

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

**RATTA KLAUSTRUMDA OLUŞTURULAN STEREOTAKSİK
LEZYONLARIN MOTOR HAREKETLER VE DAVRANIŞ ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AHMET EREN SEÇEN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. KEMALİ BAYKANER

**ANKARA
KASIM 2012**

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

**RATTA KLAUSTRUMDA OLUŞTURULAN STEREOTAKSİK
LEZYONLARIN MOTOR HAREKETLER VE DAVRANIŞ ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. AHMET EREN SEÇEN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. M. KEMALİ BAYKANER

**ANKARA
KASIM 2012**

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimim süresince bilgisi ve tecrübesi ile bana her konuda destek olan, yol gösteren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Kemali BAYKANER'e teşekkürlerimi sunarım. Yine bu tezin hazırlanması esnasında bilgi ve tecrübeleri ile bana yardımcı olan, çalışma ortamı sağlayan Nöroloji Anabilim dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Hayrunnisa BOLAY BELEN, Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Didem AKÇALI, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Ergin DİLEKÖZ'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimde bana yol gösteren hocalarım Sayın Prof. Dr. Necdet ÇEVİKER, Sayın Prof. Dr. Aydın PAŞAOĞLU, Sayın Prof. Dr. Şükrü AYKOL, Sayın Prof. Dr. Fikret DOĞULU, Sayın Prof. Dr. Memduh KAYMAZ, Sayın Doç. Dr. Gökhan KURT, Sayın Doç. Dr. Hakan EMMEZ ve Sayın Uzm. Dr. Alp BÖRCEK'e teşekkür ederim.

Her zaman ve her konuda bana destek olan, dostluklarını hiçbir zaman unutmayacağım doktor, hemşire ve sağlık görevlisi tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Benimle beraber sıkıntılara göğüs geren, bana her konuda destek olan sevgili eşim Elçin'e ve oğlum Rüzgâr'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Klastrumun Nöroanatomisi	3
2.2. Hücre Tipleri	7
2.3. Klastrumun Korteks İle Bağlantıları	8
2.4. Klastrumun Fonksiyonu	10
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1. Deney Grupları	16
3.2. Davranış Deneyleri	20
3.3. Ultrasonik Ses Kaydı	23
3.4. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	24
3.5. Sabit Akım Kaynağı	25
3.6. Perfüzyon Dokularının Hazırlanması	25
3.7. İstatistiksel Yöntemler	29
4. SONUÇLAR	30
4.1. Motor Hareket ve Davranış Şekilleri	30
4.1.1. Donma	30
4.1.2. Grooming (Temizlenme)	32
4.1.3. Yemek Yeme	33
4.1.4. Su İçme	33
4.1.5. Maksimum Hız	35

4.1.6. Toplam kat edilen uzaklık	36
4.1.7. Dönme hareketi	36
4.1.8. Şahlanma	38
4.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	40
4.3. Ultrasonik Ses Kaydı	41
5. TARTIŞMA	42
5.1 Motor Hareket ve Davranış	43
5.1.1. Donma Davranışı	43
5.1.2. Grooming (temizlenme) davranışı	44
5.1.3. Yeme	45
5.1.4. İçme	45
5.1.5. Maksimum Hız	46
5.1.6. Toplam kat edilen uzaklık	46
5.1.7. Dönme hareketi	46
5.1.8. Şahlanma davranışı	47
5.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	48
5.3. Ultrasonik Ses Kaydı	48
6. SONUÇ	49
7. KAYNAKLAR	51
8. ÖZET	59
9. SUMMARY	61

KISALTMALAR

cm: santimetre

EPM: Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Hz: Hertz

kHz: kiloHertz

KL: Klastrum

μ : mikron

μ A: mikro Amper

mm: milimetre

WPI: World Precision Instruments

1. GİRİŞ

Klastrum korteksin iç yüzeyinin altında gizlenmiş ince, düzensiz, yaprak benzeri nöronal bir yapı olup, işlevi tam olarak çözülmemiştir. Klastrum, oldukça ince ve küçük bir nöronal yapı olmasından dolayı kolayca gözden kaçan nöroanatomik bir yapı olmuştur.

Klastrum; Johann Christian Reil (1) tarafından adaya benzetilmiş olan insula ile Karl Friedrich Burdach (2) tarafından kabuğa benzetilmiş olan putamen arasında bulunmaktadır (3). İlk olarak Felix Vicq d'Azyr tarafından yapısı solucana benzetilerek nukleus taeniaformis adıyla resmedilmiştir (2). Ancak gerçek anlamda klastrum anatomi literatürüne Alman anatomist Karl Friedrich Burdach tarafından kazandırılmıştır (3,4) .

1930'ların ortasında Landau önce babunda ardından insanda klastrum parvum adını verdiği klastrumun devamını buldu. Bu dönemde birçok anotomist klastrumu insulanın bir parçası olarak düşünürken (5,6) Landau bazal ganglionlar, rhinencephalon, amygdaloid nukler kompleks, substantia perforata anterior ile bağlantılı olduğu iddia etmiştir (3,7)

Nöroanatomistler tarafından 190 yıl önce tanımlanmış (8) olmasına rağmen, kısa bir süre önce fonksiyonu daha ayrıntılı olarak incelenmiştir. Klastrumun; frontal korteks (motor korteks, prefrontal korteks ve singulate korteks), oksipital lobdaki görme bölgeleri, temporal korteks, paryetooksipital korteks, arka paryetal korteks, frontoparyetal operkulum, somatosensorial bölgeler, prepiriform olfaktör

korteks, entorinal korteks, hipokampus, amygdala, kaudat nükleus gibi kortikal yapılarla yoğun bağlantıları tespit edilmiştir (9,10).

Bu yoğun bağlantıları sayesinde; Crick ve meslektaşı, Christof Koch, bilinç üzerine yaptıkları araştırmalardan sonra klastrumun bilinç merkezinde bir orkestra şefi gibi hareket ederek iletken bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir. Bilinç bir entegrasyon sistemidir. Bir gülü elimize aldığımızda kokusunu alır, kırmızı yapraklarını görür, parmaklarımız ile dokusunu hissederiz. Filozof Searle bunu 'bilinçli alan' olarak ifade eder (10,11).

Klastrumun davranışsal kortikal yapılarla olan yoğun bağlantıları tespit edilmiştir. 2005 yılında ki Francis C. Crick ve Christof Koch makalesi sonrası bölgeye özel bir ilgi uyanmakla beraber özellikle davranış deneyleri ile ilgili çalışma çok fazla görülmemektedir (9).

Araştırmamızda amacımız unilateral ve bilateral klastruma yapılan girişimler ile klastrumun motor hareket ve düzenlenmesi üzerine olan etkileri hakkında olan bilgileri genişletmek, davranış üzerine olan etkilerini de araştırarak literatüre katkı sağlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

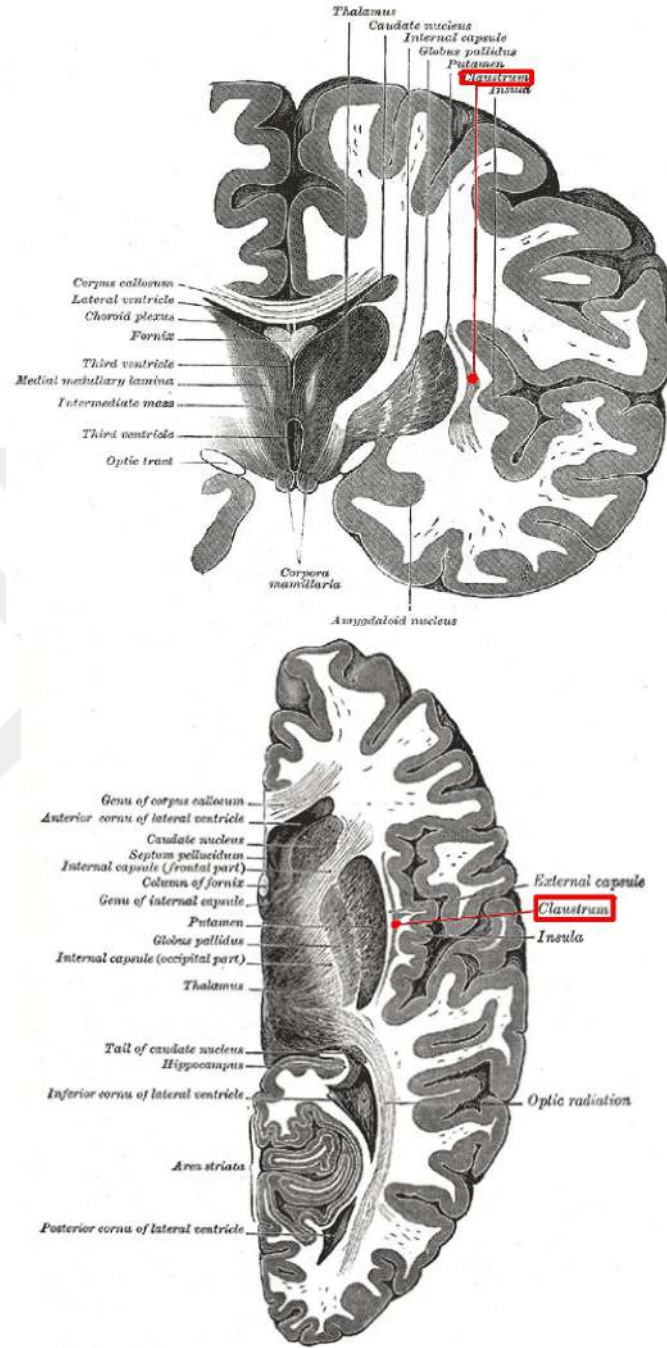
2.1 Klastrumun Nöroanatomisi

KL tüm memelilerde bulunan telensefalik bir nükleus olup, kelime olarak gizlenmiş (hidden away) anlamına gelmektedir. Putamenin lateralinde ve insular korteksin medialinde yer alan; eksternal kapsül ile ekstrem kapsülün arasında uzanan ince, düzensiz şerit benzeri gri maddedir (10,12) (Şekil 1,2).

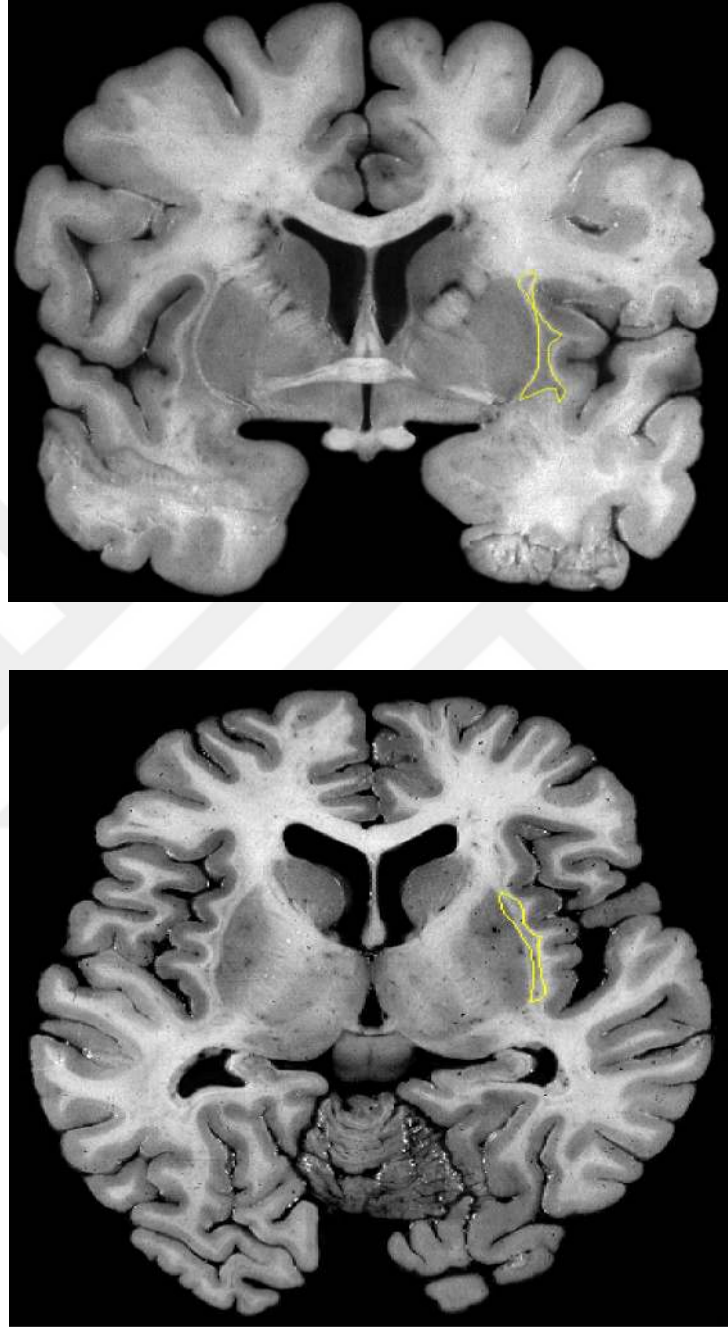
KL hacmi insan beyninin % 0.24 (%1 inin çeyreği) ve ortalama 580 mm³ olarak saptanmıştır (13).

Klastrum iki bölgeye dorsal ve ventral klastrum ayrılmaktadır (Şekil 3). Dorsal ve ventral klastrum arasındaki ayırım; hücre sayısı ve yoğunluğu, bağlantıları ve kalsiyum bağlayıcı proteinler esas alınarak yapılmıştır. Dorsal klastrum ventral klastruma göre daha fazla hücre sayısı ve yoğunluğuna sahiptir (13,15,16). Ayrıca kalsiyum bağlayıcı proteinler dışında klastrumun dorsal parçasında parvalbumin pozitif nöronlar ventral parçasında calbindin D28K içeren nöronlar saptanmıştır.

KL dorsal kısmı ventral kısmı daha büyük hacme sahiptir. Total KL hacminin 57.0–74.6%' sini oluşturmaktadır (13).



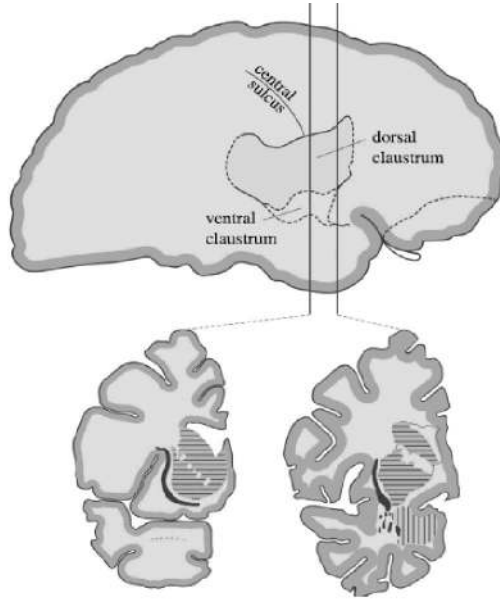
Şekil 1: Üst şekil aksiyel kesit, alt şekil koronal insan beyin kesiti Klastrum kırmızı ile belirtilmiştir (14).



Şekil 2: Aksiyal (üst; colliculi seviyesi) ve koronal (alt, anterior commissure seviyesi) kadavra beyin kesitleri, sarı çizgi ile belirtilmiş bölge (3).

İnsanda klastrumun dorsal parçası ince gri maddeden oluşmakta ve inferior kısmı insular korteksin inferior köşesinde yer almaktadır. Ventral kısım tüm memelilerde değişiklik göstermekle birlikte insanda anteriorda korteksin orbital parçası ile sınırı bulunmaktadır. Ventral klastrum posteriorda superior ve inferior bölümlere ayrılır. Superior ventral klastrum subputamende iken inferior kısım paraamygdalar bölgesindedir ki amgydaladan ayrımı çok zordur (13). Ventral klastrumun paraamygdalar kısmı insanda beyaz madde lifleri ile çevrilmiş nöron adaları ile karakterizedir (13).

Dorsal klastrum isokorteks, superior frontal, presantral, postsantral ve posteror parietal korteks ile ventral klastrum ise enthorial ve prepiriform korteks ile bağlantılıdır (17,18,19,20).

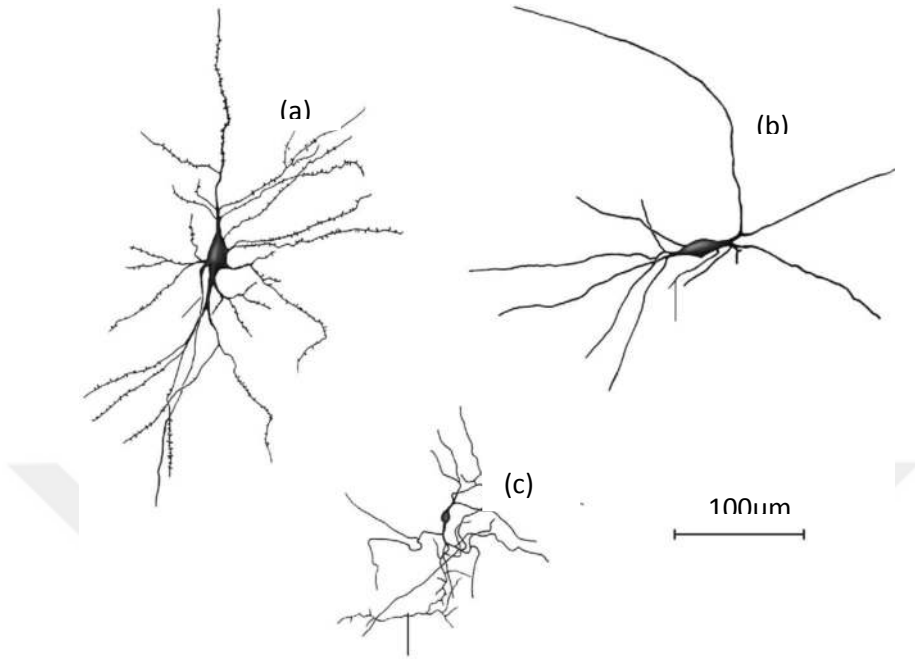


Şekil 3: İnsanda Ventral ve dorsal klastrum (üst şekil sagittal kesit, alt kesit coronal kesit. Koronal kesitteki koyu alan klastrum, horizontal bantlar kaudat ve putamen, vertikal bant amygdala) (10).

2.2 Hücre Tipleri

Klastrumda 2 hücre tipi grlmektedir. Beyinin diğr bölgeleri ile baēlantıyı saēlayan tip 1 hücreler ve internronlardır. En sık görülen hücreler tip 1 hücreler, dikensi çıkıntıları olan büyük hücrelerdir (ēekil 4a). Tip 1 hücrelerin aksonları lokal kolleteraller verdikten sonra genellikle medial ve laterale doēru klastrumdan ayrılırlar. Korteksten bilgi alıēveriēini saēlayan klastrumun asıl hücreleridir (10). Dikensi çıkıntılar klastrumun bir entegresyon merkezi gibi alıēmasını saēlar. Dikensi çıkıntılarının iki fonksiyonu vardır. Aynı alanda daha fazla baēlantı saēlaması ve dendiritik dallara göre daha hareketli olmaları onları morfolojik plastisite aēısından mkemmek bir hedef yapar (21,22).

Klastrumdaki diğr hücreler internronlardır (ēekil 4b,c). Klastrum dıēına aksonları uzanmaz ve dikensi çıkıntıları yoktur. Internronlar klastrum iēindeki bilgi akıēından sorumludur. Hücre gövde büyüklüklerine göre büyük ve küçük gövdeli olarak iki tipi vardır (10,23).



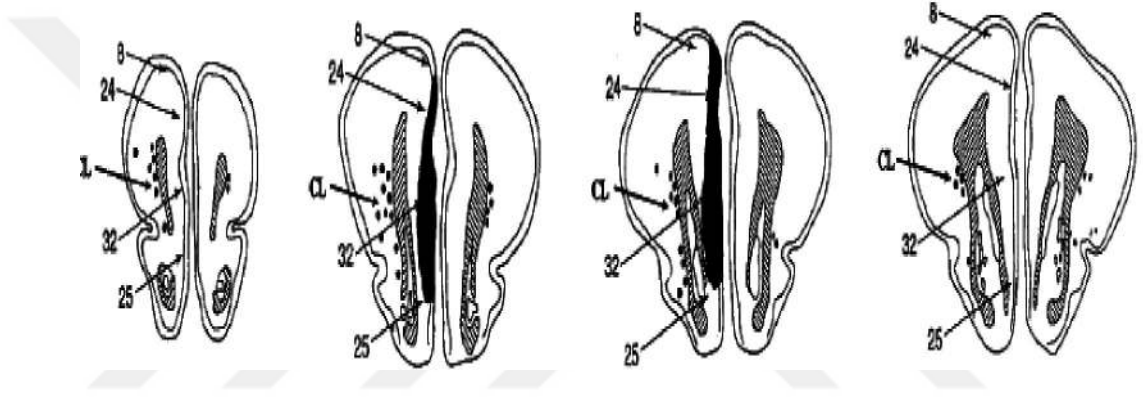
Şekil 4: (a) Tip 1 hücreler dendritlerinde dikensi çıkıntılar mevcut
(b), (c) internöronlar (10).

2.3 Klastrumun Korteks İle Bağlantıları

Klastrumun asıl hücreleri ipsilateral korteksin birçok bölümü ile bağlantılıdır ancak kontraateral korteks ile de bağlantı sağlayan hücreleri de vardır. Aynı şekilde korteksin birçok noktasından da klastrumla bağlantı sağlanmaktadır (10).

Klastrumda kedilerde yapılan bir çalışmada üç geniş bölge olduğu tespit edilmiştir (24). Anterior dorsal bölge somatosensorial ve motor korteks, posterior dorsal bölge vizüel korteks, ventral bölge ise işitme alanı ile bağlantılıdır. Her iki klastrumdan korteksin alanlarına kabaca bilgi akışı olmasına rağmen ipsilateral Klastrumdaki bağlantılar kontraateral klastruma göre daha kuvvetlidir (25,26).

Tavşanlarda prefrontal kortekse Broadmann'ın 8, 24, 25 ve 32. alanlarına retrograd olarak Fluorogold enjeksiyonu yapılmış ve bilateral klastrumda da tutulum izlenmiş ancak ipsilateral anterior klastrumda kontralateral klastruma göre daha yoğun ve güçlü tutulum olduğu bildirilmiştir (27) (Şekil 5).

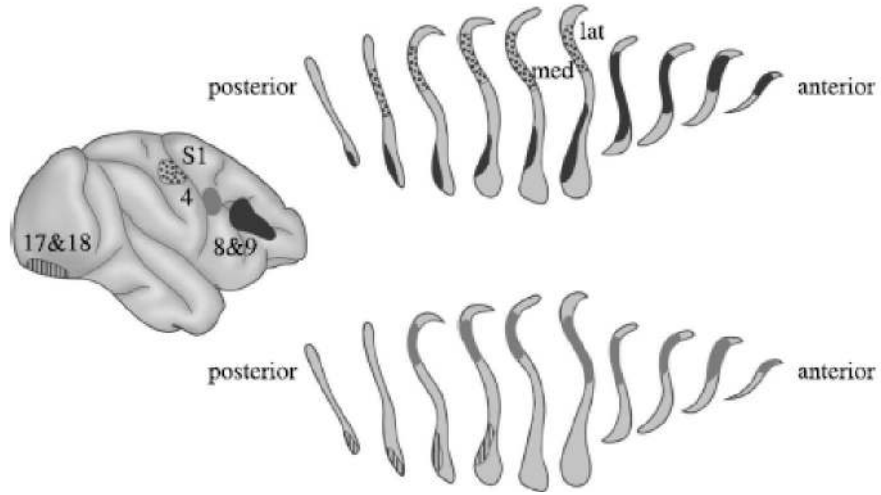


Şekil 5: Oklarla gösterilen taraf enjeksiyon yapılan hemisfer, koyu alan enjeksiyonun yapıldığı alan, enjeksiyon sonrası klastrumda tutulmuş alanlar nokta ile gösterilmiştir. Broadmann 8. alan prefrontal vizüel alan; Alan 24, anterior cingulate korteks; Alan 32, prelimbik alan; Alan 25, infralimbik alan (27).

Yaşla klastrumdaki değişiklikleri inceleyen 19 olguda yapılan bir çalışmada 36-89 yaş arası olguları beyinlerinden koronal 8 mikron kalınlığında kesitler alınarak immunohistokimyasal boyamalar yapılarak amyloid yapılar ve yumaklar incelenmiştir. Klastrumun tüm bölgelerinde nöronal kayıp ve volümde azalma gibi yaşa bağlı değişiklikler izlenmiştir. Ancak yaşlı olgularda paraamygdalar bölgede amyloid plaklar daha fazla görülmüş ve klastroneokortikal nöronların, klaustroentorhinal döngüdeki nöronlara göre daha erken ve ciddi etkilendiğini düşündürmüştür (18). Ayrıca Parkinson ve Lewy cisimcik'li demansta KL nöronal

hücrelerinde α -synuclein ve amyloid- β birikimi görülmüş ve bu hastalıklarda ki demansla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (28).

Yapılan birçok primat çalışmalarında klastrum ile frontal lob (motor korteks, prefrontal korteks, singulat korteks), oksipital lobda görme alanı, temporal lob ve temporopolar korteks, parietooksipital ve posterior parietal korteks, frontoparietal operkulum, somatosensoriyal alanlar, prepiriform olfaktor korteks ve entorhinal korteks ile bağlantıları gösterilmiştir (10,29) (Şekil 5). Klastrumun ayrıca hipokampus (11), amigdala (30) ve kaudat nucleus ile de bağlantıları vardır (31) .



Şekil 6: Maymun neokorteksinde 4 ayrı bölgeye Horseradish peroxidase (HRP) enjeksiyonu sonrası korteks ve klastrum etkileşimi. S1 Sematosenseriyl korteks, alan 17 ve 18 görme alanı, alan 8 ve 9 prefrontal lob, alan 4 presentral gyrus (10).

2.4 Klastrumun Fonksiyonu

Klastrumun; bazal ganglionlara, insula ve amygdalaya yakınlığa ve resiprokal bağlantıları sayesinde korku tanıma, bellek, birleştirici öğrenme ve duyuusal entegrasyon gibi yüksek kongnitif fonksiyonlarda rol oynadığı gösterilmiştir (9).

Crick ve Koch (10) klastrumu farklı kortikal alanları idare eden orkestra şefine benzetmişlerdir. Orkestra şefi olmazsa orkestra çalar ancak senkronizasyon bozulur ve kötü bir ses çıkar. Her iki hemisferdeki KL olmazsa basit, izole ve tanıdık nesneler anlaşılabilir ancak karmaşık ve tanımadık nesneler anlaşılabilir. Nesneler ve olayların ortak renk, şekil uzaklık, koku, ses, hisler vardır ancak bunları entegre eden ve bilinçli algılamasını sağlayan klastrumdur. KL beyinde bilinç merkezinde tek bir olay için tüm duyu modalitelerini entegre eden ideal bir yapı olduğu gösterilmiştir (10).

Pirimatlar üzerinde yapılan bir çalışmada KL’da farklı bölgelerdeki nöronların tek çeşit uyarıya yanıt verdiği diğer uyarılara yanıt vermediği saptanmıştır (32). Bu şekilde ventral KL’un vizüel uyarılara, santral KL’un ise ses uyarılarına yanıt verdiği saptanmıştır (32).

Klastrumun tamamının veya bir kısmın geçici ve kalıcı olarak çıkarılması ile ilgili çalışmalar çok azdır. Klastrumun topografisi ve ince yapısı nedeni ile farmakolojik ya da cerrahi olarak KL’u inaktive etmek çok zordur. Moleküler biyoloji ile genetik çalışmalarda KL’daki bir veya daha fazla nöronu etkileyen (33,34,35) çalışmalar mevcuttur (10).

1988 de yapılan çalışmada klastrumun kontralateral somatosensoriyal korteksi etkileyebileceği, KL'un büyük kısmının somatasensoriyal korteksten gelen duyuşal bilginin iletiminden kaynaklandığını belirtilmiştir (36). Ancak 42 düşük grade glioması olan olguda cerrahi sırasında klastrumda rezeke edilmiş ve postoperatif sensorimotor ve kognitif fonksiyonlarda değişiklik izlenmemiştir. Tek taraflı KL lezyonlarının kompanse edilebileceğini belirtmişlerdir. Bu sayede tümör cerrahisinde KL'a invaze tümörlerde cerrahiyi genişletebileceği ve nöbet cerrahisinde KL'unda eklenebileceği bildirilmiştir (37).

Bir çalışmada ise bir olguda reversible bilateral klastrum ve eksternal kapsül lezyonunda psikotik bozukluklar, geçici görme, işitme ve konuşma kaybı olan ensefolapati gelişmiştir. Lezyonlar 5 hafta fenitoin tedavisi sonrası MR da kaybolmuş ve olgunun şikayetleri gerilemiştir (38).

Frontal okulamotor sinirlerin aktivitesi üzerine kedilerde yapılan bir araştırmada klastrumun bilateral visuamotor performansı kontrol ettiği ve kortikal aktivitenin zamanlanmasında rol oynadığı gösterilmiştir (25).

Alzheimer hastalarında yapılan bir çalışmada Alzheimer'lı ve 5 kontrol beyin incelenmiş ve klastrumun kısımları (dorsal, temporal, orbital ve paraamygdala) zerindeki patolojik değişikler izlenmiştir. Formalinle fiksasyon sonrası 8  kalınlığında koronal kesitler alınarak immunohistokimyasal olarak amyloid yapılar ve plaklar boyanmıştır. Kontrol grubunda KL'da nörofibriller ve amyloid patoloji izlenmemiştir. Alzheimer hastalarının beyinlerinde ise en fazla paraamygdalar kısım da olmak üzere patolojik değişiklikler izlenmiştir.

Paramygdalar bölgede olan değışikliklerin bu süreçle ilgili olduğu ve derin hafıza bozukluğunda rol olduğu saptanmıştır (17).

Özet olarak; KL içinde algısal, bilişsel ve motor modaliteleri senkronize ve entegre eden ventral-dorsal, posterior-anterior özel mekanizmaları vardır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

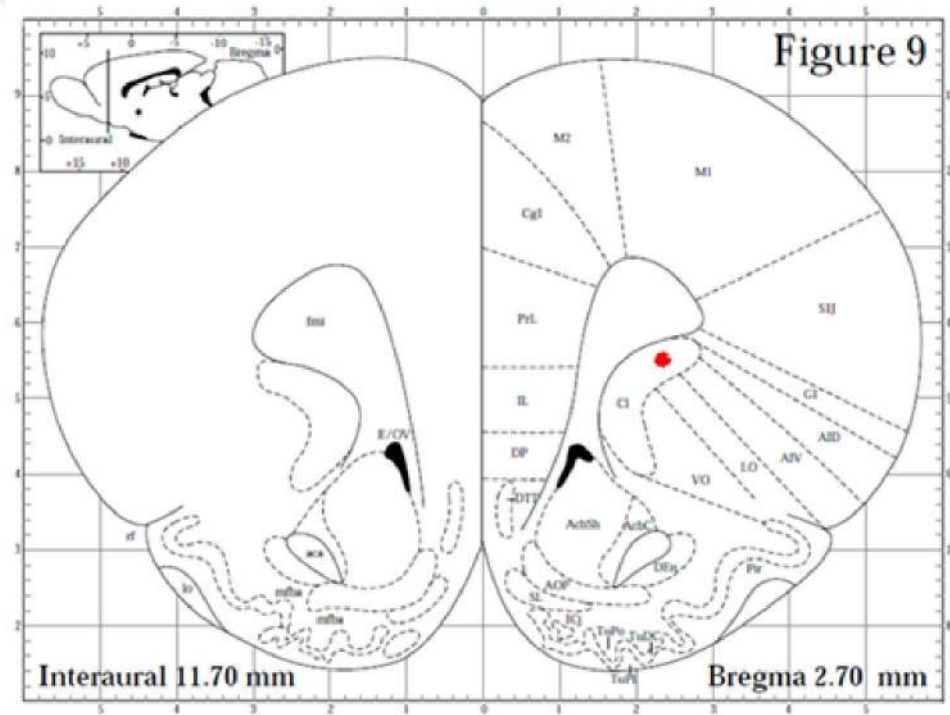
Çalışmayla ilgili "Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu" ndan etik kurul onayı (G.Ü. ET- 12.079 kod numaralı) alındıktan sonra deneyler Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöropsikiyatri Eğitim, Uygulama ve Araştırma Merkezi Nörobilim Laboratuvarında yapıldı.

Deneyde 300-400 gr ağırlığında erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Sıçanlarda dominant hemisfer belirlenmesi yapılmadı. Sıçanlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinden alındı.

12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamı sağlayacak şekilde düzenlenen, 18-21 °C oda sıcaklığında, dışarıdan gelen ışığı geçirmeyen camlı bir bölmede, tabanına talaş koyularak su ve besinin eklendiği şeffaf kafesler içinde iki gün ortama adapte olmaları için tutuldular. İki gün sonra operasyon öncesi sıçanlara ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (8 mg/kg) anestezisi verilerek anestezi sağlandı. Anestezi derinliği kalp hızı ve arka bacak *çimdikleme reaksiyonuna* bakılarak yapıldı. Anestezi derinliği sağlandıktan sonra rat cerrahi girişim yapılacak alana alındı (Resim 1). Isıtıcı battaniye üzerine alınarak operasyon boyunca rektal ısı kontrolleri yapıldı. Her bir sıçan, kafasını sabitlemek için stereotaksik çerçeveye yerleştirildi (Resim 2,3). Takiben mikroskop altında kafatası derisine median insizyon açılarak cilt-ciltaltı bölgesi kesildi (Resim 4), gruplara göre unilateral veya bilateral frontal girişim bölgesine (Bregmanın 2,7 mm önü, 2,1 mm laterale gelecek şeklide) drill ile duranın korunduğu yaklaşık 2 mm çapında giriş deliği açıldı (Resim 5). Ardından duramater 11 numara bistüri ile açıldı. Elektrod

ile bregmanın 4,6 mm altına inilerek korteks içinde ilerlenerek ventral klaustruma girildi.

Kraniyotomiler ve girişimler “The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates George Paxinos And Charles Watson, Academic Press 1997” atlasına (39) göre yapıldı (Şekil 7).



Şekil 7: Rat beyin atlasında kırmızı ile işaretli yer hedeflenen lezyon bölgesi (23).

3.1. Deney Grupları

1. Grup: Sağ klastrum lezyon grubu (n: 6 sıçan)
2. Grup: Sol klastrum lezyon grubu (n: 6 sıçan)
3. Grup: Bilateral klastrum lezyon grubu (n: 6 sıçan)
4. Grup: Unilateral klastrum sham grubu (n: 6 sıçan)
5. Grup: Bilateral klastrum sham grubu (n: 6 sıçan)
6. Grup: Kontrol grubu (n: 6 sıçan)

Kontrol grubu dışında ki tüm gruplara cerrahi işlem uygulandı. Tüm cerrahi grupları işlem sonrası 7. gün ve 8. gün deneylere alındı. Davranış ve motor hareket deneyleri günün aynı saatlerinde yapıldı (12.00 ± 2 saat).

Cerrahi girişim yapılan gruplarda bregmanın 2,7 mm önu, 2,1 mm laterali 4,6 mm derininden olacak şekilde anterior klastruma çapı 0.30 mm olan elektrotla girildi. Lezyon oluşturulacak olan gruplara elektrot ucuna sabit akım kaynağı (WPI stimulus isolator) ile 20 sn, 30 μ amp elektrik verilerek lezyon oluşturuldu. Sham gruplarında da klastruma elektrot yerleştirildi; 20 sn beklendi ancak akım verilmedi.

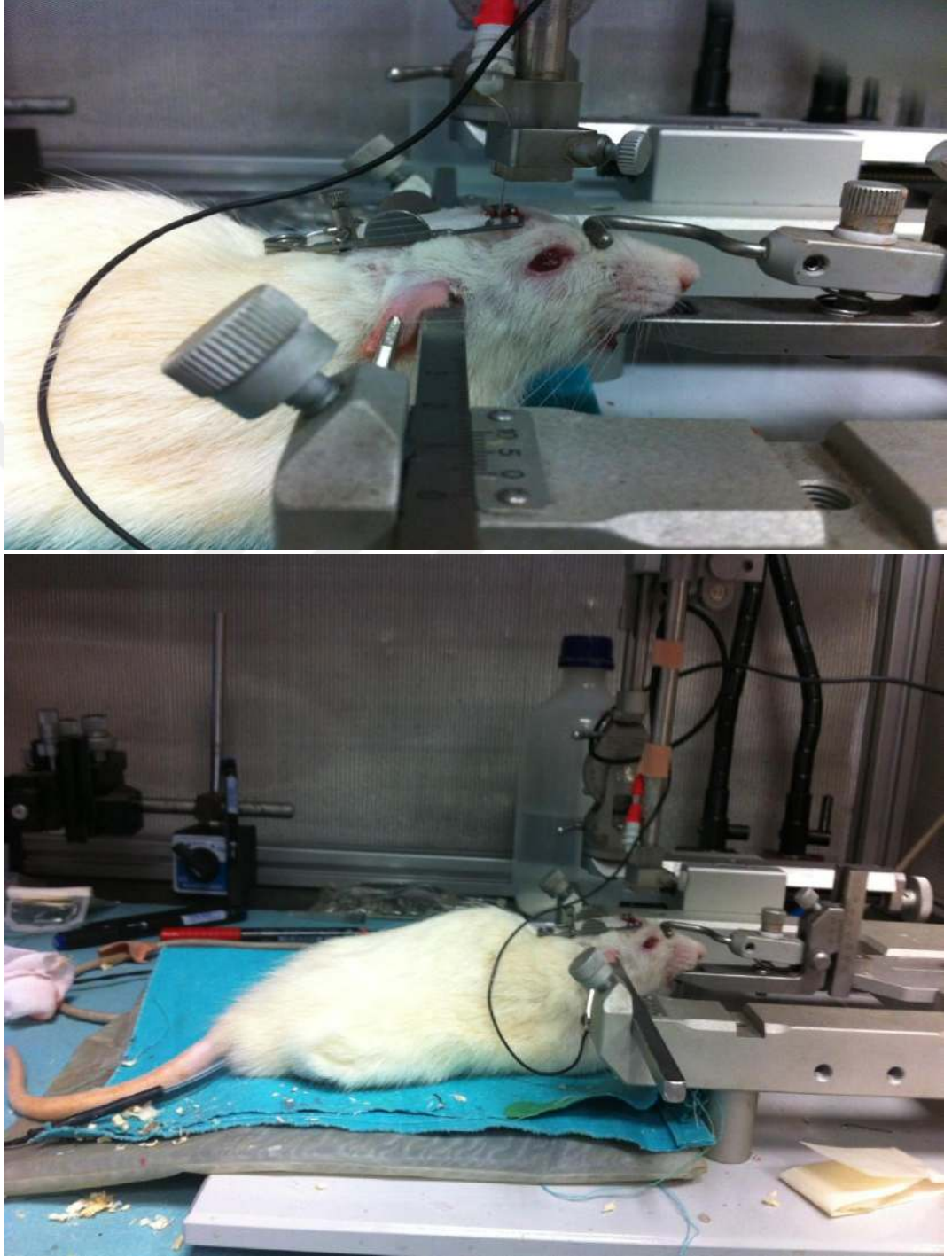
İşlemlerden 7 gün sonra sıçanların spontan davranışları dijital video, otomatik davranış kaydedici (LABORAS[®]) ve ultrasonik ses kaydedici cihaz (SONOTRACK[®]) kullanılarak kayıt yapıldı. 8. gün 5 dakika yükseltilmiş artı labirent testinde bırakılarak sıçanların spontan davranışları dijital video ile izlendi. Sonrasında ratlar yüksek doz tiyopental ile uyutulup kurban edildi ve beyin dokusu post fiske edililerek histokimyasal olarak incelendi.



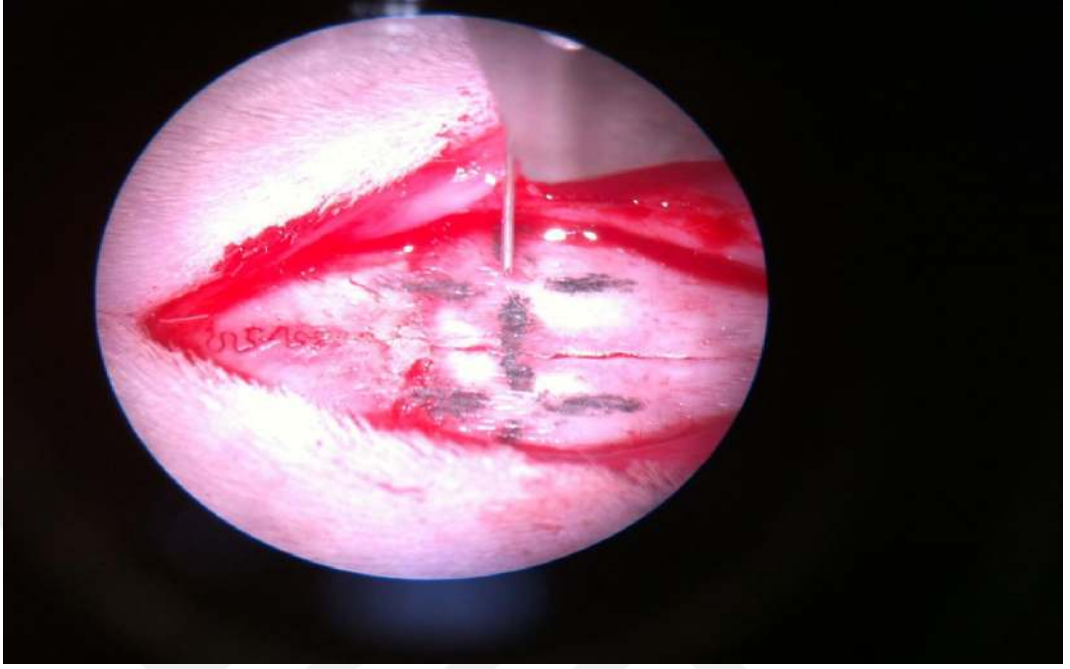
Resim 1: Operasyon için kullanılan alan



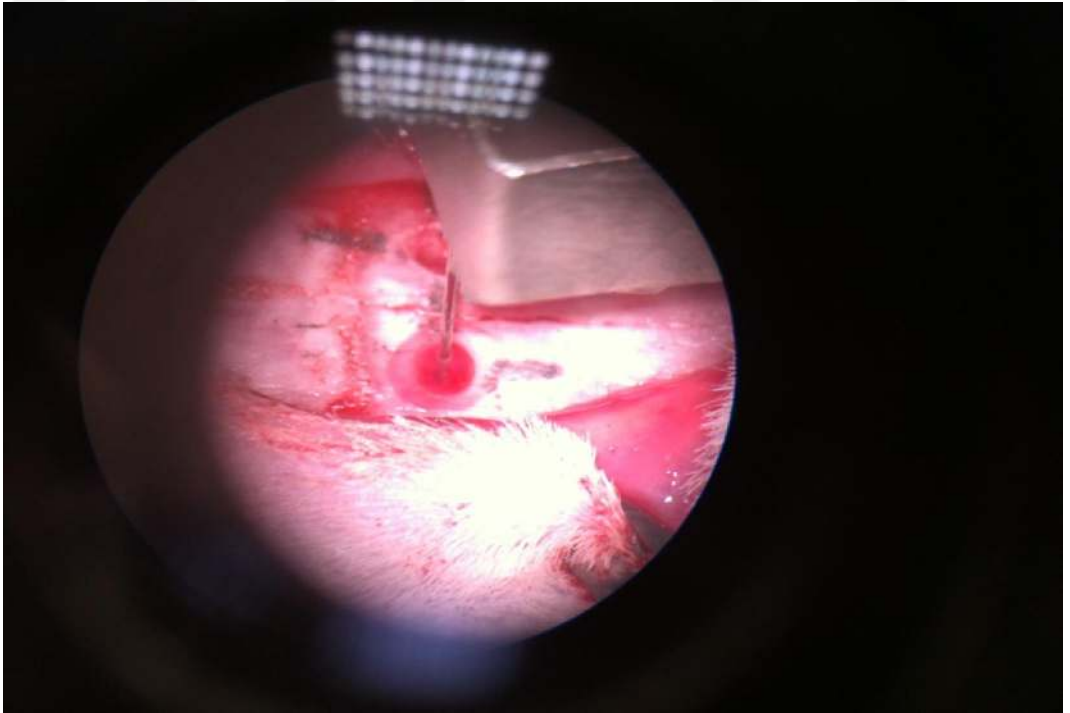
Resim 2: Stereotaksik çerçeve



Resim 3: Stererotaktik çerçeveye yerleştirilmiş rat



Resim 4: Mikroskop altında skalp'a median insizyon açılarak girişim noktalarının belirlenmesi

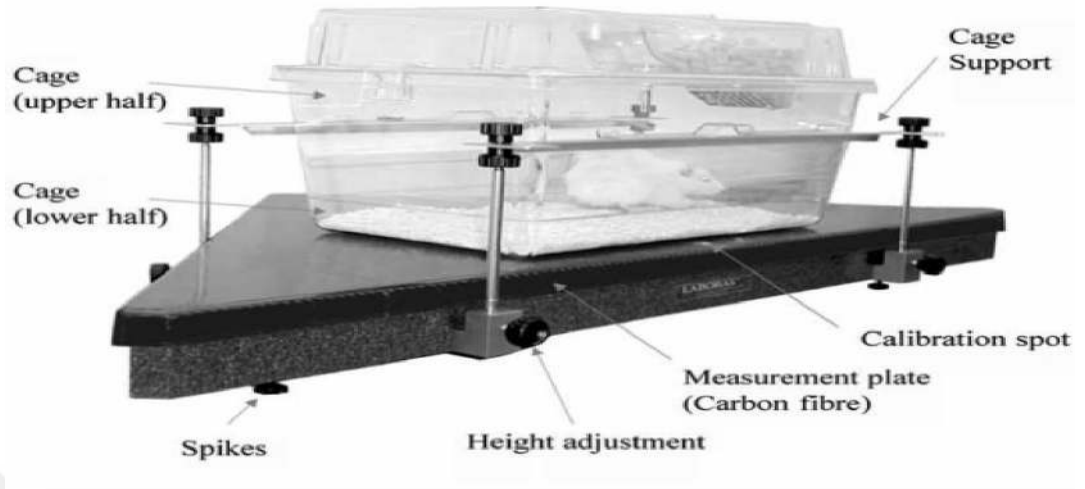


Resim 5: Burr hole açılması ve elektrotun ilerletilmesi

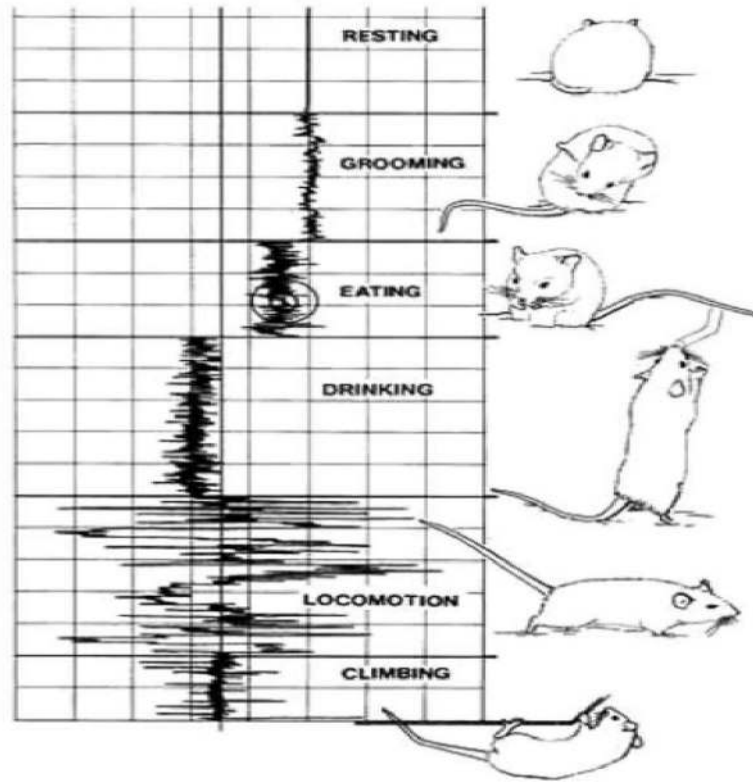
3.2. Davranış Deneyleri

Çalışmada LABORAS® (Şekil 8) isimli rat ve farelerde davranışları noninvaziv şekilde kayıt ve analiz edebilen sistem kullanıldı. Bu sistem, platform üzerine sabitlenmiş kafesten oluşup bilgisayar bağlantılıdır (Resim 6,7). Platform sıçan davranışlarının oluşturduğu titreşimleri algılayıp analiz eder (40). Sıçanların lokomotor aktivite, immobilité, kafa, vücut grooming (temizlenme), donma, uyku, yemek yeme, su içme, saat yönüne ve saat yönünün tersine dönme, şahlanma (rearing) gibi davranışlarına bakıldı. Sıçanlar standart sıçan kafesindeki besin ve suya ulaşma konusunda kısıtlanmadı.

Tüm deneyler otomatik analiz sisteminin yanında otomatik analiz verilerini doğrulamak ve immobilité, uyku ile donmayı ayırt etmek için ayrıca video kamera sistemine kayıt edildi ve davranış süreleri gözlemlenerek kaydedildi.



(a)



(b)

Şekil 8: (a) LABORAS® davranış kayıt sistemi.. (b) Rat davranış-hareketlerinin oluşturduğu titreşim sinyalleri sistem tarafından kaydı (24).



LABORAS

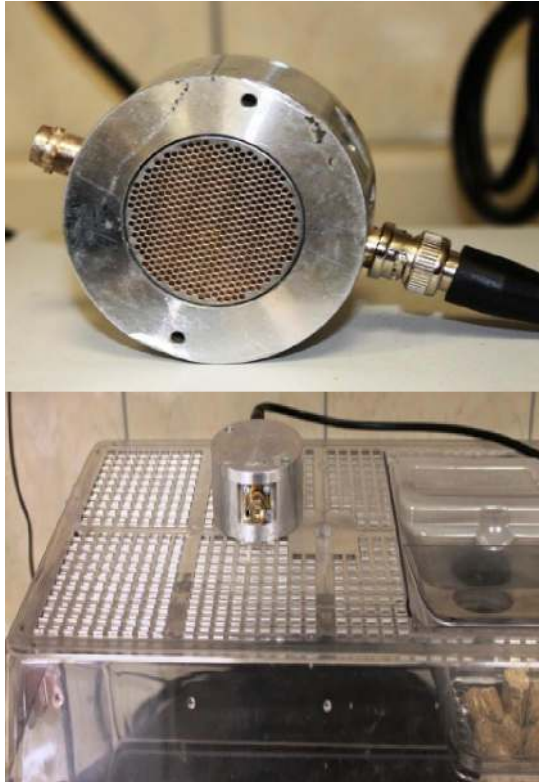
Laboratory
Animal
Behavior
Observation
Registration and
Analysis
System



Resim 6,7: LABORAS

3.3. Ultrasonik Ses Kaydı

Çalışmada sıçanlarda davranış testleri sırasında SONOTRACK® (METRIS, Hollanda) cihazı (Resim 8,9) ve Windows için 1.3.0 yazılımı kullanıldı (Resim 8,9). Cihazın alıcısı LABORAS® platformunun kafesinin üstüne yerleştirildi. Laboratuar hayvanlarının ultrasonik sesleri (U.S.) (15-100 kHz aralığında) insanın duyma aralığı dışında olduğu için USV detektör sistemince tespit edilip, analiz edildi. U. S. sesler dijital olarak kaydedilip insan kulağı tarafından algılanabilecek hale getirildi. Kaydedilen sesler frekanslarına göre değerlendirildi. 22-27 kHz aralığındaki sesler erişkin sıçanlarda ağrı, şaşkınlık, stres ve düşmanla karşılaşma sırasındaki negatif affektif durumun 50 kHz ise genellikle pozitif affekt durumunun göstergesi olarak kullanıldı (41).



Resim 8, 9: SONOTRACK®

3.4. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testi, yerden 50 cm yükseklikte artı şeklinde, 50x10 cm ölçülerinde iki açık ve iki kapalı koldan oluşan deney düzeneğinde gerçekleştirildi (Resim 10). Sıçanlar kısmen karanlık, sessiz bir ortamda kafaları sol kapalı kola bakacak şekilde platforma yerleştirildi. Ardından sıçanların açık ve kapalı kollara giriş sayısı ve kollarda kalma süreleri (saniye olarak) 5 dakika boyunca takip edildi. Açık kola az girme ve bu kollarda az süre kalma anksiyete belirtisi kabul edildi. Aynı şekilde kapalı kola daha çok girme ve bu kollarda uzun süre kalma anksiyete belirtisi kabul edildi (42, 44).



Resim 10: Yükseltilmiş artı labirent testi

3.5. Sabit Akım Kaynağı

Lezyon oluşturmak için sabit akım kaynağı (WPI stimulus isolator A365) kullanıldı (Resim 11). Akım kaynağı monopolar olarak kullanıldı (topraklama ile). Elektrot uygun koordinatlardan iletildikten sonra 30 μ A 20 sn, elektrik akımı verilerek lezyon oluşturuldu.



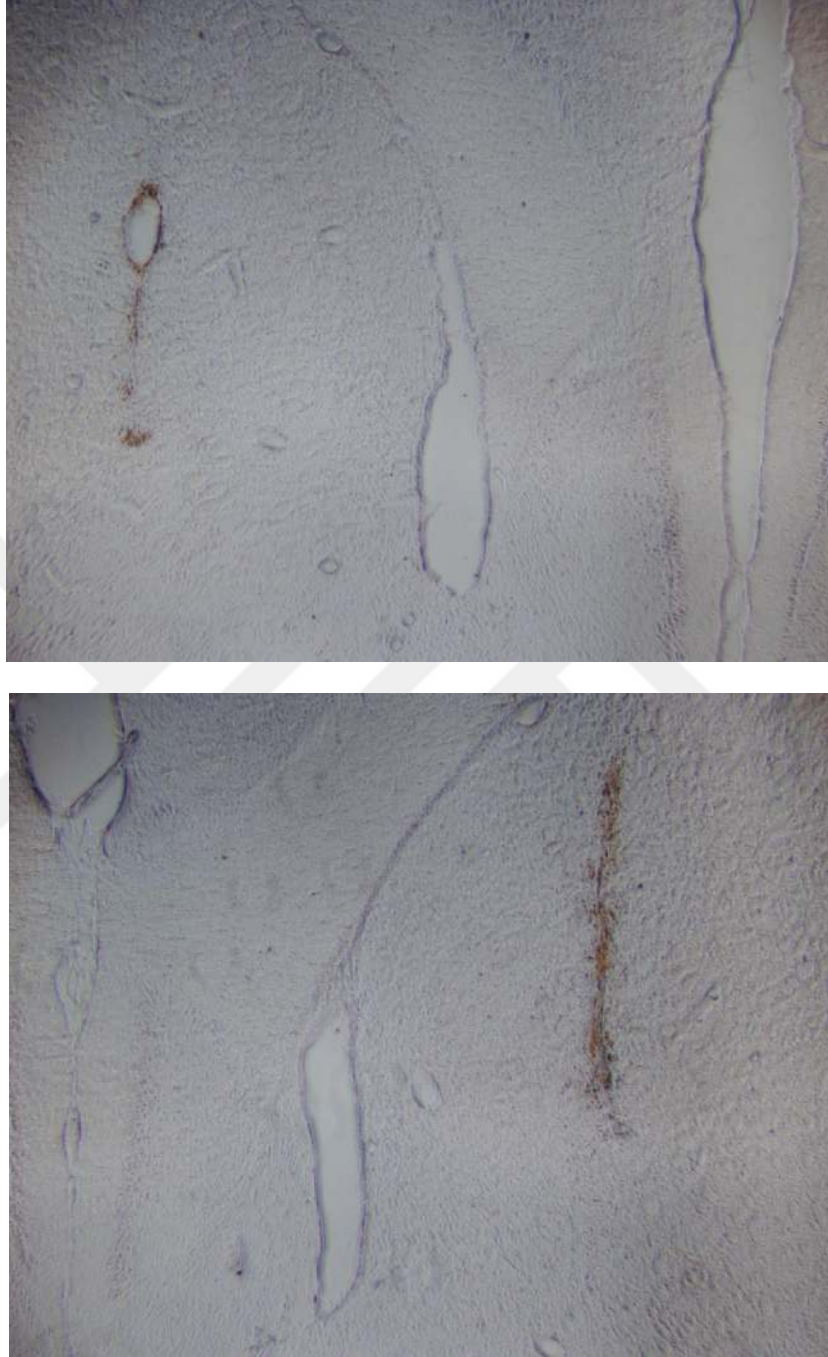
Resim 11: Sabit akım kaynağı (WPI stimulus isolator A365).

3.6. Perfüzyon Dokularının Hazırlanması

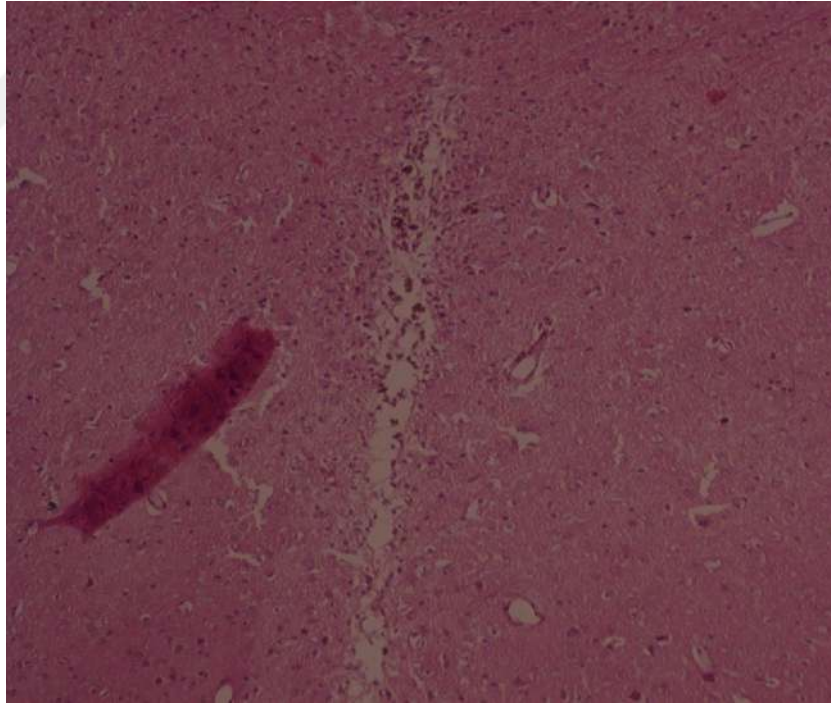
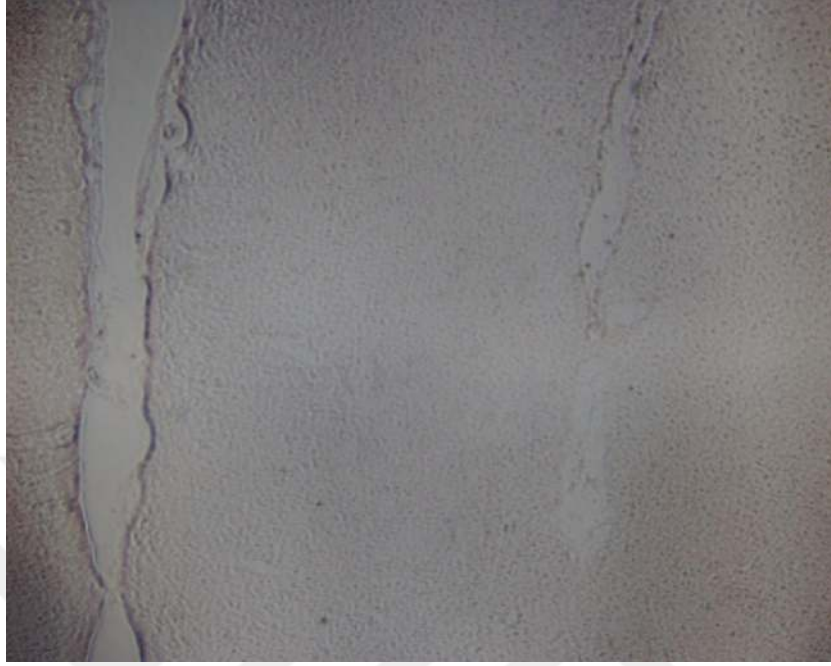
Gözlem çalışmaları biten hayvanlar, letal dozda intraperitoneal sodyum tiyopental (80mg/kg) verilerek kardiyak perfüzyona alındı. İşlem sırasında transkardiyak 100-150 ml heparinli % 0,9'luk NaCl verilerek dokulardan kan uzaklaştırıldı. Ardından, 300-350 ml 0,1 M fosfat tamponlu % 4 paraformaldehit

solüsyonu yine transkardiyak verilerek dokular fıkse edildi. *Paraformaldehit* solüsyonu hazırlanırken, 500 ml distile su içine 40 gr paraformaldehit eklendi. Ağzı kapatılarak 60 °C’de ısıtıldı. Magnetik karıştırıcıda (ARE Heating magnetic stirrer) 10 dakika boyunca karıştırılırken 1N NaOH eklendi ve solüsyon berrak hale getirilip soğumaya bırakıldı. Fosfat tamponu için, 450 ml distile su içine 0,144 gr KH₂PO₄, 9 gr NaCl ve 0,795 gr Na₂HPO₄ eklendi. Daha önce hazırlanan 500 ml’lik solüsyonla karıştırılarak distile suyla 1000 ml’ye tamamlandı.

Solüsyon pH’sını ayarlamak için pH ölçer (pH 211 Microprocessol pH Meter) kullanıldı ve pH 7,4’e ayarlandı (41). Kardiyak perfüzyon sonrası beyin 48 saat süreyle paraformaldehit solüsyonunda içinde, +4 °C’de bekletildi. Ardından parafin bloklar içine yerleştirilmiş dokulardan 5 μ m’lik kesitler alındı. Ardından kesitler hemotoksilen ve hemotoksilen-eozin ile boyandı (Resim 12, 13).



Resim 11: Bilateral KL lezyonu hematoksilin boyama. Üst görüntü sağ serebral hemisfer, alt görüntü sol serebral hemisferdir.



Resim 13: Üst sol KL lezyonu hematoksilen boyama, alt sağ KL lezyon hematoksilen eozin boyama.

3.7. İstatistiksel Yöntemler

Sonuçlar SPSS 15 istatistik programı ile değerlendirildi. Davranış çeşitlerinin gruplar arasındaki anlamlılığı tek yönlü varyans analizi (ONE WAY ANOVA) ile değerlendirildi, gruplar arası farklılık için Post Hoc analizlerinden Tukey testi kullanılarak $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ SEM (standart hata) olarak verildi.



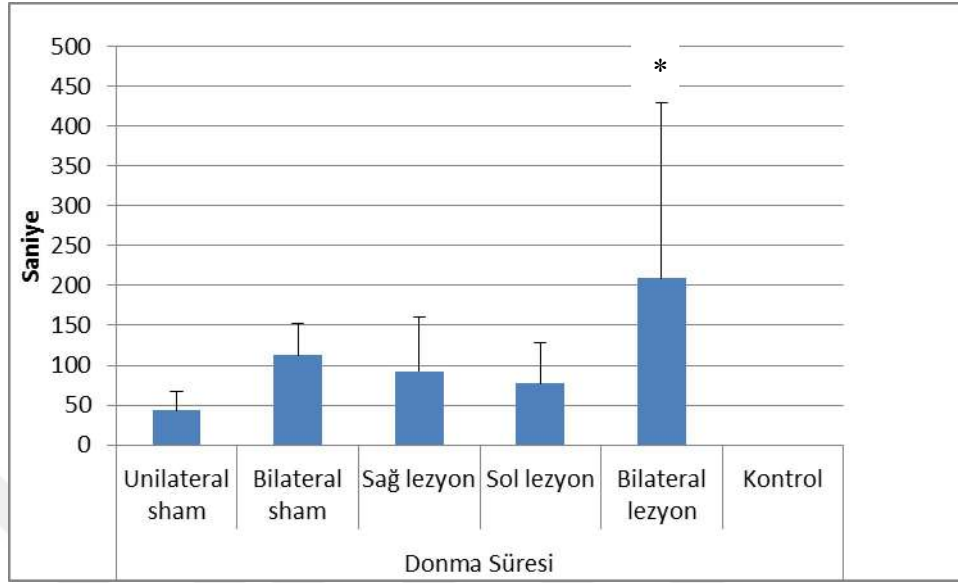
4. SONUÇLAR

Sıçanlarda stereotaksik olarak ventral klastruma ulaşmak için izlen yol üzerinde motor korteks olmasına rağmen hiçbir sıçanda hemiparezi benzeri olabilecek bulguya rastlanmadı. Girişim yapılan tüm gruplarda *hareket* görüldü.

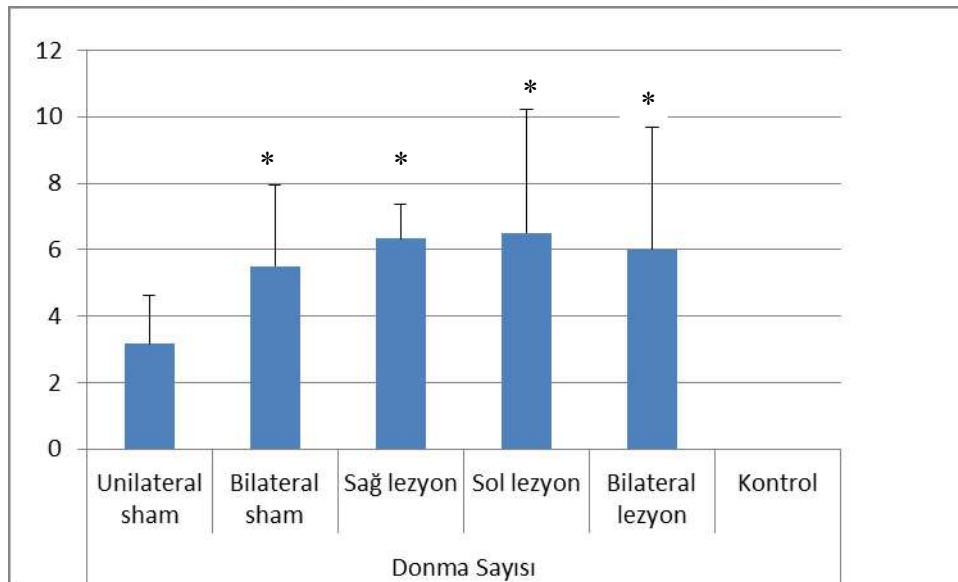
4.1. Motor Hareket ve Davranış Şekilleri

4.1.1. Donma

Donma sıçanın hareket sırasında anında nedensiz sabit kalıp, bir noktaya bakması olarak kabul edildi. Donma davranışı hayvanlarda bir uyaran karşısında korku, anksiyete davranışı olarak görülür. LABORAS® davranış platformunda 10 dakikalık takibinde girişim yapılan sıçanların bilateral, sağ, sol KL lezyon ve bilateral sham gruplarında istatistiksel olarak anlamlı donma görülürken, kontrol grubunda görülmedi. Bilateral klaustral lezyon yapılan sıçanlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı donma süresi gözlemlendi (Tablo1, 2). Uzun donma sürelerinin uykudan ayırımı, uyku pozisyonunda olmaması, gözlerin açık ve göz kırpma refleksinin olmasıyla yapıldı.



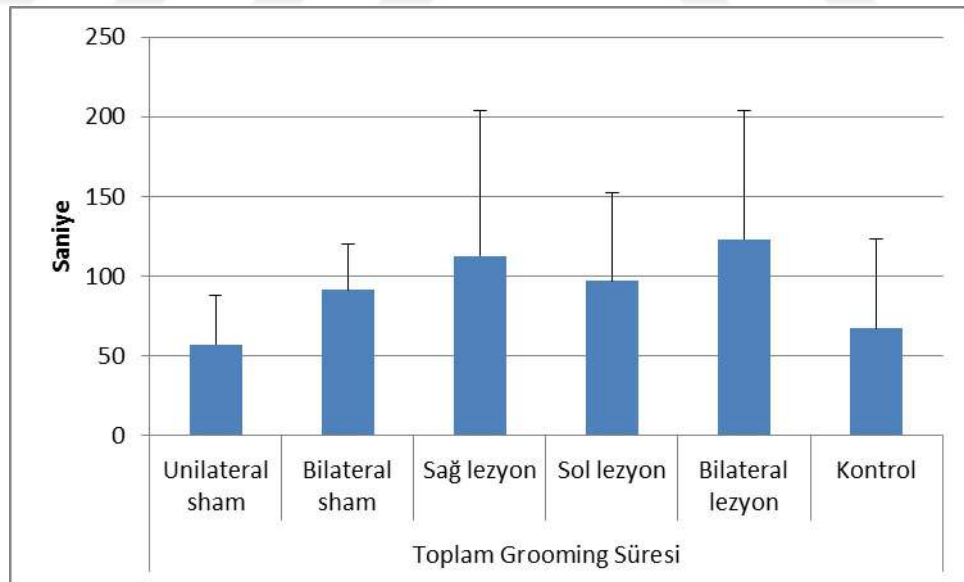
Tablo 1: Ratların gruplara göre donma süreleri ($p < 0,01$).



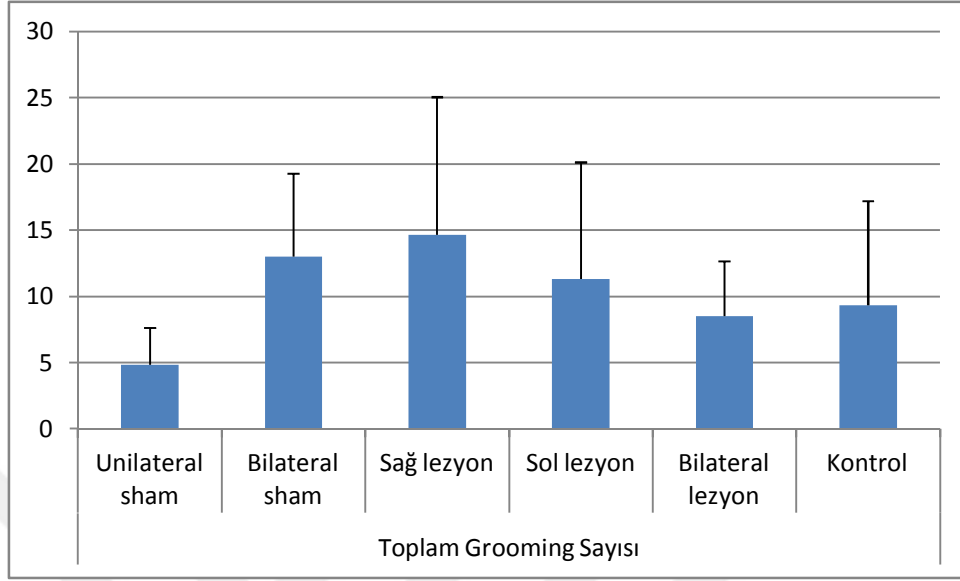
Tablo 2: Ratların gruplara göre donma sayıları ($p < 0,01$).

4.1.2. Grooming (Temizlenme/ Süslenme)

Grooming (Temizlenme/ süslenme) sıçanlarda ve diğer kemirgenlerde baş, gövde ve ekstremiteleri kalıplaşmış hareketlerle yalanarak temizlenmesidir. Temizlenme davranışı kemirgenlerde genel olarak görülen önemli bir hareket biçimidir. Özellikle beklenmeyen uyaranlarda ve stres durumlarında bu harekette artış gözlenmektedir (45). Çalışmada bilateral lezyon grubunda ağırlıklı olmak üzere lezyon gruplarında ve bilateral sham grubunda kontrol grubuna göre temizlenme davranışı süresinde ve sayısında artış görüldü (Tablo 3, 4). Ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.



Tablo 3: Ratlarda gruplara göre grooming süresi.



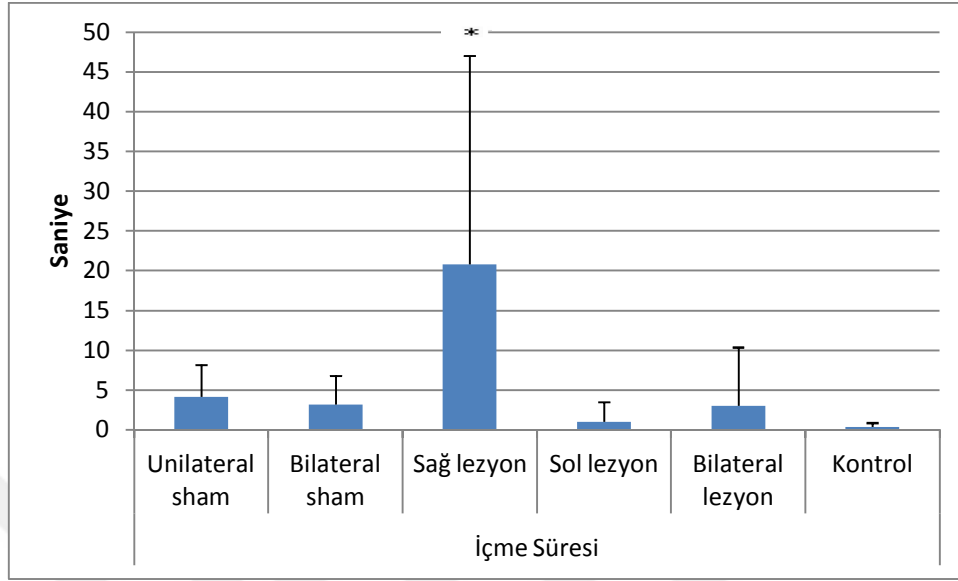
Tablo 4: Ratlarda gruplara göre grooming sayısı

4.1.3. Yemek Yeme

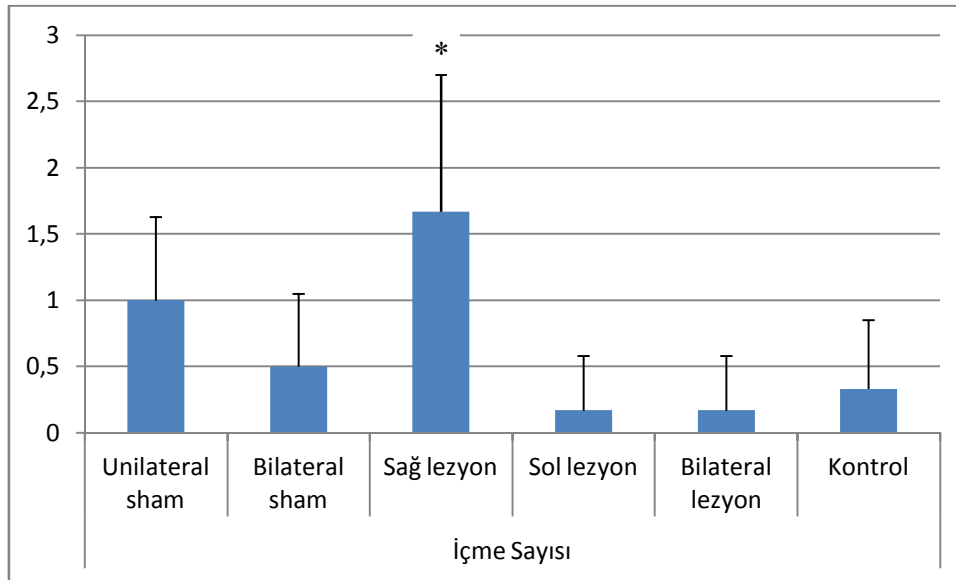
Yemek yeme sürelerinde lezyon, sham ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık görülmedi.

4.1.4. Su İçme

Su içme sayılarında bilateral lezyon, sol lezyon, sham ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık görülmezken sağ klaustral lezyon gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (Tablo 5, 6).



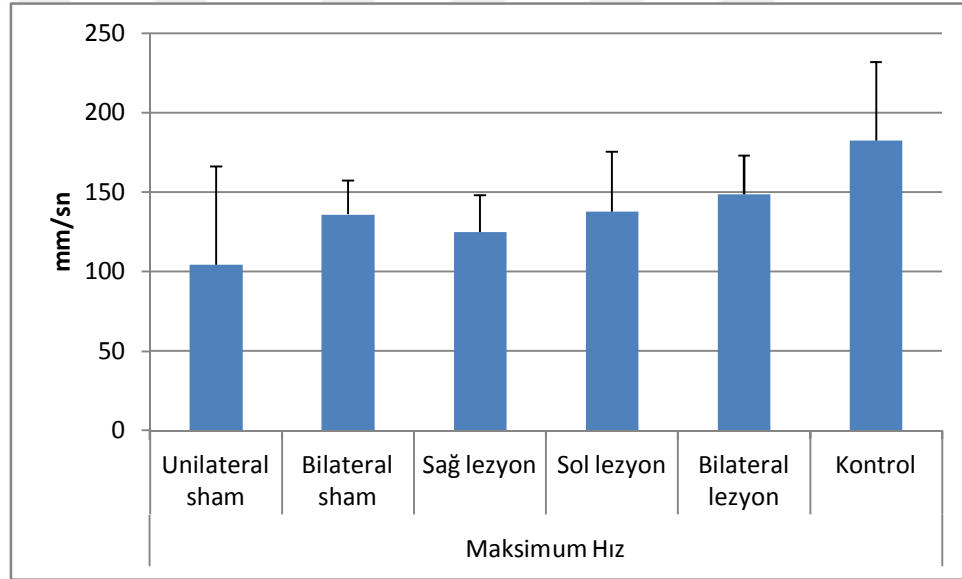
Tablo 5: Ratlarda gruplara göre su içme süresi ($p < 0,5$).



Tablo 6: Ratlarda gruplara göre su içme sayısı.

4.1.5. Maksimum Hız

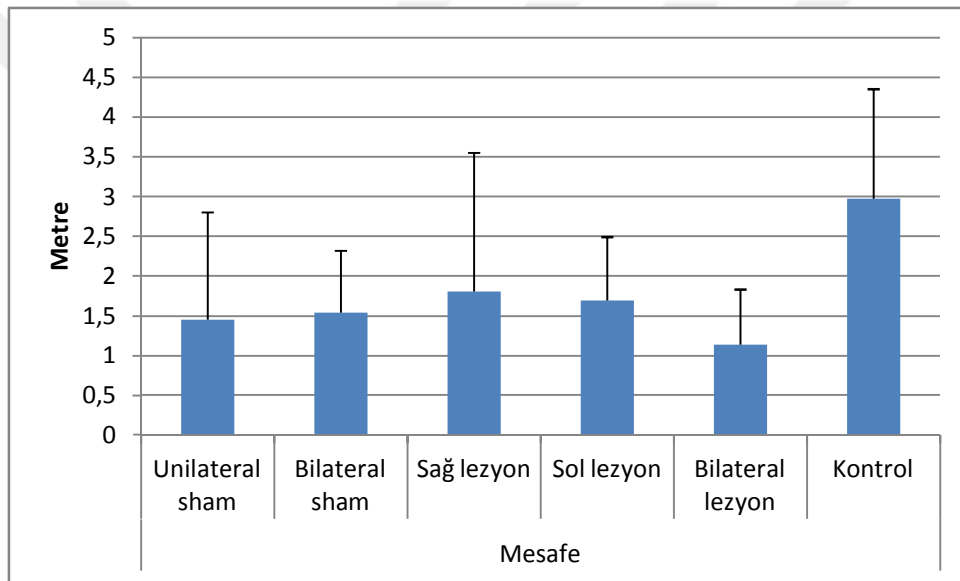
Sıçanlarda LABORAS davranış platformunda tutuldukları 10 dakika sürede otomatik olarak maksimum hız hesaplandı. Kontrol grubuna göre girişim yapılmış olan sıçanlarda yavaşlama görüldü (Tablo 7). Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.



Tablo 7: Ratlarda gruplara göre maksimum hız ortalaması.

4.1.6. Toplam kat edilen uzaklık

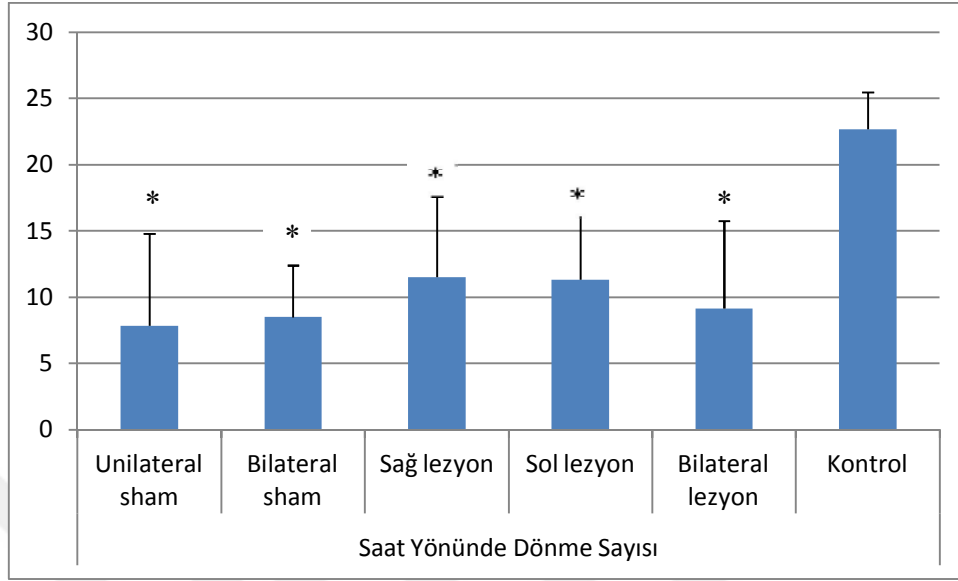
Kontrol grubuna göre sham grupları ve klaustrum lezyonu yapılan gruplarda kat edilen uzaklıkta azalma görüldü (Tablo 8). Ancak istatistiksel olarak anlamlı görülmedi.



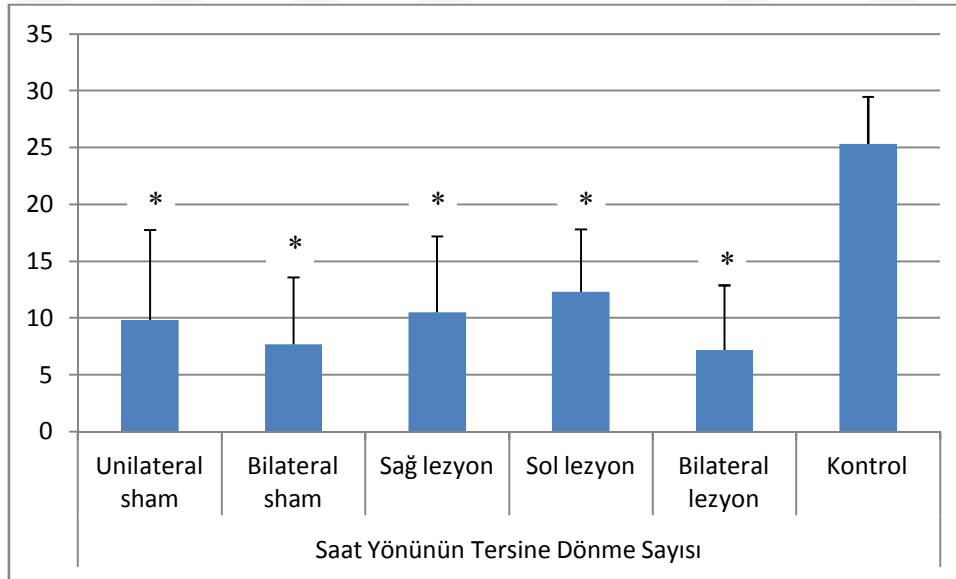
Tablo 8: Ratlarda gruplara göre kat edilen mesafe.

4.1.7. Dönme hareketi

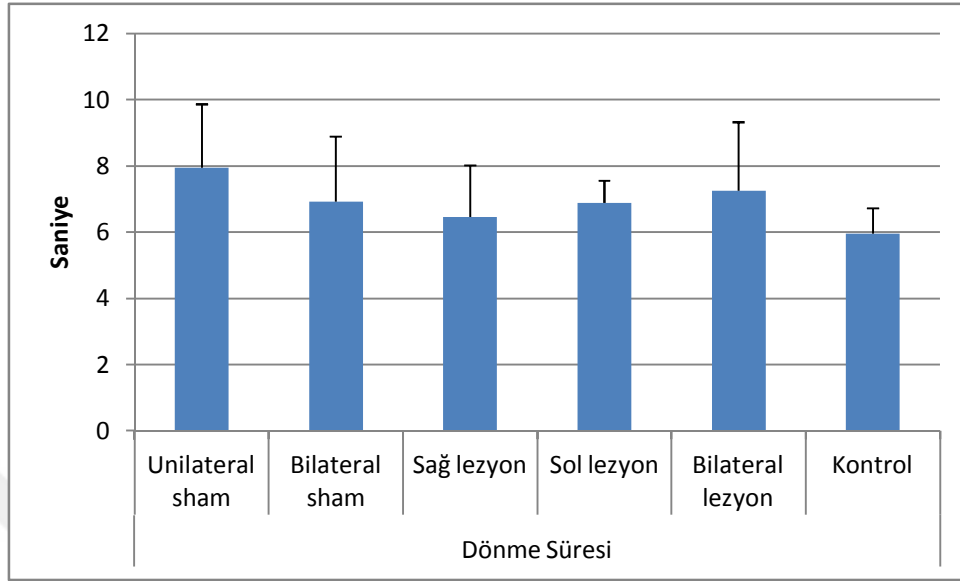
Kontrol grubu ile girişim yapılmış tüm gruplar arasında saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinde sayı olarak anlamlı fark saptandı. Klaustral lezyon ve sham gruplarında kontrol grubuna göre saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinde sayı olarak azalma görüldü (Tablo 9, 10). Gruplar arasında saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinin süresinde istatistiksel anlamlı fark gözlenmedi (Tablo 11).



Tablo 9: Ratlarda gruplara göre saat yönü dönme hareketi sayısı.



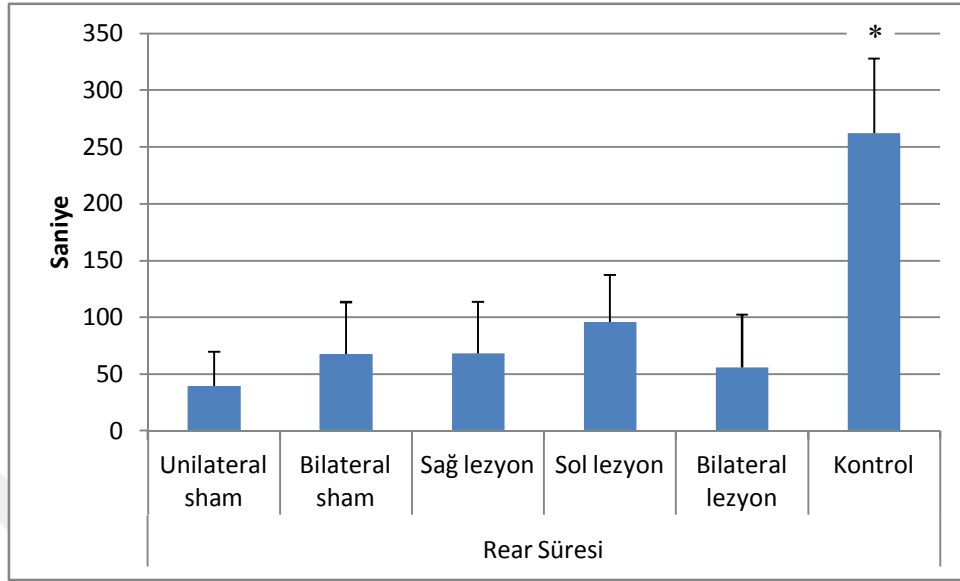
Tablo 10: Ratlarda gruplara göre saat yönü tersine dönme hareketi sayısı.



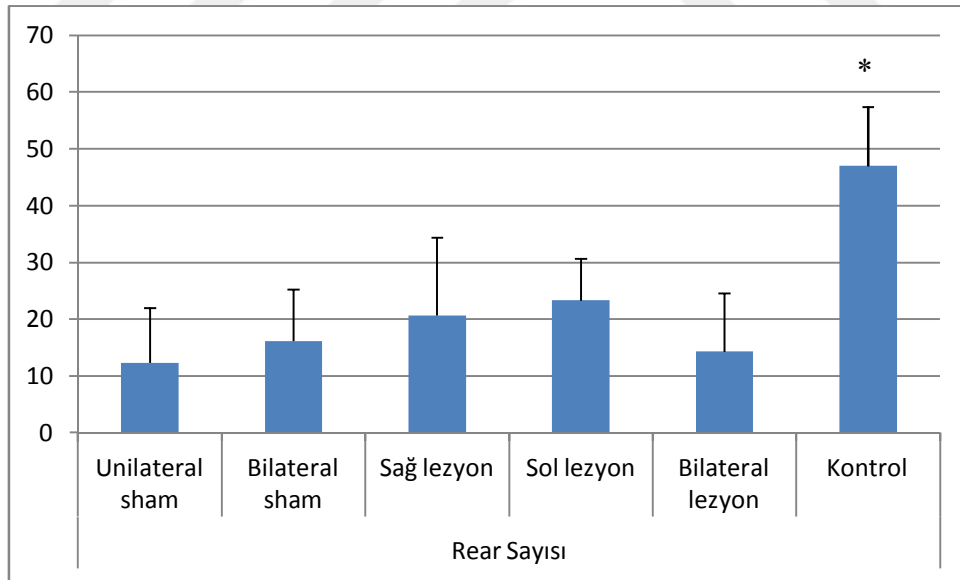
Tablo 11: Ratlarda gruplara göre saat yönü ve tersine dönme süreleri.

4.1.8. Şahlanma (Rearing)

Şahlanma, sıçanlarda iki ön ekstremitayı havaya kaldırıp arka ekstremiteler üzerinde durdukları pozisyonudur. Etrafı inceleme, araştırma davranışı olarak kabul edilir. Kontrol grubuna göre sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda belirgin ve anlamlı olarak bu davranış şeklinde süre ve sayı olarak azalma görüldü (Tablo 12, 13).



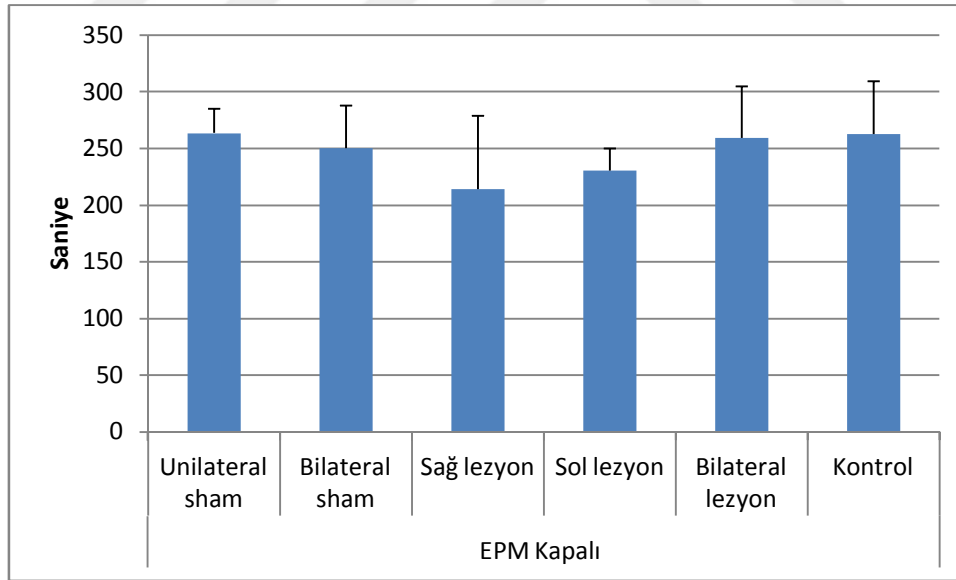
Tablo 12: Ratlarda gruplara göre şahlanma hareketi süresi ($p<0.01$).



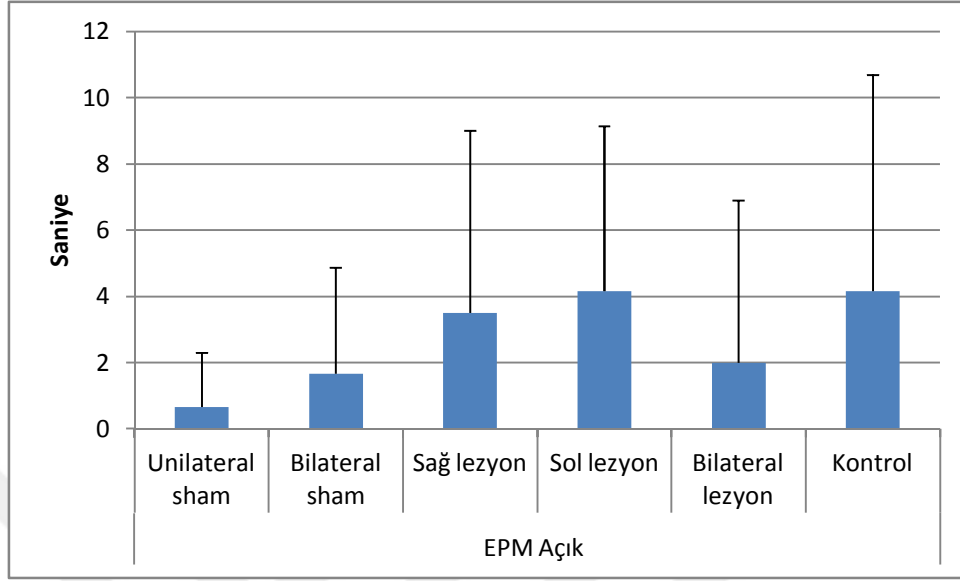
Tablo 13: Ratlarda gruplara göre şahlanma hareketi sayısı ($p<0.01$).

4.2. Yükseltiilmiş Artı Labirent Testi

Sıçanlar karanlık, sessiz bir ortamda başları sol kapalı kola bakacak şekilde platforma yerleştirildi. Ardından 5 dakika boyunca sıçanların açık ve kapalı kollara giriş sayısı ve kollarda kalma süreleri (saniye olarak) takip edildi. Açık kola az girme, bu kollarda az süre kalma ve kapalı kola daha çok girme, bu kollarda uzun süre kalma anksiyete belirtisi kabul edildi (42,43,44). Kontrol grubu ile sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda açık ve kapalı kollarda kalma sürelerinde anlamlı fark görülmedi (Tablo 14, 15).



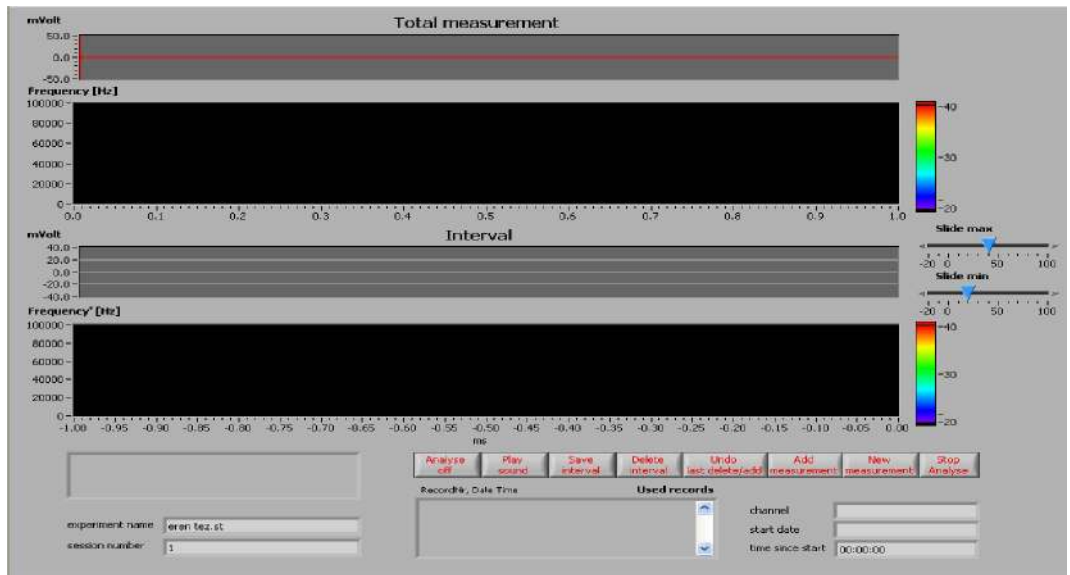
Tablo 14: Ratlarda gruplara göre kapalı kolda bulunma süresi.



Tablo 15: Ratlarda gruplara göre açık kolda bulunma süresi.

4.3. Ultrasonik Ses Kaydı

Kontrol grubu ile sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda belirgin anksiyete ve benzeri ses tespit edilmedi (Şekil 9).



Şekil 9: Ultrasonik ses kaydı (belirgin ses yok).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada ratta ventral klastrumda oluşturulan elektriksel lezyonunun davranış ve motor aktivite üzerine olan etkileri sağ, sol korteklerde ve bilateral olarak ayrı ayrı araştırılmıştır.

Yapılan çalışmada ventral klastrumda mikroeletrod aracılığı ile oluşturulan elektriksel lezyonun etkileri 7. gün 10 dakika süre ile otomatik davranış analiz sistemi, video ve ultrasonik vokalizasyon kaydı yapılarak, 8. Gün ve 5 dakika yükseltilmiş artı labirent testi kullanılarak incelenmiştir.

Oluşturulan lezyonlar parafin kesitlerde hemotoksilen ve hemotoksilen eozin boyamalarla doğrulanmıştır. Özellikle bilateral lezyon gruplarında anlamlı olarak donma davranışı süresi artmıştır.

Temizlenme davranışı yine bilateral lezyon grubunda ağırlıklı olmak üzere artmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu iki davranış paterni anksiyeteye olan eğilim olarak yorumlanmıştır. Bilateral grupta unilateral gruplara ve sham gruplarına göre bu davranışların fazla görülmesinin klastrumun her iki korteksten bağlantı alması ve bilateral lezyon ile bu bağlantının aksının bozulması nedeni ile olduğu düşünülmüştür.

Yemek yeme, su içme davranışlarında değişiklik görülmedi. 10 dakikalık sürede LABORAS davranış platformunda sıçanlarda maksimum hız otomatik olarak hesaplandı. Kontrol grubuna göre girişim yapılmış olan sıçanlarda yavaşlama görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda kat edilen mesafede azalma görüldü. Bu donma davranışına paralel olarak değerlendirildi.

Kontrol grubu ile girişim yapılmış gruplar arasında dönme hareketinde sayı olarak anlamlı fark saptandı. Klaustral lezyon ve sham gruplarında kontrol grubuna göre saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinde sayı olarak azalma görüldü. Sürede farklılık gözlenmedi. Bu işlem yapılmış tüm hayvanlarda hareketlerinde kısmen bir yavaşlamayı düşündürdü.

Anksiyeteyi değerlendirmek için yapılan yükseltilmiş artı labirent testinde gruplar arasında anlamlı fark görülmedi. Yine anksiyeteyi değerlendirmek için yapılan ultrasonik ses kaydında gruplarda belirgin anksiyete ve benzeri ses tespit edilmedi.

5.1 Motor Hareket ve Davranış

5.1.1. Donma Davranışı

Donma davranışı sıçanlar ve genel olarak kemirgenlerde korku, anksiyete durumları dışında, absans nöbet, bazal ganglion hasar ve hastalıklarına bağlı katalepsi durumlarında, şiddetli ağrılarda görülebilmektedir.

Bazal ganglia hastalıkları ve absans nöbet durumlarında da donma davranışı gözlenebilmektedir. Ancak sıçanlarda donma davranışı dış uyaranla kısmen bozulabildiği ve kas tonuslarında değişme görülmediği için nöbet ve katalepsi durumları dışlanmıştır.

Cerrahi girişimden 7 gün sonra deneylerin yapılması da ağrıya ikincil olmasını dışlamaktadır. Ayrıca ultrasonik ses kayıtlarında ağrıya ikincil bir ses tespit edilmemiştir.

Anksiyete, korku durumlarında genel olarak kemirgenlerde kaçma saklanma ve donma hareketleri görülmektedir. Özellikle bilateral klastrum lezyonu yapılmış ratlarda yüksek oranda, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubunda hiç donma görülmezken diğer tüm gruplarda donma davranışı gözlenmiştir. Unilateral lezyon gruplarında bilateral lezyon gruplarında oranla daha düşük oranda donma görülmesi klastrumun kontralateral bağlantılarının da olması ile açıklanmıştır (46,47,48,49,50).

Yapılmış olan nörokimyasal çalışmalarda KL'da korteksten bağımsız çalışan ağırlıklı olarak ventral bölgede bulunan serotonerjik nöronlar ve yolların olduğu gösterilmiştir. (54,55,56). Serotoninin inhibisyonunun depresyondaki bilinen etkisinden yola çıkarak anksiyete davranışı bu seratonerjik yol hasarlanmasına bağlanabilir. Ancak bunun ayrıntılı olarak gelecek çalışmalarda incelenmesi gerekmektedir. Böylece yeni bir depresyon modeli oluşturulmasına katkı sağlanabilir.

5.1.2. Grooming (temizlenme) davranışı

Grooming (temizlenme) davranışı kemirgenlerde genel olarak stres, anksiyete, ağrı davranışı olarak kabul edilmektedir (29). Çalışmada bilateral ağırlıklı olmak üzere lezyon gruplarında ve bilateral sham grubunda kontrol grubuna göre temizlenme davranışında artış görüldü. Ancak bu istatistiksel olarak

anlamli bulunmadı. Çalışmada bu davranış şeklinde daha fazla artış beklenmekle beraber artmış donma davranışı nedeniyle temizlenme davranışının da baskılanma olduğu düşünöldü.

5.1.3. Yeme

Yemek yeme sürelerinde lezyon, sham ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık görölmedi.

5.1.4. İçme

İçme sürelerinde kontrol ve diğer gruplara göre sağ klaustral lezyon gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark göröldü. Literatürde klaustrum ile su içme davranışı arasında ilişkiden bahseden çalışma görölmemiştir. Aynı zamanda klaustrum ile hipotalamus arsında da belirgin bir bağlantı gösterilmemiştir.

Bilindiği üzere hipotalamusta susama merkezindeki lezyonlarda veya hipofiz bezinden vazopressin salınımı bozuklularında susama su içime davranışı bozuklukları görölmektedir.

Çalışmada sıçanlarda bu şekilde bir patoloji oluşturulmamıştır. Ancak kafa içine yapılacak her türlü girişim diyabetes insipitus riski taşımaktadır. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda ratlarda içime miktarında herhangi bir artış görölmemiştir. Ayrıca diğer kafa içi girişim yapılmış 4 grupta su içime davranışında artış görölmemiştir. Klaustrum ve susama davranışı arasında ki bağlantı ilerideki çalışmalarda daha kapsamlı araştırılmaya değer görölmektedir.

5.1.5. Maksimum Hız

Sıçanlar maksimum hız açısından değerlendirildiklerinde kontrol grubuna göre girişim yapılmış olan sıçanlarda yavaşlama görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı

5.1.6. Toplam kat edilen uzaklık

Kontrol grubuna göre sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda kat edilen uzaklıkta azalma görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı görülmedi.

5.1.7. Dönme hareketi

Kontrol grubu ile klastrum lezyonu ve sham grupları arasında saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinde sayı olarak anlamlı fark saptandı. Cerrahi geçiren 5 grupta da kontrol grubuna göre saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinde sayı olarak azalma görüldü. Cerrahi geçiren gruplar arasında da anlamlı farklılık görülmedi. Bu sonuç kontrol grubu dışında ki gruplarda artmış olan donma davranışına ikincil olarak değerlendirilebilir.

Dönme hareketinde süre olarak gruplar arasında farklılık gözlenmedi. Bu da cerrahi işlem geçiren gruplarda istatistiksel olarak anlamlı görülme de genel hız azalması ve kat edilen yolda azalmanın da nedeni olarak sayılabilecek olan genel hareket yavaşlamasına bağlanabilir.

5.1.8. Şahlanma davranışı (Rearing)

Şahlanma davranışı etrafi araştırma, inceleme, koklama belirtisi olarak kabul edilir (51). Bu davranış çalışmada cerrahi işlem yapılmış tüm gruplarda (sham ve lezyon grupları) sayı ve süre olarak istatistiksel olarak anlamlı olarak azalmış bulundu. Şahlanma sayı ve süresinin azalmış olması artmış anksiyeteye bağlı olabilir (52,53). Ayrıca azalmış şahlanma davranışında artmış olan immobilitate ve donma davranışı süresi ve sayısında etkili olabilir.

Çalışmada cerrahi işlem görmüş tüm gruplarda bu davranışta azalma vardır; yani lezyon ve sham grupları arasında farklılık görülmemiştir. Ancak deney gruplarındaki denek sayıları arttırılarak daha anlamlı bir sonuca ulaşılması mümkün olabilir.

5.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Sıçanlar karanlık, sessiz bir ortamda başları sol kapalı kola bakacak şekilde platforma yerleştirildi. Ardından sıçanların açık ve kapalı kollara giriş sayısı ve kollarda kalma süreleri (saniye olarak) 5 dakika boyunca takip edildi. Açık kola az girme, bu kollarda az süre kalma ve kapalı kola daha çok girme, bu kollarda uzun süre kalma anksiyete belirtisi kabul edildi (42, 43, 44). Kontrol grubu ile sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda belirgin ve anlamlı fark görülmedi.

5.3. Ultrasonik Ses Kaydı

Kontrol grubu ile sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda belirgin anksiyete ve benzeri ses tespit edilmedi.



6. SONUÇLAR

1. Sağ, sol, bilateral klastrum lezyon ve bilateral sham gruplarında donma davranışı sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü. Bilateral klastrum lezyon grubunda donma davranışı süresinde de belirgin istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü. Bu anksiyete artışı olarak değerlendirildi.
2. Sağ, sol ve bilateral klastrum lezyon gruplarında ve bilateral sham grubunda temizlenme (grooming) davranışı süresinde artış görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
3. Yemek yeme sürelerinde lezyon, sham ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık görülmedi.
4. İçme sürelerinde bilateral lezyon, sol lezyon, sham ve kontrol gruplarında anlamlı farklılık görülmezken sağ klastral lezyon gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü.
5. Davranış platformunda sıçanlarda maksimum hız otomatik olarak hesaplandı. Kontrol grubuna göre girişim yapılmış olan sıçanlarda yavaşlama görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.
6. Kontrol grubuna göre sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda kat edilen uzaklıkta azalma görüldü. Ancak istatistiksel olarak anlamlı görülmedi.
7. Kontrol grubu ile girişim yapılmış tüm gruplar arasında saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinde sayı olarak istatistiksel anlamlı fark saptandı.

Klaustral lezyon ve sham gruplarında kontrol grubuna göre saat yönünde ve saatin tersi yönünde dönme hareketinde sayı olarak azalma görüldü. Sürede farklılık gözlenmedi.

8. Kontrol grubuna göre sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda belirgin ve anlamlı olarak bu davranış şeklinde süre ve sayı olarak azalma görüldü. Bu anksiyete artış belirtisi olarak anlamlandırıldı.

9. Yükseltilmiş artı labirent testinde kontrol grubu ile sham ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda belirgin ve anlamlı fark görülmedi.

10. Ultrasonik ses kaydında kontrol grubu ile sham grupları ve klastrum lezyonu yapılan gruplarda belirgin anksiyete ve benzeri ses tespit edilmedi.

7. KAYNAKLAR

- 1- Reil J. Exercitationum anatomicarum fasciculus primus. De structura nervorum. 1796
- 2- Dejerine J. Anatomie des centres nerveux 1895
- 3-Olry R, Haines DE. Claustum: a sea wall between the island and the shell? J.Hist Neurosci. 2001;10(3):321-2.
- 4- Burdach KF. Vom Baue und Leben des Gehirns.1822
- 5- Duval M. Cours de physiologie, 7th ed. 1892; 107.
- 6- Debierre C. Le cerveau et la moelle eapinieare avec applications physiologiques et meadico-chirurgicales 1907; 357.
- 7- Landau E. Le Klaustum parvum chez l'homme. Meam Soc Vaudoise Sci Nat 1938; 6 (2): 45-64.
- 8- Edelstein LR, Denaro FJ. The Klaustum: a historical review of its anatomy, physiology, cytochemistry and functional significance. Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-grand) 2004; 50(6): 675-702.
- 9- Davis WB. The claustum in autism and typically developing male children: A quantitative MRI study. A thesis Master of Science, Department of Psychology Brigham Young University, 2008

- 10- Crick FC, Koch C. What is the function of the Claustrum? Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 2005; 360(1458):1271-1279.
- 11- Amaral DG, Cowan WM. Subcortical afferents to the hippocampal formation in the monkey. J. Comp. Neurol. 1980; 189: 573–591.
- 12- Sherk, H. The Claustrum and the cerebral cortex. In: Jones, E. G.; Peters, A., eds. Cerebral cortex. New York: Plenum; 1986:467– 499
- 13- Kowianski P, Dziwiatkowski J, Kowianska J, Morys J. Comparative anatomy of the Claustrum in selected species: A morphometric analysis. Brain, Behavior and Evolution 1999; 53(1): 44-54.
- 14- Gray H. Anatomy of the Human Body. 1918, IX. Neurology , 4c. The Fore-brain or Prosencephalon
- 15- Fernandez-Miranda JC, Rhoton AL, Kakizawa Y, Choi C, Alvarez-Linera J The Claustrum and its projection system in the human brain: a microsurgical and tractographic anatomical study. Journal of Neurosurgery 2008; 108(4):764-774.
- 16- Druga R, Chen S, Bentivoglio M. Parvalbumin and calbindin in the rat claustrum: an immunocytochemical study combined with retrograde tracing from frontoparietal cortex J. Chem. Neuroanat. 1993; 6: 399–406.

- 17- Morys J, Bobinski M, Wegiel J, Wisniewski HM, Narkiewicz O. Alzheimer's disease severely affects areas of the claustrum connected with the entorhinal cortex. *Journal fur Hirnforschung* 1996; 37(2):173-180.
- 18- Morys J, Narkiewicz O, Wisniewski HM. Neuronal loss in the human claustrum following ulegyria. *Brain Research* 1993, 616(1-2):176-180.
- 19- Pearson RC, Brodal P, Gatter KC, Powell TP. The organization of the connections between the cortex and the claustrum in the monkey. *Brain Research* 1982; 234(2): 435-441.
- 20- Fernández-Miranda JC, Rhoton AL Jr, Kakizawa Y, Choi C, Alvarez-Linera J. The claustrum and its projection system in the human brain: a microsurgical and tractographic anatomical study *J Neurosurg* 2008;108:764–774
- 21- Matus A, Brinkhaus H, Wagner U. Actin dynamics in dendritic spines: a form of regulated plasticity at excitatory synapses. *Hippocampus* 2000; 10(5):555-560.
- 22- Sorra KE, Harris KM. Overview on the structure, composition, function, development, and plasticity of hippocampal dendritic spines. *Hippocampus* 2000; 10(5):501-511.
- 23- Braak H, Braak, E. Neuronal types in the claustrum of man. *Anat. Embryol.* 1982; 163: 447–460.
- 24- Narkiewicz, O. Degenerations in the claustrum after regional neocortical ablations in the cat. *J. Comp. Neurol.* 1964; 123:335–356.

- 25- Cortimiglia R, Crescimanno G, Salerno MT, Amato G. The role of the claustrum in the bilateral control of frontal oculomotor neurons in the cat. *Exp. Brain Res.* 1991; 84: 471–477.
- 26- Norita M. Demonstration of bilateral claustrum-cortical connections in the cat with the method of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Arch. Histol. Jpn.* 1977; 40: 1–10.
- 27- Chachich ME, Powell DA . The role of claustrum in Pavlovian heart rate conditioning in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): anatomical, electrophysiological, and lesion studies. *Behavioral Neuroscience*, 2004; 118(3):514-525.
- 28- Kalaitzakis ME, Pearce RK, Gentleman SM. Clinical correlates of pathology in the claustrum in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies *Neurosci Lett.* 2009;461(1):12-5
- 29- Pearson RC, Brodal P, Gatter KC, Powell TP. The organization of the connections between the cortex and the claustrum in the monkey. *Brain Res.* 1982; 234:435–441.
- 30- Amaral DG, Insausti R. Retrograde transport of D-[3H]-aspartate injected into the monkey amygdaloid complex. *Experimental Brain Research*, 1992; 88(2):375-388.

- 31- Arikuni T, Kubota K. Claustral and amygdaloid afferents to the head of the caudate nucleus in macaque monkeys. *Neuroscience Research*, 1985; 2(4):239-254.
- 32- Remedios R, Logothetis NK, Kayser C. Unimodal responses prevail within the multisensory claustrum *J Neurosci*. 2010;30(39):12902-7.
- 33- Lechner HAE, Lein ES, Callaway EM. A genetic method for selective and quickly reversible silencing of mammalian neurons. *J. Neurosci*. 2002;22:5287–5290.
- 34- Slimko EM, McKinney S, Anderson DJ, Davidson N, Lester HA. Selective electrical silencing of mammalian neurons in vitro by the use of invertebrate ligand-gated chloride channels. *J. Neurosci*. 2002;22:7373–7379
- 35- Yamamoto M, Wada N, Kitabatake Y, Watanabe D, Anzai M, et al. Reversible suppression of glutamatergic neurotransmission of cerebellar granule cells in vivo by genetically manipulated expression of tetanus neurotoxin light chain *J. Neurosci*. 2003;23: 6759–6767.
- 36- Morys J, Sloniewski P, Narkiewicz, O. Somatosensory evoked potentials following lesions of the claustrum. *Acta Physiol. Pol*. 1988; 39: 475–483.
- 37- Duffau H, Mandonnet E, Gatignol P, Capelle L. Functional compensation of the claustrum: lessons from low-grade glioma surgery. *Journal of Neuro-Oncology* 2007;81(3): 327-329.

- 38- Sperner J, Sander B, Lau S, Krude H, Scheffner D. Severe transitory encephalopathy with reversible lesions of the claustrum. *Pediatric Radiology* 1996; 26(11): 769-771.
- 39- The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates George Paxinos And Charles Watson, Academic Press 1997
- 40- Quinn LP, Stean TO, Trail B, Duxon MS, Stratton SC, Billinton A, et al. LABORASTM: Initial pharmacological validation of a system allowing continuous monitoring of laboratory rodent behaviour *Journal of Neuroscience Methods* 2003; 130: 83-92
- 41- Tepe N. Ratlarda Yayılan Kortikal Depresyonun Subkortikal Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2012
- 42- Rodgers RJ, Dalvi A. Anxiety, Defence and the Elevated Plus-maze. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1997; 21(6): 801–810
- 43- Korte SM, De Boer SF. A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *European Journal of Pharmacology* 2003; 463:163–175
- 44- Filiz A. CGRP Reseptör Antagonistinin Yayılan Kortikal Depresyonun İndüklediği Davranışa Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, 2012

- 45- Jolles J, Rompa-Barendregt J, Gispen WH. Novelty and grooming behavior in the rat. *Behavioral and Neural Biology* 1979;25:563-572
- 46- Rodgers KM, Bercum FM, McCallum DL, Rudy JW, Frey LC, Johnson KW et al. Acute neuroimmune modulation attenuates the development of anxiety-like freezing behavior in an animal model of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2012; 29(10):1886-97
- 47- Blanchard DC, Griebel G, Blanchard RJ. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001; 25(3):205-18.
- 48- Pitkänen A, Savander V, LeDoux JE. Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci*. 1997 ;20(11):517-23.
- 49- Ohta K, Sakata-Haga H, Fukui Y. Prenatal ethanol exposure impairs passive avoidance acquisition and enhances unconditioned freezing in rat offspring. *Behav Brain Res*. 2012;234(2):255-8.
- 50- Yang M, Augustsson H, Markham CM, Hubbard DT, Webster D, Wall PM, et al. The rat exposure test: a model of mouse defensive behaviors. *Physiol Behav*. 2004;81(3):465-73.

- 51- Casarrubea M, Sorbea F, Crescimanno G. Structure of rat behavior in hole-board: I) multivariate analysis of response to anxiety Physiol Behav. 2009;96(1):174-9
- 52- Mashoodh R, Sinal CJ, Perrot-Sinal TS. Predation threat exerts specific effects on rat maternal behaviour and anxiety-related behaviour of male and female offspring. Physiol Behav 2009;96(4-5):693-702.
- 53- Görisch J, Schwarting RK. Wistar rats with high versus low rearing activity differ in radial maze performance. Neurobiol Learn Mem. 2006;86(2):175-87
- 54- Baizer JS. Serotonergic innervation of the primate claustrum. Brain Research Bulletin 2001;55(3):431–434
- 55- Rahman FE, Baizer JS. Neurochemically defined cell types in the claustrum of the cat. Brain research 2007;1159: 94-111
- 56- Wojcik S, Dziwiatkowski J, Klejbor I, Spodnik JH, Kowianski P, Morys J. The anatomical relationships between the serotonergic afferents and the neurons containing calcium-binding proteins in the rat claustrum. Acta Neurobiol Exp 2006; 66: 33-42

8. ÖZET

Klastrum; beyinde bilateral neokorteks altında gri cevherde, insulanın hemen alt bölgesinde uzanan, putamenin dış yüzünün üstünde olan ince, kısmen düzensiz görünümde kortikal bir yapıdır. Birçok bölge ile bağlantılıdır. Frontal korteks (motor korteks, prefrontal korteks ve singulate korteks), oksipital lobdaki görme bölgeleri, temporal korteks, paryetooksipital korteks, arka paryetal korteks, frontoparyetal operkulum, somatosensorial bölgeler, prepiriform olfaktör korteks, entorhinal korteks, hipokampus, amigdala, kaudat nükleus ile bağlantıları mevcuttur. Klastrumun davranışsal kortikal yapılarla olan yoğun bağlantıları tespit edilmesine karşın işlevsel rolü net olarak bilinmemektedir ve davranışlarla ilgili çalışma çok fazla yapılmamıştır.

Bu çalışmada, stereotaksik unilateral ve bilateral girişimler ile anterior klastrumda sabit akım kaynağı ile elektriksel lezyon oluşturularak ile otomatik davranış kaydedici bir cihaz vasıtasıyla mobilizasyon, donma, yeme, içme davranışı, grooming, dönme, v.b. davranışları kaydedilerek analiz edilmiştir. Eş zamanlı olarak ratlarda ultrasonik sesler ultrasonik ses kaydetme programı ile incelenmiştir. Ardından anksiyete yükseltilmiş artı labirent testi ile tekrar değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada ventral KL lezyonunun donma, şahlanma gibi spontan davranışlarda istatistiksel anlamlı değişikliğe yol açtığı gösterilmiştir. Artmış anksiyete ile ilişkili bulunan davranış değişikliklerine ek olarak; sağ KL lezyonlarında içme davranışı süresinde anlamlı artış, tüm cerrahi geçiren gruplarda

saat yönü ve saatin tersi yönüne dönme hareketlerinde anlamlı azalma görülmüştür.

Çalışma deneysel KL lezyonları ve spontan davranış üzerine etkinliği göstererek KL'un anksiyete-depresyondaki rolü üzerine yeni çalışmalar gerekliliğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Klastrum, rat, stereotaktik lezyon, spontan davranış, donma

9. SUMMARY

The claustrum is a thin, partially irregular cortical structure in the brain which is located underside of the bilateral neocortex on the gray matter, in the subregion of the insula, lateral to the putamen. It receives input from almost all regions of cortex. There are connections with the frontal cortex (motor cortex, prefrontal cortex and cingulate cortex), visual areas of the occipital lobe, the temporal cortex, the parieto-occipital cortex, the posterior parietal cortex, the fronto-parietal operculum, the somatosensorial cortex, the prepyriform olfactory cortex, the entorhinal cortex, the hippocampus, the amygdala, the caudate nucleus. The main function of the claustrum is not clearly known despite these common connections. Especially, there is not too much study done about claustrum and animal behavior. However, close relationship between the claustrum and the behavioral cortical structures is determined.

The aim of this study was to investigate the effects of lesion of claustrum on rat behavior. Unilateral and bilateral stereotactic approach was used to make a lesion in the anterior claustrum, with the constant current source which is generating electrical lesion. Rat behavior such as mobilization, freezing, grooming, rearing, eating and drinking, clockwise and counter-clockwise rotation etc. are recorded and analyzed by automatic behavior recording device and observation of the experimenter. Simultaneously ultrasonic vocalisation of rats were recorded and analyzed with the ultrasonic voice recording programme. Anxiety is investigated with the elevated plus-maze test.

In this study, ventral KL lesions caused significant difference in the spontaneous behaviors like freezing and rearing. In addition to increased anxiety relation occurring behavior variances, on the right KL lesions, significant increase in the duration of drinking behavior, significant decrease in clockwise and counter- clockwise rotation on the complete surgical group are observed.

This study showed that the efficiency over the experimental KL lesions and spontaneous behavior and also new studies has to be done over the role of anxiety depression.

Key Words: Claustrum, rat, stereotactic lesion, spontaneous behavior, freezing