöntemlerinin dışında bu beyin bölgelerine yönelik uyarım ve ablasyonu da içeren nöromodülatuvar ve/veya cerrahi girişimlerle ilgili çalışmalar son zamanlarda giderek daha fazla dikkat çekmektedir.

NA beyindeki derin lokalizasyonu nedeniyle Transkraniyel Manyetik Stimülasyon (TMS) gibi noninvaziv tekniklerle spesifik olarak uyarılamamaktadır. Bu sebepten NA uyarımı ile ilgili çalışmalarda DBS tekniğinin kullanıldığı gözlenmektedir. Bu çalışmalara yönelik yapılan literatür taramasında ilk defa 2007 yılında tedaviye dirençli panik bozukluklu bir hastanın tedavisi için NA'ine uygulanan DBS'nun, tedavisi amaçlanan panik bozukluğa etkisi olmamış fakat hastada komorbid alkol bağımlılığını remisyona soktuğu bildirilmiştir [23]. Dopaminin pekiştirici etkilerinden dolayı bağımlılık etki mekanizması opioidlere benzeyen nikotin bağımlılığı ile ilgili bir çalışmada başka tedaviye dirençli psikiyatrik hastalığı olan ve komorbid olarak sigara bağımlılığı mevcut olan 9 hastada NA'e DBS uygulamasından sonra hastaların üçünde 24-30 ay süren takiplerde DBS tedavisi altında iken sigara kullanmadıkları görülmüştür. [24] İlginç olarak bir klinik çalışmada streotaktik cerrahiye bağlı gelişen bilateral NA lezyonları opiyat ilaç kullanımına bağlı gelişen bağımlılık belirtilerini hafifletmiştir. [25] Ancak, invaziflik, irreversibilite, yan etkilerin şiddeti ve etik tartışmaların ışığında, ablasyon cerrahisi rutin bir tedavi olarak kabul edilememektedir. Xu ve arkadaşları (2005) bir opiyat madde bağımlısı hastada bilateral NA'in DBS'nda olumlu etkiler olduğunu ve nüksün önemli komplikasyonlar olmadan azaldığını bildirmişlerdir. Hayvan çalışmalarında NA'in DBS ile yüksek frekanslı stimülasyonu, ratlarda morfinin uyardığı KYT skorlarını düşürmede etkili bulunmuştur. [26-29]

DBS cerrahi işlemle beyine elektrot yerleştirilen invaziv bir işlemdir. Cerrahi, stimülasyon, intra ve ekstrakranial elektrotlar ve uyarı devresi ile ilgili olmak üzere risk ve komplikasyonları mevcuttur. Bu komplikasyonlar; cerrahi ile ilgili; perioperatif intrakraniyel hemoraji, inme, postoperatif konfüzyon, lokal ve intrakraniyel enfeksiyonlar ve vazovagal reaksiyonları içerirken, yerleştirilen elektrotlarla ilgili olarak ise elektrotların yer değiştirmesi ve kırılmasıdır. [30] Farklı tanımlarla DBS operasyonu yapılmış 215 hastanın acil servis başvurularına bakıldığı bir çalışmada, hastaların % 23.2'sinin DBS'ye bağlı bir komplikasyon sonucu acil servise başvurduğu, başvuruların % 54.6'sının nörolojik komplikasyonlar, % 27.9'nun elektrotlar ya da cihazla ilgili komplikasyonlar, % 10.5'inin ortopedik / lokal sorunlar ve % 7'sinin medikal problemler nedeniyle olduğu bildirilmiştir. [31] Yapılan cerrahi

işlem, kullanılan cihaz ve malzemeye göre farklılık göstermekle birlikte elektrot başına yıllık komplikasyon oranının % 3.2 ile % 8.4 arasında olduğu belirtilmiştir. [32, 33]

Son yıllarda derin beyin yapılarına odaklanmış ultrason enerjisinin düşük enerji düzeylerinde, nöronal doku hasarına sebep olmadan küçük beyin bölgelerini uyarabildiği veya inhibe edebildiği gösterilmiştir. [34-38] Derin beyin yapılarının spesifik şekilde uyarılmasının tek yöntemi olarak bilinen DBS gibi invaziv bir yöntem olmaması nedeniyle odaklanmış ultrason ile beyin uyarımı konusundaki çalışmalar ilgi uyandırıcı seviyededir.

Düşük yoğunluklu odaklanmış ultrason dalgaları (DYOUD) / Low Intensity Focused Ultrasound Pulsation (LIFUP)'nın nöromodülatuar özelliklerinden faydalanılarak yapılan çalışmalarda son senelerde ciddi bir artış görülmektedir. Bir çalışma, periferik sinirlerde kısa süreli ultrason (US) uyarılarının aksiyon potansiyelinin amplitüd ve hızını aktive ettiğini, uzun süreli uyarıların ise inhibe ettiğini ortaya koymuştur. [39] Tufail ve arkadaşlarının 2010 yılındaki çalışmasında, farelerin motor korteksine DYOUD odaklanarak transkraniyal stimülasyon uygulaması boyunca ekstremitelerinde hareket meydana geldiği gösterilmiştir. Dahası bu çalışmada, DYOUD hipokampusu odaklanarak, CA1 de spike aktivitesinde artış meydana getirilmiştir. İki çalışmada da beyin dokularında hiçbir hasar gözlenmemiştir.

2009 senesinde bulfog kurbağalarının siyatik sinirinde DYOUD aracılı sinir uyarımının 45 dakikaya kadar reversible şekilde iletimi baskılayabildiği gözlenmiştir. [40] Daha sonraki bazı çalışmalarda flaş ışığı stimülasyonuna vizüel korteks yanıtının 11 dakika boyunca geri dönüşümlü şekilde baskılanabildiği ortaya konulmuştur. [34, 41, 42] Sıçanlarda pentilenetetrazol enjeksiyonu sayesinde indüklenen epileptik nöbetler talamik bölgeye odaklanmış düşük enerji yoğunluklu ultrason ile durdurulabilmiştir. [35]

US dalga formu bir enerji çeşidi olup, meydana getirdiği mekanik titreşim sayesinde nöromodülatuar etki meydana getirdiği düşünülmektedir. [43] Heckman ve ark. [44] ile Gavrilov ve ark. [45], kısa pulslar halinde yayılan düşük dansiteli US nöromodülasyonunun belli bir zamanda dokulara enerji depolanmasını azaltabileceğini bu sayede bu yöntemin nöronal transmisyonu değiştirerek mekanik bir etkiyle aksiyon potansiyeline neden olabileceğini öne sürmüşlerdir.

US ile indüklenen nöromodülasyonun, lipid çift tabakasının mekanik stresi sonucu ortaya çıktığı, muhtemel mekanizmalar arasında gösterilmektedir. [36] Birçok voltaj kapılı

iyon kanalı kapılama kinetiği gerilim komponentine cevap vermektedir. [46] Üstelik mekanosensitif kanallar transmembran içerikleri sayesinde çift tabakalı lipid katmandaki lokal yağ asidi değişikliklerine cevap vermektedir. Her yerde mevcut olabilen bu kanallar tipik olarak iyon kanallarında osmotik stres stimulusu meydana getirmektedir ve DYOU dalgaları ile indüklenmiş mekanik stres sayesinde aktive edilebilir. [47] Ayrıca, DYOU dalgalarının eksitator etkisi, depolarizasyon ve eksitator aktivite oluşturabilen voltaj kapılı Na + kanallarının mekanik olarak ve gerilimle aktive olmasıyla modüle edilebilir. +2 değerli kadmium formunun ilave edilmesiyle gerilim tipi Ca kanallarının da [48] DYOU dalgaları ile değiştirilebileceği ispatlanmıştır. [36] Aksiyon potansiyellerinin inhibisyonu da gerilim ile ilgili olabilir. Tüm bu hücrel mekanizmaların genetik düzeyde de olumlu etkilerinin olacağı düşünülebilir.

Yapılan çalışmalar DYOD'un dokularda herhangi bir hasar meydana getirmediğini göstermiştir. [34-37] Üstelik DYOD'un 48 saat boyunca stimülasyonu ile nöronal membranda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. [36] Düşük frekans ve enerjili DYOD (1 W/cm² ve altındaki enerji düzeylerinin yeterli olduğu belirtilmektedir) hasar oluşturabilecek seviyenin oldukça altında bulunmaktadır. Yüksek enerji (280 W/cm²) düzeylerinde dahi herhangi bir hasar meydana gelmemiştir. [49] DYOD'un hayvanlarla yapılan bir çok çalışmada güvenilirliği ve etkinliği ortaya konulmuş olup insanlarda ilk defa 2014 Nature Neuroscience Dergisi'nde yayınlanan "Transcranial focused ultrasound modulates the activity of primary somatosensory cortex in humans" isimli makalede çalışılmıştır. On gönüllü katılımcının yer aldığı çalışmada odaklanmış ultrasonun 2 nokta diskriminasyonuna etkisine bakılmış ve deneklerde somatosensoryal diskriminasyon kabiliyetini artırdığı gösterilmiştir. Odaklanmış ultrasonun insanda duysal olarak indüklenmiş beyin aktivitesini ve kortikal fonksiyonları da modüle edebileceği ortaya konulmuştur. [50]

Sonuç olarak bu çalışmada, NA'in DBS ile uyarılmasının morfin bağımlılığı üzerinde olumlu etkilerinin ortaya konulmasından yola çıkarak invaziv olmayan bir yöntem olan odaklanmış ultrason aracılığı ile yine aynı bölgenin uyarılmasının morfin bağımlılığında, morfinin ödüllendirici etkisini gösteren KYT / CPP sıçan modellerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Nöromodülasyon yöntemleri tedavi bakımından çok büyük yenilikler getirmiştir fakat muhtemel yan etki, ekonomik ve teknik kısıtlılıkları sebebiyle kullanımları spesifik

alanlarla kısıtlı kalmıştır. Bu yöntemlerden biri olan DBS'nun çok iyi bir uzaysal lokalizasyon yeteneği olmasına karşın invaziv bir yöntem olması sebebiyle kullanımı sınırlıdır. Yine TMS yüzeysel ve geniş etkisi sebebiyle derin dokulara ulaşamamakta ve spesifik etki oluşturamamaktadır. Bu sebepten bir nöromodülasyon yönteminin hem derin yapılara etki edebilmesi, hem hedefine spesifik olarak ulaşabilmesi hem de noninvaziv olması beklenen özellikleridir. Mevcut yöntemler arasında bu üç kriteri tam olarak karşılayabilen bir yöntem mevcut değildir. Şimdiye kadar yapılan hayvan çalışmaları odaklanmış ultrasonun hedef nokta dışında herhangi bir zararlı etki meydana getirmeden derin beyin yapılarını spesifik olarak uyarabildiğini ve inhibe edebildiğini ortaya koymaktadır. Uyarabilme ve inhibe edebilme özelliği ile beraber noninvaziv olması sebebiyle bu yöntemin DBS'nin yerini alacak psikiyatrik ve nörolojik hastalıkların nöromodülatuar tedavilerinde ciddi bir adım olacağı düşünülmektedir. Cerrahi ve anestezinin olmaması ile daha özgür ve pratik bir kullanım elde edilecektir. Aynı anda farklı beyin alanlarını etkileyebilme ve aynı zamanda hem inhibisyon hem stimülasyon yapabilme özelliği nedeniyle odaklanmış ultrason, duygudurum bozuklukları, şizofreni ve parkinson gibi psikiyatrik ve nörolojik hastalıkların tedavisinde farklı bir yöntem olmaya adaydır. Çalışmamız psikiyatrik bozukluklar arasında insan hastalığını en iyi yansıttığı düşünülen modellerden biri olan bağımlılık hayvan modeli üzerinden tasarlanmış olup, benzer patofizyolojileri barındırmaları sebebiyle ciddi sosyal bir sorun olan morfin ve diğer opioid bağımlılıklarının tedavisinde de yeni bir alan açacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İlaçların Kötüye Kullanımı ve Madde Bağımlılığı

İlaçların kötüye kullanımı ve madde bağımlılığı günümüzde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bağımlılık yapıcı maddelerin bir kısmı yasal olmayan maddeler sınıfında yer almaktadır. Bir kısmı ise hekimlerin reçete ettiği ve eczanelerde satılan ilaçlardır. Bu ilaçların doktor kontrolü olmadan alınması, tedavi dışı bir amaçla kullanımı kötüye kullanımdır.

Ülkemizde ilaçların bazıları yeşil ve kırmızı reçete kapsamındadır. Bu sayede yeşil ve kırmızı reçete ile bağımlılık yapıcı ilaçlar yazılarak bu ilaçların kullanımı ve satışı kontrol altına alınmıştır. Kırmızı reçeteli ilaçların bağımlılık yapma potansiyeli yeşil reçeteli ilaçlara göre daha fazladır. Lorazepam, klonazeopam, diazem, alprozolam, biperiden, tramadol, ketamin, fenobarbital vb. ilaçlar yeşil reçetelidir. Çalışmamızda kullanılan morfin kırmızı reçeteli bir ilaçtır.

Bağımlılık yapma potansiyeli olan ilaçlar hekim denetiminde başlanır, belirli doz ve süre kullanılırsa bu ilaçların bağımlılık yapma ihtimalleri azdır. Tam tersine bu ilaçlar kontrolsüz, yüksek dozda ve uzun süre kullanılırsa bağımlılık yapar. Bu nedenle bağımlılık yapma potansiyeli olan ilaçlar için yasal düzenlemeler yapılmıştır. Sağlık çalışanları arasında ilaç suistimali dikkat çekici seviyededir. Araştırmalara göre, doktorlar sigara ve yaşa dışı maddeleri (esrar, eroin, kokain vb.) kendi yaş gruplarına göre daha az, benzodiyazepinler, alkol, reçeteyle satılan opiyat türevi ağrı kesicileri daha fazla kullanma eğiliminde oldukları gözlenmiştir. Opiyat ve benzodiyazepin kullanımı olan doktorların çoğu, reçete yazma yetkisine sahip olduklarında bu ilaçları kötüye kullanmışlardır. [51] Sağlık personelleri arasında ilaç kötüye kullanımı ve bağımlılığı kendi sağlıkları ve toplum sağlığı bakımından ciddi bir problemdir.

2.1.1. Tanımlar, kavramlar ve genel bilgiler

Bağımlılık; biyolojik, davranışsal aynı zamanda sosyal boyutları olan bir hastalıktır. Değişik yollarla vücuda alınabilen, beyin fonksiyonlarında değişikliklere neden olan bununla birlikte kötüye kullanım ve bağımlılığa yol açabilen her türlü kimyasal madde bağımlılık yapan madde olarak ifade edilebilir. Alkol ve madde kullanımının stresi azaltma, sosyal ödüllendirme, cinsel tatmin ve performansı arttırma, aidiyet duygusunu güçlendirme gibi çoksayıda nedeni mevcuttur. Mevcut durumlar kolay bir şekilde madde kötüye kullanımına ve

bağımlılığına sebep olabilir. [52] Dahası madde kullanımı; intiharlar, trafik kazaları, istenmeyen gebelik, şiddet, bulaşıcı hastalıklar gibi çok sayıda olumsuz ve tehlikeli sonuçlara sebep olmaktadır. [53]

Kişi tükettiği maddeyi ailevi, mesleki ve başka sosyal mesuliyetlerini yerine getiremeyecek şekilde tekrar eden biçimde kullanıyorsa ve maddenin fiziksel zararlarına rağmen tüketmeye devam ediyorsa madde kullanım bozukluğundan bahsedilir. [54] Madde bağımlılığında, alınan madde devamlı kullanılan dozda arzu edilen etkiyi ortaya çıkarmamakta bu sebep ile madde dozu sürekli yükseltilmekte veya madde uzun zaman kullanılmaktadır. Madde kullanımında alınan ilk doz bir zamandan sonra aynı etkiyi göstermemektedir. Böylece alınan maddenin dozunun artırılması gerekmektedir, bu durumda tolerans gelişmesinden bahsedilir. Bağımlı olunan maddenin tekrar alınma isteği ve ilgi ile kullanımı bireyde psikolojik ve fiziksel bağımlılığa neden olmaktadır. [55, 56]

Fiziksel bağımlılık, santral sinir sistemindeki nöronların mevcut sorumluluklarını yerine getirebilmeleri için, bağımlılık yapan maddeye devamlı olarak gerek duyulması halidir. [55] Psikolojik bağımlılık, bağımlılık oluşturan maddenin meydana getirdiği keyif ve rahatlama hissini yeniden yaşanması ve madde yokluğunda hissedilen olumsuz duyguların giderilmesi için sürekli ve belirli dönemlerde madde kullanım isteğinin olmasıdır. [55] Yoğun bir şekilde ve uzun müddet alınan madde, kullanımı bırakıldığında ya da azaltıldığında, maddenin kan ve dokulardaki seviyesi azalmaya başlar, bunun sonucunda meydana gelen fizyolojik ve bilişsel belirtiler ve bunlarla birliktelik gösteren uyumu bozan davranış değişikliklerine yoksunluk belirtileri denir. Yoksunluk sendromu, maddenin kesilmesi, çekilmesi ya da farmakolojik antagonistinin uygulanması ile oluşan klinik bir durumdur.

Yoksunluk sendromu, maddenin oluşturduğu etkilerin tam tersi niteliğindeki semptom ve yakınmalardan meydana gelir. Bu sebepten, anksiyete giderici sakinleştirici bir madde için kaygı, huzursuzluk; uyuşukluk oluşturan bir madde için hareketlilikte artış; iştahsızlık oluşturan bir madde için iştah artışı yoksunluk sendromu belirtileri olarak değerlendirilir. Yoksunluk sendromunun belirtilerinden kurtulmak üzere kişi madde kullanımını sürdürme davranışına devam eder, bu durum bağımlılık oluşmasında negatif pekiştirici görevi görür.

Yoksunluk belirtileri, bağımlılık oluşturan maddenin ya da onunla çapraz bağımlılık gösteren bir başka maddenin / ilacın alınması ile geriler. Çapraz bağımlılıksa, bir maddenin

başka bir maddeye bağımlılık geliştirmiş kişide meydana gelen yoksunluk belirtilerini düzeltmesi ve o maddeye yönelik var olan fiziksel bağımlılığın devam ettirilmesidir. [57, 58]

İlaçların tedavi haricinde kullanımı ayrıca doktorun gerekli görmediği halde bireyin kendi isteği ile ya da yeterliliği olmayan kişilerin önerisi ile kullanması tıbbi olmayan ilaç kullanımı ya da ilaç suistimali olarak nitelendirilir. Bazı psikotropoların öforik etkileri sebebi ile tıbbi açıdan gerekli olmadığı halde kullanılmasına ilaç suistimali denir.

Ayrıca tıpta ilaç olarak kullanılan maddeler dışında ilaç özelliği bulunmayan psikoaktif maddelerin de suistimal kullanımı mevcuttur. Öforizan psikoaktif maddeler suistimal edildiğinde belirli bir süre sonra madde bağımlılığına neden olabilir. İlaç kötüye kullanımı bağımlılığa neden olurken diğer yandan bağımlılık oluşturan ilaçlar da artık tedavi dışında ilaç alımına neden olmaktadır. Bağımlılık, kullanılan ilacın istenilmeyen etkilerine, fazla dozda alınımına bağlı toksik etkilerine ayrıca alımı kesildiğinde yoksunluk belirtilerinin meydana gelmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte tıbbi ve sosyal alanda sorunlara sebep olmaktadır. [59]

2.1.2. Tarihsel gelişim

Madde kötüye kullanımı ve bağımlılığı insanlık tarihi ile yaşıttır diyebiliriz. Çağımızda dünya ve ülkemizdeki madde kötüye kullanım ve bağımlılığını değerlendirebilmek için kültürlerin nasıl oluştuğunu, nasıl bir süreç içerisinde geliştiğini, değişim ve yayılma özelliklerinin neler olduğunu bilmemiz gerekmektedir. Çeşitli kültürlerde madde kötüye kullanımının meydana gelmesi, gelişmesi ve yaygınlaşmasında bu maddelerin ilkel dinlerde, mitolojiler, efsaneler ve edebi eserlerde bahsedilmesinin önemli etkisi bulunmaktadır. İnsanlık tarihinden zamanımıza kadar aktarılan bu kültürel birikim toplumlarda madde kötüye kullanımına yönelten ortak bir bilinç meydana getirmiştir. [60]

Bağımlılık yapıcı maddelerin büyük kısmı doğal maddelerden üretilmektedir. İlaç sanayisindeki ilerleme ile birlikte sentetik bağımlılık yapıcı maddeler de üretilmiştir. Bununla birlikte psikiyatrik hastalıkların tedavisi için ilaç geliştirme çabaları neticesinde kötüye kullanım riski bulunan ve bağımlılık yapma özelliği olan benzodiyazepinler ve barbitüratlar gibi ilaçlar üretilmiştir. 1960'lı yıllara kadar madde bağımlılığı konusu ciddi bir halk sağlığı olarak değerlendirilmemiştir. Aynı yıllarda ön planda esrar ve afyon ayrıca alkol ve barbitüratların bağımlılık yaptığı, bununla birlikte tıp literatüründe madde kötüye kullanımı

bir çeşit davranış bozukluğu olarak yer almıştır. Ancak madde bağımlılığının sebepleri, tedavisi ve önlenmesi için önemli çalışmalar 1980’li yıllardan sonra artış göstermiştir. Bu durumun en önemli sebeplerinden biri Vietnam Savaşı’ndan Amerika Birleşik Devletleri’ne dönen 200 binden fazla opioid bağımlısı askerdir. Hippi akımını etkisi ile Avrupa devletlerinde toplumsal alanda problemler ortaya çıkmış beraberinde madde bağımlılığı gençlerde giderek artmıştır. Bu durum 1970’li yıllardan itibaren ciddi bir sorun oluşturmuştur. Bu akım madde kötüye kullanımı ve bağımlılığının giyim tarzı, müzik ve sloganların etkisi ile hızlı bir şekilde ciddi bir oluşuma evrilebileceğini göstermesi bakımından önemlidir. Bu günde de madde kötüye kullanımının çeşitli metal ve hard rock müzikle uğraşan grup üyeleri ve hayranları arasında arttığını görebiliriz.

İnsanlık tarihinden bu yana ağrı tıbbi bir yakınma olagelmıştır. Tıbbın ortaya çıkışı ile birlikte ağrı tedavisi ilk uygulanan tedavidir. Ağrıyan bölgeye masaj yapma, bitkisel ilaçlar, aspirin ve diğer analjezikler çeşitli dönemlerde tedavi amacı ile uygulanmış ve günümüzde opioid analjeziklere kadar gelinmiştir. [61]

Taylor ve Washington 1839’da enjektör ile cilt altına morfin uygulanmıştır. Sonrasında Dr. Alexander Wood 1843’te sinirlerin yakınına ayrıca ağrılı bölgelere morfini zerk ederek morfinin ağrı kesici etkisini göstermiştir. 1861-1865 Amerikan İç Savaşı’nda morfin oral ve paranteral yolla sıklıkla uygulanmıştır. Özellikle 2. Dünya Savaşı ve Vietnam Savaşı morfinin en sık kullanıldığı dönemlerdir. Vietnam Savaşı’ndan sonra Amerikan Deniz Piyadeleri’nin %20’sinde bağımlılık tespit edilmiş, oluşan bu morfin bağımlılığı “asker hastalığı” olarak adlandırılmıştır. Morfinin bağımlılık oluşturan etkileri üzerinde 1870’li yıllardan itibaren durulmuştur. [62] 18. Ve 19. yy’da Avrupa’da bazı edebiyatçıların morfin ve benzer opioidleri öforik etkileri ve yaratıcılığı artırdıkları düşüncesi ile kullandıkları bilinmektedir. [63] O dönem ilk defa Dr. John Jones afyon yoksunluk sendromundan bahsetmiş, toplumu bu durumla ilgili uyarmıştır. [64]

İngiliz Eczacı C.R. Wright 1874 senesinde “diasetil morfin”i sentezleyerek morfin yerine kullanılabilirliğini ve morfinin bağımlılık oluşturmeyen bir çeşidi olduğunu söylemiştir. Eczacı Heinrich Dreser diasetil morfini hayvanlar, insanlar ve kendi üzerinde denemiş, ilacın ağrı kesici “heroic” (kahramanca) etkisi nedeni ile bu ilaca “eroine” demiştir. 1898 senesinde Bayer Labrotuvarları bu ilacı antitusif ve analjezik olarak piyasaya

sürmüştür. Bayer 1913 senesinde bağımlılık yaptığı için ilacın üretimini sonlandırmış, başka değerli ilaçları olan aspirine ağırlık vermişlerdir.

2.1.3. Bağımlılık türleri

Eczacılar Birliği'nin Bern şehrindeki 21 Mayıs 1969 tarihli raporunda istismar edildiği tesbit edilen maddeler açıklanmıştır.

A. Tıbbi Maddeler

Afyon (kimyevi şekli) morfin, eroin

(kimyevi şekli) kodein, dicodid

(kimyevi şekli) thebain, eukodal

Kannabis (hint keneviri) (kimyevi şekli) marihuana, esrar

Koka yaprağı (kimyevi şekli) kokain

B. Sentetik Maddeler

Metadon (kimyevi şekli) polamidin, petalgin

Petidin (kimyevi şekli) dolantin

Dekstromoramid (kimyevi şekli) palifum

Ketobemidon (kimyevi şekli) cliradon

C. İlaçlar

1. Grup: Doğrudan etki eden ilaçlar Psilocybin, STP (Dimetoksimetamfetamin), meskalin, LSD (Lizerjik asit dietilamid), DMT(Dimetiltriptamin).

2. Grup: Dexerdin, Benzidrin, Uyanık tutucu Pervitin, Ritalin, Preludin.

3. Grup: Phanoderm, Medomin, Doriden, Luminal, Verenal, Evipan, Persedan, Revanol, Noludar.

4. Grup: Aneural, Bromular, Adalin.

D. Anestezik Maddeler

E. Saliylate Dipyrin, Pyrazolone Antipirin, Fenetidin Fenasetin.

Dünya Sağlık Örgütü'nün madde bağımlılığı üzerine sınıflandırması:

Opiyat tipi bağımlılık: Morfin, eroin, kodein ve metadon maddeleri ile oluşan bağımlılık türüdür. Morfin ve kodein doğal, eroin yarı sentetik, metadon sentetik opiyattır. Bu maddelerin kullanımları ile hızlı şekilde bağımlılık gelişir.

Esrar tipi bağımlılık: Haşhaş ve marihuana maddeleri oluşan bağımlılık türüdür.

Alkol, benzodiyazepin, barbitürat tipi bağımlılık: Alkol bağımlılığı birey ve toplum açısından ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturur.

Kokain tipi bağımlılık: Güney Amerika'da bulunan koka bitkisinin yapraklarından üretilir. MSS'nde dopaminerjik etkiyi artırmak sureti ile yüksek seviyede öfori meydana getirir.

Halüsinojen tipi bağımlılık: Başta LSD maddesi gelmektedir. Algılamada değişikliklere ve halüsinasyonlara neden olur.

Uyarıcı tipi bağımlılık: Psikostimülan ilaçlar (metilamfetamin, metilfenidat) sonucu meydana gelen bağımlılıktır.

Tütün tipi bağımlılık: Ciddi seviyedeki morbidite ve mortalite oranları nedeni ile ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunudur.

Uçucu solvent tipi bağımlılık: Genel anestezikler (eter ve kloroform gibi), benzin, benzol, yapıştırıcıların içinde bulunan toluen ve tiner (% 90 oranında toluen içermektedir) uçucu solventlerdir. Kötüye kullanılan başlıca maddelerdir. Kolay ulaşılabilirliği sebebi ile küçük yaşlarda bağımlılık oluşturabilir.

Mental Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı – V (DSM-5)'e göre

“Madde ile İlişkili Bozukluklar ve Bağımlılık Bozuklukları” bölümünde “Opiyatla İlişkili Bozukluklar” başlığı altında “Opiyat Kullanım Bozukluğu” ve “Opiyat Yoksunluğu” tanı kriterleri verilmiştir;

Opiyat kullanım bozukluğu

A. On iki aylık bir süre içinde, aşağıdakilerden en az ikisi ile kendini gösteren, klinik açıdan belirgin bir sıkıntıya ya da işlevsellikte düşmeye yol açan, sorunlu bir opiyat kullanım örüntüsü:

1. Opiyatlar, çoğu kez, istendiğinden daha büyük ölçüde ya da daha uzun süreli olarak alınır.
2. Opiyat kullanmayı bırakmak ya da denetim altında tutmak için sürekli bir istek ya da bir sonuç vermeyen çabalar vardır.
3. Opiyat elde etmek, opiyat kullanmak ya da yarattığı etkilerden kurtulmak için gerekli etkinliklere çok zaman ayrılır.
4. Opiyat kullanmaya içinin gitmesi ya da opiyat kullanmak için çok büyük bir istek duyma ya da kendini zorlanmış hissetme.
5. İşte, okulda ya da evdeki konumunun gereği olan başlıca yükümlülüklerini yerine getirememeye ile sonuçlanan, yineleyici opiyat kullanımı.
6. Opiyatın etkilerinin neden olduğu ya da alevlendirdiği, sürekli ya da yineleyici toplumsal ya da kişilerarası sorunlar olmasına karşın opiyat kullanımını sürdürme.
7. Opiyat kullanımından ötürü önemli birtakım toplumsal, işle ilgili etkinliklerin ya da eğlenme-dinlenme etkinliklerinin bırakılması ya da azaltılması.
8. Yineleyici bir biçimde, tehlikeli olabilecek durumlarda opiyat kullanma.
9. Büyük bir olasılıkla opiyatın neden olduğu ya da alevlendirdiği, sürekli ya da yineleyici bedensel ya da ruhsal bir sorunu olduğu bilgisine karşın opiyat kullanımını sürdürülür.
10. Aşağıdakilerden biriyle tanımlandığı üzere, dayanıklılık (tolerans) gelişmiş olması:
 - a. Entoksikasyonu ya da istenen etkiyi sağlamak için belirgin olarak artan ölçülerde opiyat kullanma gereksinimi.
 - b. Aynı ölçüde opiyat kullanımının sürdürülmesine karşın belirgin olarak daha az etki

sağlanması.

Not: Yalnızca uygun tıbbi bakım altındayken opiyatları alanlarda bu tanı ölçütü karşılanmış olarak düşünülmez.

11. Aşağıdakilerden biriyle tanımlandığı üzere, yoksunluk gelişmiş olması:

a. Opiyata özgü yoksunluk sendromu (opiyat yoksunluğu için A ve B tanı ölçütlerine başvurun, s. 265-266).

b. Yoksunluk belirtilerinden kurtulmak ya da kaçınmak için opiyat (ya da yakından ilişkili bir madde) alınır.

Not: Yalnızca uygun tıbbi bakım altındayken opiyatları alan kişilerde bu tanı ölçütü karşılanmış olarak düşünülmez.

Opiyat yoksunluğu

A. Aşağıdakilerden birinin varlığı:

1. Aşırı ölçüde ve uzun süreli (birkaç hafta ya da daha uzun bir süre) opiyat kullanımının bırakılması (ya da azaltılması).

2. Belirli bir süre opiyat kullanımından sonra bir opiyat antagonistinin uygulanması.

B. A tanı ölçütünde tanımlanan opiyat kullanımının bırakılmasından (ya da azaltılmasından) sonra dakikalar ya da birkaç gün içinde, aşağıdaki üç (ya da daha çok) belirti ya da bulgunun gelişmesi:

1. Disfori duygudurumu.

2. Bulantı ve kusma.

3. Kas sızıları.

4. Göz yaşı akması ya da burun akıntısı.

5. Gözbebeklerinde büyüme, piloereksiyon (tüylerin dikleşmesi) ya da terleme.

6. İshal.

7. Esneme.

8. Ateş.

9. Uykusuzluk.

C. B tanı ölçütündeki belirtiler ve bulgular klinik açıdan belirgin bir sıkıntıya ya da toplumsal, işle ilgili alanlarda ya da önemli diğer işlevsellik alanlarında işlevsellikte düşmeye neden olur.

D. Bu belirtiler ve bulgular başka bir sağlık durumuna bağlanamaz ve başka bir madde entoksikasyonu ya da yoksunluğu da içinde olmak üzere, başka bir ruhsal bozuklukla daha iyi açıklanamaz.

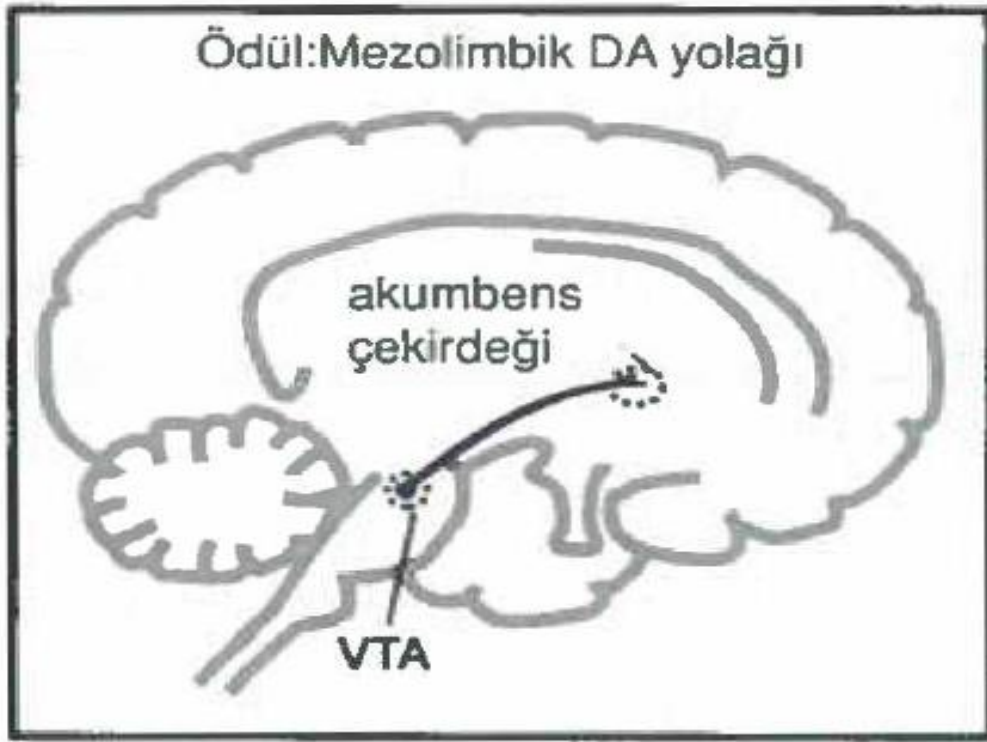
2.2. Morfin Bağımlılığı

Opioidler; doğal opioid morfin ve kodein, yarı sentetik opioid eroin, sentetik opioid metadon olarak sınıflandırılabilir. Eroin haricindekiler hekim kontrolünde, tıbbi amaçlı ve kısıtlı şekilde kullanılabilir. Ağrı kesici etkileri güçlüdür. Beyinde endojen morfin olarak bilinen endorfin isimli nörotransmitterler beyindeki opiyat reseptörlerini aktive ederler. Benzer şekilde opioidler de opiyat reseptörlerine etki ederler. Öforizan ve analjezik etkileri kötüye kullanımlarına sebep olur. Opiyatlar tedavi için uygun miktarda kullanıldıkları takdirde bağımlılık oluşturma riski düşükken, doktor kontrolü olmadanyüksek miktarda veya illegal üretilen tipleri kullanıldığı zaman yüksek bağımlılık riski vardır. Güçlü psikolojik bağımlılık yapabilir ve erken fiziksel bağımlılık meydana gelir. Opioid bağımlılığında ilaç kesildikten 8 saat sonra kişide yoksunluk belirtileri başlamaktadır. Eroin bağımlılığı ülkemizde gittikçe büyüyen bir problemdir. Morfin operasyon sonrası ağrılarda, kansere bağlı ağrılarda kullanılmaktadır.

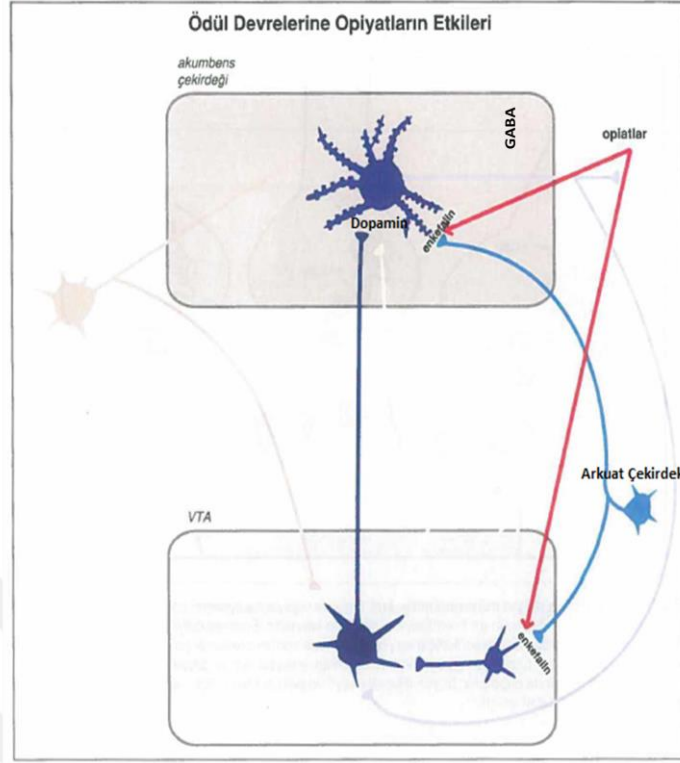
2.3. Madde Bağımlılığının Nörobiyolojisi

Bilim adamları 1900'lerde kafa içerisine yerleştirilen elektrotların oluşturduğu elektriksel uyarıya karşı yanıtları gözlemişler, beyinde bazı alanlarının bu uyarılara karşı olumlu cevap verdiklerini tespit etmişlerdir. Deney hayvanları pedala bastıklarında elektriksel uyarı elde etmişler ve bir süre sonra elektriksel uyarı için pedala basma davranışını öğrenmişlerdir. Hayvanın pedala basma davranışını öğrenmesini sağlayan uyarılan bu bölge ödül merkezi olarak isimlendirilmiştir. Bağımlılık oluşturan maddeler bu ödül merkezi

mezokortikolimbik sistemi farklı reseptör mekanizmaları üzerinden aktive etmekte ve dopamin salınmasını sağlamaktadır. Böylece ödüllendirici etki oluşmaktadır. [65] Opiyat, alkol, nikotin, kokain amfetamin gibi bağımlılık yapıcı maddeler mezolimbik sisteminde bulunan NA'te dopamin salınımında artışa neden olmaktadır. Bu maddeler alınmadığı takdirde NA'te dopamin azalmakta ve yoksunluk sendromu oluşmaktadır. Dopamin nörotransmitteri ödüllendirilme, öfori, haz duyguları ve lokomotor etkinliğin meydana gelmesini sağlamakta ve düzenlemektedir. Mezolimbik sistemde bulunan VTA'da dopaminerjik nöronların gövdesi bulunmaktadır, dopaminerjik nöronların aksonları ise NA'e uzanmaktadır. Bu dopaminerjik yolların bütün bağımlılık türlerinde temel yolak olduğu ileri sürülmektedir.



Şekil 1: Mezolimbik dopamin yolağı (Stahl'ın Temel Psikofarmakolojisi Nörobilimsel ve Pratik Uygulamalar Kitabından alınmıştır, 3. Baskı.)



Şekil 2: Mezolimbik ödül sistemi (Stahl'ın Temel Psikofarmakolojisi Nörobilimsel ve Pratik Uygulamalar Kitabından alınmıştır, 3. Baskı.)

2.4. Deney Hayvanlarında Bağımlılık Oluşturma Modellerinde Pekiştirici ve Ödüllendirici Etki Değerlendirilmesi

Alınan madde haz oluşumu ya da keyif artışına sebep oluyor ve bu sayede o maddenin tekrarlayan şekilde kullanılmasına veya o madde olmadan kalamama davranışını teşvik ediyor veya pekiştiriyor ise bu madde pozitif pekiştiricidir. Ayrıca bağımlı kişi bağımlılık gelişen maddeyi alamadığı zaman keyifsizlik oluşur kişi bu olumsuz (negatif) durumdan kurtulmak için maddeyi kullanmayı sürdürür, bu olumsuz duruma negatif pekiştirici denir. Bağımlılık yapıcı maddelerin en temel ortak özellikleri pekiştirici olmalarıdır. Bununla ilgili çalışmalar ödüllendirici ve pekiştirici etkilerden mezokortikolimbik yolağın ve dopamin nörotransmitterinin sorumlu olduğu göstermektedir. [66-71] Bir maddenin pozitif pekiştirici etkisi olduğunun deney hayvanları üzerinde gösterilmesi o maddenin bağımlılık oluşturma gücü hakkında bilgi verecektir.

2.4.1. Madde bağımlılığı oluşturulmasında deneysel modeller

Madde bağımlılığı üzerine yürütülen araştırmalarda deney hayvanında gözlenen madde arama davranışı ve yoksunluk belirtilerinden yola çıkılarak çeşitli deneysel hayvan modelleri meydana getirilmiştir. Bu modeller madde bağımlılığının daha iyi anlaşılması, maddenin etkisinin araştırılması, etki mekanizmasının anlaşılması ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine imkan vermektedir. Bu çalışmalarda, bir maddenin bağımlılık oluşturma potansiyelini araştırmak üzere; ilgili beyin alanlarından morfolojik ve histolojik değerlendirmeler ve nörotransmitter tespiti yapılabilir. Ayrıca pozitif pekiştirmenin saptanması, kullanılan madde miktarının hesaplanması, yoksunluk semptomlarının, diskriminatif etkinin değerlendirilmesi, mevcut maddenin uyuşturucu ya da uyarıcı (psikostimülan) özelliklerinin tespiti yapılabilir.

Davranışsal duyarlılaştırma testi, kafa içine kendi uyarma testi (ICSS-Intracranial Self Stimulation), kendine verme testi ve KYT testi bağımlılık araştırmalarında kullanılan deneysel modellerdir.

1954 senesinde Olds ve Milner tesadüfen bazı beyin alanlarının elektrikle uyarılmasının pozitif pekiştireç olarak etki oluşturduğunu fark etmişlerdir. [72] Bu araştırmalarda hayvanların keyif verici etkisi nedeni ile intrakraniyal kendini uyarma yoluyla elektriksel olarak beyin uyarısını almak için sürekli pedala basma davranışını öğrendikleri gözlenmiştir. Aynı zamanda bağımlılık yapıcı maddelerin verilmesi ICSS eşliğini aşağı çekmektedir. Bu yöntem sayesinde bir maddenin bağımlılık oluşturma potansiyeli araştırılmaktadır.

Diğer bir model olan davranışsal duyarlılaşma modelinde tekrarlanan uygulamalar neticesinde maddenin motor uyarıcı etkisinde artış tespit edilmesidir. Maddeye yönelik istek bağımlılık ilişkili nüks görülmesi durumlarını gözlemek amacı ile oluşturulmaktadır. [73]

Madde bağımlılığı araştırmalarında en fazla kullanılan deneysel modellerden biri kendine verme testidir. Kendine verme testi modelinde deney hayvanının bağımlılık yapıcı maddeyi kendine vermesini sağlayan bir düzenek oluşturulmaktadır. Tüketilen madde miktarı hesaplanır böylece maddenin pekiştirici özelliği bulunup bulunmadığı ayrıca bağımlılık oluşturma gücü yorumlanmaktadır.

2.4.2. Koşullanmış yer tercihi testi

KYT bağımlılık oluşturan maddelerin pekiştirici özelliklerini değerlendirmede aynı zamanda kötüye kullanımına yönelik taramada geçerli bir model olarak kabul edilmektedir. [74] KYT testi, ödül ve belirli beyin alanları arasındaki işbirliğini sağlayan bir çeşit öğrenme yöntemidir, [75] temeli Pavlov'un klasik koşullamasına dayanmaktadır. KYT testi ile deney hayvanlarının morfin, etanol, enkefalin, amfetamin ve benzeri ilaç ve maddelerin verildiği yerde, serum fizyolojik verilen yere göre daha fazla zaman harcadığı tespit edilmiştir. [76] Ayrıca KYT testi aç ratlarda yemeğin ödüllendirici etkisini göstermek amacı ile de kullanılmıştır. [77]

KYT deney düzeneği genel olarak aralarında sürgülü (giyotinli) kaldırılabilir bir kapı ile birbirinden ayrılan kare ya da dikdörtgen şeklinde eşit ölçülerde pleksiglastan yapılmış 2 kutudan oluşmaktadır. Aynı boyutlardaki bu iki odada hayvanların ayırt edebilecekleri farklı görsel, temas ve koku gibi ipuçlar (uyaranlar) mevcuttur.



Şekil 3: Koşullanmış yer tercihi testi deney modeli

KYT'nde taraflı ve tarafsız olmak üzere iki farklı deney yöntemi vardır. Taraflı deney yönteminde öncelikle hayvanlar kutuyu serbest bir şekilde inceler, her bölümde geçirdiği zaman ölçülür, az süre bulunduğu yerde ilaca daha fazla süre bulunduğu yerde serum fizyolojiğe kapı kapatılmak sureti ile koşullandırılır. Tarafsız deney yönteminde araştırmacı hayvanlara ilaç ve serum fizyolojigi uygular koşullayacağı yeri kendisi belirler.

Bu prosedürün uygulanabilmesi için iki yerde de eşit zaman bulunmuş yani bölüm tercihi yapmamış hayvanların olması gerekmektedir. [78]

KYT testi 3 aşamadan oluşmaktadır. Ön test, koşullama, koşullama sonrası veya tercih testi aşamalarıdır.

Ön test aşaması: Hayvanların taraflı olup olmadıkları değerlendirilir. Bu çalışmada her hayvanın diğer eşit odalar arasındaki sürgülü kapak açık vaziyette iken 900 saniye boyunca hangi odada ne kadar süre bulunduğu ölçülmüştür.

Koşullama aşaması: Çalışma prosedürüne göre hayvana ilaç/madde ve serum fizyolojik verilir, hemen sonrasında sürgülü kapı kapalı vaziyette bölümlerden birinde hayvan koşullandırılır.

Tercih testi aşaması: Giyotinli kapı açık vaziyette hayvanların odalarda serbest hareket etmesi sağlanır hangi bölmelerde bulunduğu süre ölçülür.

KYT yönteminin basit, ekonomik ve yaklaşık 2 hafta gibi kısa zamanda uygulanabilmesi gibi avantajları mevcuttur. Genellikle rat ve farelere uygulanmakla birlikte, kuş ve diğer kemirgenlerde de kullanılabilir. [79]

2.5. Deney Hayvanlarında Morfin Bağımlılığı ve Yoksunluğu Oluşturulması

2.5.1. Bağımlılık oluşturma yöntemleri

Morfin bağımlılığı üzerine geliştirilen hayvan modelleri, klinik deneyimlerle ilgili veri sağlanması, yoksunluğun yeni tedavi denemelerinin ayrıca yoksunluğun biyolojik mekanizmalarının araştırılması bakımından önem arz etmektedir. Opioidler üzerine yapılan çalışmalarda opioidlerin fiziksel bağımlılığının değerlendirmesinde başarılı yöntemler oluşturulmuştur. [80] Fare ve ratlarda morfine karşı fiziksel bağımlılık oluşturmak için; yeme [81] veya içme suyuna [82] morfin konulmuş ya da cilt altına morfin peleti [83] veya mini osmotik pompa [84] konulmuş, devamlı morfin infüzyonu uygulanması yapılmış [85], yavaş salınımlı morfin emülsiyonlarının cilt altına uygulanmış [86], yineleyen cilt altı [86], periton içine [87, 88] morfin enjeksiyonları yapılmıştır. İnjektion uygulamalarında bağımlılık oluşturma protokolları çeşitlilik arz etmektedir. Morfin enjeksiyonları; kısa süreli [89, 90], sabit dozda [91] ya da kademli olarak artan dozda [89, 90] uzun süre, düşük ya da çok yüksek dozda günde bir defa ya da daha çok olmak üzere farklı şekillerde uygulanabilmektedir.

Uygulama dozu, sıklığı ve süresi bağımlılığın derece ve şiddetini etkilemektedir. Uygulama sıklığı bunlar arasındaki en önemli faktör olduğu bilinmektedir. [92]

2.5.2. Yoksunluk oluşturma yöntemleri ve yoksunluk belirtilerinin değerlendirilmesi

Opioid yoksunluğu, maddenin uzun süre baskıda tuttuğu sistemlerde geriye tepme tarzında aşırılık gelişmesi sonucu oluşan belirtilerdir. [93] Yoksunluğun şiddeti fiziksel bağımlılığın derecesi yoksunluk şiddeti arasında direk bir ilişki bulunmamaktadır. Opioid verilen deney hayvanlarında, madde/ilaç aniden kesildiğinde yada çekildiğinde [94] ya da nalokson [95] veya naltrekson [96] gibi opioid antagonistleri verildiğinde yoksunluk belirtileri ortaya çıkmaktadır. Madde/ilaç'ın sonlandırılması sonucu gelişen yoksunluk belirtileri, opioid antagonistleri tarafından oluşturulan yoksunluk belirtilerinden daha hafiftir. Yoksunluk durumunda fare veya rat, tipik şekilde yaygın huzursuzluğun bulunduğu motor aktivite artış, ıslak köpek silkinmesi olarak adlandırılan vücutta titremeler, sıçrama, uçma, diş gıcırdatma, aşırı dışkı oluşumu, ishal, kiloda azalma, burun akıntısı, gözyaşı, pitozis, işeme (miksiyon), tremor, ereksiyon, ejakülasyon, donma, uzanma, anormal duruş (postür), ses çıkarma (vokalizasyon), şahlanma ve süslenme (grooming) tarzında farklı motor ve otonom semptomlar gösterir. Yapılan çalışmalar, belirtilerin çoğu ya da ana belirti olarak nitelendirilen birkaç belirti ya da tek bir belirti ile yoksunluğu değerlendirilmektedir [95, 97] Bazı belirtiler algoritmalar aracılığı ile bir araya getirilmek üzere, mesela Gellert Holtzman skoru ile değerlendirilebilmektedir. [82]

2.6. Morfin

Papaver somniferum isimli bir çeşit gelincik bitkisinin olgunlaşmamış kapsüllerinin (poppy) çizilmesi ile açığa çıkan sıvının güneşte kurutulmuş haline opium denir. Opiumun en az 5000 yıldır kullanıldığı bilinmektedir. [98] Haşhaş Anadolu, Doğu Asya ve Mezopotamya'da antitusif, analjezik ayrıca keyif verici amaçla kullanılmıştır. Morfin sözcüğü Yunan Mitolojisi'nde uyku tanrısı olarak bilinen Morpheus adından türemiştir. 1805 senesinde Frederic Serturmer adında bir eczacı morfini afyondan ayırtmıştır. İlk başta afyon bağımlılığı sağaltımı amacı ile kullanılmıştır. [99] 1800'li yılların sonuna doğru kötüye kullanımı başlamıştır. Aynı dönemde Amerikan iç savaşı esnasında yaralıların tedavisi için kullanılmış, yaklaşık 4 milyon askerde morfin bağımlılığı gelişmiştir. Bunun üzerine 1914'de

yasal bir düzenleme ile Amerika'da morfinin yalnızca hekim kontrolünde kullanılabileceği belirtilmiş, diğer kullanımlar yasaklanmıştır.

Afyonun uyuşturucu özelliği içinde bulunan alkaloidlerden kaynaklanmaktadır. Kimyasal özelliklerine göre afyon alkaloidleri iki sınıfa ayrılmıştır:

1. Fenantran grubu: morfin, tebain, kodein
2. İzokinolon grubu: narsein, narkotin, papaverin.

Afyon ile ilgili tüm bileşiklere opioid denir, afyondan elde edilen morfin, kodein ve tebain gibi doğal ürünler ve eroin gibi birçok yarı sentetik türev opiyatlar olarak ifade edilir.

Opioidler MSS ve periferde opioid reseptörleri üzerinden etki ederler. Mü (μ), kappa (κ) ve delta (Δ) olmak üzere temelde üç tip reseptörü bulunmaktadır. Sigma (σ) artık opioid reseptörü olarak kabul edilmemektedir.

Morfin analjezi, öfori, sedasyon, öksürük kesici, solunum depresyonu, hipotermi ve ve bulantı kusma yapıcı santral etkileri bulunmaktadır. Gastrointestinal, boşaltım sistemi ve kardiyovasküler sistemler üzerinde ayrıca safra kanalı, uterus ve histamin salınımı ile ilişkili periferik etkileri bulunmaktadır.

Morfinin etkisine çabuk tolerans gelişmekte ve yoksunluk belirtileri oluşmaktadır. Toleransın adenilat siklazın adaptif up-regülasyonu sonucu geliştiği düşünülmektedir. Metadon zayıf, uzun etkili mü (μ) reseptör agonistidir. Kodein, buprenorfin, pentazosin başlıca opioid analjeziklerdir, morfine göre bağımlılık yapıcı etkinlikleri azdır.

3. NÖROMODÜLASYON

Nöromodülasyon, Uluslararası Nöromodülasyon Derneği tarafından sinir fonksiyonunu normalize ve modüle etmek için gerçekleştirilen “vücudun hedef alanlarına elektriksel stimülasyon veya kimyasal maddelerin verilmesi yoluyla sinir aktivitesinin değiştirilmesi” olarak tanımlanmaktadır.

Nöromodülasyon güçlü bir magnetik alan (tekrarlayan transkraniyal magnetik stimülasyon) ve çok küçük bir elektrik akımı gibi bir dizi elektromagnetik stimulusları veya subdural alana doğrudan bir ilacın aşılmasını (intratekal ilaç verilmesi) içeren gelişmekte olan bir tedavi yöntemidir. Çoğu klinik deneyim elektrik stimülasyonu ile olmuştur.

Elektrik stimülasyonu, implante edilebilir cihazlar kullanılarak 1980’lerde modern kullanıma girmiştir. Elektrik stimülasyon teknikleri ve uygulamaları devamlı geliştirilmektedir. [100] Bu teknik, transmitter salınımı ile nöronları etkileyebilen ve nöronal devrelerin eksitabilitesini ve ateşlenmesini modüle edebilen sinir hücresi aktivitesini stimüle ederek vücudun doğal biyolojik yanıtlarını kullanmaktadır.

Nöromodülasyon hastalıkların tedavisinde sinir sisteminin aktivitesini artıran veya baskılayan bir tıbbi cihaz teknolojisidir. Nöromodülasyon teknolojisi hem implante edilebilen hem de implante edilemeyen cihazları içermektedir. Bu cihazlar elektriksel, kimyasal, mekanik, optik, manyetik veya diğer girişimsel maddeler yoluyla reversibl olarak sinir sisteminin işlevselliğini module edebilmektedir. [101]

Nöromodülasyon santral, periferel veya otonom sinir sistemlerinin elektriksel ve kimyasal doğasının modülasyonuna dayanmaktadır. Bunu da nöronal işlevlerin ve performansın inhibisyonu, stimülasyonu, düzenlenmesi ve değişimi aracılığıyla yapmaktadır. Sinir sistemi işlevi ile bağlantılı bozukluklarla başa çıkmak için terapötik uygulama olarak kullanılmaktadır. Nöromodülasyon ilk olarak elektriksel stimülasyona yanıt olarak konjuge göz hareketlerini gösteren Sir Victor Hosley tarafından 1884’te oksipital ensefakoselin intra operatif kortikal stimülasyonu sebebi ile geliştirilmiştir. [101]

Aşağıda bazı nöromodülasyon yöntemlerinden bahsedilmiştir.

3.1. Vagal Stimülasyon

Vagus sinir veya vagal sinir stimülasyonu (VSS) vagus sinirine elektriksel uyarılar verilmesini içeren bir tıbbi tedavi yöntemidir. Kronik VSS ilaca dirençli epilepsi ve depresyon için etkili ve güvenli bir tedavi olarak kabul edilmektedir. [102-104] VSS genellikle boyun seviyesinde sol vagus sinirinin kronik aralıklı stimülasyonundan oluşmaktadır. Sistem subkutanöz jenaratör tarafından çalıştırılmakta ve implante elektrotlar tarafından uyarı verilmektedir. VSS'nun santral etkilerinin altında yatan mekanizmalar hala tam olarak anlaşılammıştır.

Vagal sinir son (uç) organlardan ortaya çıkan beyne ulaşan major bir duyuşal visseral bilgi yoludur ve nucleus tractus solitariusa projeksiyon yapar ayrıca beyin sapında dorsal rafe nukleusa, parabrakiyal nukleusa ve locus sereleusa yanı sıra amigdala, hipotalamus, talamus ve kortekse projeksiyonlar gönderir. [105, 106] VSS limbik sistem, prefrontal korteks, talamus ve serebellum içeren bir dizi beyin bölgesinde aktivite değişikliklerine neden olabilmektedir. [107-109] Ratlarda kronik VSS prefrontal korteks ve hipokampuste ekstraselüler norepinefrin düzeylerini artırmaktadır, ayrıca predrontal korteks ve NA'te ekstraselüler dopamin seviyelerini de artırmaktadır. [110, 111]

Amerikan nörolog Corning (1855-1923), epileptik nöbetlerin venöz hiperemi nedeni ile olduğuna ve carotid artere manuel bası yapılarak kalp hızını azaltma ve kardiyak debiyi düşürme sureti ile nöbetleri baskılayarak düzeltebileceğine inanıyordu. [112] Corning VSS'nun nöbeti bastırmada dramatik olarak etkili olduğunu bildirdi, bu durum çağdaşları tarafından yaygın bir şekilde kabul edilmedi ve yaklaşık bir yüzyıl büyük ölçüde unutuldu. [113] 1938'de, Bailey ve Bremer, Corning'in VSS'nun indirekt fizyolojik etkileri varsayımı yerine VSS'nun santral sinir sistemi işlevi üzerine direkt etki potansiyelini fark etmişlerdir. Maclean ve ark. [113] 1949 yılında, anestezi altındaki primatlara VSS uygulamış ve VSS'nun lateral frontal kortekste üretilen yavaş dalgaları uyardığını bildirmiştir. 1951 yılında, Dell ve ark. kesilmiş vagus sinirinin elektriksel stimülasyonunun, uyanık kedide talamusun ventro posterior kompleks ve intralaminar alanlarda uyarılmış yanıtlarının olduğunu bildirmişlerdir. [114] 1985 yılında Zabara VSS'nun epilepsi kontrolünde klinik bir potansiyele sahip olduğunu gerekçelendirmiştir. [115] İlk defa 1988'de ilaca dirençli epilepsinin tedavisinde kronik VSS için bir insana bir VSS cihazının implante edildiği bildirilmiştir. [116]

VSS nöro-endokrin-immün ekseninde, duygudurum, ağrı ve bellek düzenlenmesinde Vagal sinir sisteminin rolünü göstermek için kullanılmıştır. Vagus sinir stimülasyonu (VSS) ilaca dirençli epilepsi (1997) [117] ve depresyon (2005) [118] tedavisi için onaylanmıştır.

Vagal sinir bir çok farklı işlevler ve beyin alanları ile ilişkili olduğundan, çeşitli migren [119], fibromiyalji, obezite [120], tinnitus, yetişkin popülasyonda duygudurum bozuklukları[121], anksiyete bozuklukları, alzheimer hastalığı, ciddi psikotik hastalıklar [122], alkol bağımlılığı [123] ve eroin arama davranışı [124] dahil olmak üzere diğer hastalıkların tedavinde VSS'nun yararlılığını belirlemek üzere araştırmalar yapılmaktadır.

3.2. Transkranial Manyetik Stimülasyon

Transkranial manyetik stimülasyon (TMS) beyin küçük bölgelerini uyarmak için kullanılan noninvaziv bir yöntemdir. TMS işlemi sırasında, bir manyetik alan jeneratörü, ya da "bobin", tedavi gören kişinin başının yakınında yerleştirilmektedir. [125] Bobin elektromanyetik indüksiyon yoluyla sadece bobinin altındaki beyin bölgesinde küçük elektrik akımları üretir. Bobin, kendine elektrik akımı sağlayan bir sinyal jeneratörüne veya stimülatörüne bağlanmıştır.

Magnetik akımın oluşturduğu elektriksel alan nöronda depolarizasyon veya hiperpolarizasyona ve bir aksiyon potansiyelinin ateşlenmesine yol açar, böylece nöronda transmembran akımında bir değişikliğe neden olur. TMS elektromanyetik elektrik enerjisini manyetik enerjiye dönüştüren ve tam tersini yapabilen bir yöntem olup, indüksiyon yasasına dayanmaktadır.

Tarihsel açıdan bakıldığında, elektrik enerjisi ve manyetik alan arasındaki karşılıklı ilişki olduğunu savunan ilk defa 1831 yılında Faraday olmuştur. [126] Bir manyetik alan kullanarak beyin stimülasyonunda ilk girişimler 1896'da Jacques-Arsène d'Arsonval tarafından Paris'te ve 1910'da Silvanus P. Thompson tarafından Londra'da yapılmıştır. [127] İlk başarılı TMS çalışması Sheffield, İngiltere'de Kraliyet Hallamshire Hastanesi'nde Anthony Barker ve arkadaşları tarafından 1985 yılında gerçekleştirilmiştir. [128] Bu uygulamada, motor korteksten omuriliğe olan sinir uyarılarının iletimindeki kasındaki kasılmaları uyarak göstermiştir. 1980 yılında elektrik akımının kafa derisine uygulandığı Merton ve Morton tarafından önerilen transkranial stimülasyon, [129] önceki yöntemle

kıyaslandığında elektro mıknatısların kullanımı büyük ölçüde prosedürdeki problemi azaltmış ve serebral korteks ve bağlantılarının haritalamasına imkan sağlamıştır.

TMS, insanlarda spesifik beyin devrelerinin etkinliğini ve fonksiyonunu ölçmek için klinik olarak kullanılabilir. TMS; inme, multipl skleroz, amiyotrofik lateral skleroz, hareket bozuklukları, motor nöron hastalığı ve yaralanmaları ve fasiyal ve diğer kraniyel sinirler ve spinal kordu etkileyen diğer bozukluklara bağlı hasarı değerlendirmek üzere beyin kas arasındaki bağlantıyı ölçmek için tanısız olarak kullanılmaktadır. [130] Tek darbe (single pulse) TMS migrende [131], tekrarlayan TMS de tedaviye dirençli majör depresif bozuklukta [132] kullanılmak üzere Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Kanıtlar nöropatik ağrı [133] ve tedaviye dirençli majör depresif bozuklukta [134] yararlılığını göstermektedir. Kanıtlar aynı zamanda TMS'nun şizofreninin negatif semptomlarında [135] ve inme nedeni ile fonksiyon kaybında [136] muhtemel yararı olabileceğini göstermektedir. [137] Ayrıca bazı çalışmalarda TMS ile parkinson hastalarının motor semptomlarında anlamlı bir değişiklik görülmüşken [138], düzelme olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. [139] TMS'nun anti epileptik etkisinin gösterildiği [140] ve gösterilemediği [141] çalışmalar bulunmaktadır. TMS ile çalışmalarda tinnitusta azalma saptanmıştır. [142] TMS ile post-travmatik stres bozukluğu ölçek skorlarında düşüş saptanmıştır [143] ancak obsesif kompulsif bozukluk (OKB) çalışmalarının çoğunda Y-BOCS skorlarında anlamlı düşüş gözlenmemiştir. [144] Alkol bağımlılığı üzerine yapılan TMS çalışmalarında alkol aşermesinin değişmediği gösterilmiştir. [145, 146] Sigara/nikotin bağımlılarında yapılan çalışmalarda aşerme ve sigara tüketiminde anlamlı azalma gözlenmiştir. [147, 148] Yapılan çalışmalara göre distoni, esansiyel tremor ve tourette sendromu gibi hareket bozukluklarında ve amyotrofik lateral skleroz, mutipl sklerozda, alzheimer hastalığında, panik bozuklukta, OKB ve alkol aşermesinde TMS tavsiye edilmemektedir, parkinson hastalığı ve epilepside tavsiye edilmemekte ancak muhtemel etkililikten bahsedilmektedir, tinnitus, travma sonrası stres bozukluğu (TSSB), nikotin ve kokain aşermesinde muhtemel etkililikten bahsedilmektedir. [137] Psikostimulan kullanım bozukluğu üzerine yapılan üç çalışmanın ikisinde kokain aşermesinde anlamlı azalma görülmüş [149, 150] birinde ise metamfetamine aşerme provake edilmiştir. [151] 2016 yılında yapılan bir çalışmada uzun süredir eroin bağımlısı olan 20 kişi tekrarlayan TMS ve sham TMS almak üzere randomize olarak ikiye ayrılmış. Bağımlılarda eroin aşermesinde anlamlı azalma gözlenmiştir. [152] Bu çalışma heroin bağımlılarında yapılan ilk ve tek tekrarlayan

TMS çalışması olması hasebi ile önemlidir. Bir hayvan çalışmasında morfin perhizi (abstinence) sırasında morfine duyarlı sıçanlarda ve kontrol grubunda tekrarlayan TMS ile NA'te dopamin konsantrasyonunu artırdığı, aynı zamanda morfine duyarlı sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. [153]

TMS'nin en büyük riskleri nadir olarak görülen senkop ve daha az sıklıkla indüklenmiş nöbetlerdir. [154] TMS'nin diğer olumsuz etkileri olarak rahatsızlık veya ağrı, hipomaninin geçici indüklenmesi, geçici bilişsel değişiklikler, geçici işitme kaybı, çalışma belleğinin geçici bozukluğu ve implante cihazlardaki elektrik devrelerinin indüklediği akımlar sayılabilir. [154]

3.3. Transkraniyel Elektriksel Stimülasyon

Transkraniyel elektriksel stimülasyon (tES) yaygın olarak kullanılan bir diğer invaziv olmayan beyin stimülasyon yöntemidir. tES'de kafa derisi yüzeyi üzerine yerleştirilen iki elektrot (anot ve katot) arasında zayıf bir elektrik akımı geçmektedir.

Kişi tarafından hemen hemen her zaman algılanan uyarıların [155] ve ayırt edilebilir bir motor yanıtın ortaya çıktığı (motor alanlar uyarıldığında) TMS'nun aksine, tES kişi tarafından genellikle algılanamaz ve hiçbir belirgin ya da ayırt edilebilir periferik etkilere neden olmamaktadır. [156]

tES, transkraniyel olarak uygulanan farklı akım dalga formları aracılığıyla nöronal bölgeleri etkilemektedir. Transkraniyel direkt akım stimülasyonu (tDCS), transkraniyel alternatif akım stimülasyonu (tACS) ve transkraniyel rastgele gürültü (random noise) stimülasyonu (tRNS) en çok kullanılan formlarıdır. Bu akım formlarının, istirahat membran potansiyelinde değişikliklere neden olarak ve bunun sonucunda nöronal sinaptik etkinliği modifiye ederek, hem nöron içinde hem de dışında elektriksel aktivite değişikliklerini indükleyebildiğini biliyoruz. [157] Pozitif stimülasyon (anodal tDCS) verildiğinde, akım istirahat membran potansiyelinde depolarizasyona neden olarak nöronal eksitabiliteyi artırmakta, negatif stimülasyon (katodal tDCS) verildiğinde, akım istirahat membran potansiyelinde hiperpolarizasyona neden olarak nöronal eksitabiliteyi azaltmaktadır. [156, 158]

Düşük yoğunluklu elektriksel stimülasyonun muhtemel kökenleri 18. yüzyılda insan ve hayvanlarda galvanik (ör.: direkt) akım ile ilgili çalışmalara dayanmaktadır. Bu

araştırmalar uzun ve ilgi çekici bir tarihe sahiptir [159] bunlar arasında Giovanni Aldini ve Alexandro Volta ayrıca elektroterapi öncülerinden Krüger (1715–1759) ve Christian Kratzenstein (1723–1795) [160] sayılabilir. 1974 başlarında Aldini kendi üzerinde galvanik kafa akımının etkisini değerlenmiş [161], ve 1804'e kadar melankoli hastalarının başarılı bir şekilde tedavi edildiğini bildirmiştir. [162] 20. yüzyılın başlarına kadar süren araştırmalarda henüz direkt akım (DC) (ör.: tDCS) ile ilgili değişken sonuçlar mevcuttu veya bazen hiç sonuç alınamamıştır. 1930'larda önemli ölçüde daha yüksek yoğunluklarda transkraniyal stimülasyon içeren elektro konvulzif terapi (EKT) [163] metodu önerildiğinde düşük yoğunluklu direk akım kullanımı giderek terk edilmiştir. EKT'nin hemen akabinde 1957 yılında Anan'ev ve diğerleri tarafından yayınlanan ilk çalışma "kafatası elektroterapi stimülasyonu" (aynı zamanda elektro sleep olarak da bilinen) ile düşük yoğunluklarda alternatif akım (AC) uygulamasında bir ilgiye yol açmıştır. [164] Daha sonra Limoge 1963'te düşük yoğunluklu AC stimülasyonun spesifik bir parametresini tanımlamış, bu tanımlamada cerrahi boyunca uygulanan stimülasyon esnasında anestezinin idamesi için gerekli narkotik ve nöroleptiklerin miktarını anlamlı derecede azalttığı tesbit edilmiştir. [165] 1960'lı yıllardan bu yana, düşük yoğunluklu AC stimülasyon ile bir dizi çalışma yayınlanmıştır [166] ve kraniyal AC stimülasyon cihazları kişisel kullanım için piyasada mevcut hale gelmiştir. (ör.: Alpha-Stim, Fisher Wallace Kranial Stimülatör, Transair Stimülatör vb.) Ancak, bu alandaki araştırmalar tutarsız olmuştur ve AC ile zayıf transkraniyal uyarımın etkilerini gösteren somut kanıtlarhalen eksiktir. Nitsche ve Paulus tDCS ile kortikal eksitabilitenin modülasyon olasılığını göstermiştir. Kafa derisine uygulanan zayıf DC bir kaç dakikadan birkaç saate kadar süren stimülasyon bitiminden sonra % 40'a kadar süren eksitabilite değişiklikleri ile ilişkiliydi. [156] Aslında bir matematiksel model, DC stimülasyonu ile transmembran nöronal potansiyelinin modifiye edilebildiği [167] bununla birlikte aslında bir aksiyon potansiyeli ortaya çıkardığını göstermiştir.

Ciltte irritasyon, bulantı, baş ağrısı, baş dönmesi, kaşıntı tDCS için sayılabilecek yan etkilerdir. [168] Epilepsili kişiler gibi nöbete duyarlılığı olan kişilerde stimülasyon uygulamak tavsiye edilmemektedir ancak sağlıklı bireylerde nöbet riski görülmemektedir.[158]

Değerlendirilmiş çalışmaların karışık bulguları ve heterojenliği nedeniyle tDCS'nun bir klinik müdahale olarak rolü hala belirsiz olmasına rağmen, tDCS akut depresyonda sahte (sham) tDCS'ndan istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. [169] Bazı çalışmalarda sağlıklı insanlarda bilişsel iyileşmede [170], tDCS'u ile ilgili kanıtlar yetersiz bulunmuştur. Bir meta

analizde tDCS'nun sağlıklı yaşlanma ve alzheimer hastalığı ile ilişkili bilişsel azalmada faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir. [171] Parkinson hastalığı üzerine sınırlı klinik çalışma bulunmaktadır, yapılan bir çalışmada yüreme terapisi verilen parkinson hastalarına tDCS uygulanmış, fonksiyonel mobilite üzerinde yeterli etkinlik görülmemiştir. [172] Yine bir metanalizde tDCS'nun şizofrenide işitsel halüsinasyonları azalttığı, bilişsel ve negatif semptomları iyileştirdiği bulunmuştur. [173] Yapılan bir metanaliz tDCS'nun sağlıklı kişilerde duyu ve ağrı eşliğini artırdığı, kronik ağrısı olan hastalarda ağrı seviyesini düşürdüğü yönünde kanıt sunmaktadır. Ancak dahil edilen çalışmalar küçük örneklem büyüklüğüne sahip olduğu için dikkatle yorumlanması gerektiği belirtilmiştir. [174] Başka bir metanalizde tDCS inme hastalarına seçici olarak uygulandığında kısa sürede motor performansı artırmada etkili olmasının muhtel olduğu, ancak bu yöntemin hala deneysel aşamada olduğu inme rehabilitasyonunda tDCS'nun klinik etkinliğini belirlemede daha fazla araştırmanın gerektiği belirtilmiştir. [175] tDCS ile ilgili çalışmalarda alkol [176], nikotin bağımlıları [177] ve uzun süreli maruhana kullanıcılarında [178] tDCS'nun aşermeyi azalttığı görülmüştür. [179]

3.4. Derin Beyin Stimülasyonu

DBS implante elektrot vasıtası ile beynin kronik elektriksel stimülasyonun yapıldığı bir tedavi yöntemidir. En sık kullanılan DBS sistemi, hedefe stereotaktik olarak implante edilen dört-bağlantı (four-contact) stimülasyon elektrotu ve köprücük kemiği altına göğüs duvarı üzerine yerleştirilen beyin pacemaker'ı olarak da adlandırılan implante edilebilir pulse jeneratör, birde ikisi arasında bağlantıyı sağlayan cilt altına yerleştirilmiş bir telden oluşmaktadır. Klinik ihtiyaçlar bazen tek taraflı stimülasyonu zorunlu kılmasına rağmen elektrotlar genellikle bilateral yerleştirilmektedir. Hedeflerin çoğu kortikal alanlardan ziyade derin beyin cevher yollarını da içeren derin beyin yapılarıdır. Klinisyen stimülasyon parametrelerini ayarlamak üzere implante pulse jeneratör ile kablosuz iletişim kurmak için bir el cihazı kullanmaktadır.

Yaygın görüş, beynin uzun süreli yüksek frekanslı stimülasyon yönteminin Benabid tarafından 1987'de hareket bozukluklarının tedavisi için icat edildiğini kabul etmektedir [180] Kuşkusuz, bu sistematik olarak DBS'nun terapötik rolünün araştırıldığı ilk çalışmaydı. Ancak, litaretür 1950'lerin başlarında derin beyin hedeflerinde uzun süreli elektriksel stimülasyonun kullanımının araştırıldığını ortaya koymaktadır. [181] Tedavi etkilerinin geri döndürülebilir olduğu 1970'lerde Irving Cooper tarafından belirtilmiştir. [182] Bununla

birlikte, bir tedavi yöntemi olarak DBS'nun güvenilirliği ve etkililiği hareket bozukluklarının tedavisinde kullanımı ile oluşturulmuştur. [183] Elde edilen kanıtlara göre psikiyatrik hastalıkların tedavisine uygun olarak DBS'nun yeniden geliştirilmesi için çalışmalar yeniden karakterize edilmiştir. Limbik ağların uzun süreli stimülasyonunun psikomodulatör etkisi ile ilgili kanıtlar sağlayan subtalamik nukleus (STN) gibi hedeflerde DBS'na yanıtta eş zamanlı olarak afektif değişiklikler gözlenmiştir. [184] DBS ile OKB tedavisi için ilk girişimlerde, ablasyon için geleneksel cerrahi hedeflerinden biri olan, internal kapsül ön kolu hedeflenmiştir. [185] Bu çalışmalar, bazal ganglionlar, frontal korteks ve limbik lob arasındaki etkileşimi vurgulamış ve çeşitli hedeflerin nöromodülasyonu için bir fizyolojik gerekçe sağlamıştır. Ayrıca, antidepressanların etki mekanizmaları ile ilgili araştırmalar [186], OKB ile ilgili pozitron emisyon tomografisi (PET), fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme (fMRG) ve difüzyon traktografi çalışmaları [187-189], tourette sendromu [190], travma sonrası stres bozukluğu [191], bağımlılık [192] ve obezite [193] ile ilgili fonksiyonel görüntüleme çalışmaları DBS'nu için müdahale alanlarının belirlenmesinde katkı sağlamıştır.

DBS apati, halüsinasyonlar, kompulsif kumar, hiperseksualite, bilişsel işlev bozukluğu ve depresyon gibi nöropsikiyatrik olumsuz sonuçlara yol açabilir. Ancak, bunlar geçici olabilir ve stimülatörün doğru yerleştirilmesi ve kalibrasyonu ile ilgili olabilir bu yüzden potansiyel olarak geri döndürülebilir. [194] Çünkü cerrahi sırasında beyin hafifçe kayabilir, elektrotların yer değiştirme ve yerinden çıkmabilme olasılığı bulunmaktadır. Bu, kişilik değişiklikleri gibi daha köklü komplikasyonlara neden olabilir [195], fakat elektrotun yanlış yerleştirilmesini BT kullanılarak tespit etmek nispeten kolaydır. Ayrıca, beyin içi kanama gibi cerrahi komplikasyonları da olabilir. [196] Ameliyat sonrasında, beyin dokusunda şişme, hafif oryantasyon bozukluğu, uykululuk ve normaldir. Tüm ameliyatlarda olduğu gibi cerrahi sırasında ve sonrasında enfeksiyon, kanama riski ve anestezi ile ilgili komplikasyonlar olabilir. Yerleştirilen yabancı nesne vücut tarafından reddedilebilir veya implantın kalsifikasyonu gerçekleşebilir.

DBS cerrahi işlemle beyine elektrot yerleştirilen invaziv bir işlemdir. Cerrahi, stimülasyon, intra ve ekstrakranial elektrotlar ve uyarı devresi ile ilgili olmak üzere risk ve komplikasyonlar mevcuttur. Bu komplikasyonlar; cerrahi ile ilgili; perioperatif intrakraniyel hemoraji, inme, postoperatif konfüzyon, lokal ve intrakraniyel enfeksiyonlar ve vazovagal reaksiyonları içerirken, yerleştirilen elektrotlarla ilgili olarak ise elektrotların yer değiştirmesi ve kırılmasıdır. [30] Farklı tanımlarla DBS operasyonu yapılmış 215 hastanın acil servis

başvurularına bakıldığı bir çalışmada, hastaların % 23.2 sinin DBS'ye bağlı bir komplikasyon sonucu acil servise başvurduğu, başvuruların % 54.6'sının nörolojik komplikasyonlar, % 27.9 unun elektrotlar ya da cihazla ilgili komplikasyonlar, % 10.5 inin ortopedik/lokal sorunlar ve % 7 sinin medikal problemler nedeniyle olduğu bildirilmiştir. [31] Yapılan cerrahi işlem, kullanılan cihaz ve malzemeye göre farklılık göstermekle birlikte elektrot başına yıllık komplikasyon oranının % 3.2 ile % 8.4 arasında olduğu belirtilmiştir. [32, 33]

DBS'nun etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. [197] DBS'nun etki mekanizmalarını açıklamak üzere çeşitli hipotezler bulunmaktadır: [198]

1. Depolarizasyon blokajı; elektrik akımları elektrot alanının yakınında nöronalçıktıyı engellemektedir. İn vitro ortamda yüksek frekanslı elektriksel stimülasyon sodyum kanallarını inaktive ederek ve potasyum akışını artırarak aksiyon potansiyellerinin başlamasını ve ilerlemesini önleyerek nöronal membranların sürekli depolarizasyonuna neden olabilir. Bu duruma depolarizasyon blokajı diyoruz.

2. Sinaptik inhibisyon; stimülasyon elektrotunun yanında sinaptik bağlantıları olan akson terminallerini aktive ederek nöronal çıktının indirekt regülasyonuna neden olur.

3. Sinaptik depresyon

4. Nöronların anormal titreşimli (oscillatory) aktivitesinin desenkronizasyonu mevcut hipotezler arasında sayılabilir.

DBS'nun, seçilmiş beyin bölgelerinde, parkinson hastalığı [199], distoni [200], major depresyon [201] ve OKB [202] ile ilgili meta analizlerde, esansiyel tremor ile ilgili klinik çalışmalarda [203] ve kronik ağrı üzerine bildirilen vaka serilerinde [204], tedaviye dirençli hareket ve afektif bozuklukların tedavisinde terapötik faydalar sağladığı gösterilmiştir. DBS 1997'de esansiyel tremor [205], 2002'de parkinson hastalığı, 2003'de distoni [206] ve 2009'da OKB'ta [207] bir tedavi yöntemi olarak FDA tarafından onaylanmıştır.

Bağımlılık tedavisinde DBS kullanımı tesadüfen olmuştur. Parkinson hastalığı (PH) olan bazı kişiler bazı bağımlılık yollarına benzer bir şekilde dopamin replasman terapötik maddelerin alınımını artırdı, bu dopamin disregülasyon sendromu olarak bilinen bir fenomendir. [208] Parkinson hastalığı tedavisinde STN'una DBS yapılan iki hastada parkinson hastalığı semptomlarının hafiflediği ve ayrıca PH farmakoterapilerinin kötüye

kullanım (suistimal) arzusunun da azaldığı bildirilmiştir. [209] Başta PH'larında STN'un DBS'nun takiben dopamin disregülasyon sendromunun çözüldüğü teyit edilmiştir. [210, 211] Ancak bu etki tüm hastalarda gözlenmemiştir. [212] Bu bulgular, tekrarlanan kokain azalan STN metabolik altivitesi [213] ve özellikle STN'un lezyonlarında ratlarda kokain alım motivasyonunda azalma [214] olduğunu belirtilen önceki çalışmalarla birleştiğinde STN'un DBS'nun bağımlılıkta bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir. Ratlar ile yapılan yeni bir prelinik çalışmada STN'un DBS'nun hem kokain alma hem de kokain arama davranışını azalttığı gösterilmiştir. [215] Bu çalışmalara yönelik yapılan literatür taramasında ilk defa 2007 yılında tedaviye dirençli panik bozukluklu bir hastanın tedavisi için NA'e uygulanan DBS'nun, tedavisi amaçlanan panik bozukluğa etkisi olmamış fakat hastada komorbid alkol bağımlılığını remisyona soktuğu bildirilmiştir. [23] Dopaminin pekiştirici etkilerinden dolayı bağımlılık etki mekanizması opioidlere benzeyen nikotin bağımlılığı ile ilgili bir çalışmada başka tedaviye dirençli psikiyatrik hastalığı olan ve komorbid olarak sigara bağımlılığı mevcut olan 9 hastada NAC'e DBS uygulamasından sonra hastaların üçünde 24-30 ay süren takiplerde DBS tedavisi altında iken sigara kullanmadıkları görülmüştür. [24] Xu ve arkadaşları (2005) [216] bir opiyat madde bağımlısı hastada bilateral NAC'in DBS'nda olumlu etkiler olduğunu ve nüksün önemli komplikasyonlar olmadan azaldığını bildirmişlerdir. Hayvan çalışmalarında NAc'in DBS ile yüksek frekanslı stimülasyonu, ratlarda morfinin uyardığı KYT skorlarını düşürmede etkili bulunmuştur. [26-29] Rat nucleus acumbensinin DBS kokain kaynaklı ilaç arayışını zayıflatmıştır [217, 218] ve ratlarda alkol tercihini ve/veya alınımı azaltmıştır. [219] Bir vaka çalışmasında bir erkek hasta tarafından eroin kötüye kullanımının 6 aydan uzun süredir tam remisyonu saptanmıştır. 2,5 yıl sonra uyarım kapatılmıştı ve hastanın perhizde kalması dikkate değerdi. [220] Benzer bir vaka bildirisinde nucleus acumbenslerin DBS, 2 haftalık bir relaps periyodu dışında eroin kullanımının uzun süreli durdurulması ile sonuçlanmıştır. [221] Bir diğer vaka çalışmasında, NAc'in DBS'nun OKB belirtilerinde belirgin bir düzelme sağladığı ayrıca beklenmeyen ve zahmetsiz sigara bırakma ve kilo kaybı ile sonuçlandığı bildirilmiştir. [222] Alkol, nikotin ve eroin gibien çok zarar veren madde bağımlılıkları bazı vakalarda stimülasyona olumlu yanıt verdiği bildirilmiştir. [223, 224]. Almanya'da, 5 hastada endikasyon dışı bilateral NA'in DBS ile ciddi alkolizm tedavisine yönelik deneme girişiminde bulunuldu ve cesaret verici sonuçlar elde edilmiş, bütün hastalarda stimülasyonu takiben aşermenin hemen durduğu rapor edilmiştir. [225]

3.5. Yüksek Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason (YYOU)

Yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrason (YYOU) / high intensity focused ultrasound (HIFU) manyetik rezonans görüntüleme (MRG) rehberliğinde katı (solid) lezyonlara karşı uygulanan non invaziv bir yöntemidir. [226] Temel prensibi yakıcı ısı üreten, güneş ışığını odaklamak için bir büyüteç kullanılmasına benzemektedir. Odaklanmış ultrason temel olarak vücut içinde bir hedef üzerine birden çok kesişen ultrason ışınlarını yoğunlaştırmak için akustik bir lens kullanmaktadır. Her ışın hiç bir etkiye neden olmadan dokudan geçer. Ancak ışınların birleştiği odak noktasındaki enerji yararlı termik veya mekanik etkilere sahip olabilir. [227] Bu yaklaşım tek başına bir terapi olabilir veya kemoterapi veya immunoterapinin dağıtılması veya etkilerinin artırılmasında yararlı olabilir. YYOU vücuda akustik enerjiyi yönlendirmek için minimal invaziv veya invaziv olmayan yöntemler içeren bir terapötik ultrason yöntemidir. YYOU ek olarak, ultrason destekli ilaç dağıtımı, hemostazis, litotripsi, trombolizis, ve immünmodulasyon şeklinde diğer yöntemleri içermektedir. YYOU, genellikle tedaviyi hedefleme ve izleyebilmeye olanak veren ultrason veya MRG aracılığıyla gerçek zamanlı görüntüleme ile yapılır.

YYOU şimdi geniş bir yelpazede rutin klinik uygulamaları bulunmaktadır. Bunlar arasında malign prostat tümörlerinin ablasyonu [228], pankreas [229], böbrek [230], meme [231] kanserlerinin tedavisi, rezektabil olmayan karaciğer tümör ve metastazlarının ablasyonu [232], uterin fibroidlerin desktrüksiyonu [233] sayılabilir. Kronik ağrı tedavisinde başarılı neticeler elde edilmiştir. [234] Nöropatik ağrı [235] ve parkinson hastalığı tedavisinde [236], ratlarda beyin bariyeri geçirgenliğinin değiştirilmesi ile immun mediyatörler aracılı tedavide [237] sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve tedavi açısından başarılı sonuçlar elde edilmiştir. OKB için odaklanmış ultrason tedavilerinin uygulanabilirliği ve güvenliğihalen araştırma aşamasındadır. [238] Devam eden çalışmalarda bir dizi ek klinik alanda YYOU uygulaması ele alınmaktadır. Örneğin, nörolojide, YYOU geleneksel nöroşirürji yaklaşımlarını kullanılarak ulaşmanın zorlu olduğu beyin alanlarının ablasyonu veya stimülasyonu için [239], kardiyolojide, seçici endokardiyal ablasyon yoluyla sona erdirilebilir disritmilerde [240] kullanılmıştır. MSS'nde, YYOU doku ablasyonu sıcaklık eşığı altında, termal mekanizmalar ile reversibl nöronal aktiviteyi inhibe etmek için kullanılmıştır. Fry ve arkadaşları doku ablasyonu olmadan geçici olarak baskılanmış görsel uyarılmış yanıtların olduğu düşük doz YYOU ile bir kedi modelinde lateral genikulat nükleusu sonifikiye etmişleridir. Bu çalışma sağlam nöronal devrelerde ultrasonun indükleyebildiği reversibl

değişikliklerin olduğunu gösteren ilk çalışmalar arasında yer almıştır. [241, 242] Daha yakın zamanlarda DYOU termal olmayan mekanizmalar aracılığı ile nöronal fonksiyonu geçici olarak aktive etmek ve baskılamak için kullanılmıştır.

Şu anda, Asya, Kanada, Avrupa, İsrail, Latin Amerika ve ABD'nde uterin fibroidleri, kemik metastaz ve prostat ağrıları tedavisinde YYOU sistemleri onay almıştır. Meme, böbrek, karaciğer, pankreas ve yumuşak doku sarkomu dahil olmak üzere bir dizi kanser tedavisi için Avrupa ve Asya'da düzenleyici makam onayı (regulatory approval) bulunmaktadır. Birçok nörolojik durumların (ör.; esansiyel tremor) [239], psikolojik bozuklukların, birçok kanser, hipertansiyon ve diğer hastalıkların tedavisi için YYOU'yu değerlendiren klinik çalışmalar da dahil olmak üzere, diğer endikasyonlar için araştırmalar aktif olarak devam etmektedir. Görüntü rehberliğinde olamayan YYOU cihazları bazı yetki alanlarında kozmetik amaçlar için (tipik olarak vücut yağı azaltılmasında) pazarlanabilmektedir.

YYOU ablasyonunun ana mekanizması termal ve mekanik etkilerdir. YYOU ışınları, yüksek enerji seviyelerinin lokal olarak birikmesi için, hastalıklı dokunun küçük bir bölgesi üzerine tam odaklanmıştır. Odakta doku sıcaklığı, 65 ° ila 85 °C arasında yükselmekte ve termal etki ile koagülasyon nekrozu ile hastalıklı doku yok edilmektedir. [243] Mikro akış (micro-streaming) , radyasyon gücü ve kavitasyon mekanik etkilerdir. [227, 244] Genellikle doku içinde sıvı kaynamasını engellemek için yüksek sıcaklıklardan kaçınılır. Her bir sonikasyon (her bir ultrasonik enerji birikimi) hedeflenen dokunun tam olarak belirlenmiş bir parçasını işlemekten geçiririr. Tüm terapötik hedef hekim tarafından geliştirilen bir protokole göre, tedavi edilen doku hacmi oluşturmak için birden fazla sonikasyon kullanılarak işlemekten geçirilir. Anestezi gerekli değildir, ancak sedasyon genellikle tavsiye edilir.

1927'de Wood ve Loomis ilk defa yüksek yoğunluklu US'nun termal özelliklerini tanımlamıştır. Daha sonra 1942'de Lyn ve arkadaşları ex vivo karaciğer numunelerinde fokal termal hasar üretebilen aynı zamanda ciltte kazara hasar oluşturmadan kafa derisi, kafa tası ve meninklere müdahale yoluyla hayvan beyinlerinde bir US jenaratörünün kullanımını göstermişlerdir. [245, 246] 1950'li yıllarda Fry kardeşler, parkinson sendromu benzeri hareket bozukluklarını tedavi etmek üzere YYOU ablasyonunu geliştirerek, pirimatlarda beynin derin kısımlarındaki alanları hedeflemek için kraniyotomi sonrası kullanılabilen bir transkraniyal YYOU sistemi geliştirmişlerdir. [241] İnsanlarda YYOU ablasyon tedavisi ile ilgili ilk çalışmaların bir kaçı, US rehberliği altında, prostat üzerine yapılmış, benign ve malign

tümörlerin geniş bir yalpazede tedavisi için izin alınan hem US hem de MRG rehberliğinde takip eden gelişmeler ile Marberger ve arkadaşları ve Madersbacher ve arkadaşları tarafından 1990'ların başında bildirilmiştir. [247, 248]

2011 yılında Çin'de ekstrakorporal US rehberliğinde yapılan YYOU yönteminin olumsuz etkileri üzerine yapılan bir meta analizde; 2201 tane karaciğer malignitesi olan vakanın %35.3'ünde YYOU tedavisi nedeni ile yan etki gözlenmiş, en sık %29,99 ile cilt yanığı, %3.77 ile karaciğer fonksiyon bozukluğu, %2.59 ile hidrotoraks, %1.77 ile ciddi abdomen ağrısı, %1 ile mide bağırsak fonksiyon bozukluğu ve daha oranlarda kolesistit, kolanjiektazi, kardiyak etkiler, hidroperikardiyum, hematüri olarak belirtilmiş. 1717 pankreas malignitesi olan vakanın %8.74'ünde YYOU tedavisi nedeni ile yan etki gözlenmiş, yine en sık %3.09 ile yanık, %1.86panreatit ve %1.28 ile diyabet olduğu belirtilmiştir. 224 kemik malignitesi olan vakada YYOU ile tedavi sonucu 14'ünde sinir yaralanması, 10 vakada cilt yanığı, 10 vakada kırık gelişmiştir. Yine167 meme malignitesi olan vakanın 19'unda en sık komplikasyon olarak cilt yanığı gelişmiştir. Prostast malignitesi olan 375 vakanın 65'inde hematüri,27'sinde cilt yanığı ve daha az olmakla birlikte üriner obstrüksiyon, üretral striktür ve inkontinans gelişmiştir. 5526 uterin fibroid hastasının %10.19'da yan etki gelişmiştir. Bunun %3.06'sı sinir yaralanması, %2.88 hematüri, %2.44 hematüri olarak belirtilmiştir. Manyetik rezonans rehberliğinde ultrason (MRrUS) ile karşılaştırıldığında uterin fibroid tedavisinde nörolojik yan etkiler daha sık MRrUS'de gözlenmiştir. Meme kanserinde cilt yanığı daha az oranda görülmüştür.

3.6. Düşük Yoğunluklu Odaklanmış Ultrason (DYOU)

Terapötik odaklı ultrason, cerrahi işlem olmadan deriden ve kafatasından geçen düşük enerjili ses dalgaları kullanmaktadır ve başlıca beynin herhangi bir yerinde nöronal aktiviteyi değiştirmek için kesin bir şekilde odaklanabilen bir stimülasyon yöntemidir.

US'un nöral doku üzerindeki etkisini araştırma ile ilgili ilk teşebbüsler neredeyse 80 yıl önce [249] başlamış olsa da, bu alanın sistemik bilimsel keşfi 1950'lilere kadar başlamamıştır. O esnada farklı dillerde pek çok makale US'un nöral dokular üzerindeki etkisini açıklamış olup. [250, 251] İngilizce dilindeki konuyla en ilgili makaleler Fry'ın laboratuvarından gelmiştir. [242, 252, 253] Yukarıdaki çalışmalar US'un sinir dokusu üzerindeki, aktivite artışından görsel olarak uyandırılmış potansiyellerin tersine çevrilebilir baskılanmasına kadar çeşitlenen tersine çevrilebilir fizyolojik etkileri indükleyebileceğini

göstermiştir. Fry'ın çalışmaları özellikle nöral dokunun sonikasyon uygulanan alanda eşlik eden histolojik değişimler olmaksızın eksitasyonu ve inhibisyonunu dokümente etmiştir. 1960 ve 1990 yılları arasında bu konuyla ilgili sadece birkaç makale yayınlanmıştır. Verilerin çoğu Gavrilov'un Moskova'daki laboratuvarından gelmiştir. [254-256] Bu raporlar, odaklanmış ultrasonun hem insanlarda hem de hayvanlarda iç kulak yapılarını ve işitsel siniri doğrudan stimüle etme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar ilaveten US ile ilgili olarak güvenilirlik açısından nöral dokunun gözlenebilir hasarı olmaksızın tersine çevrilebilir nöromodülasyonu dokümente etmiştir. US'un nöral doku üzerindeki etkilerini araştıran diğer birçok laboratuvar da aynı sonuçları bulmuştur. [257, 258] Yukarıdaki çalışmaların tümü insanların ve hayvanların beyin kesitlerinde veya periferik sinirlerinde termal hasar veya kavitasyon ile karakterize histolojik bulgular olmaksızın nöral aktivitenin geri dönüştürülebilir gelişmesini veya depresyonunu tespit etmiştir.

1990'larda odaklanmış ultrasonun; ablyasyon için YYOU'nun kullanımı [259] tromboliz [260] ve periferik siniri bloke etme [261] gibi birçok pratik uygulama alanında kullanımına ilgi artmıştır. odaklanmış ultrasonun aynı zamanda kan beyin bariyeri (KBB)'nin açılması ve ilaçların odaksal olarak beyne gönderilmesinde kullanılabilir olmasıyla bu ilgi artmıştır. [262] KBB'nin US ile parçalanması, kavitasyonları düşük güçte ultrasonik uygulama ile yerleştiren bir kontrast ajanının kullanımı ile veya kullanımı olmaksızın gerçekleştirilebilir. KBB'nin düşük güçlerde parçalanması genellikle tersine çevrilebilir ve bu parçalanmaya sadece minimum düzeyde apoptoz ve iskemi bulgusu eşlik etmiştir. Bir meta analizde düşük enerjili odaklanmış ultrason aynı zamanda kemikte kırık sonrası iyileşme süresini terapötik olarak hızlandırmada etkili olduğu bulunmuştur. [263] Ancak, beyin aktivitesinin fonksiyonel modülasyonu odaklanmış ultrasonun en ilgi çekici olası uygulamalarından biri olarak kalmaktadır.

YYOU'nun aksine, düşük yoğunluklu odaklamalı ultrason dalgaları (DYOUD) nöronlar üzerinde tersine çevrilebilir hem nöral eksitasyon hem de inhibisyonu mümkün kılmaktadır. YYOU üzerinde yapılan çalışmaların hacmi göz önünde bulundurulduğunda, DYOUD ve YYOU ile ilgili erken dönem çalışmalarının paralel olarak yürütülmüş olmasına rağmen DYOUD'nın sinir bilimdeki uygulaması şaşırtıcı bir şekilde keşfedilmemiştir. [242] Fonksiyonel nörogörüntüleme ile birleştirilen DYOUD, nöral etkinin tersine çevrilebilir eksitasyonu ve baskılanması için odaklamalı US vuruşları sağlamak üzere yönlendirilebilir bir nörostimülasyon cihazı olarak kullanılabilir.

Bu tür yüksek hedefleme özelliğine sahip, invazif olmayan nöromodülasyon, epilepsi, depresyon, anksiyete bozuklukları ve travmatik beyin yaralanması gibi birçok nörolojik ve psikiyatrik koşul için yeni tedavi imkanı sunmaktadır. Terapötik odaklı ultrason nöromodülasyonu ile ilgili henüz klinik çalışma yürütülmemiş olsa da, son birkaç yıl içerisinde gerçekleşmeye daha çok yaklaşmıştır. Bir çok hayvan modellerinde gerçekleştirilen deneyler, odaklamalı ultrasonun nöromodülasyonda yüksek derecede odaklamalı, güvenli ve etkili olduğunu göstermektedir. Arrdından, insanlarda odaklamalı ultrason nöromodülasyonu ile ilgili bir kaç çalışma yayınlanmıştır.

Tekrarlı transkraniyal manyetik stimülasyon (tTMS) ve tDCS gibi diğer invazif olmayan nöromodülasyon teknikleri nörolojik veya psikiyatrik bozuklukların tedavisinde daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bir diğer invazif olmayan nöromodülasyon formu elektrokonvulzif tedavi (EKT) on yıllardır kullanıla gelmiştir. Ancak, tüm bunlar boyutsal spesiflik açısından kısıtlamalardan olumsuz etkilenmektedir veya nöromodülasyon için genel bir araç olarak kullanışlı değildir. Bu nedenle odaklanmış ultrason gibi bir teknolojiye duyulan ihtiyaç oldukça fazladır. Nöromodülasyon için genel bir araç sadece yeni tedavilere yol açmayıp, aynı zamanda yeni tanı koyma yolları ve bilimsel keşif için yeni yolların açılmasını da sağlayabilir.

tTMS üç boyutta odaklanamaz ve bu nedenle yüzeysel hedeflerle sınırlıdır. Benzer şekilde, tDCS ve EKT de odaklanamaz. Ve tTMS ve tDCS'nun bir çok genel uygulaması olduğu görülürken, EKT'nin depresyonu tedavi ederken diğer uygulamalara genelleştirilemeyeceği görülmektedir.

Diğer teknolojilere kıyasla, ultrason (US) oldukça yüksek hedeflemeli bir şekilde üç boyutta odaklanabilir. Aynı zamanda hastalığa spesifik olmadığı ve bu nedenle birçok farklı koşula genelleştirilebileceği de görülmektedir. odaklanmış ultrasonun bölgeye spesifik beyin aktivitesini kesin olarak değiştirme yeteneği, güvenli ve uzun süreli terapötik uygulamalara dönüşebilir.

Bozuklukları tedavi etmenin yanısıra, odaklanmış ultrasonun cerrahi haritalama öncesinde ve çeşitli bozuklukların tanısında ve temel bilimdeki araştırmalar için bir beyin haritalama aracı olarak kullanılabilmesi mümkündür.

US doku yoluyla bir taraftan öbür tarafa geçerken mekanik bir basınç uygulamaktadır. [264] Harvey ve ark.'nın [249] orijinal çalışmasının konusu olmasına rağmen ultrasonik nöromodülasyonun altta yatan kaynağı henüz net değildir. US dalga formu göz önünde bulundurulduğunda, kavitasyon, termojenik etkiler ve mekanik uyarılma, US'un etkilerini gösterebileceği üç olası hücrenel mekanizmayı yansıtmaktadır. [43] Hücrenel cevapların US parametrelerine göre büyük oranda çeşitlendiği terapötik US, düşük veya yüksek yoğunluk olarak tanımlanabilmektedir. [265]

US'un biyolojik etkileri yüksek yoğunluklarda öncelikle termaldir [39] ve bu ısıtma etkilerinin dokuyu homojenize ettiği, [266] proteini denatüre ettiği ve DNA fragmentasyonuna neden olduğu gösterilmiştir.[267]

Buna karşılık, DYOUD etkilerinin termojenik yapıda olmadığı düşünülmektedir. Örneğin, Heckman ve ark. [44] ve Gavrilov ve ark. [45] düşük yoğunluklu US'da kısa vuruşlar ile sağlanan nöromodülasyonun dokuda güç birikiminin zaman ortalamasını azaltabildiğini ileri sürmüşlerdir. Bu yöntemin nöral iletimi değiştirebileceğini ve termal yollardan ziyade mekanik yollarla aksiyon potansiyel değişimlerine neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bachtold ve ark. [268] odaklanmış ultrason dalgalarının, sıçanlardaki hipokampal dilimlerde aksiyon potansiyellerini değiştirdiğini dokümanete etmişlerdir. [45, 258, 268] Rinaldi ve ark. [258] sıçan hipokampusundan gelen uyarılmış potansiyellerin DYOUD ile söndürülebildiğini rapor etmişlerdir.

Kavitasyon veya oluşan şok dalgalarını patlatan gaz baloncuklarının oluşumu nöromodülasyonun olası bir mekanizması olarak değerlendirilmiştir. [269] Ancak, Wall ve ark. [270] tarafından yapılan erken dönem çalışmaları kavitasyonun US'un indüklediği nöromodülasyonun majör bir sebebi olmadığını göstermiştir. Bu ve diğer makalelerde, dokunun histolojik analizi, nöral dokunun düşük enerjili stimülasyonunun kavitasyonlar veya yüksek enerjili termal hasar ile karakteristik hücre hasarı oluşturmadığını doğrulamıştır. Öncesinde, Mihran ve ark. [271] kurbağaların siyatik sinir preparasyonunda kısa (0.5 milisaniye) odaklanmış ultrason patlamaları ile aksiyon potansiyelinde uyarılma ve ardından indirgenme göstermiştir. Bu etkinin aynı zamanda termal olmadığı ve mekanik yapıda olduğu da belirlenmiştir.

Uzun bir süre boyunca, nöral gövde ve lif demetlerinin gri madde veya kan damarları ile karşılaştırıldıklarında US'un etkilerine karşı daha hassas oldukları bilinmektedir. [272] Bu

diferansiyel hassasiyet, US'un indüklediği nöromodülasyonun lipid tabakanın mekanik gerinimi aracılığıyla gerçekleştiğine dair ortaya atılan hipotez ile uyumludur. [36] Birçok voltaja duyarlı iyon kanallarının kapılama kinetiği aynı zamanda bir gerinim bileşenine de cevap verdiğiinden, bu özellikle ilgi çekicidir. [46]

Ek olarak, mekanosensitif kanallar, lipid tabakasında kendi transmembran alanlarındaki bölgesel yağ asidi içeriğindeki değişikliklere cevap verirler. Bu ubikuitöz kanallar genellikle iyon akışı içerisinde osmotik stres stimülusu iletir ve DYOD'un indüklediği mekanik stres aracılığıyla aktive edilebilmektedir. [47]

DYOD'un eksitator etkileri, depolarizasyon ve eksitator aktiviteye yol alçabilen, voltaja kapılı (sodyum iyon) Na-I kanallarının mekanik ve gerinim aktivasyonu ile de modüle edilebilir. Ayrıca, bir Na-I kanalı blokörü olan tetradoksin (TTX)'in bu etkileri zayıflattığı görülmektedir. [36] İki değerlikli katyon formunda kadmiyumun eklenmesi ile kalsiyum geçişlerinde bir azalma kanıtlandığı gibi [36], aynı zamanda bir gerilim komponenti [48] olan kalsiyum kanalları, DYOD aracılığı ile de değiştirilebilir. Aksiyon potansiyellerinin inhibisyonu da gerinim aracılığı ile olabilir. Sıçan siyatik sinir ve köpek peroneal sinir preparasyonlarında, mekanik stres uygulandıktan sonra bileşenin aksiyon potansiyelinde hem artışlar hem de azalmalar görülmüştür. [273]

Aynı zamanda, ultrasonun nitrik oksit salınımı ile kontrol edildiği düşünülen vazodilatör etkilerine de hatırı sayılır bir ilgi vardır. [274] Bu etkiler, muhtemelen doku aktivasyonu artışına aynı zamanda DYOD nöromodülasyonu tarafından oluşturulan kan oksijenlenme seviyesinde bağlı / blood oxygenation level dependent (BOLD) sinyalin artırılmasına katkıda bulunabilir ve daha fazla araştırılması gerekmektedir. [275]

Hali hazırda mevcut olan nöromodülasyon ve beyin stimüle edici tekniklerin pek çok önemli kısıtlamaları bulunmaktadır. Örneğin DBS nispeten daha kompleks nörocerrahi [276] gerektirmekte ve nörostimülatörler periyodik olarak batarya değişimi gerektirirler. VSS da invaziftir ve boyutsal çözünürlüğü zayıftır. [277] Kraniyel elektriksel stimülasyon (KES) ve tDCS'nun non-invazif olarak değerlendirilmesine rağmen, zayıf boyutsal çözünürlüğe sahiptirler ve beyin haritalamasındaki değerleri şüphelidir. [278] fMRG ile birleştirilen DBS güvenlik nedenleriyle problemlidir; boyutsal çözünürlüğü mükemmel olsa da, stimülasyonun konumu kolayca değiştirilemez ve fMRG ile eşzamanlı kullanımı zor [279] ve potansiyel olarak tehlikelidir. [280] KES ve tDCS'nabenz olarak, invazif olmayan tTMS'nun boyutsal

çözünürlüğü zayıftır. Tipik odak birkaç santimetre çapındadır ve yöntem daha fazla proksimal dokuyu stimüle etmeden daha derin yapıları hedefleyemez. Ek olarak, beyin penetrasyonu geleneksel koil (bobin)' den dahi daha büyük bir odağa sahip olan derin bir (H-koil) kullanılmadıkça minimum düzeydedir. [281] Ayrıca beyin haritalaması için tTMS/fMRG'nin eşzamanlı kullanımı, kolayca çözümlenemeyen teknolojik problemler içermektedir. [282] Bununla birlikte bu araştırma alanında bir miktar ilerleme kaydedilmiştir [283] ve psikiyatrik ve nörolojik bozukluklarda prestimülatör fMRG kullanan nöronavigasyon kullanılmıştır. [284, 285] Bu zorlukların üstesinden gelen non-invazif bir beyin stimülasyon tekniği bu alanda daha fazla gelişme kaydetmek için oldukça faydalı olacaktır.

2002 yılında, psikiyatrik hastalarda nörogörüntüleme deneyleri gerçekleştirirken, DYOUD'nın nöromodülasyon amaçlarıyla kullanılabileceği öne sürülmüştür. [286] US dalgaları insanın duyabileceği eşiğin (yaklaşık 20 kilo hertz (kHz)) üzerinde mekanik dalga yayımlarıdır. US vücut ve beyinde tanısız amaçlarla, [287] ve tromboliz gibi terapötik amaçlarla yaygın olarak kullanılmıştır. [288] Doppler görüntülemeye kullanıldığı haliyle düşük yoğunluklu US yetişkinlerde güvenli olarak görülmektedir, [289] ancak bu durum yakın zamanda fetal değerlendirmelerde sorgulanmıştır. [290] US özel olarak tasarlanmış transduserler kullanılarak sadece birkaç milimetrelik çapa sahip bir odağa yönlendirilebilir. [291] Bir süre boyunca US dalgalarının kafatasına penetre olabileceği ve YYOU'nun termal özelliklerini kullanarak ablasyon amacı ile beyinde odaklanabileceği bilinmektedir. [292] US enerjisi elektromanyetik olmaktan ziyade mekanik olduğundan, yüksek boyutlu çözünürlüklü beyin haritalaması için fMRG ile eşzamanlı kullanımı görece daha açıktır. YYOU terapötik olarak kullanılırken, beyin üzerindeki önemli biyolojik etkilerin belirlenmesi ve etkilenen alanın kesin boyutsal çözünürlüğü fMRG görüntü kılavuzu ve geri bildirim cevapları açısından hayati öneme sahiptir. fMRG'nin kılavuzluk ettiği YYOU ile ablasyon deneysel olarak ağır[293]ve beyin tümörlerinin yok edilmesi için kullanılmıştır. [294]

Odaklanmış ultrasonun güvenliliği bir çok deneysel makalede değerlendirilmiştir. YYOU'a tamamen zıt şekilde, DYOUD kullanan bu çalışmaların hiç biri histolojik, KBB veya davranışsal verilerle ilgili herhangi bir problem göstermemiştir. Daha önceki yayınlar tutarlı olarak rapor etmemiş hatta hasar kanıtını dahi aramamış olsa da, yakın zamanlarda yapılan birçok çalışma DYOUD'nın neden olduğu hasarların bulgusunu iyice araştırmış ve bir bulguya rastlanmamıştır. [34, 35, 37] Hatta DYOUD'nın 48 saatlik kronik stimülasyonu ile dahi nöral membranların ince yapısında değişiklik görülmemiştir. [36] Düşük frekanslı ve

düşük enerjili DYOUND hasara neden olan eşik değerin oldukça altına düşer. Yüksek frekans (5.7 mega hertz (MHz)) ve yüksek enerjide bile (280 W/cm²), doku hiç hasar görmeyebilir [49, 295] hasar için olan eşik değeri daha yüksek olabilir. DYOUND'nın güvenilirliğini daha iyi izah etmek için, KBB'nin parçalanması amacıyla bir kontrast ajan enjekte edilen ve genellikle daha yüksek yoğunluklu sürekli odaklanmış ultrason kullanılan çeşitli çalışmalarda, uygulama odağının dışında herhangi bir hasar rapor edilmemiştir. [296, 297] KBB parçalanmasında bile, düşük enerjilerde odak içerisinde hafif bir inflamatuvar cevap ile birlikte minimal düzeyde apoptoz veya iskemi bulgusu oluşmuştur. Bir bütün olarak, US'un indüklediği doku hasarının ısınmadan kaynaklandığı görülmektedir, yine de sıcaklıktaki artış nöronal aktivite üzerindeki etkilere tesir etmesi için yeterli değildir. [298] Bu nedenle, DYOUNDbüyük olasılıkla dokularda yaralanmaya neden olmadan nöral aktiviteyi değiştirebilir. Aynı zamanda, YYOU kullanan ablasyon çalışmaları amaçlandığı üzere odaktaki sinir dokularına hasar verse de, bu çalışmaların hiç biri US'un yoğunluğunun DYOUND'nın yoğunluğunu aştığı yerlerde odak dışında hücrel hasar rapor etmemiştir. 50 yılı aşkın süredir, beyine US uygulanmasını içeren sayısız çalışma, genel olarak DYOUND yönteminin güvenli olduğunu ve dikkatli bir şekilde insan kullanımına geçilebileceğini öne sürmüştür.

Son on yılda DYOUND'nın nöromodülasyon özellikleri ile ilgili araştırmalarda artış görülmüştür. US'un çoklu dizilişli (array) transkraniyal iletimindeki gelişmeler ve rehberlik etmesi amacıyla gerçek zamanlı fonksiyonel görüntüleme ile, DYOUND'nın insan beyin haritalamasında kullanılma olasılığı hızlı bir şekilde yaklaşmaktadır. Tsui ve ark. [39] periferik sinirlerin etki potansiyelinin modülasyonuna yol açan US parametrelerini saptamıştır. US'un daha kısa süreli vuruşlarının etki potansiyellerinin amplitüdünü ve hızını aktive ettiği görülürken, daha uzun vuruşların inhibe ettiği tespit edilmiştir. [39] Arizona Eyalet Üniversitesi grubunun yakın zamanlardaki bir yayını hem sadece DYOUND'nın farelerin hipokampal preparasyonlarında nöromodülasyonu indüklediğini gösteren raporları doğrulamış, hem de bu etkinin voltaj duyarlı sodyum ve kalsiyum kanallarını etkileme gibi olası mekanizmalarına ışık tutmuştur. [36] Ardından, aynı grubun yayınladığı bir makale [298] farelerin motor kortekslerinde in vivo olarak US vuruşlarını kullanarak ilk defa nöromodülasyonu açıklamıştır. Motor korteks üzerinde odaklanmış DYOUND kullanarak, transkraniyal stimülasyon sırasında pençelerin hareketlerini uyandırabilmişlerdir. Aynı raporda, DYOUND hipokampus üzerine odaklandığında, CA1'deki doruk aktiviteyi

arttırabilmişlerdir. Her iki durumda da, KBB parçalanması veya apoptoz bulgusuna ulaşmamışlardır.

Sinir iletiminin odaklanmış ultrason ile modülasyonu ile ilgili birçok çalışma yakın zamanda Brigham ve Kadınlar Hastanesi, Harvard Tıp Fakültesi tarafından rapor edilmiştir. Yakın zamanlarda yayınlanan bir makalede, Colucci ve ark. [40] DYOD'un su kurbağasının siyatik sinirinde kullanarak iletim baskılanması için güvenlik eşik değerlerini araştırmıştır. Araştırmacılar, sinirin odaklanmış ultrason dalgaları ile stimülasyonunun iletkenliği 45 dakikaya kadar olan bir süre boyunca geri dönüştürülebilir bir şekilde baskılayabildiğini belirlemiştir. Bazı etkilerin, termal olarak kontrol edildiği ve bazılarının termal baskılama ile açıklanamayacağı tespit edilmiştir. Spesifik olarak, termal olmayan etkiler düşük frekanslı sonikasyon ile mevcuttu (690 kHz). Yoo ve ark. [34] DYOD'un tavşanlarda gerçek zamanlı bir in vivo fonksiyonel MRG nöromodülasyon çalışmasında araştırmışlardır (n = 19). DYOD, kan oksijenlenme seviyesinde bağlı (BOLD) fMRG sinyalinde gözlenebilir değişikliklere neden olmuş, ancak kayıt etme işlemine girişimde bulunmamıştır. BOLD sinyalin aktivasyonu ve baskılanması çeşitli odaklanmış ultrason vuruş parametreleri ile elde edilebilir.

Bir flaş (strobe) ışık stimülasyonuna verilen görsel (visuel) korteks cevapları geri dönüştürülebilir bir şekilde 11 dakikaya kadar, postmortem histolojik analizde KBB veya doku hasarına neden olmaksızın baskılanabilir. [41, 42] Bu aşamadan itibaren, Brigham ve Kadınlar Hastanesi grubu, BOLD sinyal baskılamasını elektro ensefalogram (EEG) görsel olarak uyarılmış potansiyeller kullanarak doğrulamış ve epileptik krizler üzerindeki baskılama etkisini araştırmıştır. [35, 42] Sıçanlara pentilentetrazolün (PTZ) enjekte edildiği ve ardından krizlerin baskılanması için DYOD stimülasyonuna uygulandığı sıçan PTZ nöbet modeli kullanılmıştır. 30 hayvan üzerinde yapılan bir çalışma, düşük yoğunluklu, vuruşlu odaklanmış ultrason sonikasyonunun PTZ'un intraperitoneal enjeksiyonundan sonra indüksiyonunu takiben akut epilepsinin EEG kayıtlarında gözlenen epileptik sinyal patlamalarının sayılarını baskıladığını göstermiştir. Bu bulgu, DYOD'nın epilepsi tedavisindeki potansiyel bir rolüne işaret etmektedir.

Bir başka çalışmada farelerin somatosensorial korteksleri DYOD ile stimüle edilmiş, motor kortekte potansiyel dalgalanmalar kayıt edilmiş, aynı hayvanlarda somatosensorial korteksin internöron ve piramidal hücre nöronlarının optogenetik

stimülasyona yanıtları ultrason ile üretilen dalga formları ile karşılaştırılmıştır. Optojenik olarak uyarılan piramidal hücre nöronları ile ultrasonla uyarılan dalga formları arasında benzerlikler görülmüş ancak aranöronlarda benzerlik gözlenmemiştir. Bu durum ultrason stimülasyonunun kortikal piramidal nöronların uyarılmasına aracılık edebileceği belirtilmiştir. [299]

Ratlarda yapılan bir nöromodülasyon çalışmasında, görsel olarak uyarılmış potansiyel büyüklüğü, sonifikasyon sırasında % 5 KO / (DC, 100 Hertz (Hz) DTF / PRF ve 3 W/cm²'lik Isppa kullanılarak bastırılmış, ancak daha düşük bir akustik yoğunluk ve çalışma döngüsü kullanıldığında bu baskılayıcı etki oluşmamıştır. Önerilen uyarıcı nöromodülasyon olan daha yüksek yoğunluk ve KO / DC uygulamasında, görsel olarak uyarılmış potansiyel büyüklüğünde hafif bir yükselme meydana gelmiştir. [300]

Bir başka çalışmada non invaziv odaklanmış ultrason stimülasyonunun, rat hipokampusünde gama osilasyonları üzerine etkisine bakılmıştır. Bu çalışmada kortikal bilgi işleme ve kognitif fonksiyonlarda önemli rol oynayan ve nöronların senkronizasyonunda görev alan gama dalgalarını modüle ettiği gösterilmiştir. Tanı ve tedavi amacı ile beyin ritimlerine müdahalede invaziv olmayan güçlü bir yöntem olduğu belirtilmiştir. [301]

Ratlarda yapılan bir çalışmada DYOUN kullanılarak KBB bozulmuş ve hipokampusüne nörotoksin özelliği olan "quinolic asit" gönderilerek hedef alanlar yıkılmıştır, bu sonuçlar nörolojik bozuklukların tedavisinde umut vaatmektedir. [302]

Tavşanlarda karaciğer tümör tedavisinde adriamisin mikrokabarcıklar ile bağlanarak DYOUN aracılığı ile lokal dağıtılması sağlanmıştır. Tümör profilasyonun geciktiği ve apoptozisin arttığı bulunmuştur. [303]

Başka bir çalışmada abortusu takiben ratların abdomen bölgesine tekrar eden 5 gün boyunca DYOUN uygulanmış endotelin-1, nitrojen monoksit (NO) ve oksitosin reseptör seviyeleri ölçülmüş, nitrojen monoksit (NO) seviyelerinde anlamlı bir fark bulunmazken endotelin-1 ve oksitosin reseptör seviyeleri anlamlı olarak US alan grupta artmış, DYOUN'un uterin involusyonunda etkili olabileceğini belirtmişler. [304]

Farelerde yapılan bir çalışmada, murine B 16 melanom tümör modeli kullanılarak, DYOUN ile hedef hücreler üzerinde zayıf mekanik ve termal stres oluşturularak, tümör antijenlerinin immunojenik sunumunu artırmak sureti ile tümör kaynaklı T hücre toleransının

geri çevrilebildiği bulunmuştur. Dahası ablatif olamayan düşük enerjili odaklanmış ultrason ve düşük fraksiyonelli ablatif radyoterapi kombinasyonu ile primer kanserin kontrolü ve metastazların azaltılması gösterilmiştir. [305]

Bir çalışmada beyin içinde odak noktasının belirlenmesi için tedavi alanının görüntülenmesinde kullanılan bir yöntem olan gerçek zamanlı ikili mod ultrason dizileri (DMUA) görüntüleme sistemi, rodentlerde uygulama ve lokalizasyon açısından araştırılmıştır. Çalışma sonucunda DMUA odağı kafatasından geçerken yayılması nedeni ile bozulmuştur. Ancak yine de submilimetrik hacimde lokalize ısınma etkisi oluşturabilmiştir. Ek olarak beyin dokusundan DMUA transkraniyal yansıma verileri sıcaklık değişiminin güvenilir biçimde tahmin edilmesine imkan vermiştir. [306, 307]

Ratta yapılan bir çalışmada, derin beyin aktivitesinin invaziv olmayan EEG tabanlı haritlaması amacı ile bir mekansal etiketleme mekanizması olan darbeli odaklanmış ultrason kullanılmış. Bu çalışma bir başlangıç çalışması olması nedeni ile önem arz etmektedir. [307]

Yoo ve ark. bir çalışmada stimülasyon süresince DYOUD'nın odağındaki sıcaklığı ölçebildiler. [42] Uzun süreli stimülasyonlar kullanırken bile sıcaklık artışı tespit edilmediğini bildirdiler. Aynı zamanda, sıçanlarda ve tavşanlarda in vivo olarak başarılı bir şekilde kullandıkları uyarıcı ve inhibe edici sonikasyon parametrelerini de tanımladılar. [42, 308]

Arizona Eyalet Üniversitesi'nden Tyler ve grubu farelerde in vivo ortamda aktivasyon kaydetmiştir. [36, 298] Bu grup aynı zamanda DYOUD'nın sinir dokusu üzerindeki etkisinin olası mekanizmalarına da açıklık getirmiştir. [36, 37]

Odaklanmış ultrason parametrelerinin kullanım aralığını netleştirmek amacı ile hayvan çalışmalarında değişik hayvan modellerinde çeşitli metodolojiler denenmektedir. Araştırmalar insan olmayan primatlara dahi genişletilmiştir. Makaklarda, seğirme karşıtı (AS) görev esnasında sol frontal göz bölgelerine uygulanan odaklanmış ultrason seğirme karşıtı (AS) gecikmelerini özellikle geciken ipsilateral AS'yi önemli ölçüde modüle etmiştir. [309] Anestezi uygulanmış sıçanlarda, talamusa uygulanan odaklanmış ultrason istemli hareketin ve çimdiklemeye verilen refleks cevabının ortaya çıkma süresini kısaltmıştır. [310] Bu odaklanmış ultrasonun bitkisel hayat gibi bilinç bozukluklarının tedavisinde faydalı olabileceğini göstermektedir. Odaklanmış ultrason aynı zamanda yeni sinirlerin büyümesine de yardımcı olabilir. Bir çalışmada, mikro baloncuklarla odaklamalı ultrason, farelerde

hipokampal nörojenezi arttırmıştır. [311] Bunun özellikle Alzheimer olmak üzere neörodejeneratif bozukluklarda uygulamaları vardır. Diğer çalışmalar da, odaklanmış ultrasonun sinir hücresi büyümesini ve morfolojisini dahi etkileyebileceğini göstermiştir. [312]

Daha gerçekçi modeller, fokal basınca ve boyuta [313] daha çok yaklaşılmasını sağlamış ve hayvan çalışmaları odaklanmış ultrasonun mükemmel hedeflemeye sahip olabileceğini göstermiştir. Örneğin, odaklamalı ultrason sıçanlarda yüksek boyutsal spesifiklikle glukoz metabolizmasında artışa neden olmuştur. [314] Ek olarak, akustik odağın boyutu genellikle yarı maksimumda tam genişlik (Full Width Half Maximum - FWHM) olarak açıklanırken, aynı grup odaklanmış ultrasonun nöromodülasyon alanının daha fazla lokalize olduğunu ve %90'lık maksimumda tam genişliğe daha iyi yaklaştığını bulmuştur. [315] Bu şekilde bir odaklamayla; küçük fare motor korteksinde dahi, rostral ve kaudal alanları ayrı ayrı stimüle etmek mümkündür. [316]

Fiziksel prensipler nedeniyle, US'un frekansı ne kadar düşükse fokal alan o kadar büyüktür. Bu durumda, daha yüksek frekanslı US sinyali kafatası tarafından ciddi sönümlenme gösterir. Yaklaşık 2 MHz (2.25 ve 1.75 MHz)'lik iki transdüser kullanarak, 500 kHz'lik etkin frekansa ancak çok küçük odağa sahip olan "değiştirilmiş odaklamalı ultrason" oluşturabilmiştir. [317] Bu şekilde fare beynini oldukça yüksek boyutsal spesifiklikle değiştirebilmişlerdir. Ancak, bu ilgi çekici bir teknik olsa da, yaklaşık 700 kHz'nin üzerindeki frekanslar insan kafatası tarafından sönümlendiğinden insan uygulamalarında etkili olmayabilir.

Yüksek boyutsal spesifiklik oldukça açıkken, nöromodülasyon için gereken minimum yoğunluk ile ilgili hala geniş bir anlaşmazlık bulunmaktadır. Bir grup, sıçan beyninin somatomotor alanlarını stimüle ederek kuyruk hareketini gözlemlemiştir. Ton patlaması süresi (TPS) / Tone burst duration (TBD), ultrason transdüserinin merkez frekansı, KO / (DC, ve stimulus süresi (SS) / stimulation duration (SD) gibi sistematik olarak değişen birçok parametreye rağmen, en düşük etkili Ispta 2.5 W/cm²'di [249], ki bu değer FDA limitinden 3.5 kat daha fazladır. [318]

Odaklanmış ultrason nöromodülasyonunun mekanik bir mekanizmaya sahip olduğu ve bu nedenle basınca bağlı olduğu [319] gittikçe daha çok netleşmektedir; ancak ideal basınçların ve yoğunlukların ne olduğu henüz belli değildir. Birçok grup, nöromodülasyonun

FDA'in tanısal yoğunluk limitinin üzerinde bir stimülasyon gerektirdiğini saptarken [316], diğer pek çok grup 720 mW/cm² limitinin altında etkili stimülasyona ulaşmış [320, 321] ve bazıları 720 mW/cm²'nin oldukça altındaki çok daha düşük yoğunlukların işe yaradığını tespit etmiştir. [309, 322] Anestezinin derinliği bir rol oynuyor gibi görünse de [319], değerlerdeki geniş uyumsuzluğu tamamen açıklayamaz ve transkraniyal sönümleme tarafından açıklanamaz.

Aynı zamanda dalgalı (pulsed) stimülasyona karşı sürekli stimülasyonun etkinliği ile ilgili de anlaşmazlık bulunmaktadır. Birçok grup dalgalı sonikasyon kullanmış olsa da, bir grup sürekli sonikasyonun bir miktar daha etkili olduğunu tespit etmiştir. [323] Buna rağmen, sürekli US için sonifikasyon süreleri oldukça kısadır (20 - 480 ms arası). Ancak, odaklanmış ultrason için ideal parametreler ne olursa olsun, tüm bu çalışmalar etkili nöromodülasyonun doku hasarı olmadan elde edilebileceği konusunda fikir birliğindedir.

Son yıllarda insanlarda US ile nöromodülasyon deneyleri rapor edilmiştir. Arizona Üniversitesi'ndeki bir insan çalışması, transkraniyel ultrason (TUS)'un ruh hali ve etkisi üzerindeki terapötik kullanımına bakmıştır. Bu çalışma standart bir klinik ultrason cihazı kullanmıştır. Spesifik olarak odaklamalı ultrasonu kullanmamış olsalar da, sonuçlar yine de uygulanabilir olabilir. [321] Katılımcılar kronik ağrıdan yakınan gönüllü hastalardır. Ultrason test çubuğu bir hekim tarafından arka frontal korteks üzerinden, maksimum ağrıya kontralateral olacak şekilde kafa derisine uygulanmıştır. Ultrason makinesinin kendisi, ayrı bir araştırmacı tarafından çalıştırılmıştır, ki bu çalışmanın çift kör bir modelle gerçekleştirilmesini sağlamıştır. TUS 15 saniye boyunca standart B-modunda uygulanmıştır. Tedaviden önce ve sonra, denekler ağrı ve ruh hali ile ilgili subjektif raporları tamamlamıştır. Tüm denekler, randomize bir düzende hem US hem de plasebo almıştır. Sonuçlar, kısa US maruziyetinin ruh hali ve global etkide en az 40 dakika süren bir gelişmeye yol açtığını göstermiştir.

Bir diğer çalışmada transkraniyal odaklamalı ultrasonun uyandırılmış potansiyeller üzerindeki etkisini ve duyuşal keskinliği artırma yeteneğini incelemiştir. Bu çalışmalarda, odaklanmış ultrason medyan sinirin eşzamanlı stimülasyonu sırasında somatosensori korteks üzerinden kafa derisine uygulanmıştır. Sonuçlar, odaklanmış ultrason stimulus ile uyandırılmış birçok potansiyelin amplitüdünü önemli ölçüde azaltmıştır. [50] Ek olarak, odaklanmış ultrason intrinsik EEG aktivitesinin EEG dinamiklerini, uyarılmış potansiyellerde

frekans bandına bağılı bir şekilde değiştirmiştir. [324] Bu sonuçlar, odaklanmış ultrasonun beynin elektriksel aktivitesini değiştirebileceğini göstermektedir. Bu alışma aynı zamanda, somatosensori korteksin odaklanmış ultrason nöromodülasyonunun algı üzerinde bir etkisi olduğunu göstermiştir. Deneklerden elleri üzerindeki dokunma uyarılarını ayırt etmeleri istendiğinde, odaklanmış ultrason stimülasyonu hem boyutsal hem de geçici ayırt etmeyi iyileştirmiştir.

En önemlisi, bu çalışmada 720 mW/cm²'lik tanısal US grntlmesi için Ispta FDA limitinden daha yüksek bir büyüklük olan, 8.6 W/cm²'lik boyutsal tepe zamansal ortalama yoğunluk (Ispta) [249] kullanılmış olmasına rağmen herhangi bir olumsuz etki rapor edilmemiştir. [249] Buna rağmen, 23.87 W/cm²'lik [249] Isppa FDA'in tanısal US görüntüleme için 190 W/cm²'lik limitinin [249] oldukça altındadır. Çalışmada termal hasarı engellemek için kısa süreli sonikasyonlar (0.5 s) dikkatli bir şekilde kullanılmıştır. Ancak bu FDA limitleri sadece tanısal US grntlmesi içindir. Böyle limitler odaklanmış ultrason nöromodülasyonu için mevcut bulunmamaktadır. FDA'in odaklanmış ultrason nöromodülasyonu için önceden belirlenmiş limitleri olmadığından, bu veriler odaklanmış ultrasonun hangi dozlarının güvenli olarak düşünülebileceğine karar verilmesinde yardımcı olmak için faydalıdır. Yakın zamanda, Yoo [325], somatosensori korteksi hedef alan bir başka bir insan çalışması sunmuştur. Çalışmaya katılan tüm denekler hareket hissi rapor etmiştir. Sonuçlar ayrıca odaklanmış ultrason nöromodülasyonunun insan algılarını etkileme yeteņini göstermektedir.

Yukarıdaki çalışmalarının tümü insan beynindeki spesifik bölgeleri hedeflemeyi amaçlarken, bunlardan hiç biri hedef bölgesinin etkilendiği bir doğrulama olarak fonksiyonel görüntüleme kullanmamıştır. Fonksiyonel görüntülemenin olmayışı, stimülasyon odağının nerede konumlandığını ve bu aktivitenin söz konusu alanda gerçekten değiştirilip değiştirilmediğini dokümante etmeyi zorlaştırmaktadır. Legon ve ark.'nın [50] gerçekleştirdiği ve EEG'nin kullanıldığı çalışma bu bilgilerin bir kısmını sağlamıştır. EEG iyi bir 3D boyutsal znrlğe sahip değildir. İlave alışmalar, hedeflemeyi netleştirmek ve nöromodülasyonun etkisini dokümante etmek için MR rehberliğinde fMRG geri bildiriminin kullanılmasından istifade edecektir.

İnsanlarda yapılan bir çalışmada insan somatosensoriyal korteksinin odaklanmış ultrason stimülasyonu ile belirgin şekilde somatosensoriyal duyumlar meydana gelmiş aynı

zamanda uyarılmış EEG potansiyelleri de beraberinde görülmüştür. Odaklanmış ultrason sağlıklı gönüllülere el ile ilgili somatosensoriyal korteks bölgesine verilmiştir. Sonifikasyon uyarılan hemisferin kontralateralindeki el alanı üzerinde geçici taktitl duyumları ortaya çıkarmıştır. Bu sırada EEG kayıtlarında sonifikasyon spesifik uyarılmış potansiyelerin ortaya çıktığı gösterildi. Görüntü rehberliğinde transkraniyal odaklanmış ultrason kullanarak beynin geçici ve lokalize stimülasyonu, bölgeye özgü beyin fonksiyonlarının invaziv olamayan değerlendirme ve modifikasyonu için yeni bir araç olarak hizmet edebilir. [326]

Yapılan yeni çalışmalar major depresif bozukluğun patogenezinde beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) seviyesindeki düşüklüğün rol oynayabileceğini ileri sürmüştür. [327] Dahası antidepresanlar çeşitli terapötik mekanizmalar ile beyinde BDNF'i ve erişkin hipokampusünde nöroenezisi artırmada görev almaktadır. [328] Yakın zamanda yapılan hayvan çalışmalarında farelerde transkraniyal odaklanmış ultrasonun BDNF ve nöroenezisi artırabildiği gösterilmiştir. [298, 311] Dahası KBB'nin artırılması ile beyine serum BDNF verilmesi artırılabilir. Son zamanlarda yayınlanan bir makalede odaklanmış ultrasonun bu çalışmalar ışığından beyinde BDNF seviyesini ve hipokampüste nöroenezisini artırabileceği, bu sayede major depresif bozuklukta bir alternatif tedavi stratejisi olabileceği ileri sürülmüştür. [329]

3.7. Amaç

Bilindiği gibi derin beyin yapılarının spesifik bir şekilde uyarılması konusunda etkili tek yöntem DBS'dur. Madde bağımlılığı patogenezinde merkezi öneme sahip NA'nın DBS ile uyarılmasının morfin bağımlılığı üzerinde olumlu etkileri çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada da invaziv olmayan bir yöntem olan odaklanmış ultrason aracılığı ile yine aynı bölgenin uyarılmasının, koşullu yer tercihi modelinde morfinle koşullandırılmış ve sonrasında morfinle koşullandırmaya devam edilen sıçanlarda, morfine bağlı yer tercihi üzerindeki etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

Çalışma prosedürü sırası ile deney-1 ve deney-2 olmak üzere iki aşamadan oluşturulacaktır.

Deney-1: Randomize olarak seçilen her iki (SF ve morfin) gruptaki ratlar KYT protokolü uygulanacaktır. Morfin grubunda KYT protokolü ile morfine bağlı koşullu yer tercihi gösterilmeye çalışılacaktır.

Deney-2: Bu aşamda morfin grubu randomize olarak US ve SHAM grupları olarak ikiye ayrılacaktır. Ultrason probunun yerleştirilebilmesi için tüm ratların kalvariyumlarına mıknatıs yapıştırılacaktır. SF grubuna serum fizyolojik, US ve SHAM gruplarına morfin enjeksiyonları yapılarak KYT aparatında koşullandırma işlemlerine devam edilecektir. Bu esnada US grubu, uyanık vaziyette NA'ya odaklanmış DYOU uyarımı alacak, SHAM grubu ise sahte DYOU uyarımı alacaktır. Deneyin son günü, US ve SHAM gruplarının KYT aparatında morfine bağlı koşullu yer tercihi süreleri değerlendirilecektir.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı (BEDEHAL), Türkiye’de üretilen 26 tane erişkin, ağırlığı 300-490 gr arasında değişen Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar gıda ve su serbest erişim ile her kafeste 4 tanesi olacak şekilde yerleştirildi. 22-25°C sabit sıcaklık; % 60-70 nem, 12/12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünün olduğu ortamda barındırıldı. KYT aparatları 20 lux ışık ile aydınlatıldı, deney havalandırılmalı ve ses geçirmez odada yürütüldü. Bütün deneyler döngünün aydınlık evresinde yapıldı. Hayvanların deneysel koşullara adapte olabilmesi için, ratlar deney başlamadan 1 hafta önce labrotuvar ortamına ve ele alıştırdı. T.C. Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 29.01.2015 tarihli toplantısında 2015/44 sayılı kararı ile bu çalışmanın etik kurulu ilkelere uygun olduğu onaylanmıştır.

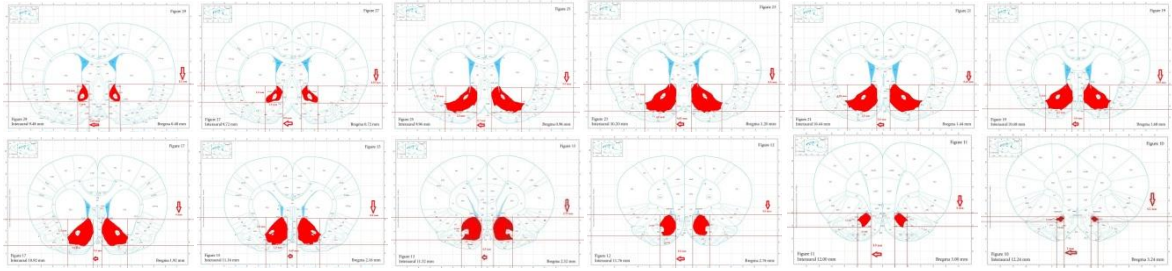
4.2. Koşullu Yer Tercihi (KYT) Aparatı

KYT aparatı, test seansı başlangıcında farelerin yerleştirildiği boyutları 30 cm x 30 cm x 30 cm olan duvarları siyah ve beyaz renklileksiglass malzemedir, taban desenleri birbirinden farklı metal plakalardan iki tane eşit büyüklükte kare şeklinde birbirine bağlı kutulardan oluşmaktaydı. Siyah ve beyaz odaları birbirinden ayıran kaldırılabilir giyotin kapak bulunmaktaydı. Bu iki bölüm de farklı görsel ve temas ipuçlarını sağlamak üzere bu şekilde tasarlandı. [330] Her ratın kafeslerde geçirdiği zamanı ölçmek üzere kameralarla kayıt yapıldı.

4.3. İlaçlar ve Uygulamalar

Morfin hidroklorid Toprak Mahsülleri Ofisi A.Ş. Yurici Pazarlama Servis Şefliği, Ankara, Türkiye’den temin edildi. Morfin hidroklorid her gün uygulamadan önce serum fizyolojik olarak çözülerek hazırlandı. Morfin hidroklorid (10 mg/kg daha sonra 20 mg/kg) ve serum fizyolojik periton içine (i.p.) eşit volümlerde (0,5-1ml) uygulandı. Cerrahi işlem esnasında xylazine (10 mg/kg), ketamin (80 mg/kg) i.p. yolla, sıçanlar sabitleyici aparata alınırken inhaler yolla izofluran (%1.5’lik) verildi.

4.4. Odaklanmış Ultrason Yapılacak Beyin Bölgesinin (Nukleus akumbens) Anatomik Lokalizasyonu ve Ölçüleri



Şekil 4: Rat beyni koronal kesitlerinde Nuc. Accumbensin Stereotaksik görüntüleri (The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 7.Baskı, Paxinos ve Watson., 2014 den alınmıştır)

Şekil 4 de görüldüğü üzere ratlarda NAcburun - kuyruk ekseninde (X) bregmadan nazal yönde yaklaşık 0.48 mm ilerde başlamakta ve 3.24 mm ilerde sonlanmaktadır. Her iki NAc'in sağ - sol ekseninde (Y) orta hatta yakın yüzeyi orta hattan yaklaşık 0.4 - 1 mm arası uzaklıkta başlamakta kafatasına yakın lateral yüzeyi ise orta hattan yaklaşık 1.5 mm -3.5 mm arası değişen uzaklıklarda sonlanmaktadır. Kafa kubbesi - çene ekseninde (Z) ise bregma seviyesinden yaklaşık 5,6- 6,4 mm derinlikler arasında başlamakta, 6,6 - 8.5 mm arası derinliklerde sonlanmaktadır. Her kesitte farklı yüzey alanı izlenmekte olup en geniş yüzey alanı burun - kuyruk ekseninde (X) bregmadan nazal yönde yaklaşık 1.20 mm – 2.50 mm uzaklık arası bölgede izlenmektedir (1,3 mm uzunluk). Bu bölge orta hattan 0,55 mm lateralde başlamakta 2,55 mm lateralde sonlanmaktadır (2 mm genişlik). Bu bölgenin kafa kubbesi - çene eksenindeki (Z) yeri ise bregma seviyesinden yaklaşık 6.1 mm – 8.2 mm derinlik arası bölgedir (2,1 mm derinlik). Bu durumda kabaca X ekseninde 1,3 mm uzunluk, Y ekseninde 2 mm genişlik ve Z ekseninde 2,1 mm derinlik boyutlu, bir hacmin NA'in içine sığacak optimal düzgün geometrik hacim olduğu söylenebilir.

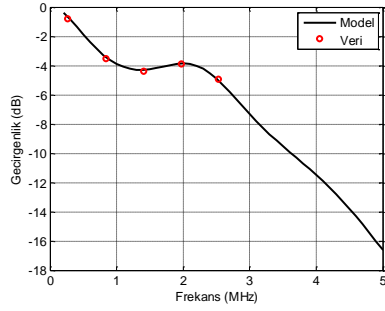
4.5. Simülasyon Öncesi Parametre Çalışması

4.5.1. Odaklanmış ultrason cihazının oluşturulması ve sınanması: elektronik ve teknik detaylar

Odaklanmış Ultrason uygulamalarında kullanılan cihazların iki ana bileşeni vardır; odaklı ultrason dalgalarını oluşturan transdüser ve bu transdüseri süren elektronik devre. Bu bileşenlerden transdüserin seçimi ve tasarımı en kritik olanıdır. Transdüser tasarlandıktan sonra elektronik sürüş devresinin seçimi de direk olarak yapılabilir.

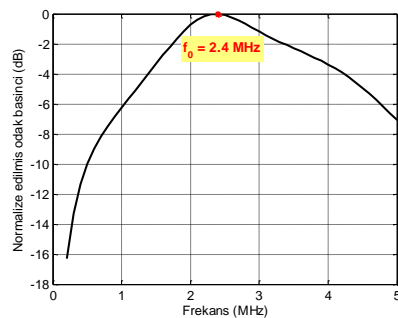
Odaklı Ultrason transdüserinin tasarımı transdüserin çalışma frekansı, boyutu, geometrisi (dairesel, dikdörtgen) ve eleman sayısı (tek eleman, çift eleman ya da çok elemanlı dizin) gibi parametrelerinin tayin edilmesini içerir ve bunlar da tamamen uygulamaya bağlıdır. Önerilen bu çalışmada rat modeli kullanıldığı için transdüser boyutu aşağı yukarı bellidir. Odaklı ultrason uygulanmak istenen NAc bölgesine ultrasonun ulaşımını sağlayacak kafatası açıklığı 6-7 mm çapındadır, dolayısıyla transdüserin boyutlarının da bu civarda olması en uygunudur.

Tasarımın ikinci aşaması ise en kritik parametrelerden biri olan transdüserin çalışma frekansının tayinidir. Odaklanmış ultrason uygulamalarında tipik olarak ultrasonla görüntüleme frekanslarına nazaran daha düşük frekanslar kullanılır. Bunun sebebi görüntüleme frekanslarındaki akustik zayıflama katsayısının çok yüksek olması ve bu frekanslarda yeterli akustik gücün hedefe ulaştırılamamasıdır. Öte yandan çok düşük frekanslarda da hem emilimin azalması hem de odaklama gücünün zayıflaması sebebiyle odaklı ultrasonun etkisi azalır. Esasında her spesifik odaklanmış ultrason uygulaması için optimum bir çalışma frekansı vardır ve basit bir şekilde hesaplanabilir. [331] Rat kafatası içinde 7 mm derinlikte yer alan NAc bölgesine optimum bir şekle akustik enerji ulaştırmak için kullanmamız gereken bu frekansı bulmak için öncelikle rat kafatasının geçirgenliğini hesaplamamız gerekir. Rat kafatasının geçirgenliğini hesaplamak için ise kafatası kalınlığı, kafatası kemiğinin akustik empedansı, kemikteki ses yayılım hızı ve rat kafatası ve beyninin emilim katsayılarını bilmek gerekir. Literatürde bu değerler deneysel olarak belirli aralıklar içinde verilmiştir. O'Reilly, ve arkadaşları 2011 de deneysel olarak rat kafatasının akustik geçirgenliğini ölçmüşlerdir. Şekil 4'te bu ölçüm verileri kırmızı yuvarlaklar olarak gösterilmiştir. Rat kafatasının matematiksel geçirgenlik modelini yukarıda bahsettiğimiz akustik parametreleri uygun şekilde ayarlayarak verilerle Şekil 4'te görüldüğü gibi örtüşecek hale getirdik. Görüldüğü gibi düşük frekanslarda rat kafatasının geçirgenliği oldukça iyi iken frekans yükseldikçe hızla düşmektedir. Mesela 3,5 MHz civarlarında akustik gücün sadece onda biri rat kafatasından geçebilmektedir.



Şekil 5: Sıçan kafatasının geçirgenliğini gösteren veri ile modelin karşılaştırılması. Kafatası kalınlığı olarak 0.71 mm kullanılmış ve kafatası özellikleri, yani ses hızı, akustik empedans ve akustik sönümlenme katsayısı gibi parametreler veriye uyacak şekilde ayarlanmıştır. Bu sayede verilerle örtüşen bir akustik geçirgenlik modeli oluşturulmuştur

Fakat Şekil 5'teki grafik bütün modeli içermemektedir. Rat beyninin frekansa bağlı akustik emilim katsayısını da hesaba katmak gerekir. Örneğin çok düşük frekanslarda kafatasının geçirgenliği çok yüksek olsa da bu frekanslardaki ultrason dalgalarının beyin dokusuyla olan etkileşimi de çok azdır ve istenilen uyarı etkisini (ki uyarı etkisi ultrasonun emilim katsayısı ile orantılıdır) yapamaz. Bu yüzden Şekil 5'teki grafiği rat beyninin akustik emilim katsayısı ile (yaklaşık olarak 0.75 dB/MHz/cm) çarpmak gerekir. Çıkan sonuç Şekil 6'te gösterilmiştir. Bu şekilden anlaşılacağı gibi rat kafatasının 7 mm derinliğindeki NAc bölgesinde en etkin odaklanmış ultrason uyarısını yapabilmek için 2.4 MHz çalışma frekansını kullanmak en uygundur. 2.4 MHz'in altına inince odaklanmış ultrasonun etkinliği azalırken (mesela 1.2 MHz civarında akustik güç 2.4 Hz'e göre 4 kat azalır), üstüne çıktığında ise akustik zayıflama yüzünden odağa yeterli güç iletilemez (mesela 5 MHz civarında da akustik güç 4 kat azalmaktadır).



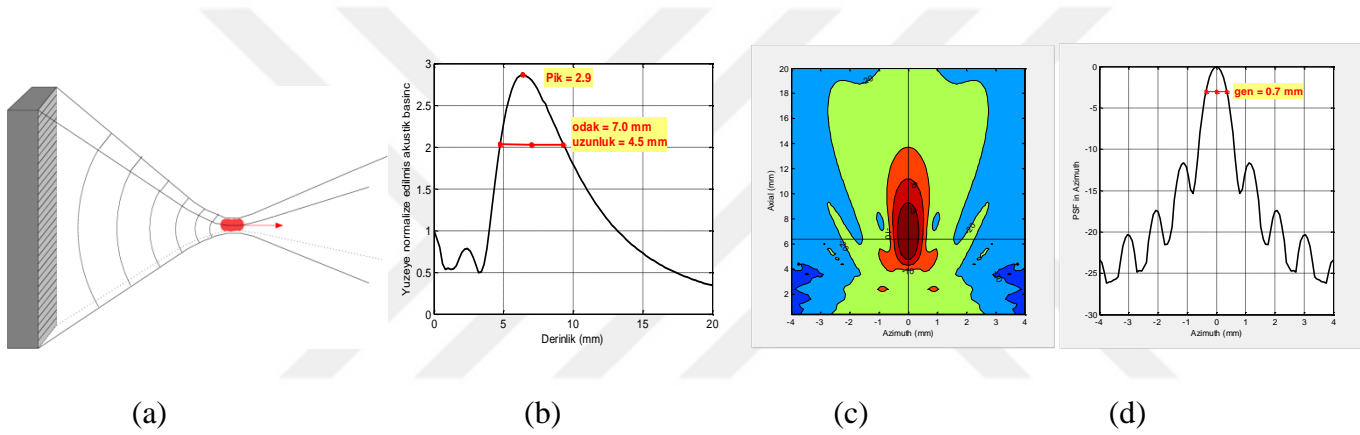
Şekil 6: Elde edilen modeli kullanarak sıçan beyninin 7mm derinliğinde yer alan bölgeye ulaşan ve emilen akustik gücün frekansa bağlı grafişi bu şekildeki gibi elde edilmiştir. Bu grafişten 2.4 MHz frekansında çalışmanın en uygun olacağı görülmektedir

Bu metotla odaklanmış ultrason frekansına karar verdikten sonra transdüserin geometrik formunun tasarlanmasına geçebiliriz. Aynı anda iki tane hedefi de uyararak istediğimizden (hedefler yaklaşık $Z_0 = 7$ mm derinlikte ve $\pm 12^\circ$ de yer almakta olup, 1mm genişlikte ve 2 mm uzunluktadır) odaklı iki tane transdüser kullanmak en basit yaklaşım olur. 6-7 mm'lik kafatası bölgesine 2 tane odaklı transdüser sığdırabilmek için transdüserlerin çaplarının 3 mm olması gerekir. 3 mm çaplı ($D = 3$ mm) ve 2.4 MHz

frekansında çalışan (dalga boyu : $\lambda = 0.625$ mm) bir transdüserin $NFZ = D^2/4\lambda$ ifadesi ile hesaplanan yakın alan bölgesi (NFZ) 3.6 mm derinlikte olur. Yani böyle bir transdüser 7 mm derinliğe odaklanamaz. Bu dalga yayılımının fiziksel prensiplerinden kaynaklanan bir sınırdır. 7 mm'ye odaklama yapabilmek için NFZ sınırının 7 mm'nin ötesine çekilmesi gerekir. yakın alan bölgesi (NFZ) ifadesinden anlaşılacağı gibi bunun iki yolu vardır. Birincisi transdüser çapı D 'nin artırılması, diğeri ise frekansın artırılması (dolayısıyla dalgaboyu λ 'nın düşürülmesi). Bunlardan ilkinin ele alalım: Transdüser çapı D 'yi iki katına çıkarıp (6 mm), transdüser adedini bire düşürmemiz gerekir. Bunun sonucunda yakın alan bölgesi (NFZ)'si 14,4 mm olan bir transdüser elde ederiz ki bu transdüser ile 7 mm'ye odaklamak mümkün olur. Fakat tek transdüser kullandığımız için bu transdüserin odağının iki hedefi de içine alması ve yan dokuları uyarılmayacak şekilde bir ışın demetinin olması gerekir. Odaklı dairesel transdüserlerin odaktaki ışın genişliğinin (BW) ve ışın uzunluğunun (BL) ifadeleri şöyledir: $BW = \lambda \times Z_0/D$ $BL = 7\lambda \times (Z_0/D)^2$ Bu ifadeleri kullandığımızda böyle bir transdüserin ışın demetinin çapı yaklaşık olarak 0,7 mm ve uzunluğu ise 6 mm olur ki bu şekilde NAc bölgesini içine alamaz.

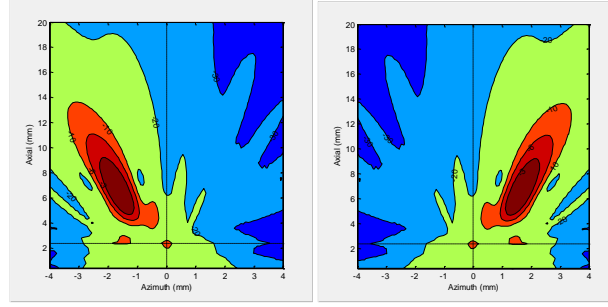
İkinci yolu, yani frekansını yükseltme yolunu Şekil 6'de karşımıza çıkan 4 kat kaybı göze alarak seçebiliriz. Yalnız bu durumda dahi sadece frekansını yükseltmek tek başına çözüm olmaz. Zira 3 mm çaplı ve 5 MHz frekanslı bir transdüserin yakın alan bölgesi (NFZ) sınırı 7.2 mm olur ki böyle bir transdüser ile 7 mm'ye odaklama yapmak pratikte mümkün olmaz. O yüzden de hem frekansını 5 MHz'e çıkarmak hem de çapını 6 mm'ye çıkarmak gerekir. Bu durumda da yine az önce karşımıza çıkan problemle karşılaşırız. Oluşan odak her iki NAc bölgesini de içine almaz. Bu hesaplardan sonra bu frekanslarda odaklı tek veya iki transdüser ile istediğimiz çözüme ulaşamayacağımız anlaşılmaktadır. Frekansını daha da arttırmak oluşan kayıplar yüzünden çözüm olmamaktadır. Bu yüzden de, odağı sabit olmayıp sağa sola kaydırılabilen doğrusal bir dizin çözümünün daha uygun olacağı düşünülmüştür. Bu sayede hem 6 mm'lik bütün alan kullanılabilir (bu odaklanmış ultrasonun etkinliği ve BW ve BL 'nin istenilen seviyelere indirilebilmesi açısından olumlu) hem de odak noktası NAc bölgelerine denk gelecek şekilde ayarlanabilecektir. Odaklı ultrason dizinini sürmek için ise bir dizin elektroniğine ihtiyaç duyulacaktır. Bu tür elektronik aletler mevcut olup odak noktası iki ayrı bölge arasında gidip gelecek şekilde programlanabilmektedirler. İki odak noktası arasındaki anahtarlama hızı milisaniyeler mertebesinde olup pratikte NAc'in iki bölgesi de simültane olarak uyarılmış olacaklardır.

Doğrusal odaklı ultrason dizini kullanmaya karar verdikten sonra bu transdüser dizinlerinin tasarımlarına bakalım. Öncelikle 2,4 MHz'lik bir dizini ele alalım. Bu transdüserleri üretirmeyi düşündüğümüz Imasonics (Fransa) firmasından aldığımız bilgilere göre 2,4 MHz frekanslı bir dizinde eleman sıklığı en az 0,6 mm olabilmektedir. Bu durumda her elemanı 0,6 mm genişliğinde ve 6 mm uzunluğunda (ki uzunluk yönünde geometrik olarak 7 mm'ye odaklanmış olacaklar) olan 10 elemanlı doğrusal bir dizin kullanmamız gerekir (Şekil 7(a)). Böyle bir dizinin ultrasonik yayılım benzetimlerini yaparak ışın demetinin şeklini Şekil 4'de görüldüğü gibi çıkardık. Demetin genişliği, uzunluğu ve odak kazancı bu şekillerden görülebilmektedir.

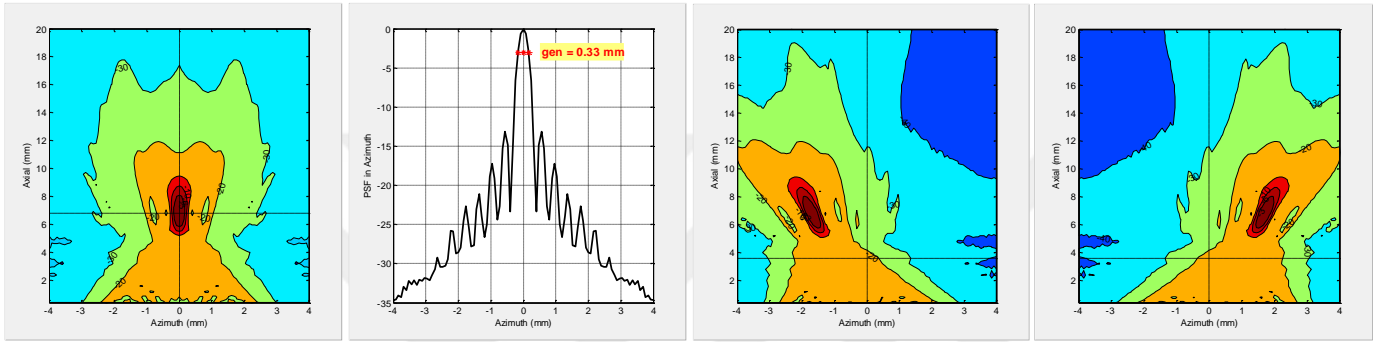


Şekil 7: (a) Elevasyon odaklı, doğrusal bir dizinin, 2.4 MHz frekansında sıçan kafatasında oluşturulan 1 birim basıncın (b) derinliğe göre (c) derinlik ve yanal alanda (d) yanal alanda değişimi. Bu hesabı yaparken sıçan kafatası modeli ve beyindeki akustik emilim değerleri kullanılmıştır. Görüldüğü gibi 7mm derinlikte maksimum basınç 2.9 odaklama kazancıyla elde edilmektedir. Yani yüzeyle uygulanan 1 birim basınç 7mm derinlikte 2.9 birime ulaşmaktadır. Odağın uzunluğu ise 4.5 mm olarak gözlemlenmektedir

Bu dizini uygun şekilde +12 ve -12 dereceye odakladığımızda ise Şekil 8'teki demet şeklini elde etmekteyiz. Bu şekillerden anlaşılacağı gibi böyle bir dizin istenilen NAc bölgelerini içine alacak şekilde ayrı ayrı odaklayabilmektedir. Odak genişliği 0,7 mm olup hedefle son derece uyumludur.

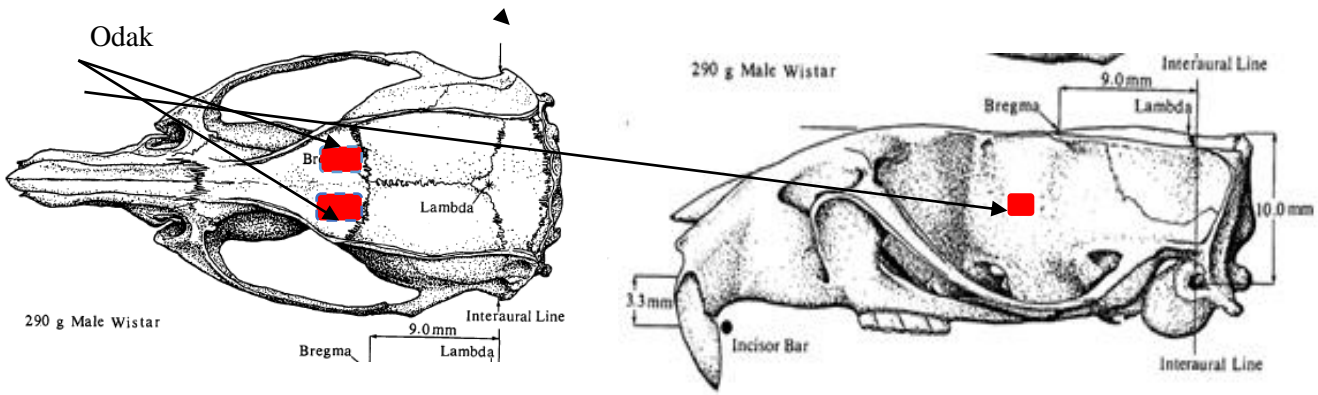


Şekil 8: Lateral yönde demet genişliğini gösteren grafikler



Şekil 9: Lateral yönde demet genişliğini gösteren grafikler

Transducer aktif yüzeyinin orta noktası orta hatta ve nazal tarafa doğru bregmadan 1.85 mm uzaklıkta olması sağlanacak ve bregmadan 1.85 mm uzaklık, bregma düzeyinden 7 mm derinlik ve sağda ve solda orta hattan 1.55 mm lateraldeki 2 nokta phased array sonifikasyonun odak orta noktaları (sağ ve sol NAc için) olarak belirlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 10: Rat Kafatasının Görünümü; Ultrason Odak Noktaları Kırmızı Şekillerde gösterilmiştir

4.5.2. Odaklanmış ultrason cihazı ile oluşturulan ultrason demetinin çalışmada kullanılacak rat kafasındaki odak alanının fiziksel özelliklerinin gerçek zamanlı olarak belirlenmesi

Alınan transdüserlerin karakterizasyonu su tankı içinde hidrofona kullanılarak yapılmıştır. Elimizdeki mevcut hidrofona ve konumlandırma/tarama sistemini kullanarak invitro rat kafatası arkasında oluşturulan ultrason demetinin şekli çıkarılarak, simülasyonlarda görünen demet şekliyle örtüşüp örtüşmediği tespit edilmiştir. Örtüşme miktarına göre de kullanılacak dizine (2.4 MHz veya 5.0 MHz) karar verilmiştir. Bununla beraber, transdüser üzerine uygulanan uyarı ile odakta oluşan ultrason şiddeti arasındaki ilişki çıkarılmış daha sonra sakrifiye edilerek ratlarda yapılan incelemeler sonucunda deney amaçlı yüksek enerji sonifikasyon ile oluşan ablasyon zonu mikroskop altında histolojik olarak incelenmiş ve hedeflenen uyarı zonu ile örtüşüp örtüşmediği değerlendirilmiş ve örtüşmediği takdirde gerekli koordinat ayarları yeniden yapılmıştır.

4.6. Simülasyon ile Yapılan Parametre Çalışması

Odaklanmış Ultrason sürücü Cihazımız Image Guided Therapy (Fransa) isimli firma tarafından üretilmiş ve satın alma işlemi gerçekleştirilmiştir. Sıçan kafatasına uygun boyutlarda tasarlanan transducerler, 2.4 ve 5 MHz frekanslı olmak üzere Imasonic (Fransa) isimli firma tarafından 2 adet olmak üzere üretilmiş ve satın alma işlemi gerçekleştirilmiştir. Transducerler ile elde edilen Ultrason dalga dinamiklerinin Rat kafatası arkasından ölçülmesi ve odak ayarının yapılması ile ilgili çalışma tamamlanmış ve elde edilen 3 Boyutlu tarama verileri aşağıda grafik halinde sunulmuştur.

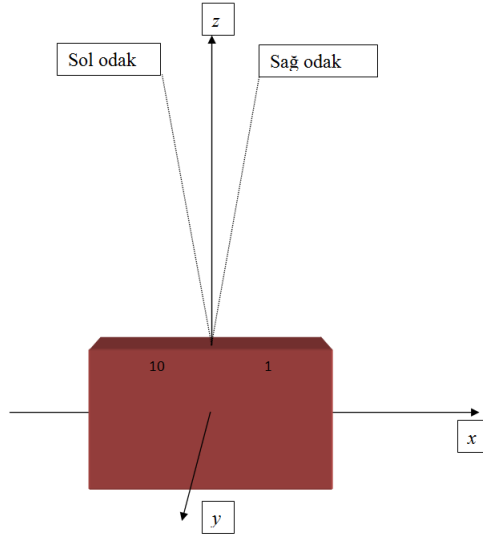


Şekil 11: Kafatası ile perdelenmiş olan Transducerin Bullet Hydrophone ile Karakterizasyonu

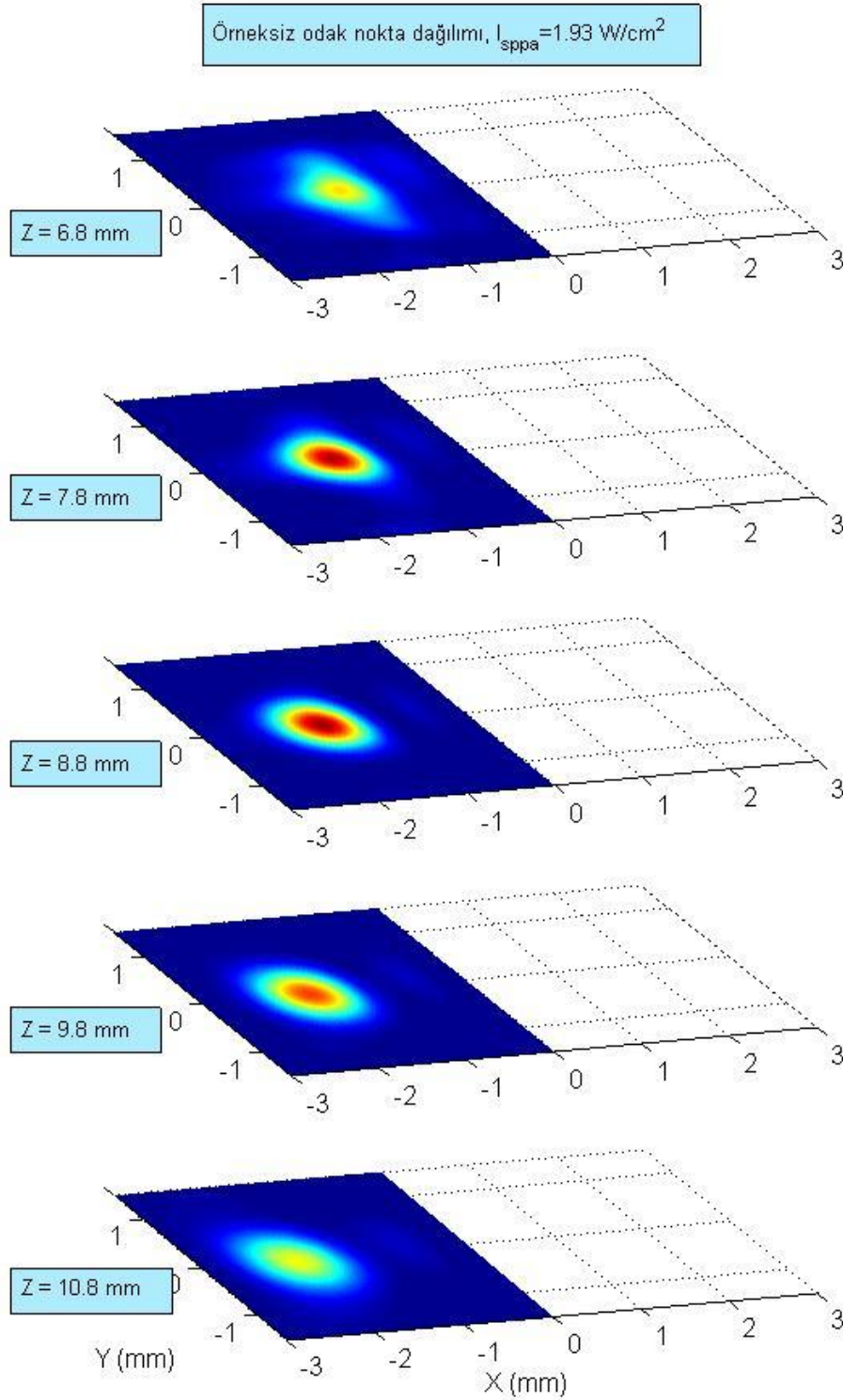


Şekil 12: Transducer 3D karakterizasyonunun yapıldığı deney ortamı

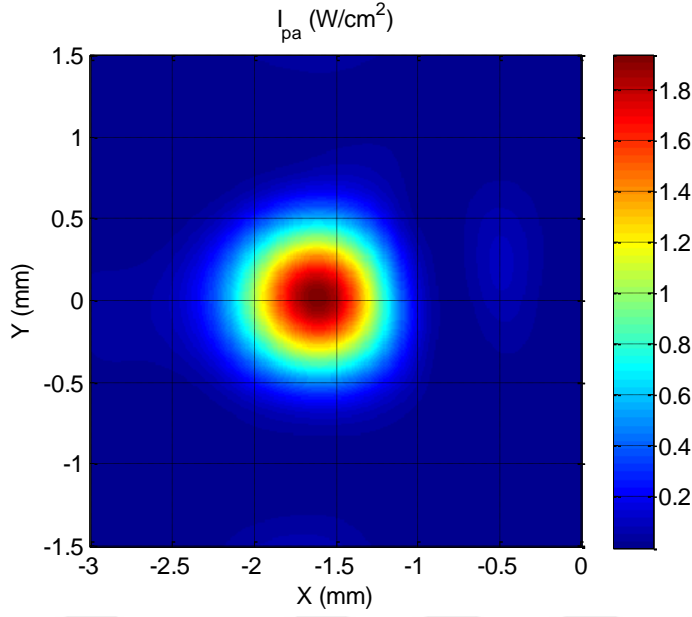
y-ekseni kuyruk-burun yönünü göstermektedir



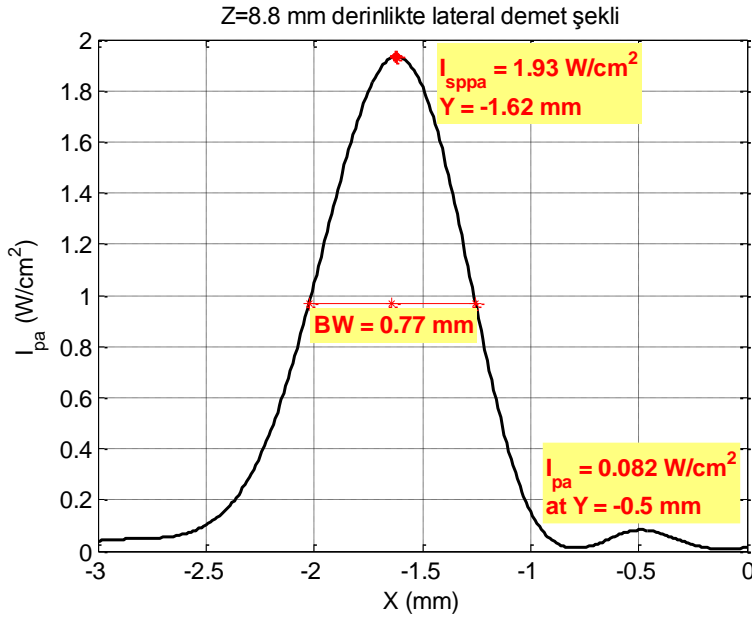
Şekil 13: 10 elemanlı transdüserle tanımlanan eksenler. X azimut, Y elevasyon ve Z aksiyel yönü ifade etmektedir. Karakterizasyonlar transdüser dizini nükleus akumbense (sağ ve sol odak olarak gösterilen iki lob) odaklandığı durumlar için yapılmıştır



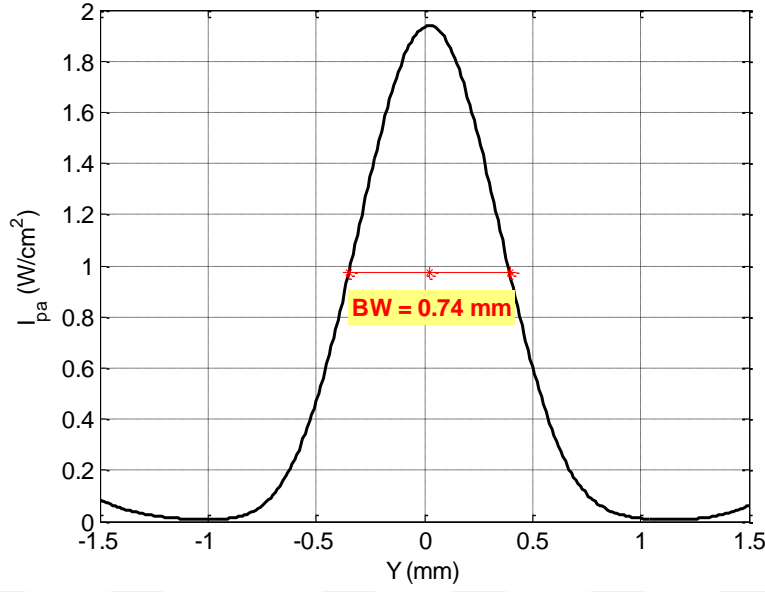
Şekil 14: 9 mm derinliğe odaklı 10 kanallı 2.4 MHz merkez frekanslı transdüserin değişik derinliklerdeki transvers demet şekilleri. Bu ölçümlerde odak açısı 11 derece olacak şekilde eleman fazları ayarlanmış, HIFU sürücüsü 2800 kHz'de 10% genlik ile sürülmüştür. Simetrik olduğu için sadece sol tarafa odaklanmış sinyal gösterilmektedir



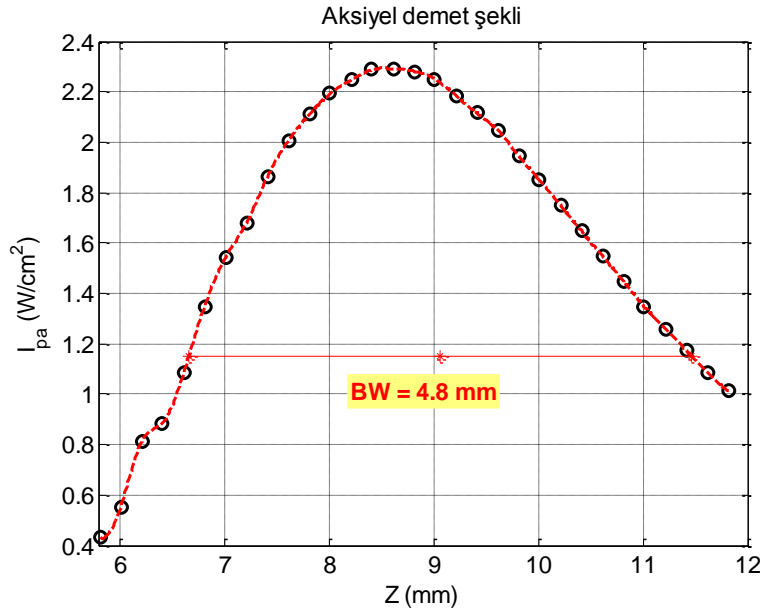
Şekil 15: Şekil 14'deki transvers demet şekillerinden Z=8.8 mm derinlikte olanının detaylı görüntüsü



Şekil 16: Şekil 15'deki transvers demet şeklinin X eksenini boyunca kesiti. Görüldüğü gibi 10% genlik ile odakta yaklaşık 2 W/cm²'lik yoğunluğa ulaşılmaktadır. 100% genlik kullanıldığında bu yoğunluk yaklaşık 200 W/cm²'ye ulaşması beklenmektedir. Odak noktasının yarı değer genişliği ise 0.77 mm olup, yan lob oldukça düşük seviyelerdedir

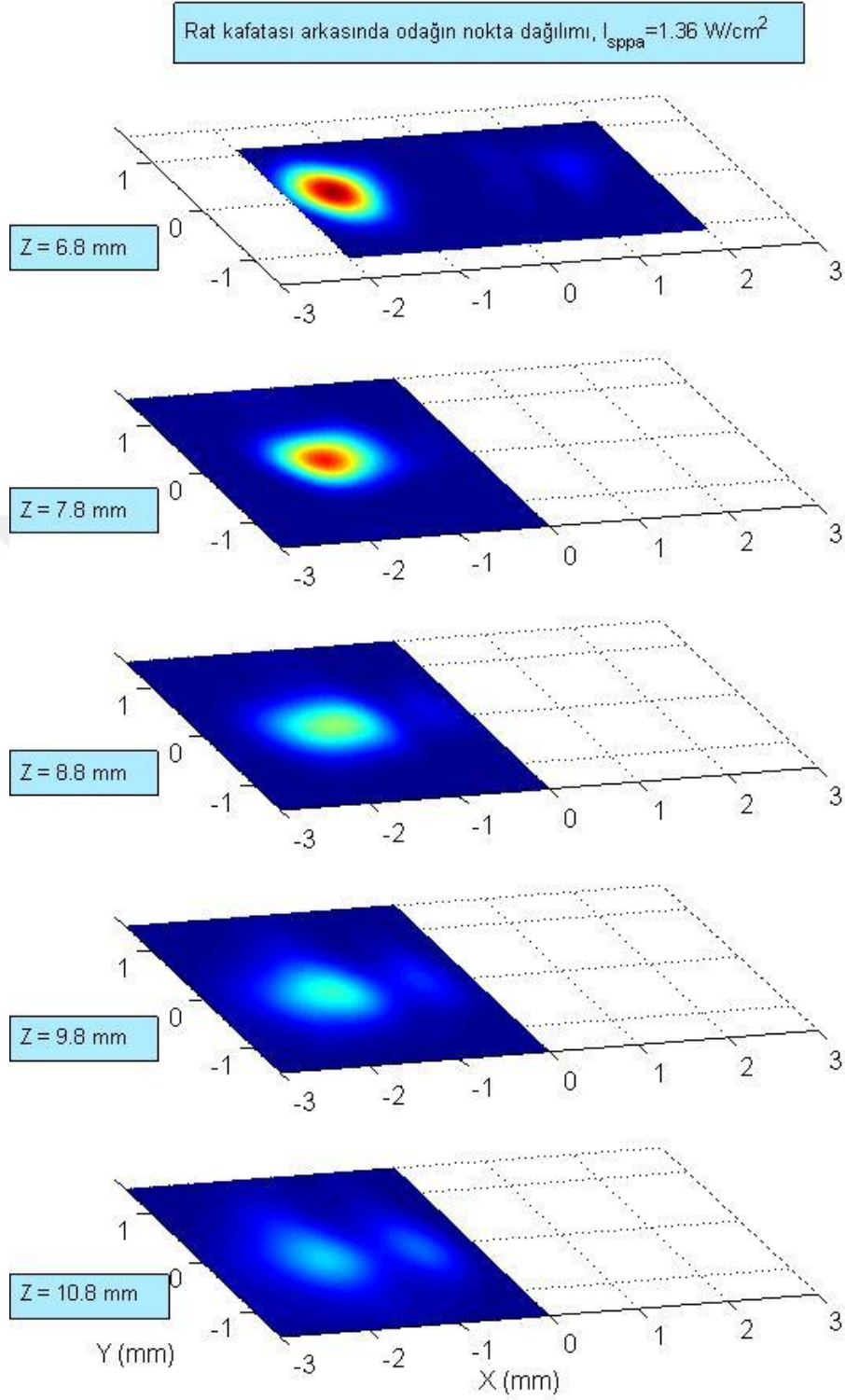


Şekil 17. Şekil 15'deki tranvers demet şeklinin Y eksenine boyunca kesiti. Tranvers demet şeklinin dairesel simetriye sahip olduğu, yani X ve Y yönlerindeki demet genişliğinin aşağı yukarı aynı olduğu gözlemlenmiştir. Y yönünde (elevasyon yönü) belirgin şekilde bir yan lob da görülmemiştir

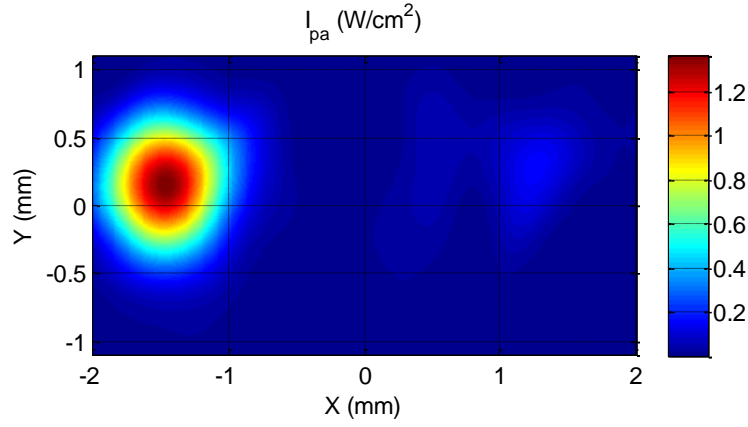


Şekil 18: Tarama sistemi aksiyel demet şeklini açılı demetler için otomatik olarak ölçemediği için açısız olarak oluşturulan demetin aksiyel değişimi ölçülmüştür

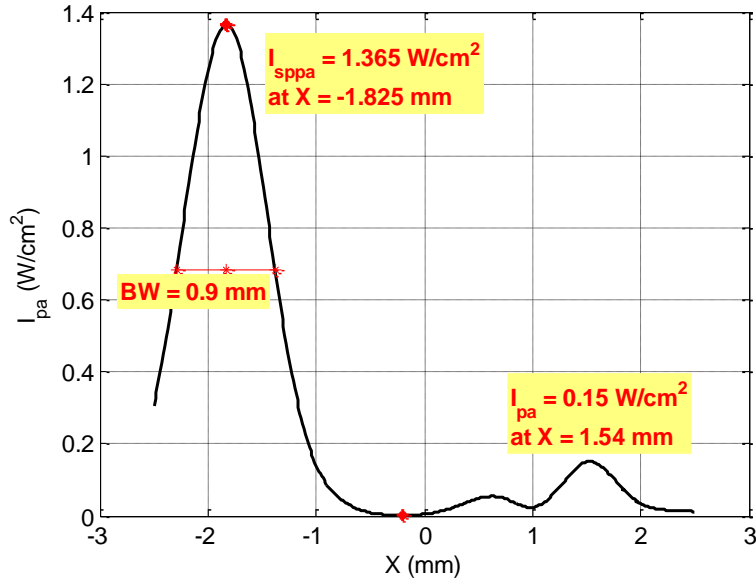
Bu grafiklerde I_{pa} dürtü içindeki zamandaki ortalama güç yoğunluğunu ifade etmektedir. I_{sppa} ise zamandaki ortalama dürtü güç yoğunluğunun uzaydaki tepe noktasını yani I_{pa} 'nin uzaydaki tepe değerini ifade etmektedir.



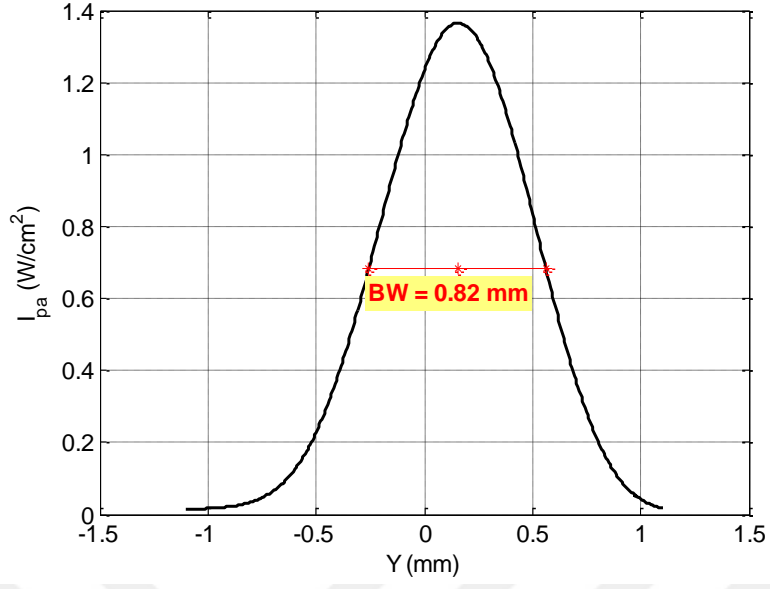
Şekil 19: Transdüserin önüne rat kafatası yerleştirildikten sonra genlik hariç aynı sürüş koşullarında transvers demet şeklinin derinliğe göre değişimi. Transdüser dizininin merkezi bregmanın 1.8 mm önüne gelecek şekilde ayarlanmıştır. Yani bu şekilde uyarıldığında ultrason demetleri nükleus akübensin üzerinde denk gelmektedir. Bu deneylerde HIFU sürücüsünün genliği 20% olarak kullanılmıştır



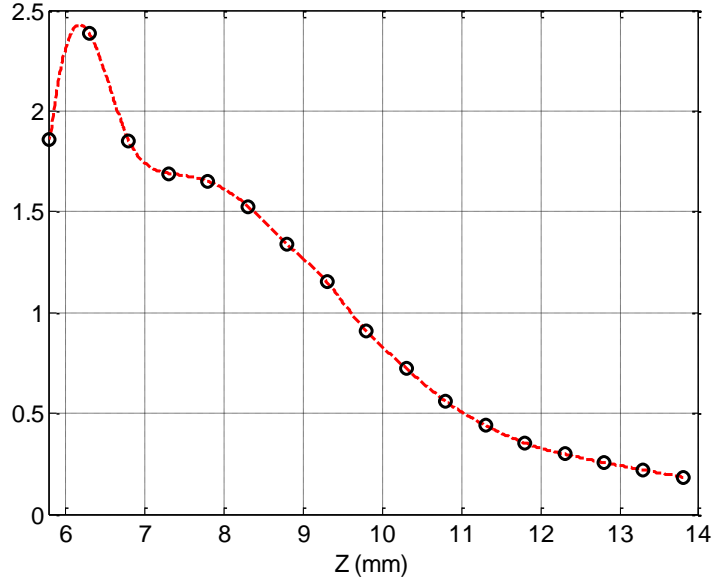
Şekil 20: Şekil 19'deki demet şekillerinden $Z=6.8$ mm derinlikte olanı



Şekil 21: $Z=6.8$ mm derinlikte azimut yönündeki lateral demet şekli. Odak istenilen yerde oluşturulabilmiştir. 20% genlik kullanılmasına rağmen I_{sppa} örneksiz duruma göre düşük çıkmıştır. Bunun sebebi beklenildiği gibi kafatasındaki kayıptır. 100% genlik kullanıldığında yaklaşık olarak 35 W/cm^2 güç yoğunluğuna ulaşabileceği görülmektedir. Kafatasının bozucu etkileri de gözlenmiştir. Ultrason demeti bir miktar genişlemiş (0.77 mm'den 0.9 mm'te çıkmıştır), yan lobun büyüklüğü de artmıştır (-14 dB'den -10 dB'ye). Bu etkiler beklenen etkiler olup hayvan çalışmalarını etkileyecek seviyede olmadığı gözlemlenmiştir

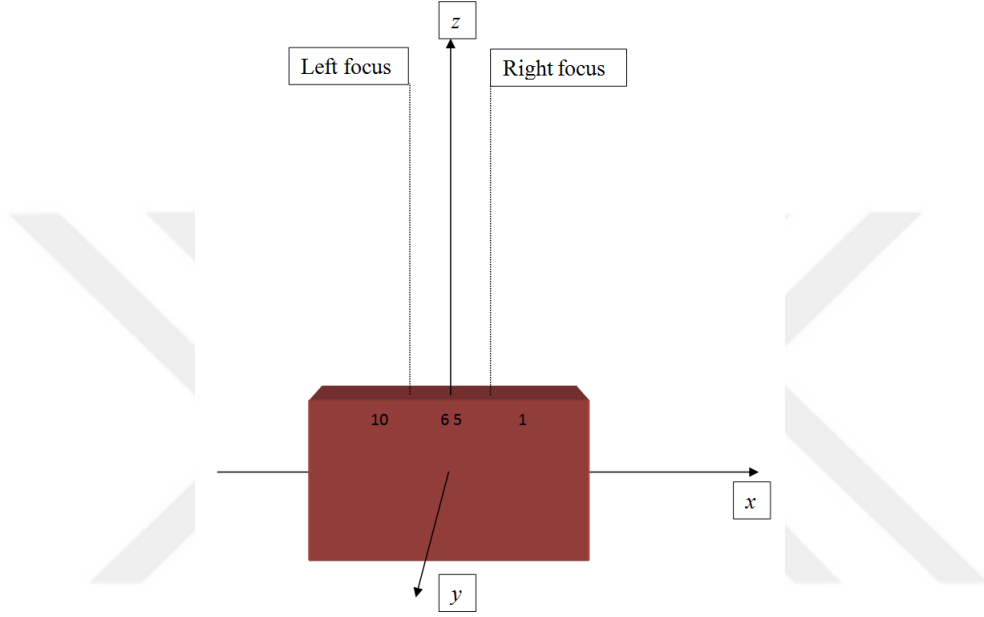


Şekil 22: Elevasyon yönünde de ultrason demetinin genişlediği ve yanal loblarda bir değişim olmadığı görülmüştür

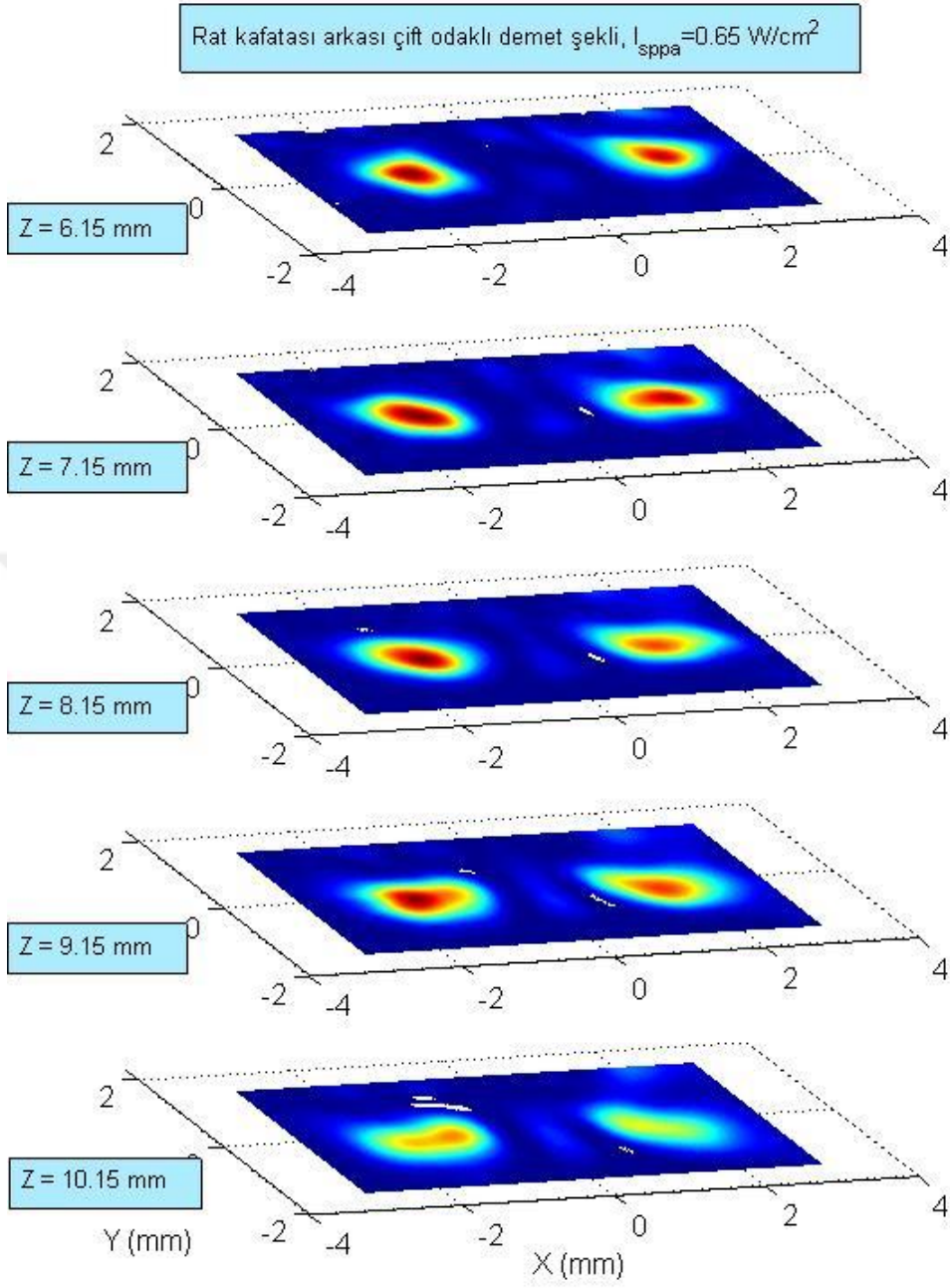


Şekil 23: Açılı olarak odaklandığında aksiyel ölçümler yapamadığımız için sadece 1-5 numaralı elemanlar kullanılarak açısız olarak odaklama yapıldığında elde edilen aksiyel demet şekli görülmektedir

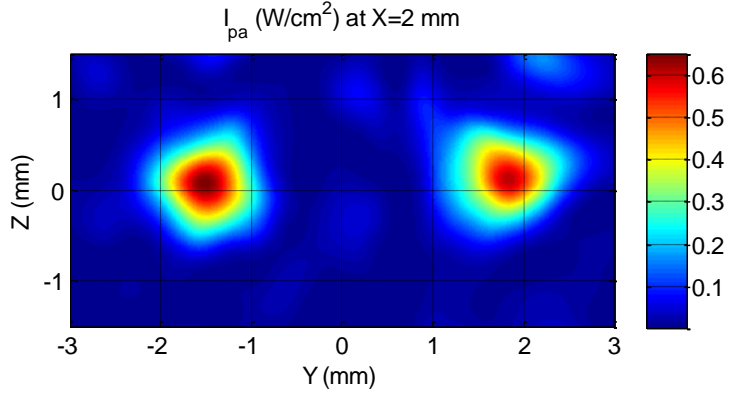
Bu grafikler aynı anda sadece tek taraf ultrason ile aydınlatıldığında elde edilen grafiklerdir. Bunun için de ultrason demeti 11 derece açılı olarak odaklanmıştır (Şekil 13’de görüldüğü gibi). Bundan sonraki ölçümlerde ise 10 elemanlı dizinin iki yarısı 1-5 nolu elemanlar ile 6-10 nolu elemanlar sağ ve sol taraftaki odak noktalarına bağımsız olarak odaklanarak sürülmüşlerdir (Şekil 24). Bu şekilde iki odak noktası da aynı anda uyarılmıştır. Elde edilen sonuçlar ise aşağıdaki grafiklerde özetlenmiştir.



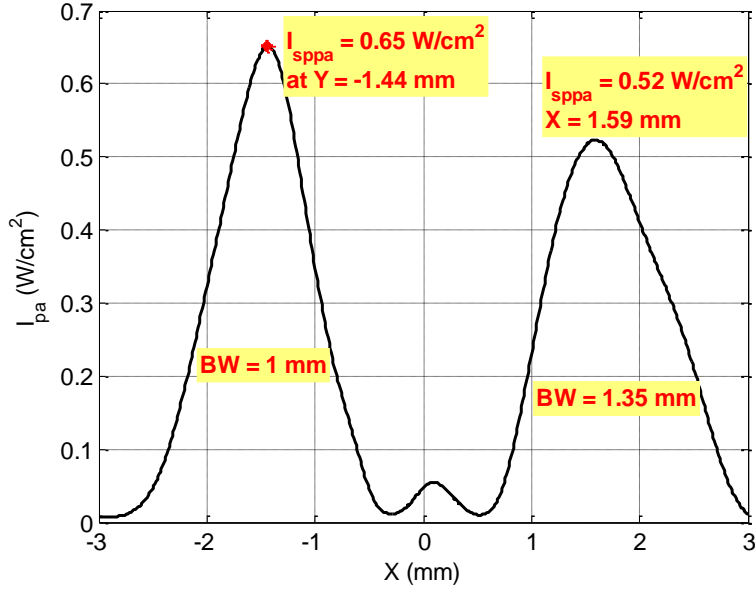
Şekil 24: Dizinin iki yarısı iki odak noktasına eş zamanlı uyarım yapacak şekilde odaklanmışlardır



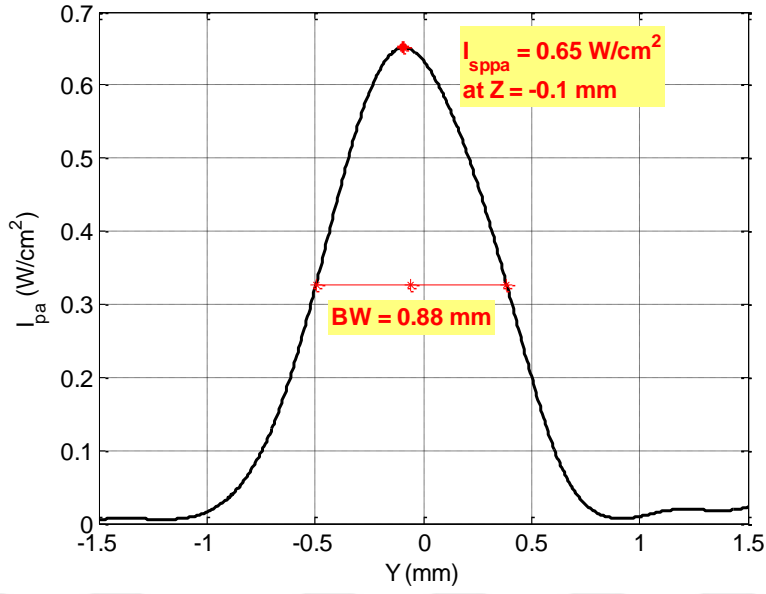
Şekil 25: Rat kafatası arkasındaki demet şekilleri. Önceki ölçümlerde olduğu gibi transdüserin merkezi bregma'nın 1.8 mm önüne denk gelecek şekilde pozisyonlanmıştır



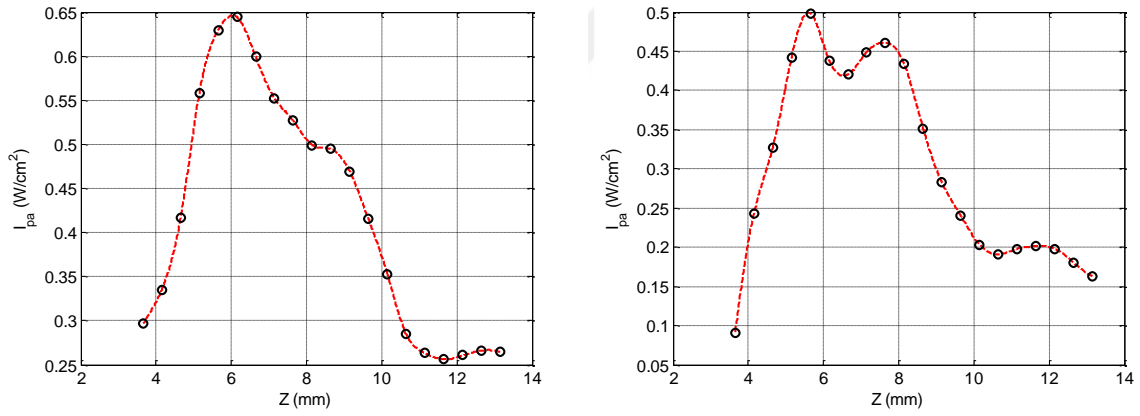
Şekil 26: Şekil 25'deki $Z=8.15$ mm derinlikteki demet şeklinin detaylı hali



Şekil 27: Azimut yönündeki demet kesiti. Nükleus akumbense odaklı demetler 1 ve 1.35 mm kalınlığında olarak gözlemlenmiştir. Her bir odak için 10 yerine 5 eleman kullanıldığı için demetin genişlemesi normaldir. Genişlemiş haliyle de demetler nükleus akumbensin içinde kalmaktadır



Şekil 28: Elevasyon yönündeki demet beklenildiği gibi bu yeni uyarma şekli ile bir değişikliğe uğramamıştır



Şekil 29: Bu aksiyel demetler de sağ ve sol taraftaki derinliğe bağlı değişimi göstermektedir

Transducer frekanslarının nucleus accumbensin uyarılması ve verimlilik açısından değerlendirilmesi neticesinde 2.4 MHz lik transducerin çalışma için uygun olduğu değerlendirilmiş ve Imasonic firmasına 2 adet 2.4 MHz frekansda çalışan transducer siparişi verilmiştir.

Sakrifiye Edilecek Rat beyinde yüksek enerji ile sonifikasyon yapılması ve ablyasyon zonunun belirlenmesi ve odak alanı ile karşılaştırılması işlemi gerçekleştirilmiştir.

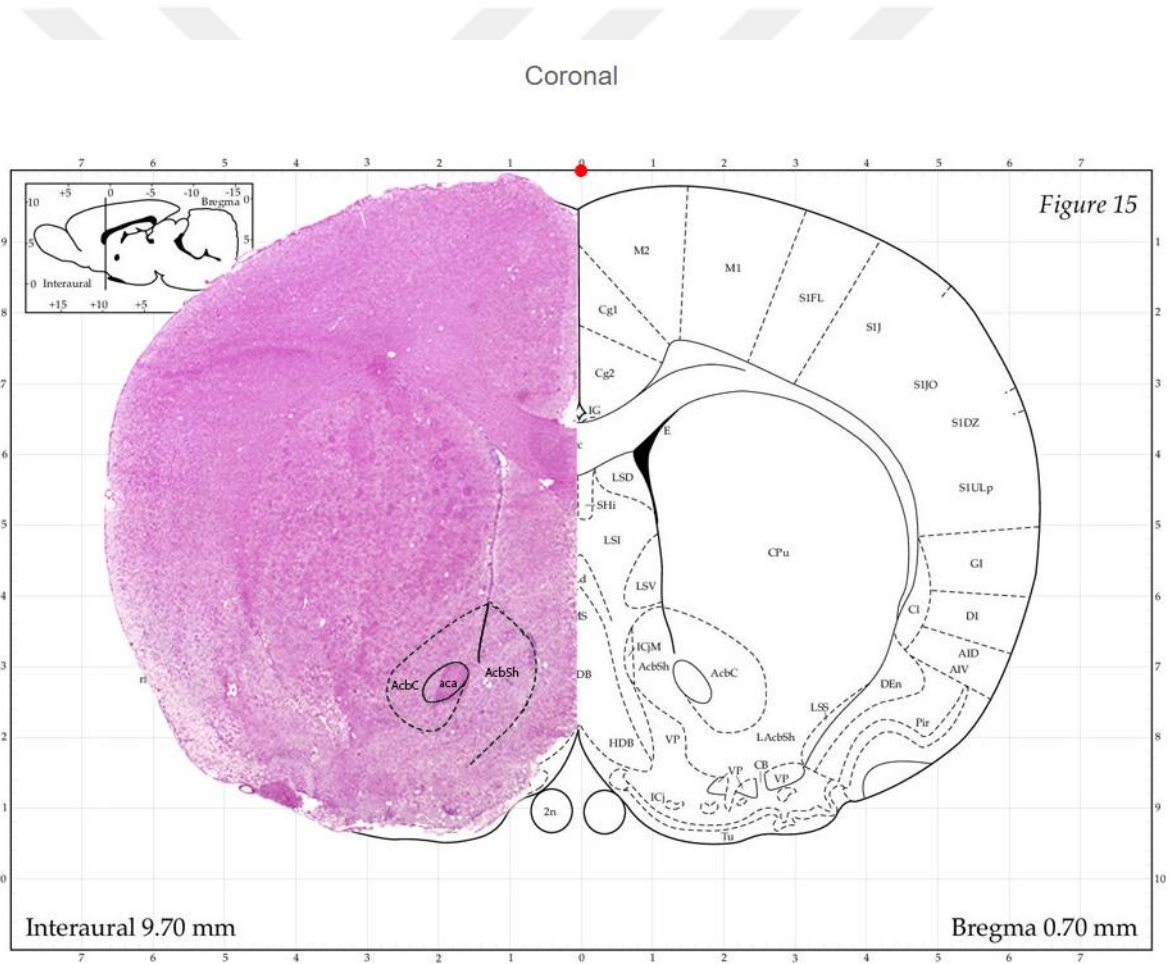
Bu işlemin ilk aşamasında Odaklanmış Ultrason sürücü Cihazı ile % 10-100 arası giderek artacak şekilde Power uygulanarak 2.4 ve 5 MHz transducerlerin ürettikleri ısı ölçülmüş, 2.4 MHz transducer ile cihaz için tehlikeli düzeyde ısı artışı olmadığı görülmüş ancak 5 MHz cihazın maksimum % 27 power düzeyine kadar güvenli ısınma düzeyinde kaldığı, fazla enerji düzeylerinin cihazın arızalanmasına neden olan düzeylere çıkma eğilimi gösterdiği anlaşılmıştır. İkinci aşamada 2.4 MHz Transducer %100 güçle, 5 MHz cihaz % 27 güçle çalıştırılmış ve transducerlerin kafalarına yerleştirildiği 2 ratın birisine 2.4 MHz diğerine 5 MHz transducer kullanılarak nucleus accumbens beyin bölgesi hedeflenmiş ve anestezi altında sonifikasyon başlatılmıştır. 70 dakika boyunca sürdürülen sonifikasyon sonrası hala anestezi altında bulunan ratlar sakrifiye edilmiş ve beyinleri histopatolojik incelemeye alınmıştır. Ratların nuc. Acc. Düzeyinden geçen preparat resimleri aşağıda verilmiştir. Histopatolojik incelemelerde ratların beyinlerinde herhangi bir hasar gösterilememiştir. Proje önerimizin başarı ölçütleri ve risk yönetimi bölümünde de belirtildiği üzere beyin hasarının oluşmama ihtimalinin yüksek olduğu öngörülmüş olup, IP No:1 basamağı yeterli kabul edilecektir.



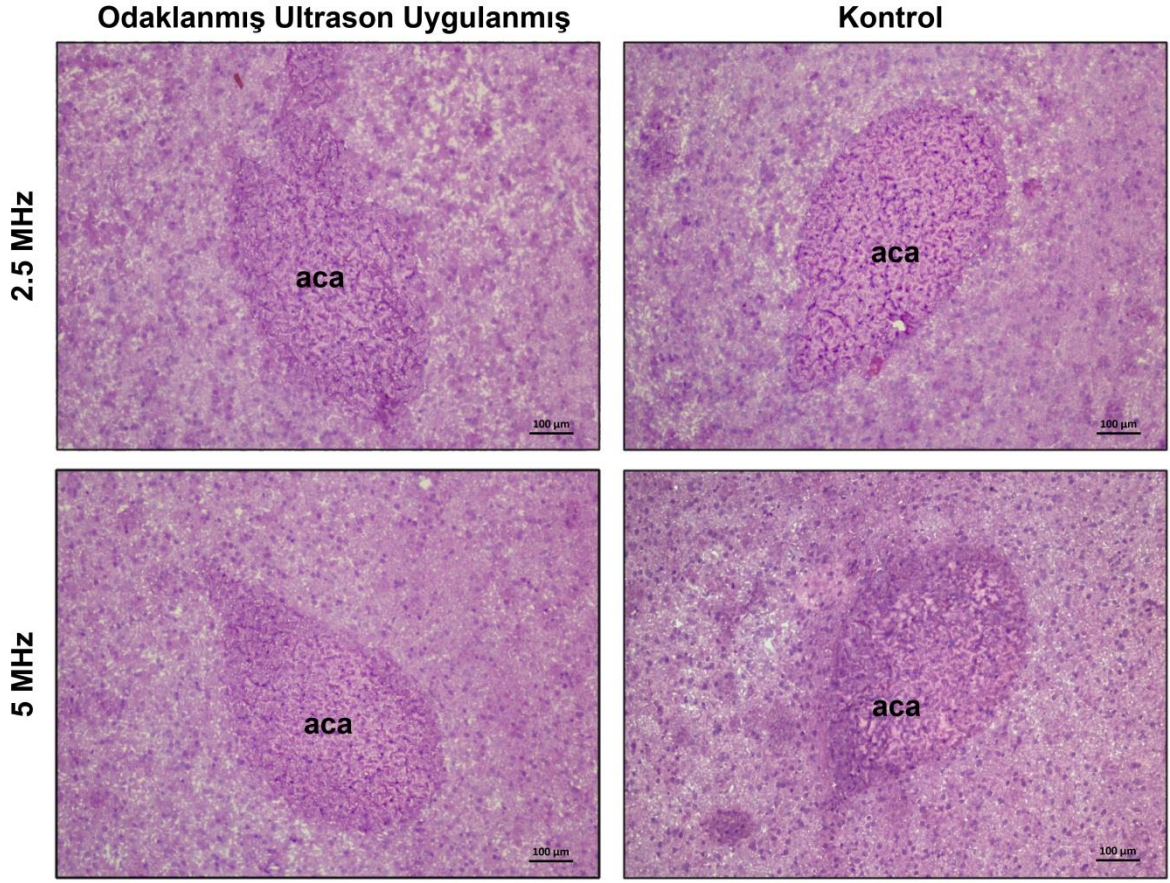
Şekil 30: Ratlarda ablasyon zonu oluşturulmasına yönelik uygulama

4.7. Histolojik İnceleme

Sıçanlar sakrifiye edilerek beyinleri çıkarılmıştır. Elde edilen beyin dokuları direkt olarak kuru buz üzerine (-80 °C) alınarak hızlı dondurma işlemi yapılmıştır. Kriyomikrotom ile Bregma noktasının 0.4 mm ilerisinden başlanarak 10 µm kalınlıkta seri kesitler alınmıştır. Alınan kesitler %4 Nötral tampomlu formaldehit (pH 7.4) ile fikse edilmiştir. Fikse edilen kesitler hematoksilin ve eozin ile boyama sonrasında yükselen etanol serisinden geçirilerek (%70, %80, %90, %100) dehidre edilerek kapama maddesi (entellan) ile kapatılmıştır. Boyanan beyin kesitlerinde odaklanmış ultrason uygulanan sol hemisfer ve odaklanmış ultrason uygulanmamış olan sağ hemisfer içerisindeki nuc. accumbens bölgeleri karşılaştırmalı olarak ışık mikroskobu ile incelenmiştir.



Şekil 31: Sıçanlardan alınan beyin örneklerinden Bregma noktasından yaklaşık 0.7 mm ileriden alınan kesitlerin görüntüsü, kesik çizgilerle belirtilen bölge nuc. accumbensin bulunduğu alanı göstermektedir. Hematoksilin&Eozin boyası. *aca:* anterior komissür, *AcBc:* nükleus accumbens çekirdek, *AcbSh:* nükleus accumbens kabuk



Şekil 32: Farklı dozlarda odaklanmış ultrason uygulaması yapılmış sıçanlardan alınan beyin örneklerinden Bregma noktasından yaklaşık 0.7 mm ileriden alınan kesitlerde anterior komissür (aca) etrafında nuc. accumbens görülmektedir. Sol hemisferlere odaklanmış ultrason uygulaması yapılarak sağ hemisferlere kontrol amacıyla uygulama yapılmamıştır. Uygulanan farklı dozlar ve bölgeler arasında odaklanmış ultrason uygulamasına bağlı bir farklılık görülmemektedir. Hematoksilen&Eozin boyası, x100 büyütme, bar: 100µm

4.8. Deneylerin Yürütülmesi

Deneyler 8:00-18:00 saatleri arasında yürütüldü. Yapılan ön çalışmalarda serum fizyolojik uygulanan ratların siyah bölme ve beyaz bölmede geçirdikleri ortalama zamanın raslantısal beklentilerden sapma gösterdiği tesbit edildi. Ratların siyah bölmede daha çok zaman geçirmeleri KYT aparatının yanlı tasarım özelliklerine sahip olduğunu gösterdi. Bu

sebepten koşullama esnasında yanlı tasarıma uygun yöntem seçildi. Siyah bölme serum fizyolojik ile beyaz bölme morfin ile eşleştirildi. [332]

Deneye alınan ratlar KYT aparatının ortasına bırakıldı. Ölçüm esnasında ratın ön iki ayağı veya dört ayağının zeminlerden birinde bulunması o bölmeyi tercih ettiği yönünde kabul edildi.

Deney-1: Çalışmaya toplam 26 rat dahil edildi.18 rat morfin grubu, 8rat SF grubu olarak randomize seçildi. KYT testi üç aşamalı 14 günlük bir takvimden oluşmaktaydı; koşullanma öncesi, koşullanma, koşullanma sonrası. [333]

Ön koşullandırma aşaması; bu aşama 3 gün sürdü, ön test hayvanların bölüm tercihini saptamak için uygulandı. Tüm gruptaki her hayvan ardışık üç gün boyunca her gün 900 sn kadar ulaşım aparatına izin veren kaldırılmış giyotin kapılı merkezi bölmeye yerleştirildi. 3. günde, her bir bölmede ratların harcadığı zaman kamera ile kaydedildi.

Koşullanma aşaması; morfin grubu koşullanma aşaması süresince 6 saat ara ile serum fizyolojik ve morfin hidroklorid enjeksiyonlarını periton içine değişimli olarak her gün 2 defa aldı, kontrol grubu koşullanma aşaması süresince 6 saat ara ile sadece serum fizyolojik enjeksiyonlarını periton içine her gün 2 defa aldı, her grup ile koşullanma seansları 4. günden 13. güne kadar gerçekleştirildi. Koşullanma seansı süresinde ratlara morfin hidroklorid 7 gün boyunca 10 mg/kg intraperitoneal olarak verildi daha sonra günde bir kere 20 mg/kg dozunda sabitlendi. Her koşullanma seansı günde bir kez 30 dakika sürdü. Koşullanma aşaması boyunca kapılar kapalıydı. Koşullanma aşamasının ilk gününde 8:00'den 12:00'ye kadar, her iki gruptaki ratlara serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı ve hemen serum fizyolojik ile eşleştirilmiş siyah bölmeye konuldu; daha sonra morfin grubuna morfin, SF grubuna serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldıktan sonra; fareler 14:00'den 18:00'ye kadar morfin ile eşleştirilmiş beyaz bölmeye konuldu. İkinci günde, prosedür ters sırayla gerçekleştirildi, SF grubuna serum fizyolojik ve morfin grubuna morfin enjeksiyonu yapıldıktan sonra; ratlar 8:00'den 12:00'ye kadar morfin ile eşleştirilmiş beyaz bölmeye konuldu; daha sonra 14:00'den 18:00'e kadar her iki gruptaki ratlara serum fizyolojik enjekte edildi ve sonra serum fizyolojik ile eşleştirilmiş siyah bölmeye konuldu. Bu işlem 13. güne kadar devam etti. Koşullandırma aşamasının son 5 günü tüm gruptaki hayvanlar iki enjeksiyon arası dönemde (12:00-14:00) 10'ar dk boyunca sabitleyici aparata alındı ve hayvanlar stabilize edilerek sabitleyicide beklemeye alıştırdı.

Koşullanma sonrası veya test aşaması; bu aşama son enjeksiyonlardan 1 gün sonra gerçekleştirildi. Test gününde, çıkarılabilir giyotin kapaklar yükseltildi ve ratlar tüm aparata 900 sn boyunca serbest erişimi sağlandı. Düzeneklerde ratların geçirdikleri zaman kameralar aracılığıyla kaydedildi. Koşullanmış yer tercihinin değerlendirilmesi morfin ile eşleştirilmiş beyaz bölmede geçen süre ile hesaplandı.

SAAT	1.GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN	5. GÜN
8:00-12:00	Başlangıç yer tercihinin belirlenmesi	Başlangıç yer tercihinin belirlenmesi	Başlangıç yer tercihinin belirlenmesi	Her iki gruba SF uygulanması	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması
14:00-18:00				Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması

Tablo 1: Dene-1 prosedürü,koşullanmış yer tercihinin oluşturulması (1.-5. günler)

SAAT	6.GÜN	7. GÜN	8. GÜN	9. GÜN	10. GÜN
08:00-12:00	Her iki gruba SF uygulanması	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması
12:00-14:00				Stabilizasyon işlemi	Stabilizasyon işlemi
14:00-18:00	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması

Tablo 2 (Devam): Dene-1 prosedürü,koşullanmış yer tercihinin oluşturulması (6.-10. günler)

SAAT	11.GÜN	12. GÜN	13. GÜN	14. gün
8:00-10:00	Her iki gruba SF uygulanması	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	Koşullandırma sonrası yer tercihinin ölçülmesi
12:00-14:00	Stabilizasyon işlemi	Stabilizasyon işlemi	Stabilizasyon işlemi	
14:00-16:00	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	Morfin Grubuna morfin uygulanması SF Grubuna SF uygulanması	

Tablo 3 (Devam): Dene-1 prosedürü,koşullanmış yer tercihinin oluşturulması (11.-14. günler)

Hayvanların Kafataslarına Transducerin Yapışacağı Düzeneğin Oluşturulması;

Dene-1 bittikten bir gün sonra gerçekleştirildi. Öncelikle ratlara xylazine (10 mg/kg) ve ketamin (80 mg/kg)i.p. anestezi yapıldı, sonrasında kafatası cildi kaldırıldı. Transduser her iki odak noktasını da içerecek büyüklükte olup orta noktası bregmadan 1.70 mm nasal tarafta orta hatta olacak şekilde yerleştirilmesi planlandı. Bu noktanın tespiti için bregma görülüp “ultra hassas rat stereotaksik aleti” vasıtası ile transduserin orta noktasının geleceği nokta kalemle işaretlendi, transduser bu noktaya yerleştirildikten sonra transduser üzerine monte edilmiş olan mıknatısların kafatasındaki izdüşümü işaretlendi ve bu bölgeye mıknatıslar yapıştırıldı. Sonifikasyon süresi (SS)’nce transduserin kafatasında sabit kalmasını sağlamak üzere 2 adet 4 mm çap, 2 mm kalınlıktaki daire şekilli n35 model 11800-12100 gavus aralığında çekim gücü olan neodmium mıknatıs kullanıldı. (Magnet Market A.Ş.’den temin edildi) kafatasına sonifikasyona engel olmayacak pozisyonda etil siyanoakrilat içerikli yapıştırıcı LOCTITE® 480™ (HENKEL) ile yapıştırıldı (şekil 33-34) ve transduserde de 2 adet aynı boyutlarda neodmium mıknatıs monte edilmişti. Her sonifikasyon işlemi sonrasında transduser kafatasından ayrıldı. Kontrol grubu ratlara da sonifikasyon olmayacak olmalarına rağmen bu işlem uygulandı. Hayvanlar cerrahi işlemden sonra 15. gün 1 gün iyileşme bırakıldı. Bir gün sonra dene-2’ye geçildi.



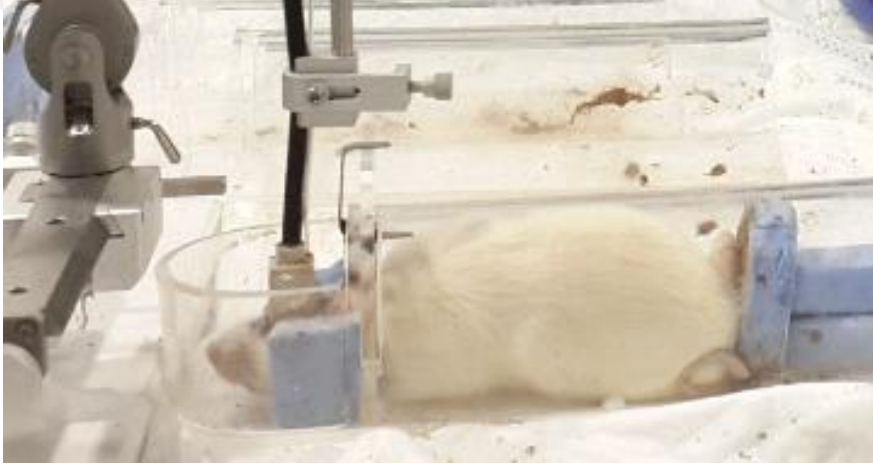
Şekil 33: Ratın kafa derisi açılmış, bregma noktasının görünümü



Şekil 34: Miknatısların yapıştırılması

Deney-2: 16. gün çalışma grubundaki 18 rat randomize olarak ultrason uyarımı almak üzere US grubu ve sahte ultrason uyarımı almak üzere SHAM (sahte) grubu şeklinde 2'ye ayrıldı ve iki grup 10 gün boyunca 6 saat ara ile serum fizyolojik ve morfin hidroklorid enjeksiyonlarını periton içine değişimli olarak her gün 2 defa aldılar ve SF enjeksiyonundan

sonra siyah alana, morfin enjeksiyonundan sonra beyaz alana 30 dakikalığına konuldular. SF grubu bu süre zarfında 6 saat ara ile sadece serum fizyolojik enjeksiyonlarını periton içine her gün 2 defa aldı, koşullandırma aşamasındaki gibi siyah ve beyaz bölmelere 30 dakikalığına konuldu. Morfin uygulamalarından önce US grubu ve SHAM ultrason grubundaki ratlar 10 gün boyunca her gün bir defa izofluran inhaler anestezi (%1.5) uygulanarak beyin uyarım düzeyine alındı ve sabitlendi. Sonrasında US grubuna ultrason jeli sürülerek 10 dakika boyunca düşük yoğunluklu ultrason uyarımı yapıldı (Şekil14). SHAM grubuna sahte ultrason uyarımı uygulandı. Uyarımdan 10 dakika sonra ratlara morfin uygulaması yapıldı ve 30 dk beyaz odaya konuldu. Son enjeksiyonlardan 1 gün sonra KYT aparatındaki giyotin kapılar kaldırıldı ve üç gruptaki ratların 900 saniye serbest dolaşımına izin verildi ve yer tercihleri değerlendirildi.



Şekil 35: Düşük yoğunluklu odaklanmış ultrason uyarımı görünüşü, rat sabitleme aparatında



Şekil 36: Düşük yoğunluklu odaklanmış ultrason uyarımı görüntüsü, rat sabitleme aparatında

SAAT	26. GÜN	25. GÜN	24. GÜN	23. GÜN	22. GÜN	21. GÜN	20. GÜN	19. GÜN	18. GÜN	17. GÜN	16. GÜN	15. GÜN
08:00-12:00	Son yer tercihinin değerlendirilmesi	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması
14:00-18:00		Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması	US ve SHAM Grupları sıra ile; stabilizasyon-morfin uygulanması SFGrubunaSF uygulanması	Her iki gruba SF uygulanması

Tablo 4: Deney-2 prosedürü (16.-26. günler)

4.9. Odaklanmış Ultrason İle Beyin Uyarımı Yapılması

GP-16-3 model (Image Guided Therapy Firması'ndan temin edildi) odaklanmış ultrason cihazı kullanıldı. Ultrason parametreleri; temel frekans: 2,8 MHz, DTF / PRF: 250 Hz, KO / DC: %50, SS / SD: 300 msn, gecikme (delay): 1700 msn, Isppa = 4.06 W/cm², Ispta = 0.305 W/cm² olarak uygulandı.

Deney-2 aşamasında US ve SHAM gruplarına inhaler anestezi izofluran ile anestezi uygulandı, ratlar hemen sonra özel sabitleme aparatı ile sabitlendi, ultrason transdüseri ile uygulama bölgesi arasına jel sürüldü. Bu esnada hayvanlar uyanık vaziyette iken US grubuna 10 dakika uyarım verildi. SHAM grubuna sahte uyarı verildi. US ve SHAM grubundaki hayvanlara stimülasyon işlemi bittikten 10 dakika sonra morfin enjeksiyonu yapıldı (i.p.) ve 30 dk'lığına beyaz duvarlı bölmeye konuldu.

4.10. İstatistiki Yöntem

İstatiski değerlendirmelerde; ikiden fazla grup kıyaslamalarında non parametrik test Kruskal Wallis, alt grup analizlerinde Dunn testleri kullanılmıştır. İkili kıyaslamalarda farklı gruplar non parametrik test Man Whitney U ile, grup içi değişimler non parametrik test Wilcoxon ile yapılmıştır. Tüm testlerde 0,05 istatistiksel anlamlılık seviyesi olarak kabul edilmiştir.

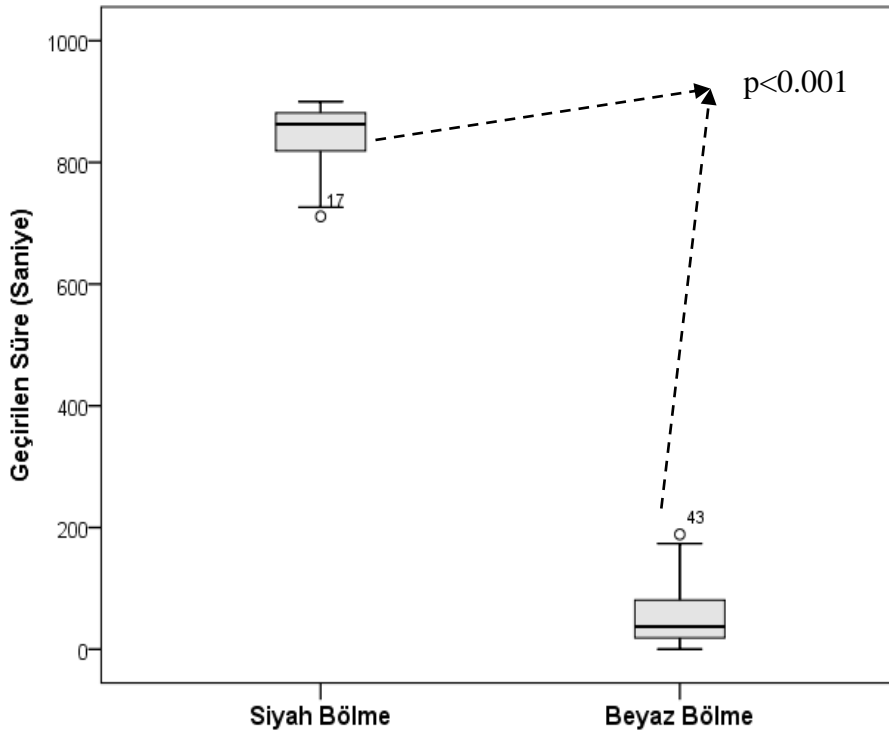
5. BULGULAR

Koşullu yer tercihi protokolü sonrasında, US grubundan 3, SF grubundan 1 hayvan anestezi uygulamaları esnasında öldü.

5.1. Morfinin Koşullanmış Yer Tercihi Oluşturması

Koşullanmış yer tercihinde, sıçanların ön test aşamasında beyaz duvarlı bölmede ve siyah duvarlı bölmede geçirdikleri süreler Şekil 37’te ayrıca SF ve morfin gruplarının ön test ve yer tercihi testinde beyaz duvarlı bölmede geçirdikleri süreler Şekil 38’da belirtilmiştir.

Ön test aşamasında bütün sıçanların beyaz duvarlı ve siyah duvarlı bölmede geçirdikleri süreler karşılaştırıldığında siyah duvarlı bölmede geçirilen süre beyaz duvarlı bölmede geçirilen süreden yüksek anlamlılıkla daha fazlaydı ($p<0.001$). Ön test aşamasında hayvanlar rastlantısal beklentilerden fazla oranda siyah duvarlı bölmeyi beyaz duvarlı bölmeye tercih ettiklerinden deney prosedürü yanlı tasarıma uygun şekilde hazırlandı.

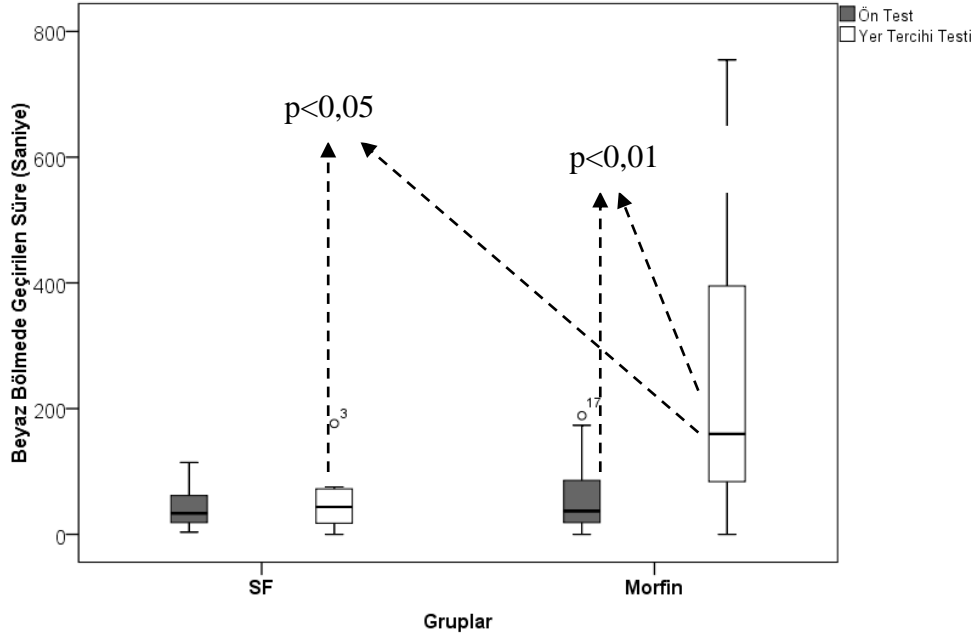


Şekil 37: Ön test aşamasında tüm gruplardaki sıçanların beyaz ve siyah bölmelerde geçirdikleri süreler. Beyaz ve siyah alanda geçirilen süre değerleri median (minimum – maksimum) olarak belirtildi

	Beyaz Alanda Geçen Süre	Siyah Alanda Geçen Süre	P değeri
Sıçanlar (n=26)	37,2 (0-188,8)	862,8 (711,2-900)*	<0,001

Tablo 5: Ön test aşamasında tüm gruptaki sıçanların beyaz ve siyah alanda geçirdikleri süreler. Beyaz ve siyah alanda geçirilen süre değerleri median (minimum – maksimum) olarak belirtildi
 $p < 0,001$
n: Hayvan sayısı

Ön test aşamasında SF (33,4 (3,4 -114,4)) ve morfin (37,2 (0 - 188,8)) gruplarındaki sıçanların beyaz duvarlı bölmede geçirdikleri süreler karşılaştırıldığında anlamlı farklılık görülmemektedir ($p > 0,05$). Yer tercihi test aşamasında grupların beyaz duvarlı bölmede geçirdikleri süreler karşılaştırıldığında morfin grubunun geçirdiği süre (159,7 (0,0 - 754,9)) SF grubunun geçirdiği süreden (43,7 (0,3 - 176,3)) anlamlı olarak fazlaydı ($p < 0,05$). Ayrıca morfin grubunun yer tercihi testinde beyaz duvarlı bölmede geçirdiği süre (159,7 (0,0 - 754,9)) ön testte beyaz duvarlı bölmede geçirdiği süreden (37,2 (0 - 188,8)) yüksek anlamlılıkla fazlaydı ($p < 0,01$). Her iki grubun beyaz duvarlı bölmede geçirilen süre bakımından, yer tercihi test süresi ile ön test süre farkları kıyaslandığında morfin grubunun süre farkı (93,7 (-86,0 - 733,1)) SF grubunun süre farkından ($1,9 \pm (-45,2 - 148,0)$) anlamlı olarak fazlaydı ($p < 0,01$).



Şekil 38: Deney 1 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler
Beyaz alanda geçirilen süre değerleri median (minimum – maksimum) olarak belirtildi

	SF (n=8)	Morfin (n=18)	p değeri
Ön Test	33,4 (3,4 -114,4)	37,2 (0 - 188,8)	0,470
Yer Tercihi Testi	43,7 (0,3 - 176,3)	159,7 (0,0 - 754,9)	*0,013
Yer Tercihi Testi – Ön Test Süre Farkı	1,9 ± (-45,2 - 148,0)	93,7 (-86,0 - 733,1)	**0,009

Tablo 6: Deneysel 1 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler. Beyaz alanda geçirilen süre değerleri median (minimum – maksimum) olarak belirtildi

*p<0,05 **p<0,01

n: Hayvan sayısı

	Ön Test	Yer Tercihi Testi	p değeri
SF (n=8)	33,4 (3,4 -114,4)	43,7 (0,3 - 176,3)	0,779
Morfin (n=18)	37,2 (0 - 188,8)	159,7 (0,0 - 754,9)	*0,001

Tablo 7: Deneysel 1 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler

Beyaz alanda geçirilen süreler; median (minimum – maksimum) olarak belirtildi

*p<0,01

n: Hayvan sayısı

5.2. Morfinle Koşullanmış Yer Tercihi Geliştirilmiş, Morfin Koşullandırmasına Devam Edilen Sıçanlarda; Düşük Yoğunluklu Odaklanmış Ultrasonun Yer Tercihine Etkisi

Şekil 39’de düşük yoğunluklu odaklanmış ultrasonun; morfine koşullu yer tercihi geliştirmiş, morfin koşullamasına devam edilen sıçanların yer tercihine etkisi gösterilmiştir. İstatistiksel analiz morfin uygulamasına devam edilen SHAM grubundaki sıçanların beyaz alan tercihinde ciddi bir artış göstermiştir. İstatistiksel olarak US grubundaki sıçanların ise beyaz alan tercihlerinde beklenen anlamlı düşüş gösterilememiştir, ancak beyaz alan tercihlerinde anlamlı bir artış da olmamıştır.

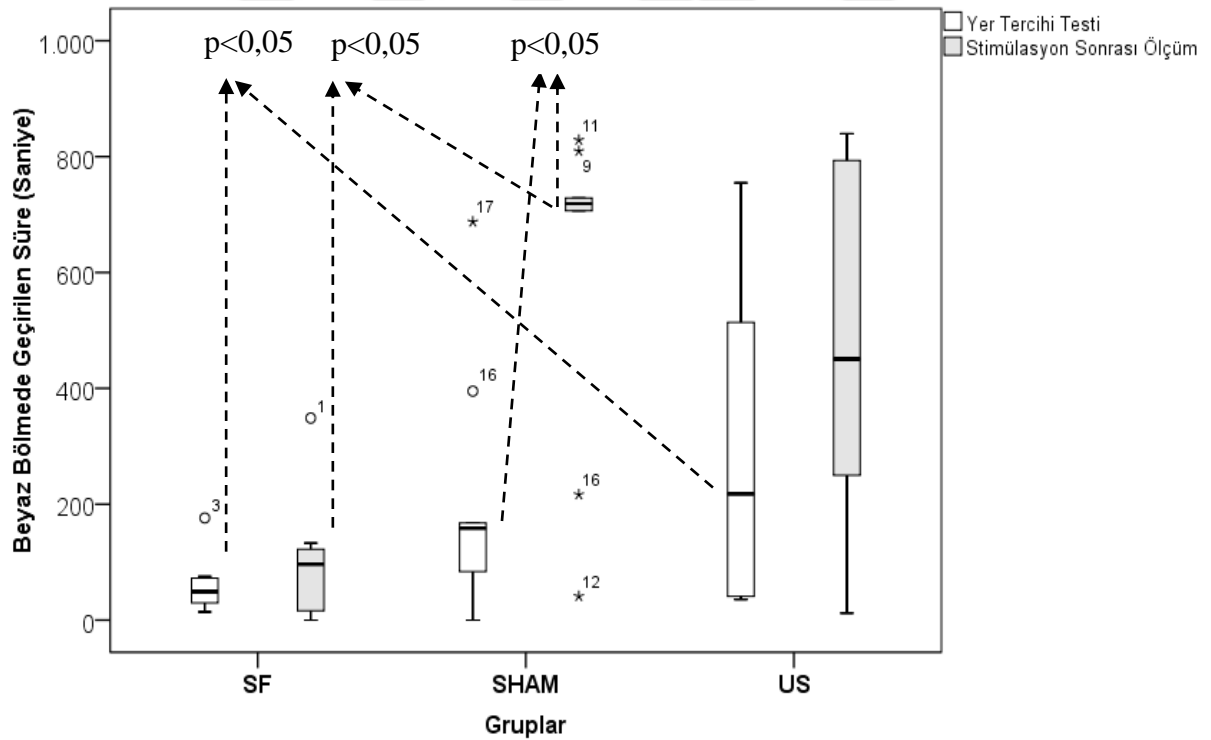
Yer tercihi test aşamasında US grubu (165,8 (35,5 - 754,9)) SF grubuna (43,7 (0,0 - 176,3)) göre anlamlı olarak beyaz duvarlı bölmede daha çok süre geçirdi (p<0.05). SHAM (158,6 (0,0 - 687,4)) ve US (165,8 (35,5 - 754,9)) gruplarının, yer tercihi testinde beyaz duvarlı bölmede geçirdikleri süreler arasında anlamlı fark yoktu (p>0.05).

Stimülasyon sonrası ölçümde SHAM grubu (719,0(41,1 - 828,6)) SF grubuna (96,3 (0,0 - 348,7)) göre beyaz duvarlı bölmede anlamlı olarak daha çok süre geçirdi (p < 0,05). Stimülasyon sonrası ölçümde US grubu (450,6 (12,0 - 839,5)) SF grubu arasında (96,3 (0,0 - 348,7)) beyaz duvarlı bölmede geçirilen süre bakımından anlamlı fark yoktu. Stimülasyon sonrası ölçümde US

grubu (450,6 (12,0 - 839,5)) ile SHAM grubu (719,0(41,1 - 828,6)) arasında beyaz duvarlı bölmede geçirilen süre açısından anlamlı farklılık görülmedi.

SF grubunun beyaz duvarlı bölmede geçirdiği süre stimülasyon sonrası ölçümde, yer tercihi test aşamasına göre anlamlı farklılık göstermedi. SHAM grubunun beyaz duvarlı bölmede geçirdiği süre stimülasyon sonrası ölçümde, yer tercihi test aşamasına göre anlamlı farklıydı ($p<0,05$). US grubunun beyaz duvarlı bölmede geçirdiği süre stimülasyon sonrası ölçümde, yer tercihi test aşamasına göre anlamlı farklılık göstermedi.

Beyaz duvarlı bölmede geçirilen süre bakımından, stimülasyon sonrası süre ile yer tercihi test süre farkları kıyaslandığında; SF grubu süre farkı ile SHAM grubu süre farkı karşılaştırıldığında $p = 0,064$ olmakla beraber anlamlı farklılık görülmedi. SF grubu süre farkı ile US grubu süre farkı karşılaştırıldığında anlamlı farklılık görülmedi. Ayrıca US grubu süre farkı SHAM grubu süre farkına göre anlamlı farklılık göstermedi.



Şekil 39: Deney-2 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler
Beyaz alanda geçirilen süre değerleri median (minimum - maksimum) olarak verildi

	Yer Tercihi Testi	Stimülasyon Sonrası Ölçüm	p değeri
SHAM	158,6 (0,0 - 687,4)	719,0(41,1 - 828,6)	*0,021
US	165,8 (35,5 - 754,9)	450,6 (12,0 - 839,5)	0,345

Tablo 8: Deney-2 şamasında beyaz alanda geçirilen süreler
Beyaz alanda geçirilen süre değerleri median (minimum - maksimum) olarak verildi
*p<0,05

	SHAM	US	p değeri
Yer Tercihi Testi	158,6 (0,0 - 687,4)	165,8 (35,5 - 754,9)	0,569
Stimülasyon Sonrası Ölçüm	719,0(41,1 - 828,6)	450,6 (12,0 - 839,5)	1,000

Tablo 9: Deney-2 aşamasında beyaz alanda geçirilen süreler
Beyaz alanda geçirilen süre değerleri median (minimum - maksimum) olarak verildi

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada, NA'in DBS ile uyarılmasının morfin bağımlılığının tedavisinde olumlu etkilerinin ortaya konulmasından yola çıkarak invaziv olmayan bir yöntem olan odaklanmış ultrason aracılığı ile yine aynı bölgeyi uyararak KYT modelinde morfinle koşullandırılmış ve sonrasında morfinle koşullandırmaya devam edilen sıçanlarda, morfine bağlı yer tercihini azaltma amaçlanmıştır.

Düşük yoğunluklu ultrason dalgalarının morfin bağımlılığı üzerine olumlu etkileri, DBS çalışmalarındaki gibi anlamlı bir şekilde gösterilememiştir ve morfine bağlı yer tercihi skorları azalmamıştır. Ancak morfine bağlı yer tercihi geliştirilen ve morfin ile koşullandırmaya devam edilen sıçanların, morfin arama davranışında ultrason stimülasyonu (US Grubu) sayesinde anlamlı artış olmamıştır.

Xu ve arkadaşları (2005) [221] bir opiyat madde bağımlısı hastada bilateral NA'in DBS'nda olumlu etkiler olduğunu ve nüksün önemli komplikasyonlar olmadan azaldığını bildirmişlerdir. Sıçan çalışmalarında NA'in DBS ile yüksek frekanslı stimülasyonu, ratlarda morfinin uyardığı KYT skorlarını düşürmede etkili bulunmuştur [26-29]. Çalışmanın birinci aşamasında koşullanma kutusunun yanlı tasarıma uygun özellikte olduğu ve yukarıda bahsedilen DBS çalışmaları bulgularına uyumlu şekilde morfine bağlı koşullu yer tercihi skorları başarılı şekilde gösterilmiştir. Ancak ikinci aşamada düşük yoğunluklu ultrason dalgalarının morfin bağımlılığı üzerine olumlu etkileri, DBS çalışmalarındaki gibi anlamlı bir şekilde gösterilememiştir ve morfine bağlı yer tercihi skorları azalmamıştır. Yalnız, çalışmada, morfine bağlı yer tercihi geliştirilen ve morfin ile koşullandırmaya devam edilen sıçanların, morfin arama davranışında ultrason stimülasyonu (US Grubu) sayesinde anlamlı artış olmadığı söylenilebilir. Morfin almaya devam eden SHAM grubunda ise morfin arama davranışı ciddi oranda artmıştır. Hatta US Grubu SF Grubu ile kıyaslandığında morfin arama davranışları arasında anlamlı fark varken, ultrason stimülasyonu ile bu fark anlamsız hale gelmiştir.

Düşük yoğunluklu ultrason dalgalarının morfin bağımlılığı üzerine olumlu etkilerinin, DBS çalışmalarındaki gibi anlamlı bir şekilde gösterilememesinin nedeni DYUO uyarım modalitesinin kısa sürmüş olması olabilir.

Çalışmada koşullandırma prosedüründen hemen sonra stimülasyona geçilmiştir, fakat koşullanmaya bağlı bağımlılıkla ilgili öğrenme davranışı gerçekleştiği için, sıçanların morfinin pozitif pekiştireç rolüne bağlı yer tercihleri durdurulmasına rağmen bağımlılık ile ilgili öğrenme devam ettiğinden yer tercihi skorları azaltılmadı diye düşünülmektedir.

Başka çalışmalarda [342, 343] KYT testinde uygulanan morfin dozları, bu çalışmada tercih edildi. Düşük yoğunluklu ultrason ile yapılmış KYT çalışması bulunmadığından, ultrason parametrelerimizi nöroeksitasyon etkinliği gösterilen bir araştırma çalışmasına [323] ve sıçanların NAc'ine ultrason dalgalarını odaklamak için önceden yapmış olduğumuz çalışmamıza göre belirlendi. Sıçanların kafatasına miknatısları yapıştırmak üzere cerrahi işlem için gerekli xylazine (10 mg/kg) ve ketamin (80 mg/kg) anestezi dozlarını başka çalışmalarda sıçanlara düşük yoğunluklu ultrason dalgası uygulanırken verilen anestezi dozlarından seçildi. [313, 323] Sıçanlar, ultrason uyarımı vermek üzere özel olarak tasarlayıp yaptırdığımız sabitleyici aparatlarımıza yerleştirildi. Bu işlem için öncesinde sıçanlara verilen inhaler %1.5 izofluran anestezi dozu bir DYOU çalışmasından [304] ve başka bir stimülasyon çalışmasından [344] seçildi. İşlem sonrasında uyarım sıçanlar uyanıkken yapıldı. Çalışmanın birinci aşaması olan koşullandırma aşamasında; gün sayısı, koşullandırma süresi, enjeksiyonların uygulanma protokolleri, ön test ve yer tercihi süresi, sıçanlarda NAc'e uygulanan DBS'nun morfin koşullandırmasına etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan alındı. [26, 28, 29, 338]

Son yıllarda derin beyin yapılarına odaklanmış ultrason enerjisinin düşük enerji düzeylerinde, küçük beyin bölgelerini uyarabildiği veya inhibe edebildiği çok sayıda gösterilmiştir. [34-38] Yukarıda bahsettiğimiz DBS çalışmaları bulgularında; sıçanların KYT üzerinden morfin arama davranışlarında DBS'nun olumlu etkilerinin olduğunu ve bu etkileri nöronal inhibisyon üzerinden gerçekleştirdiğini ifade etmişlerdir.

Yukarıdaki bahsedilen çalışmalara göre [36,47] bu çalışmada NA'e odaklanmış düşük yoğunluklu ultrason dalgalarının, mekanosensitif kanallar üzerinden voltaj kapılı iyon kanallarının mekanik olarak ve gerilimle aktive edilmesi ile uyarıcı etki oluşturduğunu ön görülmüştür. Bu sayede düşük yoğunluklu odaklanmış ultrason uyarımının bir nevi parsiyel agonizma gibi etki ederek NA'de kısmi bir dopaminerjik artış sağladığı ve bu sayede sıçanların morfin arama davranışlarındaki artışı engellendiği düşünülmüştür. Yalnız bu

çalışmadaki ödenek kısıtlılığından dolayı mikrodializ yöntemi ile mevcut nörotransmisyonu, ayrıca nöronal aktivasyon olup olmadığını gösterilememiştir.

DBS'nun çok iyi bir uzaysal lokalizasyon yeteneği olmasına karşın invaziv bir yöntem olması sebebiyle kullanımı sınırlıdır. Morfin bağımlılığı tedavisine yönelik yüz güldürücü sonuçlar elde edilmesine karşın DBS cerrahi işlemle beyine elektrot yerleştirilen invaziv bir işlemdir. Cerrahi, stimülasyon, intra ve ekstrakranial elektrotlar ve uyarı devresi ile ilgili olmak üzere risk ve komplikasyonları mevcuttur. [30-33] Bu çalışmada kullanılan DYOU derin yapılaraya etki edebilen ve hedefe spesifik bir yöntem olmasının dışında DBS'nun aksine noninvaziv olması bakımından üstünlük arz etmektedir.

Çalışmanın ilkleri: Çalışma DYOU uyarımının; psikiyatride tedavi amacı ile kullanıldığı ve bağımlılık davranışı üzerine etkilerini inceleyen ilk çalışmadır. DYOU uyarımı yapılan mevcut hayvan çalışmalarının tamamına yakını bir gün sürmüştür. Mevcut çalışma 10 gün boyunca ultrason uyarımı yapılan ilk çalışma olma özelliğindedir. Ayrıca yapılan bütün çalışmalarda hayvanlar anestezi altında iken ultrason uyarımı yapılmıştır. Bu çalışmada hayvanlar inhaler izofluran ile tarafımızdan yaptırılan sabitleyici cihazlara alınmıştır, hayvanlar stimülasyondan önceki 5 gün boyunca, uyanık vaziyette, her gün 10 dakikalığına sabitleyicide durmaya alıştırmıştır. Sonrasında 10 gün boyunca stimülasyon işlemi esnasında sabitleyicide tutulmuşlardır. Bütün bu işlemler ilk defa bu çalışmada yapılmıştır. Çünkü sıçanların her gün anestezi altında uyarı alması, yüksek oranda ölümlere neden olabilirdi. Sabitleyiciye alıştırma işleminde 4. 5. günden sonra sıçanlar çok daha sakin şekilde cihazların içine beklemişleridir. Bregma noktası referans alınarak ultrason probunun geleceği noktaya göre streotaksi ile mıknatısların yapıştırılma işlemi de ilk defa uygulanmıştır. Cerrahi işlemle mıknatıslar yapıştırılmıştır. Sonrasında hayvanların bir gün iyileşme sürecine bırakılmaları yeterli olmuştur.

Ödenek kısıtlılığından dolayı mikrodializ yöntemi ile mevcut nörotransmisyonu, ayrıca nöronal aktivasyon olup olmadığını gösterilememiştir.

Çalışma esnasında SF grubundan 1, US grubundan 3 hayvan anestezi işlemleri esnasında ölmüştür. Mevcut ölümler her iki grubumuzdaki (SF grubu 7 hayvan, US grubu 6 hayvan) sıçan sayısını güçlü istatistiksel anlamlılık için gerekli olan 8 hayvanın altına çekmiştir.

Benzer metodoloji ile yapılacak daha ileri çalışmalarda hayvan sayısının, ölümler göz önüne alınarak 12-13 gibi olması da sonuçların anlamlılığına katkı sağlayabilir.

Sham ile US grupları arasında anlamlı bir fark görülmemesine rağmen Sham grubunun bağımlılık davranışı anlamlı olarak artmış, fakat US grubunda anlamlı artış olmamıştır, bu sebepten ileride daha uzun stimülasyon yapılan tedavi modalitelerinin planlanması ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir. Bu durumda koşullandırma süresi uzayacağı için morfine bağlı tolerans gelişebilir, morfin dozlarının ayarlanmasında fayda vardır ya da DYOU'un morfin bağımlılığı üzerindeki etkisi farklı bağımlılık yöntemleri (self admistirasyon – kendine verme) ile çalışılabilir.

Ayrıca morfinin pozitif pekiştireç rolü üzerinden gerçekleşen koşullanmaya bağlı bağımlılıkla ilgili öğrenme davranışı gerçekleştiği için daha sonraki çalışmamızda koşullandırma aşamasından sonra morfinle koşullandırma sonlandırılıp stimülasyon yapılarak çalışma yeniden tasarlanacaktır. [29]

7. SONUÇ

Bu çalışmada, invaziv olmayan bir yöntem olan DYOU aracılığı ile NA'ı uyararak KYT modelinde morfinle koşullandırılmış ve sonrasında morfinle koşullandırmaya devam edilen sıçanlarda, morfine bağlı yer tercihini azaltma amaçlanmıştır.

Çalışmanın birinci aşamasında koşullanma kutusunun yanlı tasarıma uygun özellikte olduğu ve morfine bağlı koşullu yer tercihi skorları başarılı şekilde gösterilmiştir. İkinci aşamada US grubunun morfine bağlı yer tercihi skorları azalmamıştır. Yalnız, bu çalışma US grubunun morfin arama davranışında ultrason stimülasyonu sayesinde anlamlı artış olmamıştır. Sham grubunda ise morfin arama davranışı ciddi oranda artmıştır. Hatta US grubu, SF grubu ile kıyaslandığında morfin arama davranışları arasında anlamlı fark varken, ultrason stimülasyonu ile bu fark anlamsız hale gelmiştir.

Kullanılan DYOU derin yapılara etki edebilen ve hedefe spesifik bir yöntem olmasının dışında DBS'nun aksine noninvaziv olması bakımından üstünlük arz etmektedir. Ayrıca çalışmada DYOU uyarımının; psikiyatride tedavi amacı ile kullanılması ve bağımlılık davranışı üzerine etkilerini incelemesi bakımından ilk olması bakımından önem arz etmektedir. DYOU uyarımının mevcut çalışmalardan farklı olarak ratların kalvaryumlarına miknatısların yapıştırılması aracılığı ile ve sabitleyici aparat yardımı ile ratlar uyanık iken 10 gün gibi uzun bir prosedür ile uygulanması ilk olma özelliğindedir.

Ödenek yetersizliğinden dolayı mikrodiyaliz yöntemi ile mevcut nörotransmisyonu, ayrıca nöronal aktivasyon olup olmadığını gösterilememesi ve mevcut sıçan ölümlerinin güçlü istatistiksel anlamlılık için gerekli olan hayvan sayısını aşağı çekmesi çalışmanın kısıtlılıkları arasındadır.

Benzer metodoloji ile yapılacak daha ileri çalışmalarda hayvan sayısının, ölümler göz önüne alınarak 12-13 gibi olması da sonuçların anlamlılığına katkı sağlayabilir.

Araştırmadaki bu ilklerin DYOU çalışmalarının gerek daha uzun tedavi modalitelerinin oluşturulmasında gerekse tedavi amacı ile kullanılmasında yani yaklaşımlara kapı araladığını düşünüyoruz. İleride daha uzun stimülasyon yapılan tedavi modalitelerinin planlanması ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir, bu durumda koşullandırma süresi uzayacağı için morfine bağlı tolerans gelişebileceği için morfin dozlarının ayarlanmasında

fayda vardır ya da DYOU'un morfin bağımlılığı üzerindeki etkisi farklı bağımlılık yöntemleri (self admistirasyon – kendine verme) ile çalışılabilir.

Morfinin pozitif pekiştireç rolü üzerinden gerçekleşen koşullanmaya bağlı bağımlılıkla ilgili öğrenme davranışı gerçekleştiği için daha sonraki çalışmamızda koşullandırma aşamasından sonra morfinle koşullandırma sonlandırılıp ultrason uyarımı yapılarak çalışma yeniden tasarlanacaktır. [29]

Ciddi sosyal bir sorun olan morfin ve diğer opioid bağımlılıklarının tedavisinde alternatif bir yöntem olarak DYOU uyarımı üzerine yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.



8. KAYNAKLAR

1. Kiefer, F. and K. Mann, *New achievements and pharmacotherapeutic approaches in the treatment of alcohol dependence*. Eur J Pharmacol, 2005. **526**(1-3): p. 163-71.
2. Wu, H.M., et al., *Preliminary findings in ablating the nucleus accumbens using stereotactic surgery for alleviating psychological dependence on alcohol*. Neurosci Lett, 2010. **473**(2): p. 77-81.
3. Compton, P., J. Darakjian, and K. Miotto, *Screening for addiction in patients with chronic pain and "problematic" substance use: evaluation of a pilot assessment tool*. J Pain Symptom Manage, 1998. **16**(6): p. 355-63.
4. Preston, K.L., *Drug abstinence effects: opioids*. Br J Addict, 1991. **86**(12): p. 1641-6.
5. Koob, G.F., Le Moal, M., *Neurobiology of Addiction*. Elsevier Inc., UK, 2006.
6. Oviedo-Joekes, E., et al., *Diacetylmorphine versus methadone for the treatment of opioid addiction*. N Engl J Med, 2009. **361**(8): p. 777-86.
7. *United Nations Office on Drugs and Crime United Nations Publication Sales No. E.08.XI.1 978-92-1-148229-4.*, 2008.
8. *United Nations Office on Drugs and Crime. United Nations Publication Sales No. E.12.XI.1 ISBN: 978-92-1-148267-6.*, 2012.
9. Mattick, R.P., et al., *Methadone maintenance therapy versus no opioid replacement therapy for opioid dependence*. Cochrane Database Syst Rev, 2009(3): p. Cd002209.
10. Soyka, M., *New developments in the management of opioid dependence: focus on sublingual buprenorphine-naloxone*. Subst Abuse Rehabil, 2015. **6**: p. 1-14.
11. Fiellin, D.A., et al., *Counseling plus buprenorphine-naloxone maintenance therapy for opioid dependence*. N Engl J Med, 2006. **355**(4): p. 365-74.
12. Kakko, J., et al., *A stepped care strategy using buprenorphine and methadone versus conventional methadone maintenance in heroin dependence: a randomized controlled trial*. Am J Psychiatry, 2007. **164**(5): p. 797-803.
13. Stein, M.D., P. Cioe, and P.D. Friedmann, *Buprenorphine Retention in Primary Care*. Journal of General Internal Medicine, 2005. **20**(11): p. 1038-1041.
14. Fiellin, D.A., et al., *Long-term treatment with buprenorphine/naloxone in primary care: results at 2-5 years*. Am J Addict, 2008. **17**(2): p. 116-20.
15. Veilleux, J.C., et al., *A review of opioid dependence treatment: pharmacological and psychosocial interventions to treat opioid addiction*. Clin Psychol Rev, 2010. **30**(2): p. 155-66.

16. Koob, G.F., Volkow, Nora D., *Neurocircuitry of Addiction*. Neuropsychopharmacology, 2010. **35**(1): p. 217-238.
17. Fecteau, S., et al., *Neuromodulation of decision-making in the addictive brain*. Subst Use Misuse, 2010. **45**(11): p. 1766-86.
18. Gruber, S.A., M.M. Silveri, and D.A. Yurgelun-Todd, *Neuropsychological consequences of opiate use*. Neuropsychol Rev, 2007. **17**(3): p. 299-315.
19. Le Merrer, J., et al., *Reward processing by the opioid system in the brain*. Physiol Rev, 2009. **89**(4): p. 1379-412.
20. Wise, R.A., *Opiate reward: sites and substrates*. Neurosci Biobehav Rev, 1989. **13**(2-3): p. 129-33.
21. Wise, R.A. and P.P. Rompre, *Brain dopamine and reward*. Annu Rev Psychol, 1989. **40**: p. 191-225.
22. Wise, R.A., *Neurobiology of addiction*. Curr Opin Neurobiol, 1996. **6**(2): p. 243-51.
23. Kuhn, J., et al., *Remission of alcohol dependency following deep brain stimulation of the nucleus accumbens: valuable therapeutic implications?* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2007. **78**(10): p. 1152-3.
24. Kuhn, J., et al., *Observations on unaided smoking cessation after deep brain stimulation of the nucleus accumbens*. Eur Addict Res, 2009. **15**(4): p. 196-201.
25. Gao, G., et al., *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): p. 96-104.
26. Liu, H.Y., et al., *Chronic deep brain stimulation in the rat nucleus accumbens and its effect on morphine reinforcement*. Addict Biol, 2008. **13**(1): p. 40-6.
27. Wang, L., Wang, G., Zhao, Y. et al., *Effect of deep brain stimulation of nucleus accumbens on psychological morphine dependence in rats*. Chin J Minim Invasive Neurosurg (Chin), 2008. **13**: p. 223-226.
28. Hu, W.H., et al., *High-frequency electrical stimulation in the nucleus accumbens of morphine-treated rats suppresses neuronal firing in reward-related brain regions*. Med Sci Monit, 2011. **17**(6): p. Br153-60.
29. Ma, Y., et al., *Inhibition of the reinstatement of morphine-induced place preference in rats by high-frequency stimulation of the bilateral nucleus accumbens*. Chin Med J (Engl), 2013. **126**(10): p. 1939-43.
30. Baizabal Carvallo, J.F., R. Simpson, and J. Jankovic, *Diagnosis and treatment of complications related to deep brain stimulation hardware*. Mov Disord, 2011. **26**(8): p. 1398-406.

31. Resnick, A.S., et al., *The number and nature of emergency department encounters in patients with deep brain stimulators*. J Neurol, 2010. **257**(1): p. 122-31.
 32. Oh, M.Y., et al., *Long-term hardware-related complications of deep brain stimulation*. Neurosurgery, 2002. **50**(6): p. 1268-74; discussion 1274-6.
 33. Boviatsis, E.J., et al., *Surgical and hardware complications of deep brain stimulation. A seven-year experience and review of the literature*. Acta Neurochir (Wien), 2010. **152**(12): p. 2053-62.
 34. Yoo, S.S., Lee, J.H., Zhang, Y., et al. , *FUS-mediated reversible modulation of region-specific brain function*. Proceedings of MRgFUS. 2008, Washington DC.
 35. Yoo, S.S., Min, B.K., Zhang, Y., McDannold, N., Bystritsky, A., Jolesz, F.A., *Non-invasive suppression of animal-model chronic epilepsy using image-guided focused ultrasound*. Proceeding of SMRMESMRMB Joint Annual Meeting in Stockholm, Sweden, (May 4): Abstract 2197.
- , 2010.
36. Tyler, W.J., et al., *Remote excitation of neuronal circuits using low-intensity, low-frequency ultrasound*. PLoS One, 2008. **3**(10): p. e3511.
 37. Tyler, W.J., *Noninvasive neuromodulation with ultrasound? A continuum mechanics hypothesis*. Neuroscientist, 2011. **17**(1): p. 25-36.
 38. Bystritsky, A., et al., *A review of low-intensity focused ultrasound pulsation*. Brain Stimul, 2011. **4**(3): p. 125-36.
 39. Tsui, P.H., S.H. Wang, and C.C. Huang, *In vitro effects of ultrasound with different energies on the conduction properties of neural tissue*. Ultrasonics, 2005. **43**(7): p. 560-5.
 40. Colucci, V., et al., *Focused ultrasound effects on nerve action potential in vitro*. Ultrasound in medicine & biology, 2009. **35**(10): p. 1737-1747.
 41. Yoo, S.S., Lee, J.H., Fischer, K., et al., *Non-invasive regional modulation of brain function by focused ultrasound*. Proceedings of Society for Neuroscience, 2009: p. 105.101.
 42. Yoo, S.-S., et al., *Focused ultrasound modulates region-specific brain activity*. Neuroimage, 2011. **56**(3): p. 1267-1275.
 43. Fry, W.J. and R.B. Fry, *A possible mechanism involved in the conduction process of thin sheathed nerve fibers*. J Cell Physiol, 1950. **36**(2): p. 229-39.
 44. Heckman, J.D., et al., *Acceleration of tibial fracture-healing by non-invasive, low-intensity pulsed ultrasound*. J Bone Joint Surg Am, 1994. **76**(1): p. 26-34.
 45. Gavrilov, L.R., E.M. Tsurulnikov, and I.A. Davies, *Application of focused ultrasound for the stimulation of neural structures*. Ultrasound Med Biol, 1996. **22**(2): p. 179-92.

46. Sachs, F., *Stretch-activated ion channels: what are they?* Physiology (Bethesda), 2010. **25**(1): p. 50-6.
47. Boland, L.M. and M.M. Drzewiecki, *Polyunsaturated fatty acid modulation of voltage-gated ion channels.* Cell Biochem Biophys, 2008. **52**(2): p. 59-84.
48. Morris, C.E. and P.F. Juranka, *Nav channel mechanosensitivity: activation and inactivation accelerate reversibly with stretch.* Biophys J, 2007. **93**(3): p. 822-33.
49. Foley, J.L., J.W. Little, and S. Vaezy, *Image-guided high-intensity focused ultrasound for conduction block of peripheral nerves.* Ann Biomed Eng, 2007. **35**(1): p. 109-19.
50. Legon, W., et al., *Transcranial focused ultrasound modulates the activity of primary somatosensory cortex in humans.* Nat Neurosci, 2014. **17**(2): p. 322-9.
51. Akvardar, Y., A. Turkcan, and D. Cakmak, *[Is substance abuse among physicians a problem?].* Turk Psikiyatri Derg, 2002. **13**(3): p. 238-44.
52. Cakmak, D., Evren, C., *Alkol ve Madde Kullanım Bozuklukları.* Anadolu Psikiyatr Dergisi, 2006. **7**: p. 65-70.
53. Karatay, G., *Ergenlerde Madde Kullanımı ve İlgili Risk Faktörleri.* Sürekli Tıp Eğitim Dergisi (STED), 2008. **17**(2): p. 15-22.
54. Koroglu, E., *Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal El Kitabı (DSM-IV-TR), 1. Cilt. 4. Baskı.* Ankara: HYB Basım Yayın Matbaası, 2007: p. 267-296.
55. Oz, F., *Madde Kullanım Bozuklukları: Psikiyatri Hemşireliği El Kitabı.* Ed. N. Kum, Birlik Ofset, İstanbul, 1996: p. 82-100.
56. Yuncu, Z., Yıldız, U., Kesebir, S., *Alkol Kullanım Bozukluğu Olan Olguların Sosyal destek Sistemlerinin Değerlendirilmesi.* Bağımlılık Dergisi, 2005. **6**: p. 129-135.
57. Rinaldi, R.C., et al., *Clarification and standardization of substance abuse terminology.* Jama, 1988. **259**(4): p. 555-7.
58. Brunton, L.L., Lazo, J. S., Parker, K.L., *Goodman ve Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.* 11. baskı. New York: McGraw-Hill, 2006.
59. Hadidi, M.S., et al., *Current trends in drug abuse associated fatalities - Jordan, 2000-2004.* Forensic Sci Int, 2009. **186**(1-3): p. 44-7.
60. Köknel, Ö., *Alkol ve Madde Bağımlılığı.* . Altın Kitaplar Yayınevi Akdeniz Yayıncılık A.Ş., İstanbul., 1998.
61. Yaksh, T.L., *Spinal systems and pain processing: development of novel analgesic drugs with mechanistically defined models.* Trends Pharmacol Sci, 1999. **20**(8): p. 329-37.
62. Toklu, H.Z., *Hypnos'un haşhaşından Morfeus'un morfinine.* Türk Farmakoloji Derneği Bülteni, 2011. **108**: p. 19-21.

63. Pfordresher, J., Veidemanis, G.V. ve McDonnel, H. , *England in Literature: America Reads (Classic Edition)*. Pearson Prentice Hall, 1991.
64. Snyder, S.H., *Drugs and the Brain*. Scientific American Library books, No: 18 Chapter 2, 1996.
65. Pierce, R.C. and V. Kumaresan, *The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse?* Neurosci Biobehav Rev, 2006. **30**(2): p. 215-38.
66. Schultz, W., *Dopamine neurons and their role in reward mechanisms*. Curr Opin Neurobiol, 1997. **7**(2): p. 191-7.
67. Bardo, M.T., *Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens*. Crit Rev Neurobiol, 1998. **12**(1-2): p. 37-67.
68. Spanagel, R. and F. Weiss, *The dopamine hypothesis of reward: past and current status*. Trends Neurosci, 1999. **22**(11): p. 521-7.
69. Martin-Soelch, C., et al., *Reward mechanisms in the brain and their role in dependence: evidence from neurophysiological and neuroimaging studies*. Brain Res Brain Res Rev, 2001. **36**(2-3): p. 139-49.
70. Nestler, E.J., *Is there a common molecular pathway for addiction?* Nat Neurosci, 2005. **8**(11): p. 1445-9.
71. Balster, R.L., *Drug abuse potential evaluation in animals*. Br J Addict, 1991. **86**(12): p. 1549-58.
72. Olds, J. and P. Milner, *Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain*. J Comp Physiol Psychol, 1954. **47**(6): p. 419-27.
73. Karaoglu, K.v.O., S. , *Harmanın morfin psişik bağımlılığı üzerine etkisi*. Uzmanlık tezi, 2013: p. 27.
74. Roma, P.G. and A.L. Riley, *Apparatus bias and the use of light and texture in place conditioning*. Pharmacol Biochem Behav, 2005. **82**(1): p. 163-9.
75. Ferbinteanu, J. and R.J. McDonald, *Dorsal/ventral hippocampus, fornix, and conditioned place preference*. Hippocampus, 2001. **11**(2): p. 187-200.
76. Mucha, R.F., et al., *Drug reinforcement studied by the use of place conditioning in rat*. Brain Res, 1982. **243**(1): p. 91-105.
77. Spyraiki, C., H.C. Fibiger, and A.G. Phillips, *Attenuation by haloperidol of place preference conditioning using food reinforcement*. Psychopharmacology (Berl), 1982. **77**(4): p. 379-82.
78. Prus AJ, J.J., Rosecrans JA. In: Buccafusco JJ, editor, *Conditioned Place Preference*. Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; Chapter 4, 2009.
79. Cunningham, C.L., C.M. Gremel, and P.A. Groblewski, *Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice*. Nat Protoc, 2006. **1**(4): p. 1662-70.

80. Suzuki, T., *Pharmacological studies on drug dependence in rodents: dependence on opioids and CNS depressants*. Jpn J Pharmacol, 1990. **52**(1): p. 1-10.
81. Yanaura, S., E. Tagashira, and T. Suzuki, *Physical dependence on morphine, phenobarbital and diazepam in rats by drug-admixed food ingestion*. Jpn J Pharmacol, 1975. **25**(4): p. 453-63.
82. Gellert, V.F. and S.G. Holtzman, *Development and maintenance of morphine tolerance and dependence in the rat by scheduled access to morphine drinking solutions*. J Pharmacol Exp Ther, 1978. **205**(3): p. 536-46.
83. Eroglu, L. and H. Koyuncuoglu, *The effect of aspartic acid on the intensity of physical dependence in morphine dependent mice*. Pol J Pharmacol Pharm, 1979. **31**(2): p. 83-8.
84. Alcaraz, C., M.L. Vargas, and M.V. Milanes, *Chronic naloxone-induced supersensitivity affects neither tolerance to nor physical dependence on morphine at hypothalamus-pituitary-adrenocortical axis*. Neuropeptides, 1996. **30**(1): p. 29-36.
85. Kishioka, S., et al., *Possible involvement of the total amount of morphine infused in the development of acute morphine dependence in rats*. Jpn J Pharmacol, 1996. **70**(1): p. 17-24.
86. Salem, A. and W. Hope, *Absorption of morphine from a slow-release emulsion used to induce morphine dependence in rats*. J Pharmacol Toxicol Methods, 1998. **40**(3): p. 159-64.
87. Dougherty, P.M., et al., *Differential modification of morphine and methadone dependence by interferon alpha*. Neuropharmacology, 1987. **26**(11): p. 1595-1600.
88. Koyuncuoglu, H., et al., *The effects of different 4-aminopyridine and morphine combinations on the intensity of morphine abstinence*. Pharmacol Res, 2001. **43**(3): p. 245-50.
89. Houshyar, H., Z.D. Cooper, and J.H. Woods, *Paradoxical effects of chronic morphine treatment on the temperature and pituitary-adrenal responses to acute restraint stress: a chronic stress paradigm*. J Neuroendocrinol, 2001. **13**(10): p. 862-74.
90. Streel, E., et al., *A pharmacological modulation of opiate withdrawal using an up-/down-regulation of the noradrenergic system in opiate-dependent rats*. Int J Neuropsychopharmacol, 2006. **9**(5): p. 621-6.
91. Dravolina, O.A., et al., *Morphine tolerance and dependence in mice with history of repeated exposures to NMDA receptor channel blockers*. Pharmacol Biochem Behav, 1999. **63**(4): p. 613-9.
92. Deneau, G.A., Seevers, M.H. and *Pharmacological aspects of drug dependence*. Advances in Pharmacology & Chemotherapy, 1964. **3**: p. 267-283.

93. Herz, A., Blasig, J. , *Behavioral aspects of precipitated morphine withdrawal in rats*. Drug Addiction, 1974. **3**: p. 3-12.
94. Papaleo, F. and A. Contarino, *Gender- and morphine dose-linked expression of spontaneous somatic opiate withdrawal in mice*. Behav Brain Res, 2006. **170**(1): p. 110-8.
95. Blasig, J., et al., *Development of physical dependence on morphine in respect to time and dosage and quantification of the precipitated withdrawal syndrome in rats*. Psychopharmacologia, 1973. **33**(1): p. 19-38.
96. Jungnickel, S. and L.A. Chahl, *The effect of clonidine on the naltrexone-induced withdrawal response in morphine-treated guinea-pigs*. J Pharm Pharmacol, 2002. **54**(1): p. 127-32.
97. Kotlinska, J., *Attenuation of morphine dependence and withdrawal by glycine B site antagonists in rats*. Pharmacol Biochem Behav, 2001. **68**(1): p. 157-61.
98. Beyazyürek, M.v.Ş., T.T., *Madde kullanım kullanım bozuklukları*. Psikiyatir Dünyası, 2000. **4**: p. 50-56.
99. Özmen, *Uyuşturucu ve uyarıcı madde suçları*. Bahçeşehir Üniversitesi, 2009. **12**: p. 1-71.
100. Krames, E.S., P.H. Peckham, and A.R. Rezai, eds., *Neuromodulation*. Vol. 1-2. 2009: Academic Press. 1–1200.
101. Sakas, D.E., et al., *An introduction to operative neuromodulation and functional neuroprosthetics, the new frontiers of clinical neuroscience and biotechnology*. Acta Neurochir Suppl, 2007. **97**(Pt 1): p. 3-10.
102. Ben-Menachem, E., et al., *Vagus nerve stimulation for treatment of partial seizures: 1. A controlled study of effect on seizures*. First International Vagus Nerve Stimulation Study Group. Epilepsia, 1994. **35**(3): p. 616-26.
103. Elger, G., et al., *Vagus nerve stimulation is associated with mood improvements in epilepsy patients*. Epilepsy Res, 2000. **42**(2-3): p. 203-10.
104. Rush, A.J., et al., *Vagus nerve stimulation (VNS) for treatment-resistant depressions: a multicenter study*. Biol Psychiatry, 2000. **47**(4): p. 276-86.
105. Takigawa, M. and G.J. Mogenson, *A study of inputs to antidromically identified neurons of the locus coeruleus*. Brain Res, 1977. **135**(2): p. 217-30.
106. Ter Horst, G.J., et al., *Ascending projections from the solitary tract nucleus to the hypothalamus. A Phaseolus vulgaris lectin tracing study in the rat*. Neuroscience, 1989. **31**(3): p. 785-97.

107. Chae, J.H., et al., *A review of functional neuroimaging studies of vagus nerve stimulation (VNS)*. J Psychiatr Res, 2003. **37**(6): p. 443-55.
108. Conway, C.R., et al., *Association of cerebral metabolic activity changes with vagus nerve stimulation antidepressant response in treatment-resistant depression*. Brain Stimul, 2013. **6**(5): p. 788-97.
109. Henry, T.R., et al., *Brain blood-flow alterations induced by therapeutic vagus nerve stimulation in partial epilepsy: II. prolonged effects at high and low levels of stimulation*. Epilepsia, 2004. **45**(9): p. 1064-70.
110. Manta, S., et al., *Electrophysiological and neurochemical effects of long-term vagus nerve stimulation on the rat monoaminergic systems*. Int J Neuropsychopharmacol, 2013. **16**(2): p. 459-70.
111. Roosevelt, R.W., et al., *Increased extracellular concentrations of norepinephrine in cortex and hippocampus following vagus nerve stimulation in the rat*. Brain Res, 2006. **1119**(1): p. 124-32.
112. Corning, J.L., *Considerations on pathology and therapeutics of epilepsy*. J Nerv Ment Dis 1883. **10**: p. 243–248.
113. Lanska, D.J., *Corning and vagal nerve stimulation for seizures in the 1880s*. Neurology 1880. **58**: p. 452-459.
114. George, M.S., et al., *Vagus nerve stimulation: a new tool for brain research and therapy*. Biol Psychiatry, 2000. **47**(4): p. 287-95.
115. Zabara, J., *Time course of seizure control to brief, repetitive stimuli*. Epilepsia 1985 **26**: p. 518.
116. Penry, J.K. and J.C. Dean, *Prevention of intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans: preliminary results*. Epilepsia, 1990. **31 Suppl 2**: p. S40-3.
117. FDA, *Premarket Approval (PMA)*. 1997.
118. FDA., *Premarket Approval (PMA)*. 2005
119. Groves, D.A. and V.J. Brown, *Vagal nerve stimulation: a review of its applications and potential mechanisms that mediate its clinical effects*. Neurosci Biobehav Rev, 2005. **29**(3): p. 493-500.
120. Karason, K., et al., *Heart rate variability in obesity and the effect of weight loss*. Am J Cardiol, 1999. **83**(8): p. 1242-7.
121. Rosenberg, O., et al., *Mood disorders in elderly population: neurostimulative treatment possibilities*. Recent Pat CNS Drug Discov, 2009. **4**(2): p. 149-59.
122. Steinberg, H., *A pioneer work on electric brain stimulation in psychotic patients. Rudolph Gottfried Arndt and his 1870s studies*. Brain Stimul, 2013. **6**(4): p. 477-81.
123. Herremans, S.C. and C. Baeken, *The current perspective of neuromodulation techniques in the treatment of alcohol addiction: a systematic review*. Psychiatr Danub, 2012. **24 Suppl 1**: p. S14-20.

124. Liu, H., et al., *Vagus nerve stimulation inhibits heroin-seeking behavior induced by heroin priming or heroin-associated cues in rats*. *Neurosci Lett*, 2011. **494**(1): p. 70-4.
125. The National Institute for Health and Care Excellence (NICE), *Transcranial magnetic stimulation for treating and preventing migraine*. 2014 **7**: p. 3.
126. Marcolin, M.A., Padberg, F. , *Transcranial Brain Stimulation for Treatment of Psychiatric Disorders*. 1st ed. 2007, Switzerland: S. Karger.
127. Anthony, T.B., Ian, F., *Transcranial magnetic stimulation*. *Scholarpedia* 2007. **2**(10): p. 2936.
128. Barker, A.T., R. Jalinous, and I.L. Freeston, *Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex*. *Lancet*, 1985. **1**(8437): p. 1106-7.
129. Merton, P.A. and H.B. Morton, *Stimulation of the cerebral cortex in the intact human subject*. *Nature*, 1980. **285**(5762): p. 227.
130. Groppa, S., et al., *A practical guide to diagnostic transcranial magnetic stimulation: report of an IFCN committee*. *Clin Neurophysiol*, 2012. **123**(5): p. 858-82.
131. FDA, *FDA letter to eNeura re de novo classification review*. 2013
132. Melkerson, M.N., *Special Premarket 510(k) Notification for NeuroStar® TMS Therapy System for Major Depressive Disorder*. *Food and Drug Administration*. 2008.
133. Hosomi, K., et al., *Daily repetitive transcranial magnetic stimulation of primary motor cortex for neuropathic pain: a randomized, multicenter, double-blind, crossover, sham-controlled trial*. *Pain*, 2013. **154**(7): p. 1065-72.
134. Berlim, M.T., F. Van den Eynde, and Z. Jeff Daskalakis, *Clinically meaningful efficacy and acceptability of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) for treating primary major depression: a meta-analysis of randomized, double-blind and sham-controlled trials*. *Neuropsychopharmacology*, 2013. **38**(4): p. 543-51.
135. Shi, C., et al., *Revisiting the therapeutic effect of rTMS on negative symptoms in schizophrenia: a meta-analysis*. *Psychiatry Res*, 2014. **215**(3): p. 505-13.
136. Le, Q., et al., *Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on hand function recovery and excitability of the motor cortex after stroke: a meta-analysis*. *Am J Phys Med Rehabil*, 2014. **93**(5): p. 422-30.
137. Lefaucher, J.P., et al., *Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS)*. *Clin Neurophysiol*, 2014. **125**(11): p. 2150-206.
138. Shirota, Y., et al., *Supplementary motor area stimulation for Parkinson disease: a randomized controlled study*. *Neurology*, 2013. **80**(15): p. 1400-5.

139. Maruo, T., et al., *High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over the primary foot motor area in Parkinson's disease*. *Brain Stimul*, 2013. **6**(6): p. 884-91.
140. Sun, W., et al., *Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation for the treatment of refractory partial epilepsy: a controlled clinical study*. *Epilepsia*, 2012. **53**(10): p. 1782-9.
141. Cantello, R., et al., *Slow repetitive TMS for drug-resistant epilepsy: clinical and EEG findings of a placebo-controlled trial*. *Epilepsia*, 2007. **48**(2): p. 366-74.
142. Müller, N., et al., *rTMS Induced Tinnitus Relief Is Related to an Increase in Auditory Cortical Alpha Activity*. *PLoS ONE*, 2013. **8**(2): p. e55557.
143. Watts, B.V., et al., *A sham controlled study of repetitive transcranial magnetic stimulation for posttraumatic stress disorder*. *Brain Stimul*, 2012. **5**(1): p. 38-43.
144. Ruffini, C., et al., *Augmentation effect of repetitive transcranial magnetic stimulation over the orbitofrontal cortex in drug-resistant obsessive-compulsive disorder patients: a controlled investigation*. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*, 2009. **11**(5): p. 226-30.
145. Hoppner, J., et al., *Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) for treatment of alcohol dependence*. *World J Biol Psychiatry*, 2011. **12** **Suppl 1**: p. 57-62.
146. Herremans, S.C., et al., *No influence of one right-sided prefrontal HF-rTMS session on alcohol craving in recently detoxified alcohol-dependent patients: results of a naturalistic study*. *Drug Alcohol Depend*, 2012. **120**(1-3): p. 209-13.
147. Pripfl, J., et al., *Transcranial Magnetic Stimulation of the Left Dorsolateral Prefrontal Cortex Decreases Cue-induced Nicotine Craving and EEG Delta Power*. *Brain Stimulation*, 2014. **7**(2): p. 226-233.
148. Prikryl, R., et al., *Repetitive transcranial magnetic stimulation reduces cigarette consumption in schizophrenia patients*. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014. **49**: p. 30-5.
149. Camprodon, J.A., et al., *One session of high frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) to the right prefrontal cortex transiently reduces cocaine craving*. *Drug Alcohol Depend*, 2007. **86**(1): p. 91-4.
150. Politi, E., et al., *Daily sessions of transcranial magnetic stimulation to the left prefrontal cortex gradually reduce cocaine craving*. *Am J Addict*, 2008. **17**(4): p. 345-6.
151. Li, X., et al., *Low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation of the left dorsolateral prefrontal cortex transiently increases cue-induced craving for methamphetamine: a preliminary study*. *Drug Alcohol Depend*, 2013. **133**(2): p. 641-6.

152. Shen, Y., et al., *10-Hz Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation of the Left Dorsolateral Prefrontal Cortex Reduces Heroin Cue Craving in Long-Term Addicts*. Biol Psychiatry, 2016.
153. Erhardt, A., et al., *Repetitive transcranial magnetic stimulation increases the release of dopamine in the nucleus accumbens shell of morphine-sensitized rats during abstinence*. Neuropsychopharmacology, 2004. **29**(11): p. 2074-80.
154. Rossi, S., et al., *Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research*. Clin Neurophysiol, 2009. **120**(12): p. 2008-39.
155. Massimini, M., et al., *Triggering sleep slow waves by transcranial magnetic stimulation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(20): p. 8496-501.
156. Nitsche, M.A. and W. Paulus, *Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation*. J Physiol, 2000. **527 Pt 3**: p. 633-9.
157. Nitsche, M.A., et al., *Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans*. J Physiol, 2003. **553**(Pt 1): p. 293-301.
158. Nitsche, M.A., et al., *Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008*. Brain Stimul, 2008. **1**(3): p. 206-23.
159. Goldensohn, E.S., *Animal electricity from Bologna to Boston*. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1998. **106**(2): p. 94-100.
160. Kaiser, W., [*Johann Gottlieb Kruger (1715-1759) and Christian Gottlieb Kratzenstein (1723-1795) as originators of modern electrotherapy*]. Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl 1977. **65**: p. 539-54.
161. Aldini, G., 1794 *De animalis electricitae dissertationes*. Bologna: Duae. 1794.
162. Aldini, G., *Essai theorique et experimental sur le galvanisme*. 2 vols. Paris: Fournier, 1804.
163. Priori, A., *Brain polarization in humans: a reappraisal of an old tool for prolonged non-invasive modulation of brain excitability*. Clin Neurophysiol, 2003. **114**(4): p. 589-95.
164. Anan'Ev, M.G., et al., [*Preliminary data on experimental electronarcosis induced with the apparatus of the Scientific and Research Institute for Experimental Surgical Apparatus and Instruments*]. Eksp Khirurgiia, 1957. **2**(4): p. 3-7.
165. Limoge, A., C. Robert, and T.H. Stanley, *Transcutaneous cranial electrical stimulation (TCES): a review 1998*. Neurosci Biobehav Rev, 1999. **23**(4): p. 529-38.
166. Kirsch, D., Daniel, L., Smith, R., , *Cranial electrotherapy stimulation for anxiety, depression, insomnia, cognitive dysfunction, and pain*

- 2004, New York: Marcel Dekker, Inc: Bioelectromagnetic medicine. 727-740.
167. Miranda, P.C., M. Lomarev, and M. Hallett, *Modeling the current distribution during transcranial direct current stimulation*. Clin Neurophysiol, 2006. **117**(7): p. 1623-9.
 168. Poreisz, C., et al., *Safety aspects of transcranial direct current stimulation concerning healthy subjects and patients*. Brain Res Bull, 2007. **72**(4-6): p. 208-14.
 169. Shiozawa, P., et al., *Transcranial direct current stimulation for major depression: an updated systematic review and meta-analysis*. Int J Neuropsychopharmacol, 2014. **17**(9): p. 1443-52.
 170. Horvath, J.C., J.D. Forte, and O. Carter, *Quantitative Review Finds No Evidence of Cognitive Effects in Healthy Populations From Single-session Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS)*. Brain Stimul, 2015. **8**(3): p. 535-50.
 171. Hsu, W.Y., et al., *Effects of noninvasive brain stimulation on cognitive function in healthy aging and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis*. Neurobiol Aging, 2015. **36**(8): p. 2348-59.
 172. Costa-Ribeiro, A., et al., *Transcranial direct current stimulation associated with gait training in Parkinson's disease: A pilot randomized clinical trial*. Dev Neurorehabil, 2016: p. 1-8.
 173. Brunoni, A.R., et al., *Understanding tDCS effects in schizophrenia: a systematic review of clinical data and an integrated computation modeling analysis*. Expert Rev Med Devices, 2014. **11**(4): p. 383-94.
 174. Vaseghi, B., M. Zoghi, and S. Jaberzadeh, *A meta-analysis of site-specific effects of cathodal transcranial direct current stimulation on sensory perception and pain*. PLoS One, 2015. **10**(5): p. e0123873.
 175. Marquez, J., et al., *Transcranial direct current stimulation (tDCS): does it have merit in stroke rehabilitation? A systematic review*. Int J Stroke, 2015. **10**(3): p. 306-16.
 176. Boggio, P.S., et al., *Prefrontal cortex modulation using transcranial DC stimulation reduces alcohol craving: a double-blind, sham-controlled study*. Drug Alcohol Depend, 2008. **92**(1-3): p. 55-60.
 177. Fregni, F., et al., *Cortical stimulation of the prefrontal cortex with transcranial direct current stimulation reduces cue-provoked smoking craving: a randomized, sham-controlled study*. J Clin Psychiatry, 2008. **69**(1): p. 32-40.
 178. Boggio, P.S., et al., *Modulation of risk-taking in marijuana users by transcranial direct current stimulation (tDCS) of the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC)*. Drug Alcohol Depend, 2010. **112**(3): p. 220-5.
 179. Jansen, J.M., et al., *Effects of non-invasive neurostimulation on craving: a meta-analysis*. Neurosci Biobehav Rev, 2013. **37**(10 Pt 2): p. 2472-80.

180. Benabid, A.L., et al., *Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the VIM thalamic nucleus for bilateral Parkinson disease*. *Appl Neurophysiol*, 1987. **50**(1-6): p. 344-6.
181. Delgado, J.M., H. Hamlin, and W.P. Chapman, *Technique of intracranial electrode placement for recording and stimulation and its possible therapeutic value in psychotic patients*. *Confin Neurol*, 1952. **12**(5-6): p. 315-9.
182. Rosenow, J., et al., *Irving S. Cooper and his role in intracranial stimulation for movement disorders and epilepsy*. *Stereotact Funct Neurosurg*, 2002. **78**(2): p. 95-112.
183. Benabid, A.L., et al., *Chronic electrical stimulation of the ventralis intermedialis nucleus of the thalamus as a treatment of movement disorders*. *J Neurosurg*, 1996. **84**(2): p. 203-14.
184. Temel, Y., et al., *Behavioural changes after bilateral subthalamic stimulation in advanced Parkinson disease: a systematic review*. *Parkinsonism Relat Disord*, 2006. **12**(5): p. 265-72.
185. Nuttin, B., et al., *Electrical stimulation in anterior limbs of internal capsules in patients with obsessive-compulsive disorder*. *Lancet*, 1999. **354**(9189): p. 1526.
186. Kennedy, S.H., et al., *Changes in regional brain glucose metabolism measured with positron emission tomography after paroxetine treatment of major depression*. *Am J Psychiatry*, 2001. **158**(6): p. 899-905.
187. Cheng, Y., et al., *Abnormal resting-state activities and functional connectivities of the anterior and the posterior cortexes in medication-naive patients with obsessive-compulsive disorder*. *PLoS One*, 2013. **8**(6): p. e67478.
188. Hou, J., et al., *Localization of cerebral functional deficits in patients with obsessive-compulsive disorder: a resting-state fMRI study*. *J Affect Disord*, 2012. **138**(3): p. 313-21.
189. Oh, J.S., et al., *Reduced fronto-callosal fiber integrity in unmedicated OCD patients: a diffusion tractography study*. *Hum Brain Mapp*, 2012. **33**(10): p. 2441-52.
190. Pourfar, M., et al., *Abnormal metabolic brain networks in Tourette syndrome*. *Neurology*, 2011. **76**(11): p. 944-52.
191. Hughes, K.C. and L.M. Shin, *Functional neuroimaging studies of post-traumatic stress disorder*. *Expert Rev Neurother*, 2011. **11**(2): p. 275-85.
192. Cui, C., et al., *New insights on neurobiological mechanisms underlying alcohol addiction*. *Neuropharmacology*, 2013. **67**: p. 223-32.
193. Frank, S., et al., *Altered brain activity in severely obese women may recover after Roux-en Y gastric bypass surgery*. *Int J Obes (Lond)*, 2014. **38**(3): p. 341-8.

194. Burn, D.J., Tröster, A.I., *Neuropsychiatric complications of medical and surgical therapies for Parkinson's disease* J Geriatr Psychiatry Neurol 2004. **17**(3): p. 172-80.
195. Pham, U., et al., *Personality changes after deep brain stimulation in Parkinson's disease*. Parkinsons Dis, 2015. **2015**: p. 490507.
196. Chung, E.J., M.S. Kim, and S.J. Kim, *Delayed intracranial hemorrhage after deep brain stimulation in two Parkinson's disease patients*. J Neurol Sci, 2014. **342**(1-2): p. 202-3.
197. Mogilner, A.Y., Benabid, A.L., Rezai, A.R. , *Bioelectromagnetic medicine*. Chronic Therapeutic Brain Stimulation: History, Current Clinical Indications, and Future Prospects. 2004, New York, N.Y.: Marcel Dekker.
198. Herrington, T.M., J.J. Cheng, and E.N. Eskandar, *Mechanisms of deep brain stimulation*. J Neurophysiol, 2016. **115**(1): p. 19-38.
199. Liu, Y., et al., *Meta-analysis comparing deep brain stimulation of the globus pallidus and subthalamic nucleus to treat advanced Parkinson disease*. J Neurosurg, 2014. **121**(3): p. 709-18.
200. Mentzel, C.L., et al., *[Severe treatment-resistant tardive dystonia: is deep brain stimulation a treatment option]*. Tijdschr Psychiatr, 2015. **57**(2): p. 125-31.
201. Smith, D.F., *Exploratory meta-analysis on deep brain stimulation in treatment-resistant depression*. Acta Neuropsychiatr, 2014. **26**(6): p. 382-4.
202. Alonso, P., et al., *Deep Brain Stimulation for Obsessive-Compulsive Disorder: A Meta-Analysis of Treatment Outcome and Predictors of Response*. PLoS One, 2015. **10**(7): p. e0133591.
203. Blomstedt, P., et al., *Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus versus the zona incerta in the treatment of essential tremor*. Acta Neurochir (Wien), 2011. **153**(12): p. 2329-35.
204. Boccard, S.G., et al., *Targeting the affective component of chronic pain: a case series of deep brain stimulation of the anterior cingulate cortex*. Neurosurgery, 2014. **74**(6): p. 628-35; discussion 635-7.
205. *Food and Drug Administration (FDA) (1997) Premarket notification: Implantable deep brain stimulation for the treatment of tremor due to Parkinson's disease and essential tremor*. In: Neurological devices panel meeting of the Medical Devices Advisory Committee, Gaithersburg, MD, 14 March Washington, DC: Miller Reporting Company; Available at: www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/97/transcpt/3273t1.rtf(accessed on 25 November 2011).
206. Schultz, D.G., *Medtronic Activa® Dystonia Therapy in: F.a.D. Administration (Ed.), Rockville, M.D.* 2003.

207. Tillman, D.B., *Reclaim Deep Brain Stimulation for Obsessive Compulsive Disorder (OCD) Therapy in: F.a.D. Administration (Ed.), Food and Drug Administration, Rockville, M.D.* 2009.
208. Lawrence, A.D., A.H. Evans, and A.J. Lees, *Compulsive use of dopamine replacement therapy in Parkinson's disease: reward systems gone awry?* *Lancet Neurol*, 2003. **2**(10): p. 595-604.
209. Witjas, T., et al., *Addiction in Parkinson's disease: impact of subthalamic nucleus deep brain stimulation.* *Mov Disord*, 2005. **20**(8): p. 1052-5.
210. Eusebio, A., et al., *Subthalamic nucleus stimulation and compulsive use of dopaminergic medication in Parkinson's disease.* *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2013. **84**(8): p. 868-74.
211. Lhomme, E., et al., *Subthalamic stimulation in Parkinson's disease: restoring the balance of motivated behaviours.* *Brain*, 2012. **135**(Pt 5): p. 1463-77.
212. Lim, S.Y., et al., *Dopamine dysregulation syndrome, impulse control disorders and punding after deep brain stimulation surgery for Parkinson's disease.* *J Clin Neurosci*, 2009. **16**(9): p. 1148-52.
213. Uslaner, J.M., et al., *Cocaine-induced psychomotor activity is associated with its ability to induce c-fos mRNA expression in the subthalamic nucleus: effects of dose and repeated treatment.* *Eur J Neurosci*, 2003. **17**(10): p. 2180-6.
214. Baunez, C., et al., *The subthalamic nucleus exerts opposite control on cocaine and 'natural' rewards.* *Nat Neurosci*, 2005. **8**(4): p. 484-9.
215. Rouaud, T., et al., *Reducing the desire for cocaine with subthalamic nucleus deep brain stimulation.* *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010. **107**(3): p. 1196-200.
216. Xu, J.W., Wang, G.S., Zhou, H.Y., Tian, X., Wang, X.R., et al., *The clinical report of alleviating drug psychological dependence by deep brain stimulation (initial clinical results after three months follow-up).* *Chin J Stereotact Funct Neurosurg* 2005. **18**: p. 140-144.
217. Vassoler, F.M., et al., *Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell attenuates cocaine priming-induced reinstatement of drug seeking in rats.* *J Neurosci*, 2008. **28**(35): p. 8735-9.
218. Vassoler, F.M., et al., *Deep brain stimulation of the nucleus accumbens shell attenuates cocaine reinstatement through local and antidromic activation.* *J Neurosci*, 2013. **33**(36): p. 14446-54.
219. Henderson, M.B., et al., *Deep brain stimulation of the nucleus accumbens reduces alcohol intake in alcohol-preferring rats.* *Neurosurg Focus*, 2010. **29**(2): p. E12.
220. Zhou, H., J. Xu, and J. Jiang, *Deep brain stimulation of nucleus accumbens on heroin-seeking behaviors: a case report.* *Biol Psychiatry*, 2011. **69**(11): p. e41-2.

221. Valencia-Alfonso, C.E., et al., *Effective deep brain stimulation in heroin addiction: a case report with complementary intracranial electroencephalogram*. Biol Psychiatry, 2012. **71**(8): p. e35-7.
222. Mantione, M., et al., *Smoking cessation and weight loss after chronic deep brain stimulation of the nucleus accumbens: therapeutic and research implications: case report*. Neurosurgery, 2010. **66**(1): p. E218; discussion E218.
223. Muller, U.J., et al., *Successful treatment of chronic resistant alcoholism by deep brain stimulation of nucleus accumbens: first experience with three cases*. Pharmacopsychiatry, 2009. **42**(6): p. 288-91.
224. Kuhn, J., et al., *Deep brain stimulation of the nucleus accumbens and its usefulness in severe opioid addiction*. Mol Psychiatry, 2014. **19**(2): p. 145-6.
225. Voges, J., et al., *Deep brain stimulation surgery for alcohol addiction*. World Neurosurg, 2013. **80**(3-4): p. S28.e21-31.
226. Kennedy, J.E., *High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours*. Nat Rev Cancer, 2005. **5**(4): p. 321-7.
227. Hsiao, Y.H., et al., *Clinical Application of High-intensity Focused Ultrasound in Cancer Therapy*. J Cancer, 2016. **7**(3): p. 225-31.
228. Cordeiro, E.R., et al., *High-intensity focused ultrasound (HIFU) for definitive treatment of prostate cancer*. BJU Int, 2012. **110**(9): p. 1228-42.
229. Li, P.Z., et al., *High-intensity focused ultrasound treatment for patients with unresectable pancreatic cancer*. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2012. **11**(6): p. 655-60.
230. Ritchie, R.W., et al., *Extracorporeal high intensity focused ultrasound for renal tumours: a 3-year follow-up*. BJU Int, 2010. **106**(7): p. 1004-9.
231. Merckel, L.G., et al., *MR-guided high-intensity focused ultrasound ablation of breast cancer with a dedicated breast platform*. Cardiovasc Intervent Radiol, 2013. **36**(2): p. 292-301.
232. Leslie, T., et al., *High-intensity focused ultrasound treatment of liver tumours: post-treatment MRI correlates well with intra-operative estimates of treatment volume*. Br J Radiol, 2012. **85**(1018): p. 1363-70.
233. Rueff, L.E. and S.S. Raman, *Clinical and Technical Aspects of MR-Guided High Intensity Focused Ultrasound for Treatment of Symptomatic Uterine Fibroids*. Semin Intervent Radiol, 2013. **30**(4): p. 347-53.
234. Weeks, E.M., M.W. Platt, and W. Gedroyc, *MRI-guided focused ultrasound (MRgFUS) to treat facet joint osteoarthritis low back pain--case series of an innovative new technique*. Eur Radiol, 2012. **22**(12): p. 2822-35.
235. Jeanmonod, D., et al., *Transcranial magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound: noninvasive central lateral thalamotomy for chronic neuropathic pain*. Neurosurg Focus, 2012. **32**(1): p. E1.

236. Magara, A., et al., *First experience with MR-guided focused ultrasound in the treatment of Parkinson's disease*. J Ther Ultrasound, 2014. **2**: p. 11.
237. Wei, K.C., et al., *Focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening to enhance temozolomide delivery for glioblastoma treatment: a preclinical study*. PLoS One, 2013. **8**(3): p. e58995.
238. Jung, H.H., et al., *Different magnetic resonance imaging patterns after transcranial magnetic resonance-guided focused ultrasound of the ventral intermediate nucleus of the thalamus and anterior limb of the internal capsule in patients with essential tremor or obsessive-compulsive disorder*. J Neurosurg, 2015. **122**(1): p. 162-8.
239. Elias, W.J., et al., *A pilot study of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor*. N Engl J Med, 2013. **369**(7): p. 640-8.
240. Davies, E.J., et al., *Long-term outcomes following high intensity focused ultrasound ablation for atrial fibrillation*. J Card Surg, 2014. **29**(1): p. 101-7.
241. Fry, W.J., et al., *Ultrasonically produced localized selective lesions in the central nervous system*. Am J Phys Med, 1955. **34**(3): p. 413-23.
242. Fry, F.J., H.W. Ades, and W.J. Fry, *Production of reversible changes in the central nervous system by ultrasound*. Science, 1958. **127**(3289): p. 83-4.
243. Jolesz, F.A., et al., *MR imaging-controlled focused ultrasound ablation: a noninvasive image-guided surgery*. Magn Reson Imaging Clin N Am, 2005. **13**(3): p. 545-60.
244. Jenne, J.W., T. Preusser, and M. Gunther, *High-intensity focused ultrasound: principles, therapy guidance, simulations and applications*. Z Med Phys, 2012. **22**(4): p. 311-22.
245. Lynn, J.G., et al., *A NEW METHOD FOR THE GENERATION AND USE OF FOCUSED ULTRASOUND IN EXPERIMENTAL BIOLOGY*. The Journal of General Physiology, 1942. **26**(2): p. 179-193.
246. Wood, R.W., Loomis, A.L., *The physical and biological effects of high frequency sound waves of great intensity*. Philos Mag and J of Science 1927. **4**(22): p. 417-436.
247. Susani, M., et al., *Morphology of tissue destruction induced by focused ultrasound*. Eur Urol, 1993. **23 Suppl 1**: p. 34-8.
248. Madersbacher, S., et al., *Effect of high-intensity focused ultrasound on human prostate cancer in vivo*. Cancer Res, 1995. **55**(15): p. 3346-51.
249. Harvey, E.N., *THE EFFECT OF HIGH FREQUENCY SOUND WAVES ON HEART MUSCLE AND OTHER IRRITABLE TISSUES*. American Journal of Physiology -- Legacy Content, 1929. **91**(1): p. 284-290.
250. Benedetti, E., *[Neuroacoustic potentials produced by ultrasounds in some orthoptera]*. Boll Soc Ital Biol Sper, 1950. **26**(5): p. 741-3.

251. Mazoue, H., P. Chauchard, and R.G. Busnel, [*Nervous excitation with high frequency ultrasonics*]. J Physiol (Paris), 1953. **45**(1): p. 179-82.
252. Fry, W.J., *Intense ultrasound in investigations of the central nervous system*. Adv Biol Med Phys, 1958. **6**: p. 281-348.
253. Fry, F.J., *Precision high intensity focusing ultrasonic machines for surgery*. Am J Phys Med, 1958. **37**(3): p. 152-6.
254. Gavrilov, L.R., et al., *The effect of focused ultrasound on the skin and deep nerve structures of man and animal*. Prog Brain Res, 1976. **43**: p. 279-92.
255. Gavrilov, L.R., E.M. Tsurul'nikov, and E.E. Shchekanov, [*Responses of the auditory centers of the frog midbrain to labyrinth stimulation by focused ultrasound*]. Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova, 1975. **61**(2): p. 213-21.
256. Gavrilov, L.R., *Use of focused ultrasound for stimulation of nerve structures*. Ultrasonics, 1984. **22**(3): p. 132-8.
257. Lele, P.P., *Effects of focused ultrasonic radiation on peripheral nerve, with observations on local heating*. Exp Neurol 1963. **8**: p. 47-83.
258. Rinaldi, P.C., et al., *Modification by focused ultrasound pulses of electrically evoked responses from an in vitro hippocampal preparation*. Brain Res, 1991. **558**(1): p. 36-42.
259. Jolesz, F.A., et al., *Noninvasive thermal ablation of hepatocellular carcinoma by using magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound*. Gastroenterology, 2004. **127**(5 Suppl 1): p. S242-7.
260. Trubestein, G., et al., *Thrombolysis by ultrasound*. Clin Sci Mol Med Suppl, 1976. **3**: p. 697s-698s.
261. Foley, J.L., et al., *Image-guided HIFU neurolysis of peripheral nerves to treat spasticity and pain*. Ultrasound Med Biol, 2004. **30**(9): p. 1199-207.
262. Sheikov, N., et al., *Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles*. Ultrasound Med Biol, 2004. **30**(7): p. 979-89.
263. Busse, J.W., et al., *Current management of tibial shaft fractures: a survey of 450 Canadian orthopedic trauma surgeons*. Acta Orthop, 2008. **79**(5): p. 689-94.
264. Tyler, W.J., Y. Tufail, and S. Pati, *Pain: Noninvasive functional neurosurgery using ultrasound*. Nat Rev Neurol, 2010. **6**(1): p. 13-4.
265. ter Haar, G., *Therapeutic applications of ultrasound*. Prog Biophys Mol Biol, 2007. **93**(1-3): p. 111-29.
266. Ishibashi, K., et al., *Inhibitory effects of low-energy pulsed ultrasonic stimulation on cell surface protein antigen C through heat shock proteins GroEL and DnaK in Streptococcus mutans*. Appl Environ Microbiol, 2010. **76**(3): p. 751-6.

267. Coakley, W.T. and F. Dunn, *Degradation of DNA in high-intensity focused ultrasonic fields at 1 MHz*. J Acoust Soc Am, 1971. **50**(6): p. 1539-45.
268. Bachtold, M.R., et al., *Focused ultrasound modifications of neural circuit activity in a mammalian brain*. Ultrasound Med Biol, 1998. **24**(4): p. 557-65.
269. Bailey, M.R., et al., *Bioeffects of positive and negative acoustic pressures in vivo*. J Acoust Soc Am, 1996. **100**(6): p. 3941-6.
270. Wall, P.D., Fry, W. J., Stephens, R., Tucker, D., Lettvin, J. Y., *Changes produced in the central nervous system by ultrasound*. Science, 1951. **114**(2974): p. 686-7.
271. Mihran, R.T., F.S. Barnes, and H. Wachtel, *Temporally-specific modification of myelinated axon excitability in vitro following a single ultrasound pulse*. Ultrasound Med Biol, 1990. **16**(3): p. 297-309.
272. Fry, W.J., et al., *Production of focal destructive lesions in the central nervous system with ultrasound*. J Neurosurg, 1954. **11**(5): p. 471-8.
273. Ochs, S., et al., *Stretch of mammalian nerve in vitro: effect on compound action potentials*. J Peripher Nerv Syst, 2000. **5**(4): p. 227-35.
274. Altland, O.D., et al., *Low-intensity ultrasound increases endothelial cell nitric oxide synthase activity and nitric oxide synthesis*. J Thromb Haemost, 2004. **2**(4): p. 637-43.
275. Sugita, Y., et al., *Nitric oxide generation directly responds to ultrasound exposure*. Ultrasound Med Biol, 2008. **34**(3): p. 487-93.
276. Bronstein, J.M., et al., *Deep brain stimulation for Parkinson disease: an expert consensus and review of key issues*. Arch Neurol, 2011. **68**(2): p. 165.
277. Ansari, S., K. Chaudhri, and K.A. Al Moutaery, *Vagus nerve stimulation: indications and limitations*. Acta Neurochir Suppl, 2007. **97**(Pt 2): p. 281-6.
278. Nitsche, M.A., et al., *Treatment of depression with transcranial direct current stimulation (tDCS): a review*. Exp Neurol, 2009. **219**(1): p. 14-9.
279. Dormont, D., et al., *Neuroimaging and deep brain stimulation*. AJNR Am J Neuroradiol, 2010. **31**(1): p. 15-23.
280. Rezai, A.R., et al., *Neurostimulation system used for deep brain stimulation (DBS): MR safety issues and implications of failing to follow safety recommendations*. Invest Radiol, 2004. **39**(5): p. 300-3.
281. Levkovitz, Y., et al., *A randomized controlled feasibility and safety study of deep transcranial magnetic stimulation*. Clin Neurophysiol, 2007. **118**(12): p. 2730-44.
282. Baudewig, J., et al., *Functional MRI of cortical activations induced by transcranial magnetic stimulation (TMS)*. Neuroreport, 2001. **12**(16): p. 3543-8.

283. Wu, A.D., *Functional neuroimaging and repetitive transcranial magnetic stimulation in Parkinson's disease*. Rev Neurol Dis, 2007. **4**(1): p. 1-9.
284. Bystritsky, A., L.E. Kerwin, and J.D. Feusner, *A preliminary study of fMRI-guided rTMS in the treatment of generalized anxiety disorder: 6-month follow-up*. J Clin Psychiatry, 2009. **70**(3): p. 431-2.
285. Langguth, B., et al., *rTMS for the treatment of tinnitus: the role of neuronavigation for coil positioning*. Neurophysiol Clin, 2010. **40**(1): p. 45-58.
286. Bystritsky, A., *Methods for modifying electrical currents in neuronal circuits*, USPTO Patent, Full-Text and Image Database (AppFT, USPTO). 7,283,861, April, 2002.
287. Suzuki, R., et al., *Transcranial echo-guided transsphenoidal surgical approach for the removal of large macroadenomas*. J Neurosurg, 2004. **100**(1): p. 68-72.
288. Tsvigoulis, G., et al., *Safety and efficacy of ultrasound-enhanced thrombolysis: a comprehensive review and meta-analysis of randomized and nonrandomized studies*. Stroke, 2010. **41**(2): p. 280-7.
289. Yagita, Y., et al., *Effect of transcranial Doppler intensity on successful recording in Japanese patients*. Ultrasound Med Biol, 1996. **22**(6): p. 701-5.
290. Houston, L.E., A.O. Odibo, and G.A. Macones, *The safety of obstetrical ultrasound: a review*. Prenat Diagn, 2009. **29**(13): p. 1204-12.
291. Jolesz, F.A. and K. Hynynen, *Magnetic resonance image-guided focused ultrasound surgery*. Cancer J, 2002. **8 Suppl 1**: p. S100-12.
292. McDannold, et al., *MRI evaluation of thermal ablation of tumors with focused ultrasound*. J Magn Reson Imaging, 1998. **8**(1): p. 91-100.
293. Martin, E., et al., *High-intensity focused ultrasound for noninvasive functional neurosurgery*. Ann Neurol, 2009. **66**(6): p. 858-61.
294. Jolesz, F.A., *MRI-guided focused ultrasound surgery*. Annu Rev Med, 2009. **60**: p. 417-30.
295. Foley, J.L., J.W. Little, and S. Vaezy, *Effects of high-intensity focused ultrasound on nerve conduction*. Muscle Nerve, 2008. **37**(2): p. 241-50.
296. McDannold, N., et al., *MRI-guided targeted blood-brain barrier disruption with focused ultrasound: histological findings in rabbits*. Ultrasound Med Biol, 2005. **31**(11): p. 1527-37.
297. Sheikov, N., et al., *Brain arterioles show more active vesicular transport of blood-borne tracer molecules than capillaries and venules after focused ultrasound-evoked opening of the blood-brain barrier*. Ultrasound Med Biol, 2006. **32**(9): p. 1399-409.
298. Tufail, Y., et al., *Transcranial pulsed ultrasound stimulates intact brain circuits*. Neuron, 2010. **66**(5): p. 681-94.

299. Moore, M.E., et al., *Manipulating neuronal activity in the mouse brain with ultrasound: A comparison with optogenetic activation of the cerebral cortex*. *Neurosci Lett*, 2015. **604**: p. 183-7.
300. Kim, H., et al., *Suppression of EEG visual-evoked potentials in rats through neuromodulatory focused ultrasound*. *Neuroreport*, 2015. **26**(4): p. 211-5.
301. Yuan, Y., et al., *Effect of noninvasive focused ultrasound stimulation on gamma oscillations in rat hippocampus*. *Neuroreport*, 2016. **27**(7): p. 508-15.
302. Zhang, Y., et al., *Non-invasive, Focal Disconnection of Brain Circuitry Using Magnetic Resonance-Guided Low-Intensity Focused Ultrasound to Deliver a Neurotoxin*. *Ultrasound Med Biol*, 2016.
303. Gong, Y., et al., *Low-intensity focused ultrasound mediated localized drug delivery for liver tumors in rabbits*. *Drug Deliv*, 2015: p. 1-10.
304. Zhang, Y., et al., *Effect of low-intensity focused ultrasound on endothelin-1, nitrogen monoxide and oxytocin receptor in the uterine tissues of Sprague-Dawley rats following abortion*. *Biomed Rep*, 2016. **4**(3): p. 340-344.
305. Bandyopadhyay, S., et al., *Low-Intensity Focused Ultrasound Induces Reversal of Tumor-Induced T Cell Tolerance and Prevents Immune Escape*. *J Immunol*, 2016. **196**(4): p. 1964-76.
306. Haritonova, A., D. Liu, and E.S. Ebbini, *In Vivo application and localization of transcranial focused ultrasound using dual-mode ultrasound arrays*. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2015. **62**(12): p. 2031-42.
307. Darvas, F., et al., *Toward Deep Brain Monitoring with Superficial EEG Sensors Plus Neuromodulatory Focused Ultrasound*. *Ultrasound Med Biol*, 2016. **42**(8): p. 1834-47.
308. Min, B.K., et al., *Focused ultrasound-mediated suppression of chemically-induced acute epileptic EEG activity*. *BMC Neurosci*, 2011. **12**: p. 23.
309. Deffieux, T., et al., *Low-intensity focused ultrasound modulates monkey visuomotor behavior*. *Curr Biol*, 2013. **23**(23): p. 2430-3.
310. Yoo, S.S., et al., *Transcranial focused ultrasound to the thalamus alters anesthesia time in rats*. *Neuroreport*, 2011. **22**(15): p. 783-7.
311. Scarcelli, T., et al., *Stimulation of hippocampal neurogenesis by transcranial focused ultrasound and microbubbles in adult mice*. *Brain Stimul*, 2014. **7**(2): p. 304-7.
312. Hu, Y., et al., *Ultrasound can modulate neuronal development: impact on neurite growth and cell body morphology*. *Ultrasound Med Biol*, 2013. **39**(5): p. 915-25.

313. Metwally, M.K., et al., *Influence of the anisotropic mechanical properties of the skull in low-intensity focused ultrasound towards neuromodulation of the brain*. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2013. **2013**: p. 4565-8.
314. Kim, H., et al., *PETCT imaging evidence of FUS-mediated (18)F-FDG uptake changes in rat brain*. Med Phys, 2013. **40**(3): p. 033501.
315. Kim, H., et al., *Estimation of the spatial profile of neuromodulation and the temporal latency in motor responses induced by focused ultrasound brain stimulation*. Neuroreport, 2014. **25**(7): p. 475-9.
316. King, R.L., J.R. Brown, and K.B. Pauly, *Localization of ultrasound-induced in vivo neurostimulation in the mouse model*. Ultrasound Med Biol, 2014. **40**(7): p. 1512-22.
317. Mehic, E., et al., *Increased anatomical specificity of neuromodulation via modulated focused ultrasound*. PLoS One, 2014. **9**(2): p. e86939.
318. Kim, H., et al., *Focused ultrasound-mediated non-invasive brain stimulation: examination of sonication parameters*. Brain Stimul, 2014. **7**(5): p. 748-56.
319. Younan, Y., et al., *Influence of the pressure field distribution in transcranial ultrasonic neurostimulation*. Med Phys, 2013. **40**(8): p. 082902.
320. Yang, P.S., et al., *Transcranial focused ultrasound to the thalamus is associated with reduced extracellular GABA levels in rats*. Neuropsychobiology, 2012. **65**(3): p. 153-60.
321. Hameroff, S., et al., *Transcranial ultrasound (TUS) effects on mental states: a pilot study*. Brain Stimul, 2013. **6**(3): p. 409-15.
322. Choi, J.B., Lim, S.H., Cho, K.W., Kim, D.H., Jang, D.P., Kim, I.Y. , *The effect*

of focused ultrasonic stimulation on the activity of hippocampal

neurons in multi-channel electrode. . I Ieee Embs C Neur E

2013: p. 731–734.

323. King, R.L., et al., *Effective parameters for ultrasound-induced in vivo neurostimulation*. Ultrasound Med Biol, 2013. **39**(2): p. 312-31.
324. Mueller, J., et al., *Transcranial focused ultrasound modulates intrinsic and evoked EEG dynamics*. Brain Stimul, 2014. **7**(6): p. 900-8.
325. Yoo, S.S., *Paper presented at the 4th International Focused Ultrasound Symposium. Washington. 2014.*
326. Lee, W., et al., *Image-guided transcranial focused ultrasound stimulates human primary somatosensory cortex*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 8743.
327. Duman, R.S. and N. Li, *A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2012. **367**(1601): p. 2475-84.

328. Chen, B., et al., *Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication*. Biol Psychiatry, 2001. **50**(4): p. 260-5.
329. Tsai, S.J., *Transcranial focused ultrasound as a possible treatment for major depression*. Med Hypotheses, 2015. **84**(4): p. 381-3.
330. Harris, G.C., et al., *ELEVATIONS OF FOSB IN THE NUCLEUS ACCUMBENS DURING FORCED COCAINE ABSTINENCE CORRELATE WITH DIVERGENT CHANGES IN REWARD FUNCTION*. Neuroscience, 2007. **147**(3): p. 583-591.
331. Ergun, A.S., *Analytical and numerical calculations of optimum design frequency for focused ultrasound therapy and acoustic radiation force*. Ultrasonics, 2011. **51**(7): p. 786-94.
332. Cunningham, C.L., N.K. Ferree, and M.A. Howard, *Apparatus bias and place conditioning with ethanol in mice*. Psychopharmacology (Berl), 2003. **170**(4): p. 409-22.
333. Yan, N., et al., *High-frequency stimulation of nucleus accumbens changes in dopaminergic reward circuit*. PLoS One, 2013. **8**(11): p. e79318.