

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NESİLLER BOYU ORAL NİKOTİN ALIMININ SPASYAL
ÖĞRENMEYE ETKİLERİ**

SİNİRBİLİM ANABİLİMDALI

Yüksek Lisans Tezi

Sinem DEMİREL BALCI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lütfiye KANIT

Bornova-İZMİR

2015

**T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NESİLLER BOYU ORAL NİKOTİN ALIMININ SPASYAL
ÖĞRENMEYE ETKİLERİ**

SİNİRBİLİM ANABİLİMDALI

Yüksek Lisans Tezi

Sinem DEMİREL BALCI

13SBE06

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lütfiye KANIT

Bornova-İZMİR

2015

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan : Prof. Dr. Lütfiye KANIT



Üye : Prof. Dr. Nazan UYSAL HAZARDIN



Üye : Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER



Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: ...30.07.2015.....

ÖNSÖZ

Sinirbilim Anabilim Dalına ev sahipliği yapan ve tezime maddi kaynak sağlayan Ege üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne ve Ege üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna çok çok teşekkür ederim.

Sinirbilim yüksek lisansı eğitimim boyunca, heyecanla yürüdüğüm bu yolda, yeni bilgiler keşfederek , bilimsel çalışmanın temellerini uygulama fırsatı veren bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım; uzun ve zorlu süreç boyunca bilgisini, zamanını, deneyimlerini özveriyle paylaşan, adeta bir usta çırak ilişkisiyle öğreten , yeri geldiğinde bir abla kardeş yakınlığıyla desteğini hep yanımda hissettiğim değerli danışman hocam Prof. Dr. Lütfiye KANIT'a

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgileriyle yeni bir dünyayı keşfetmemi sağlayan destekleriyle onurlandıran Fizyoloji Anabilim Dalı'nın başta Prof. Dr. Ersin KOYLU ve Prof. Dr. Burcu BALKAN olmak üzere tüm değerli hocalarına ,

Tez sürecindeki deneyler boyunca özveriyle birlikte çalıştığımız; bilgileri, enerjileri, destekleri ve dostlukları için bölüm arkadaşların Hasibe ŞAHİN ve Müzeyyen UĞUR'a

Dostluğu, bilimsel merakı , yeni fikirleri, çalışkanlığı , farkında aklıyla, zihinsel parlaklığıyla hep yanımda olan çalışma arkadaşım Çocuk ve Ergen Psikiyatrisi Uzmanı Tuğba Danuk'a

Gelişmeye öğrenmeye olan inancı, bilime olan merakı , desteğiyle, güveniyle her daim yanımda olan, en çıkmaz zamanlarda çözümleriyle umut veren, destekleyen, pes etmemem için motive eden sevgili eşim Altan BALCI'ya

Yaşam kaynaklarım , yaptığım her şeyi doğru yapmamı sağlayan , erdemli davranmam için motivasyon kaynaklarım olan canım kızlarım Defne BALCI ve ablası Zeynep Gizem BALCI'ya

Son olarak, hayatım boyunca tüm zorlukları aşabilme gücü veren, bugünlere gelmemi sağlayan, biricik annem, babam başta olmak üzere tüm aileme...

Tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Bornova-İZMİR

Sinem DEMİREL BALCI

2015

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Bağımlılık	4
2.1.1. Bağımlılık mekanizması	5
2.1.2. Sigara Bağımlılığı.....	8
2.2. Tütün Ürünlerindeki Nikotin ve İlişkili Alkaloidler	10
2.2.1. Nikotin	10
2.3. Öğrenme ve belleğin değerlendirilmesi.....	29
2.3.1. Bir öğrenme ve bellek değerlendirme yöntemi olarak Morris Su Tankı	32
2.4. Bağımlılık çalışmaları içerisinde şartlı yer tercihi	33
2.5. Seçici Üretim Soy Oluşturma	35

3. GEREÇLER VE YÖNTEM	38
3.1. Deney Hayvanları	38
3.2. Deney Deseni.....	38
3.3. Deney Protokolleri.....	39
3.3.1. Handling Ele İnsana Alıştırma Prosedürü	39
3.3.2. Lokomotor aktivite protokolü.....	39
3.3.3. Morris Su Tankı yer öğrenme protokolü	40
3.3.4. Şartlı yer tercihi protokolü.....	43
3.4. İstatiksel Analiz	45
4. BULGULAR	47
4.1. Spontan lokomotor aktivite değerlendirmeleri	47
4.2. Su tankı yer öğrenme deneyleri	48
5. TARTİŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER	58
6. KAYNAKLAR	67

ÖZET

NESİLLER BOYU ORAL NİKOTİN ALIMININ SPASYAL ÖĞRENMEYE ETKİLERİ

DEMİREL BALCI, Sinem

Sinirbilim Sağlık Birimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tez yöneticisi: Prof. Dr. Lütfiye KANIT

Haziran 2015, 80 sayfa

Sigara kullanımı insan sağlığı açısından zararlı sonuçları olan bir bağımlılıktır. Sigara dumanındaki temel bağımlılık yapıcı madde nikotindir. Nikotin bağımlılığına duyarlılıkta bireysel farklılıklar bulunmaktadır. Nikotinin bağımlılık yapma mekanizmalarının anlaşılması, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır. İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da bağımlılık genetik yatkınlıkla çok ilişkilidir ve ciddi bireysel farklılıklar göstermektedir. Bu özellikten yararlanarak nikotine duyarlı ve dirençli soylar geliştirmek üzere seçici tohumlama yöntemi geliştirilmiştir. Oral yolla serbest erişimli nikotine maruz bırakılan sıçanlar tükettikleri nikotinin miktarına göre az içenler ve çok içenler olarak ayrılmış (kararsızlar çalışma dışında bırakılmıştır) ve kendi aralarında çiftleştirilmişlerdir. Nikotin tercihinin az ve çok olduğu 10 nesile ulaşılmıştır. Bu tezde 10 nesile ulaşılan nikotin tercih eden ya da etmeyen sıçan soylarında nikotin vermeksizin naive sıçanda lokomotor aktivite, spasyal öğrenme ve bağımlılık yanıtını araştıran şartlı yer tercihi deneylerinde davranışsal bir fark olup olmadığı araştırılmıştır.

Üç ayını dolduran yavrular spontan lokomotor aktivite deneylerine alınmıştır. Aktivite ölçme kafesleriyle tanıştırılan sıçanlar iki gün üst üste otuzar dakikalık seanslarda aktivite ölçümleri yapılmıştır. Bir hafta dinlendirilen sıçanlara daha sonra su tankında yer öğrenme deneyleri uygulanmıştır. Bir hafta dinlendirilen sıçanlar şartlı yer tercihi deneylerine alınmışlardır. Bazal spontan lokomotor aktivite ölçümlerinde ailesi nikotin alan sıçan gruplarının tümünün kontrollerden daha hareketli olduğu, görülmüştür. Su tankı yer öğrenme deneylerinde hem cinsiyetin hem nikotin kullanımının yer öğrenme performansını etkilediği görülmüştür. Fakat

strateji tercihlerinde bir değişim saptanmamıştır. Şartlı yer tercihi deneylerinde de nikotine duyarlı soylarda (çok tüketen) şartlı yanıtta artma bulunurken nikotine dirençli (az tüketen) soylarda ise aversif bir yanıtı neden olduğu görölmüştür. Sıçanlar nikotin alımlarına göre istatistiğe alındığında kafes geçişlerinde ve tekrarlayan hareketlerde istatistiksel anlamlı farklılaşma görölmüştür. Tüm hayvanlarımız ilerleyen günlerde platformu daha kısa sürede bulmuşlar yani su tankından kurtulmak için görünür platforma yüzmeleri gerektiğini öğrenmişlerdir. Platformun suyun altında gizli olarak bulunduğu 4-8-12. günlerin verilerine benzer istatistik uygulandığında yine günlerin istatistiksel anlamlı olduğu, yani deney hayvanları gizli platformun yerini spasyal olarak bulmayı öğrenmiştir. Tüm hayvanlarımız ilerleyen günlerle platformu daha kısa mesafe yüzerek bulmuşlar yani su tankından kurtulmak için görünür platforma yüzmeleri gerektiğini öğrenmişlerdir. Deney hayvanları platformun yerini öğrendikçe daha hızlı yüzmüşlerdir. Ayrıca su tankına alıştıkları ve stresleri azaldığı için daha az donma davranışı göstermeleri de bu anlamlılığın ortaya çıkmasına yardımcı olmuştur. Çalışmamızda kullanılan CPP düzeneğinden elde edilen sonuçlar, tütün kullanımı ve nikotin bağımlılığında görülen bireysel farklılıkları yansıtmaktadır. Yapılan istatistiksel değerlendirme, kontrol grubunun yanı sıra nikotin tercih eden ve nikotin tercih etmeyen olarak isimlendirilen ve nikotinin ödöl ve pekiştirme özelliklerinden farklı yönde etkilenen iki grubun var olduğunu kanıtlamaktadır.

Sonuç olarak nesiller boyunca verilen nikotinin, kendileri hiç nikotin ile karşılaşmayan yavruların spontan lokomotor aktivitelerini artırdığı, özellikle dişilerde öğrenmeyi ve hafızayı bozduğu ve nikotini fazla tercih eden soyların da nikotin bağımlılığına olan yatkınlılığında artış olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: nikotin, bağımlılık, yer öğrenme, lokomotor aktivite, şartlı yer tercihi

ABSTRACT

THE EFFECTS OF ORAL NICOTINE ADMINISTRATION THROUGHOUT GENERATIONS ON SPATIAL LEARNING

Smoking is an addiction with detrimental effects on society. Nicotine is the addictive component of tobacco and underlies the addictive properties of tobacco use. Understanding the mechanisms of nicotine addiction for the development of new therapeutic strategies is of great importance. Like humans, animals also illustrates individual differences associated with genetic predisposition to addiction is very serious. This feature by taking advantage of nicotine-sensitive and-resistant strains to develop selective breeding method has been developed. Nicotine exposed rats with free access to oral drinkers and drinkers as compared to the amount of nicotine they consume very less separated (undecided excluded) and mating among themselves. How nicotine and a lot less choice of 10 was reached. In this thesis, without giving a rat offspring reached 10 generations of nicotine locomotor activity in rats who prefer nicotine in naive or not, social learning and behavioral choice experiments investigating the response of conditional dependency investigated whether there is a difference.

The cubs who will complete three months, spontaneous locomotor activity experiments were taken. Introduced rats cages with activity measurement activity measurements were made on two consecutive days in a three minute session. After being rested for a week, the rats in the water tank experiments and then applied to learning. A week after being rested for the conditional choice experiments in rats have taken. Basal measurements of nicotine in rat spontaneous locomotor activity than the control field, the family is moving all of the groups was observed. Both gender and learning place learning in the water tank experiments, it was observed that nicotine use affects performance. But a change in the choice of strategy was not detected. Conditional place preference experiments, nicotine-sensitive soybean (very consuming), while the conditional response has increased in nicotine-resistant (consume less) in the lineage of aversif it has been seen that cause a response. When rats received nicotine intake according to their statistics in the cage crossings and repetitive movements statistically significant differentiation was observed. All our

animals in a shorter period of the platform in the coming days so they found that they must swim to a visible platform to escape from the water tank they have learned. The platform hidden under the water where there is 4-8-12. again similar to the data of the day of days when applied statistical statistically significant, the location of the experimental animals learned to find the hidden platform socially. The following day swim the short distance to the platform with all our animals so they found that they must swim to a visible platform to escape from the water tank they have learned. Experimental animals learn the location of the platform quicker as you are stranded. Also they get used to the water tank, and the stress is reduced, because the emergence of this significance should show less freezing behavior and has helped. The mechanism used in our study reflect individual differences in tobacco use and nicotine dependence results from CPP. Statistical evaluation of the control group and nicotine nicotine and nicotine reward and reinforcement, as well as from the properties of inte preferring preference called in different directions proves that there are two groups of people affected.

As a result, through the generations given nicotine, no nicotine not faced with the increase in spontaneous locomotor activity of the pups, especially the descendants of nicotine addiction and nicotine disrupt learning and memory in females who prefer a more determined that there is an increase in susceptibility to.

Key words: nicotine, addiction, place learning, locomotor activity, conditional place preference

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo.1. Dünya Sağlık Örgütü 2009 verilerine göre günlük sigara içme sıklığının ülkelere göre dağılımı	9
Tablo 2. Deney günleri.....	38
Tablo 3. Deney günlerinde platform durumu	42
Tablo 4. Şartlı Yer Tercihi Deney Protokolü	45



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.1. Madde bağımlılığında pozitif pekiştirmeden negatif pekiştirmeye geçiş sürecinin olası modeli	7
Şekil.2. Nikotin Kimyasal Yapısı ve formülü	11
Şekil.3. Nikotin metabolizması	12
Şekil.4. Tek sigara içimi sırası ve bir saatlik sürede arteriyel ve venöz nikotin düzey değişimi	13
Şekil.5. nAChR tiplerinin oluşumunda alt birimlerin farklı dizilimlerde bir araya gelmesi	15
Şekil.6. Ventral Tegmental Alan'dan Nucleus Accumbens'e projekte olan dopaminerjik nöronlar ve üzerlerindeki $\alpha\beta 2$ nikotinik asetil kolin reseptörleri	17
Şekil.7. Nikotin etkileri ve konsantrasyonunun zamanla gün içindeki değişimi	19
Şekil.8. Morris Su Tankı Testi'nin şematik olarak gösterimi	33
Şekil.9. Morris su tankı yer öğrenme düzeneği	41
Şekil.10. Şartlı Yer Tercihi Kutu Düzeneği	43
Şekil.11. Şartlı Yer Tercihi Davranış Odası	44
Şekil.12. Şartlı Yer Tercihi Program Yazılımı	44
Şekil.13. Bazal spontan lokomotor aktivite sonuçları	47
Şekil.14. Su tankında platforma ulaşmak için geçirilen süreler	48
Şekil.15. Su tankında platforma ulaşmak için alınan yol	49
Şekil.16. Platforma ulaşmak için hareket eden hayvanların yüzme hızları	50
Şekil.17. Platforma ulaşmak için hareket eden hayvanların yüzme hızları	51
Şekil.18. 13. gün 1. Deneme yeni yerleşimli platforma ulaşmak için alınan yol	52
Şekil.19. Platformun eskiden bulunduğu kadranda geçirilen zamanın yüzdeleri	53
Şekil.20. Platformun eskiden bulunduğu kadranda geçirilen yolun yüzdeleri	53
Şekil.21. Başlangıçta tercih edilmeyen bölmelerde ilk ve son seansta geçirilen zaman	54
Şekil.22. Nikotin eşleştirilmesi yapıldıktan sonra tercih edilmeyen bölmelerde geçirilen zaman ...	55
Şekil.23. Nötral bölmede geçirilen zaman yüzdesi	56
Şekil.24. Başlangıçta tercih edilmeyen bölmelerde geçirilen sürede ilaç eşleştirmesi yapıldıktan sonra meydana gelen değişim	57

KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
BDNF	Beyin kökenli nörotrofik faktör
CeA	Amigdala merkez çekirdeği
CPP:	Şartlı yer tercihi
CRF	Kortikotropin Salıtcı Faktör
DA	Dopamin
HR	‘High responder’
LR	‘Low responder’
LS	‘Long sleep’
LMA	Lokomotor Aktivite
LTD	Uzun süreli depresyon
HDD	Hayvan davranış Deneyi
mAChR	Muskarinik asetilkolin reseptörü
MWM	Morris su tankı
NAc	Nukleus akumbens
nAChR	Nikotinik asetilkolin reseptörü
PFC	Prefrontal Korteks
SN	Substantia nigra
VTA	Ventral tegmental alan

1. GİRİŞ

Bağımlılık tüm dünyanın en önemli sağlık sorunudur; bu sorun sadece bağımlı kişiyi değil çevresini ve toplumu da etkilemektedir. Nikotin bağımlılığı, sigara ve tütün kullanımı şeklindedir. Salt nikotin bağımlılığına rastlanmamaktadır. Tütün yasal yollardan temin edilebilen bir madde olduğu için farklı ülkelerde değişik oranlarda olmakla birlikte tütün bağımlılığı tüm toplumda %30-%60 dolaylarındadır. Sigara ve tütün ürünleri içerdikleri nikotin nedeniyle bağımlılık oluşturmaktadır (1). Nikotin bağımlılığı kronik, tekrarlayan bir merkezi sinir sistemi hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Bağımlılık kişinin madde alımı üzerindeki kontrolünü kaybetmesini ifade eder. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) madde bağımlılığını “kullanılan bir psikoaktif maddeye kişinin daha önceden değer verdiği diğer uğraşlardan ve nesnelerden belirgin olarak daha yüksek bir öncelik tanıma davranışı” olarak tanımlar. Kronik sigara kullanımı, neden olduğu hastalıkların sayısı ve çeşitliliği nedeniyle günümüzün en ciddi toplum sağlığı sorunlarından biridir. Sigara içinde bağımlılık yapıcı etken olan nikotin bağımlılık yapma mekanizmalarının anlaşılması, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır.

Ülkemiz tütün endüstrisi açısından çok iyi bir pazar olduğu için, sigara bağımlılığı ile mücadele diğer gelişmiş ülkelere oranla daha az başarılı olmaktadır. Ülkemizde kadınlar arasında ve erken yaşlarda sigara kullanımı giderek artmaktadır. Oysa sigarayı bırakmada kadınlar daha az başarılıdırlar. Bu durumda önümüzdeki yıllarda sorunun daha da büyüyeceğini varsayabiliriz. Bağımlılıkla mücadele için bağımlılığın mekanizmalarının iyi anlaşılması gerekmektedir.

Tütün bağımlılığında belirgin bireysel farklılıklar bulunmaktadır. Bu bağlamda cinsiyet farklılıkları da dikkati çekmektedir. Bazı sigara bağımlıları günde dört paket sigara içerken; bazıları günde 5-10 sigara içmekte; bazıları paket taşımamakta ve başka kullanıcılardan sigaralarını temin etmekte, bazı kişiler ise sigara kullanımını aversif bularak hiçbir zaman bağımlı duruma gelmemektedirler. Tütün bağımlılığında bireylerin nikotine karşı farklı duyarlılıklar göstermesi, günlük sigara kullanım paternlerinde farklılıklar ve buna bağlı olarak farklı bağımlılık derecelerinin oluşmasına neden olur. Günümüzde sigara bırakma terapilerinden elde edilen başarı

beklenenin altında kalmaktadır. Sigara bırakma çabalarındaki başarıyı azaltan temel nedenler arasında bireysel farklılıklar yer alır. Tütün kullanımı ve sonrasındaki bağımlılık, madde arama ve yoksunluk dönemlerinde gözlenen bireysel farklılıklar maddeyi kullanan bireyin cinsiyetine, genetik altyapısına, maddenin ilk denendiği ortama, psikopatolojik hastalık durumuna, kişilik özelliklerine, gelişimsel faktörlere (maddeyi ilk kullanma yaşı), sosyo-ekonomik duruma ve strese bağlı olarak meydana gelmektedir (2).

Cinsiyet farklılıkları ve hormonal etkiler madde bağımlılığına karşı farklı duyarlılıkların ortaya çıkmasına neden olur. Gerek deneysel hayvan modellerinde, gerek sigara tiryakilerindeki bağımlılık paternlerinde cinsiyet farklılıkları görülmektedir. Dişilerin nikotin bağımlılığının edinim süreci erkeklere göre daha kısa sürede oluşur. Kadınlar sigarayı bırakmaya karar verdiklerinde, sigaradan yoksun kaldıkları süreler erkeklerden daha kısadır ve daha az bırakma denemesi yaparlar. Kadınlarda rölaps daha siktir ve sigara bırakmadaki başarı yüzdeleri daha düşüktür (3). Cinsiyet farklılıkları açısından erişkin sıçanların kendi kendine nikotin uygulama davranışında (self administration) dişilerin daha fazla motive oldukları (4) ve farmakolojik olmayan, çevre ipuçlarına karşı da daha duyarlı oldukları bilinmektedir (5). Ayrıca dişilerin daha düşük nikotin dozlarında bağımlılık davranışı sergiledikleri gösterilmiştir (6). Dişilerden elde edilen bu bilgiler ovaryum hormonlarının nikotin bağımlılığına duyarlılıkta etkin rol oynadığını düşündürür.

Nikotin bağımlılığının farklı aşamaları vardır: Önce ödül sistemlerinin uyarılması ile pekiştirme etkisi oluşmakta, daha sonra tüketimin sürdürülmesinde gerek yoksunluk belirtilerinin önlenmesi gerek davranışın şartlanması etkili olmaktadır. Nikotin bağımlılığının edinim ve sürdürülme evrelerinde bilişsel süreçler de önemli rol oynar. Nikotin bilişsel süreçleri, özellikle dikkat, öğrenme ve bellek fonksiyonlarını etkiler. Oluşan etki de maruz kalınma süresi, yaşı ve cinsiyete bağlı olarak değişmektedir. Nikotinin öğrenme ve bellek üzerinde meydana getirdiği pozitif etkiler sigara bırakmaya çalışan bireylerin yoksunluk dönemlerinde zayıflar. Bu durum bireylerde rölaps riskinin artmasına ve sigara bırakmada başarısızlık yaşamalarına neden olur. Etkiler gençlik yıllarında daha belirgindir, yaşlılıkta ise sigara tiryakilerinde bilişsel performansta düşme gözlenmiştir (7). Bu nedenle nikotinin öğrenme ve bellek performansı üzerindeki etkilerinin ve bu etkilerdeki

bireysel farklılıkların tanımlanması daha etkin sigara bırakma tedavilerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

Tütün bağımlılığının oluşumunda primer rol oynayan nikotinin ödül ve pekiştirme etkilerini incelemek amacıyla kemirgenlerde “kendi kendine nikotin uygulaması” metodu sıklıkla kullanılmaktadır. Bu paradigmda; sıçanlar sınırlı bir zaman diliminde (1-2 saat/gün) levyeye basarak, daha önceden implante edilen kateter yardımıyla bir kaç hafta süresince intravenöz nikotin infüzyonu almaktadır. Bu metod insan sigara içme doğasını tam olarak taklit edememektedir. Çünkü günlük yaşamda sigara bağımlıları sigara içmelerini önleyebilecek herhangi bir sosyal/legal sınırlandırma olmadan istedikleri zamanda, istedikleri miktarda sigara tüketebilmektedirler. Son dönem madde bağımlılığı araştırmalarında, sıçan ve fareler üzerinde gerçekleştirilen oral yolla kendi kendine nikotin uygulamasında, hayvanların kafeslerinde kendilerine sunulan şişelerden su ve nikotin arasında serbest olarak seçim yapmalarına olanak sağlanmıştır. Oral yolla kendi kendine nikotin uygulaması kullanılarak insan sigara bağımlılığındaki bireysel farklılıklar hayvanlarda modellenenilmektedir. Ayrıca, oral yolla kendi kendine madde uygulamasının intravenöz uygulamadan farklı olarak uzun süreli uygulanabilirliği, hayvanların aktif saatlerde tüketimde bulunabilmeleri, herhangi bir ipucu ile nikotinin eşleştirilmemesi gibi avantajlar sağlamaktadır.

Ege Üniversitesi (E.Ü.) Beyin Araştırmaları Merkezi'nde önceden başlanan nikotin duyarlı ve dirençli soyların oluşturulması projesinde şu ana kadar 10 nesile ulaşılmıştır. On nesil boyunca oral yolla nikotini çok alan ve az alan sıçanlar eşleştirilerek nikotine duyarlı ve dirençli soylar oluşmaya başlamıştır. Başlangıçta %30 olan tercihler 10. Nesilde %70 lere ulaşmıştır. Bu tezde nesiller boyunca oral nikotin alan sıçanların nikotinle karşılaşmayan yavrularındaki davranışsal değişikliklerin ortaya konması amaçlanmıştır. On nesile ulaşılan nikotin tercih eden ya da etmeyen sıçan soylarında nikotin vermeksizin davranışsal parametrelerden lokomotor aktivite, su tankında yer öğrenme ve şartlıyertercihi parametrelerindeki değişimlerin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Bağımlılık

Bağımlılık kişinin, zarar verici sonuçlar doğurmasına rağmen bir maddeyi kullanmaya devam etmesi olarak görülmekte ve madde kullanım bozukluklarının en ağırı olarak değerlendirilmektedir (8).

Bağımlılık bir ilişki türüdür. Bireyin herhangi bir nesne veya durum ile kurduğu ilişkide sonradan ortaya çıkan özel durumdur. Belli davranışların atmosferik olarak anlam kazandığı andır. Bir başka deyişle sadece maddenin kullanılmasıyla birey üzerinde meydana gelen sahte iyi oluş halidir. Alışkanlık ile iptila olarak adlandırılan tutkunluk arasında yasalarda belirtilen en önemli özellik maddenin kullanımı ile kişide meydana gelen fiziki bağımlılık ve tolerans ortaya çıkarma özelliğidir (9). Bağımlılık yapan maddeleri yedi başlık altında toplayabiliriz (10). Bunlar:

1. Narkotik analjezikler: Opiyat türevleri (afyon, morfin, kodein, eroin vb.)
2. Stimülanlar: Amfetamin, kokain gibi uyarıcı maddeler. Nikotin de stimülan bir ajandır.
3. Depresanlar: Benzodiazepin ve barbitürat grubu ilaçlar ve alkol gibi depresan ajanlar santral sinir sistemini deprese ederek etki gösterirler.
4. Hallüsinojenler: Bu gruptaki ilaçlar algı sistemlerinde değişimlere neden olurlar. Bunlara LSD, PCP (Fensiklidin), Meskalin örnek verilebilir.
5. Cannabis: Bu grupta *Cannabis sativa* (hint keneviri) bitkisinden elde edilen ilaçlar bulunmaktadır. Marijuhana (ganja), haşhaş, haşhaş yağı, bong vb.
6. Uçucu solventler: Tiner, uhu ve çeşitli petrol türevleri
7. Diğer bağımlılık yapan maddeler: Çeşitli kas gevşeticiler, ağrı kesiciler, anti histaminikler, antiemetikler, antidepresan ve antipsikotikler bağımlılık yapıcı etkiye sahiptirler ve kötüye kullanımları olasıdır.

Madde bağımlılığı; madde alınımında kontrol kaybı, kompulsif madde arama davranışı, maddenin alınmadığı durumlarda negatif emosyonel süreçlerin ortaya çıkması (disfori, anksiyete ve sinirlilik) ile tanımlanmaktadır (11). İnsanlar üzerinde

yapılan çalışmalar, bağımlılık oluşturan maddelerin tekrarlayan kullanımları sonucunda, maddenin istemli alımında kontrol kaybı (12) ve beyin ödöl devrelerinde değişimlerin oluştuğunu göstermektedir (13).

Yukarıda bahsedilen bağımlılığının üç farklı evresinde ve bu evrelere geçişte beynin farklı bölgelerinde çeşitli nöroplastik süreçler meydana gelir. Günümüzde bağımlılıkla ilgili yapılan araştırmalar, davranış, genetik, epigenetik ve moleküler mekanizmaların araştırılmasına odaklanmıştır. Yapılan bu araştırmaların temelinde yer alan ve sorgulanan konu ise “neden bazı bireylerin bağımlılığa karşı daha duyarlı” olduğudur. Bağımlılık oluşturma potansiyeline sahip olan maddeler mezokortikolimbik dopaminerjik sistemde etkilerini gösterir (14).

2.1.1. Bağımlılık mekanizması

Bağımlılık, dereceli ve progresif olarak gelişmektedir; maddenin tekrarlayan süreçlerde alınması bağımlılığının oluşmasına ve bağımlılık oluşturan maddenin bırakılmasından yıllar sonra dahi etkilerinin görölmesine neden olmaktadır (15). Bağımlılık, psikolojik, genetik, fizyolojik ve psikososyal gibi farklı süreçleri içinde barındıran kompleks bir hastalıktır. Bağımlılık gelişimi ve sonrasında meydana gelen değişimleri açıklamak amacıyla günümüzde pek çok bağımlılık teorisi ortaya çıkmıştır ve bu teoriler halen tartışılmaktadır. Bu teorilerinden bazıları bağımlılık teorisi olarak tanımlansa da genellikle bağımlılığı sınırlı bir çerçeveden incelemektedir. Örneğin, sadece bağımlı birey veya popölasyon seviyesinde, bağımlılığın bir hastalık olarak değerlendirilmesi gibi çok sayıda farklı düzeyde bağımlılık teorisi bulunmaktadır. 2000’li yıllarda bağımlılıkla ilgili teoriler iki ana sınıfa ayrılmıştır. Bu teorilerinden ilkinde madde merkezli süreçler ve meydana gelen olaylar tartışılırken ikinci teoride ise bağımlı olan birey merkezde tutulmaktadır.

Madde merkezli teoride, kronik madde kullanımının beyin ödöl yollarlarında değişime neden olduğu ve bu değişimin madde kullanan bireylerin davranışının “normal” den “bağımlı” statüsüne geçişini incelemektedir (Berke ve Hyman, 2000; Nestler, 2001). Bireyin merkez alındığı teoride ise, ailesinde kronik madde bağımlılığı olan bireylerin doğan çocuklarında madde bağımlılığına karşı yükek

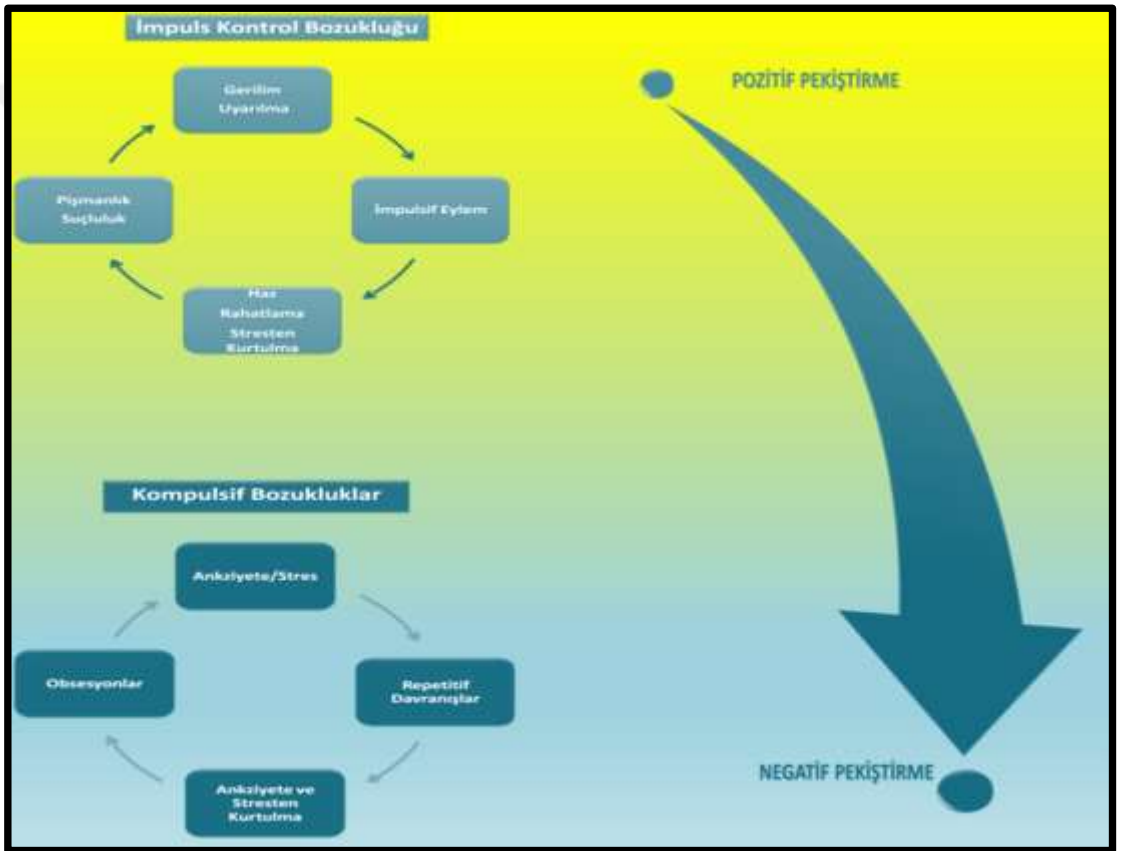
duyarlılık olduğu ve bu bireylerin beyin ödül sistemlerinde hipo ve /veya hiper dopaminerjik fonksiyon gösterdiği belirtilir (16).

Madde merkezli teori, temelde maddenin pozitif ve negatif pekiştirme yani ödül ve ceza etkilerinin bağımlılığın nöral temellerinin oluşmasında iki farklı alt grup olarak incelenmektedir. Bu alanda geliştirilen ve maddenin negatif pekiştirme modellerinden en popüler olanı ise Solomon ve Corbit (17) tarafından ortaya atılan ”*Karşıt süreçler (Opponent süreç)*” kuramıdır. Karşıt süreç kuramında, yoksunluk semptomlarının ve farmakolojik toleransın gelişimine odaklanılmış ve madde kullanım alışkanlığının oluşmasında yoksunluk döneminde oluşan aversif etkilerden kaçınmak amacıyla madde kullanımında artışın meydana geldiği savunulmaktadır. Bağımlılığın oluşumunda pozitif pekiştirme süreçlerini savunan teorilerde, beyindeki ödül ilişkili nöronal devrelerde meydana gelen değişimlerin bağımlılığın oluşumunda temel rol oynadığı belirtilmektedir.

Yoksunluk ve bağımlılık süreçlerinin gelişimi üzerine geliştirilen başka bir model ise Pavlov tipi şartlama üzerinde odaklanmıştır. Bu model 1996 yılında White’ın öne sürdüğü bağımlılık ve öğrenme süreçlerinin aynı yollar üzerinden geliştiği kuramın temelini oluşturmuştur (Melchior ve Tabakoff, 1984). White’ın öne sürdüğü bu kuram Robinson- Breeidge (2003) ve Balfour (2004) tarafından geliştirilmiştir. Bu teoriye göre, bağımlılık oluşturan maddenin hedonik etkilerine karşı tolerans oluşurken, çevresel veya içsel ipuçlarının mekanizmalarında, sensitizasyon oluşmakta, bu da maddenin artan şekilde arzulanmasına neden olmaktadır. Bu teoride enstrümental öğrenme ve klasik şartlama modelleri birleştirilerek beyin ödül sistemlerinin farklı bölgeleri üzerinde bağımlılık oluşturan maddelerin farklı etkilerinin incelenebilmesine olanak sağlanmaktadır.

Mevcut araştırma sonuçlarından, madde bağımlılığının oluşumunda maddenin pozitif pekiştirme etkilerinin giderek negatif pekiştirmeye doğru dönüştüğü kabul edilir. Bu modelde, negatif pekiştirme sürecinde maddeden yoksun kalındığında negatif ve aversif etkilerin ortaya çıktığı öngörülmektedir. Madde olmadığı ve etkisini psikobiyolojik koşullarda sergileyemediği için vücut var olan eksik etkileri kompanse etmeye çalışırken negatif semptomları ortaya çıkarmaktadır. Psikolojik ve

biyolojik çevrede meydana gelen kompanse edici değişimler, zaman içinde maddenin tekrar tekrar kullanılması ile daha da gelişir. Meydana gelen kompensasyonlar, toleransın temelini oluşturur ve maddenin tekrarlayan alımları sonrasında madde etkisi zayıflamaya başlar. Maddeyi kullanan birey aynı etkiyi hissetmek için madde kullanımını artırır: maddeyi daha sık veya yüksek dozda kullanmaya başlar. Bağımlılığın pozitif pekiştirme modelinde ise, alınan madde kullanan bireyde huzur, rahatlama ve keyif gibi pozitif duygular oluşur. Hissedilen pozitif duygudurum nedeniyle bireyde pozitif pekiştirme olur (Şekil 1).



Şekil.1. Madde bağımlılığında pozitif pekiştirmeden negatif pekiştirmeye geçiş sürecinin olası modeli

Literatürde yaygın olarak kabul edilen ve Wise tarafından 1987 yılında ortaya atılan bağımlılık modeli ise “ *bağımlılığının mezolimbik dopamin ödül kuramı*” dır (18). Bu kurama göre, bağımlılık oluşturan maddeler orta beyin dopaminerjik nöronlarının aktivasyonunu değiştirerek maddenin ödül etkisinin ortaya çıkmasını

sağlar. Bu kuramdan birkaç yıl sonra suistimal edilen maddelerin ödül mekanizmasında dopaminin rol oynadığı yine Wise ve arkadaşları tarafından önerilen (18) *“bağımlılığın psikomotor uyarıcı etkisi”* adlı teorisinde vurgulanır. Bu teoride maddelerin psikomotor uyarıcı özellikleri mezolimbik dopamin sistemi aracılığıyla ortaya çıkmaktadır ve bu sistemin bağımlılık oluşturan maddelerin pekiştirici etkilerinin veya bağımlılık oluşturma potansiyellerinin değerlendirilmesinde belirleyici bir rol oynayabileceği önerilmiştir. İlerleyen zaman içinde yapılan araştırmalardan elde edilen veriler var olan teorilerin yenilenmesi gerektiğini göstermiştir. 2002 yılında *“bağımlılığının mezolimbik dopamin ödül kuramı”* yenilenmiş ve burada dopaminin ödülün oluşmasında primer ödül fonksiyonuna aracılık etmekten çok ödülün beklentisinin oluşmasına aracılık ettiği gösterilmiştir (19).

2.1.2. Sigara Bağımlılığı

Sigara ve diğer tütün mamüllerinde (pipo, puro vs.) bulunan nikotin maddesinin bağımlılığa neden olduğu kabul edilmektedir. Nikotin diğer bağımlılık yapan maddeler gibi mezolimbik yolakta dopamin konsantrasyonunda artışa neden olur. Ventral tegmental alana enjekte edilen nikotinin nükleus akkumbens’in kabuk kısmında dopamin artışına yol açtığı bilinmektedir (20).

İnsan sağlığını olumsuz etkileyen sigara alışkanlığı, zararları geniş kitlelerce bilinmesine rağmen önlenememektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre her yıl yaklaşık 4 milyon insan tütün ürünlerinin yol açtığı hastalıklar nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Tütün kullanımı, kanser, kardiyovasküler ve pulmoner rahatsızlıklardan kaynaklanan ölümlerin başlıca sorumlusudur. Aynı zamanda solunum yollarının enfeksiyona açık hale gelmesi, osteoporoz, cinsel işlev bozukluğu, sindirim kanalında meydana gelen ülseratif oluşumlar, diyabet gibi birçok rahatsızlığın oluşmasında da önemli bir risk faktörü konumundadır (21).

Sigara içenler mortalite etkilerine ek olarak içmeyenlere göre daha fazla hastalanmaktadırlar. İçenler bırakanlara veya hiç içmemişlere göre akut ve kronik hastalığa yakalanarak gündelik aktiviteden daha fazla yoksun kalırlar, daha fazla yataklık gün geçirirler, daha fazla okul veya iş devamsızlığı yaparlar. Ergenlik çağında sigara içmeye başlayan ve uzun süredir düzenli olarak sigara içen kişilerin

yarısı sigaranın neden olduğu sağlık sorunlarından dolayı ölmektedir. Bu kişilerin beklenen yaşam süreleri içmeyenlerle karşılaştırıldığında 20-25 yıl daha kısadır (22).

Yapılan tahminlere göre dünyada, yaklaşık 1,2 milyar insan 15 yıllık sigara içicisi durumundadır (23). Amerika Birleşik Devletleri'nde Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin 2004 yılı verilerine göre genç nüfusun %20,9'unun sigara bağımlısı olduğu ortaya konulmuştur. Dünya Sağlık Örgütü 2009 verilerine göre ise nüfusun erkeklerde %22,3 kadınlarda ise %17,4'ü sigara bağımlısıdır (**Tablo 1**).

Tablo.1. Dünya Sağlık Örgütü 2009 verilerine göre günlük sigara içme sıklığının ülkelere göre dağılımı

Gelişmiş Ülkeler	Erkek (%)	Kadın (%)
Fransa	28,2	21,7
Almanya	27,9	18,8
İtalya	28,6	16,3
Japonya	39,9	10,0
İngiltere	22,0	20,0
Amerika	22,3	17,4
Gelişmekte Olan Ülkeler	Erkeke (%)	Kadın (%)
Polonya	34,0	23,0
Ukrayna	62,3	16,7
Çin	57,4	2,6
Mısır	39,2	0,4
Filipinler	40,3	7,1
Rusya	60,4	15,5

Dünyanın diğer ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de sigara bağımlılığı oldukça ciddi bir sorundur. 2007 yılında Karadeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada günde en az bir sigara içme sıklığı kadınlarda %18.3, erkeklerde %50.7 bulunmuştur (24). 2009 yılında Edirne'de yapılan bir araştırmada genç nüfusun %58'inin sigara kullandığı saptanmıştır (25).

Bu veriler ışığında sigara bağımlılığının Türkiye ve dünya çapında mücadele edilmesi gereken bir halk sağlığı sorunu olduğu anlaşılmaktadır. Bu nedenle

dünyanın birçok yerinde sigara bağımlılığı ile ilgili bilimsel araştırmalar yapılmaktadır.

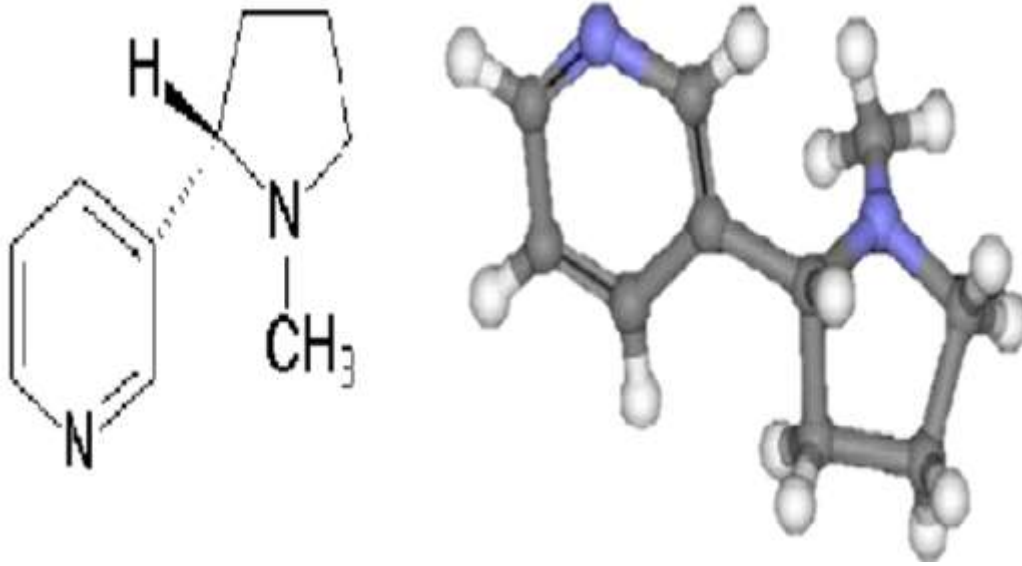
2.2. Tütün Ürünlerindeki Nikotin ve İlişkili Alkaloidler

Nikotin bazı bitki türlerinin yapraklarında bulunan amin grubuna ait bir alkaloiddir. Nikotin bitkilerde doğal olarak bulunur ve insektisid etkilidir. Nikotinin birincil ticari kaynağı kurutulmuş formdaki *Nicotinia tabacum* ve *Nicotinia rustica* bitki yapraklarıdır. Temel bir tütün alkaloidi olarak nikotin, ticari sigara tütününde sigara ağırlığının %1,5'ini ve toplam alkaloid içeriğinin %95'ini oluşturmaktadır. Oral 'snuff' ve pipo tütünü, sigara tütününe benzer değerlerde nikotin içerirken puro ve çiğneme tütünde, sigara tütünün yarısı kadar nikotin bulunmaktadır. Bir adet sigarada ortalama 10-14 mg nikotin bulunur. Sigara (1 adet sigara) içimi sırasında ise ortalama 1-1,5 mg nikotin vücut tarafından absorbe edilir (26).

2.2.1. Nikotin

Nikotin, başta tütün olmak üzere patates, domates ve yeşil biber gibi Solanose bitki familyasının üyelerinde bulunan bir alkaloiddir. İlk kez 1828 yılında tütünden izole edilen nikotin, tütünün en önemli bileşeni olarak saptanmıştır (27). Ticari sigaradaki tütün ağırlığının yaklaşık %1,5'ini oluşturan başlıca alkaloid olup, tütündeki toplam alkaloid içeriğinin % 95'ini kapsar (28). Ortalama bir tütün çubuğu 10-14 mg nikotin içerir (29). Tütün yapraklarında bitkisel bir insektisit gibi etki gösteren NT'nin (30) sıçanlardaki LD50'si (deney hayvanlarının %50'ini öldüren doz) 50-60 mg/kg'dır (31).

Nikotin, sigarada bulunan Polonyum, Radon, Metanol, Toluen, Kadmiyum, Bütan, Hidrojen Siyanür, Aseton, Naftalin, Arsenik, Amonyak, Karbon Monoksit gibi 3.885 toksik maddeden biridir. Kimyasal formülü $C_{10}H_{14}N_2$ olan nikotinin kimyasal adı (S)-3-(1-Metil-2-pirolidinil) piridin olarak ilk kez Pinner (32) tarafından tanımlanmıştır (Şekil 2).



Şekil.2. Nikotin Kimyasal Yapısı (33) ve formülü (34)

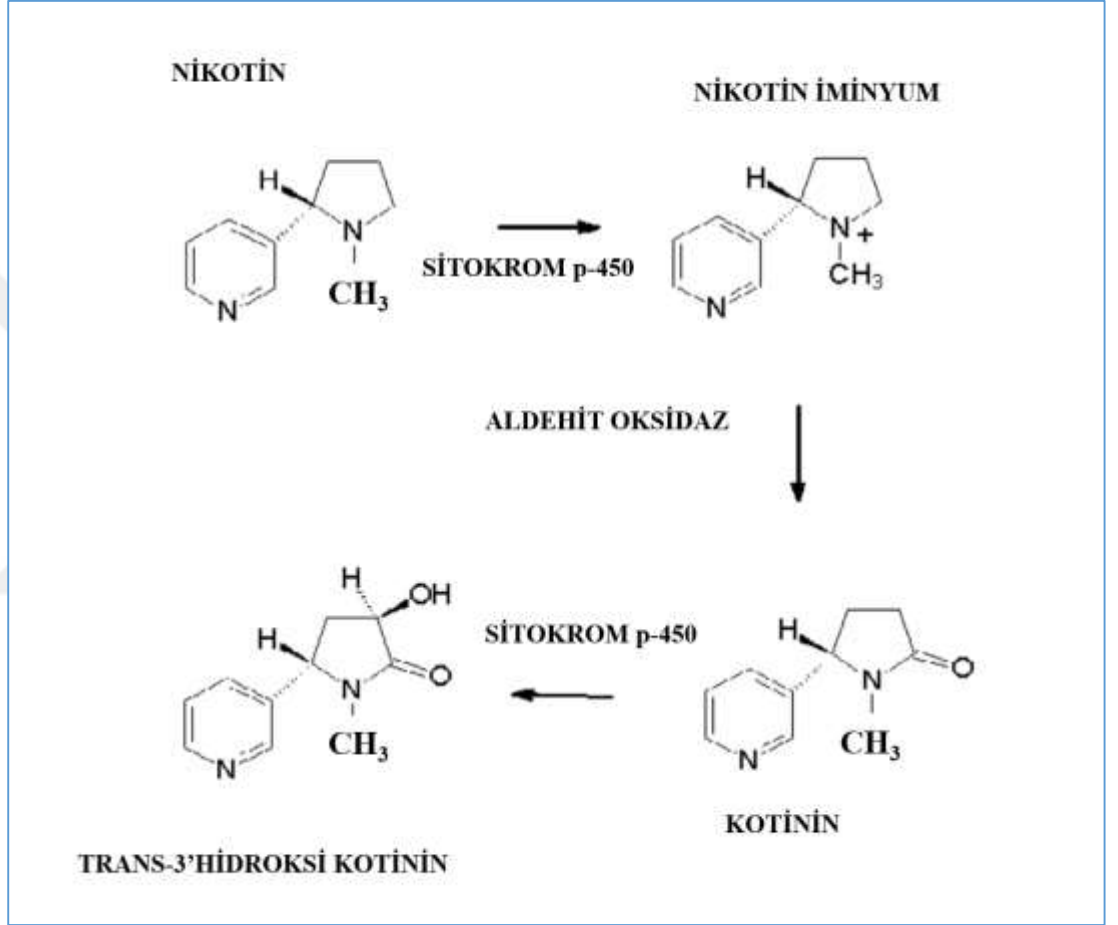
Nikotin saf formunda renksiz veya açık sarı renklidir. Saf nikotin baz özelliği taşıdığından dolayı kimyasal olarak genellikle nikotin serbest baz olarak adlandırılır. Saf nikotin asitlerle kombine edildiği zaman stabil tuz formunu oluşturarak suda çözünebilir özellik kazanır. Araştırmalarda sıklıkla kullanılan, nikotin tuz formudur.

2.2.1.1. Nikotin Farmakokinetiği ve Metabolizması

Nikotin hücresel membranlardan geçişi ortamın pH'sı ile yakından ilişkilidir. Asidik pH'da iyonize olan nikotin, hücre membranından geçemez. Fizyolojik pH'da ise nikotin % 23-31'i noniyonize halde olup biyolojik membranları kolaylıkla geçebilmektedir (35). Solunum yoluyla alınan nikotin, 5 dakika içerisinde maksimum konsantrasyona ulaşmaktadır. Nikotin dağılım yarı ömrü 7-10 dk. olup, eliminasyon yarı ömrü ise 1-4 saattir. Akciğerlerden beyne geçişi ise, 7-10 sn. içerisinde olmaktadır (36). Nikotin düşük dozları nikotik reseptörlerini aktive ederek adrenalin salgılanmasını artırmaktadır. Artan adrenalin miktarı, solunum sayısını, kan basıncını ve kan glikoz düzeyini artırmaktadır. Yüksek dozda alınan nikotin ise asetil kolin reseptörlerini bloke ederek, toksik etki göstermektedir. Yine,

nikotinin insektisit etkisi de asetil kolin reseptörlerinin bloke edilmesinden kaynaklanmaktadır (34).

İnsanlarda, nikotinin yaklaşık %70-80'i kotinine dönüşmektedir. Bu dönüşüm iki aşamada olmaktadır. İlk aşamada nikotin, sitokrom p-450 (CYP) enzim sistemi ile nikotin iminyum iyonuna, ikinci aşamada ise aldehit oksidaz ile kotinine dönüşmektedir (36).

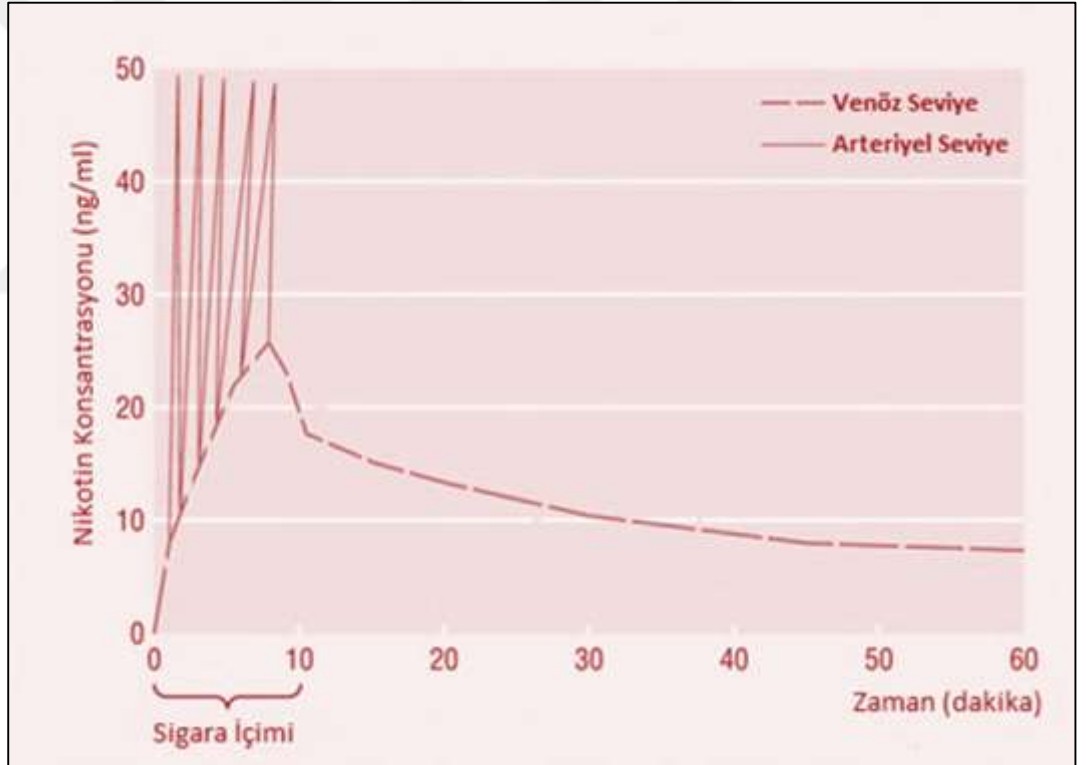


Şekil.3. Nikotin metabolizması (37)

Oluşan kotinin; nikotinin ana metaboliti olup, hem aktif hemde pasif içicilerde sigaranın etkisinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Kotinin; kotinylglukuronid, 3-hidroksi kotinin ve 3-hidroksi kotinin glukuronide metabolize olabilmekte ve %10'u değişmeden idrarla atılmaktadır. Plazma total kotininin konsantrasyonunu hesaplarken, bu dört metabolit toplanmaktadır (38). Kotininin

yarı ömrü nikotinden daha uzun olup, kan dolaşımında kalma süresi 48-96 saat'tir. Nikotine göre, kan kotinin düzeyi daha etkili olduğundan dolayı nikotin etkisinin bir göstergesi olarak kotinin kabul edilmektedir. Yine kan ve tükürükte de kotinin tespit etmek mümkün olmaktadır (39).

İnhale edilen sigara dumanı küçük havayollarından ve alveollerden hızla absorbe olur. Absorbsiyonu takiben kan dolaşımına giren nikotin dokulara ulaşır. Nikotin beyne 7-20 saniyede gelir. Sigaradan çekilen her bir nefes arteriyel nikotin konsantrasyonunu hızla artırır. Venöz nikotin konsantrasyonu daha yavaş bir artış gösterir (Şekil 4). Beyin ve plazma nikotin düzeyi, nikotin periferik dokulara dağılımı ile düşer (40).



Şekil.4. Tek sigara içimi sırasında ve bir saatlik sürede arteriyel ve venöz nikotin düzey değişimi (41)

Sigara içenlerde gündüz plazma nikotin konsantrasyonu genellikle 20-40 ng/mL düzeylerinde seyrederek (42). Ortalama bir sigara 6-11 mg nikotin içerir. Bir

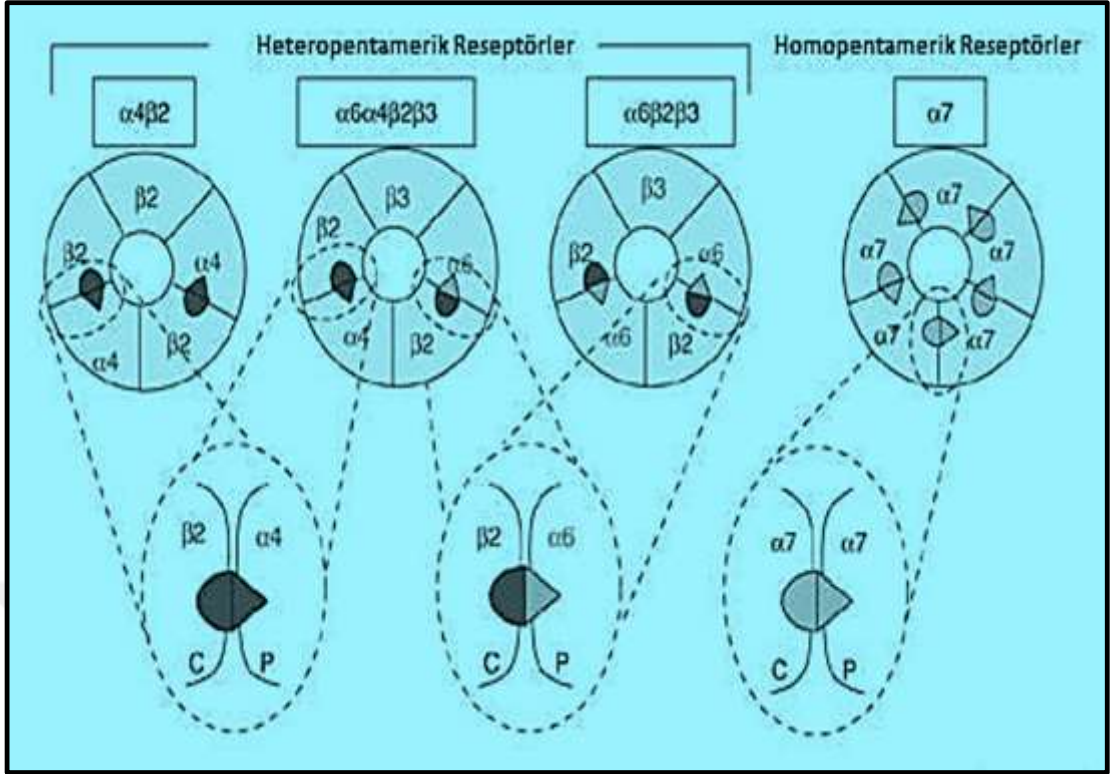
sigara içimi ile 1-3 mg kadar nikotin alınır. Sigara içicileri sigara çeşidini (ağır-hafif sigara seçimi), sigara içme sıklığını (iki sigara arasındaki zaman, günde kaç sigara içildiği vb.) ve sigara içme davranışlarını (çekilen nefeslerin derinliği ve iki nefes çekimi arasındaki süre vb.) değiştirerek nikotin seviyelerini istedikleri düzeyde tutarlar (43).

Nikotinin %80-90'ı çoğunlukla karaciğerde olmak üzere, akciğer ve böbreklerde metabolize edilerek metabolitlerine yıkılır. Temel metabolit kotinindir. Nikotinin kandaki yarı ömrü inhalasyonu takiben 2 saattir. Metabolitler ve metabolize olmayan az miktarda nikotin renal yolla atılır (40).

2.2.1.2. Nikotinin Farmakodinamiği

Nikotin, nikotinic asetik kolin reseptörü (nAChR) agonistidir. nAChR, tıpkı GABA_A, glisin ve 5-HT₃ reseptörleri gibi ligand-kapılı iyon kanalları ailesinin bir üyesidir (44). nAChR merkezi sinir sisteminde, otonom çekirdeklerde ve sinir kas kavşağında bulunur. Sigara bağımlılığı ile ilgili reseptör grubu merkezi sinir sisteminde yer alır. nAChR, beynin hemen hemen her bölgesinde diffüz bir yayılım göstermekle beraber korteks, talamus, amigdala, septum, beyin sapındaki motor çekirdekler ve locus ceruleusda daha yoğundur (45).

Reseptörün α ve β alt birimleri vardır. α alt birimleri $\alpha 2$ 'den $\alpha 10$ 'a kadar, β alt birimleri $\beta 2$ 'den $\beta 4$ 'e kadar tanımlanmıştır. Alt birimlerin beş tanesi bir araya gelerek bir adet nAChR'ünü oluşturur. Reseptör tek bir alt birim içeren (örn. 5 adet $\alpha 7$) homopentamerik yapıda olabileceği gibi farklı altbirimlerden (örn. 2 adet $\alpha 4$, 3 adet $\beta 2$) oluşan heteropentamerik yapı da gösterebilir (46) (**Şekil 5**).



Şekil.5. nAChR tiplerinin oluşumunda alt birimlerin farklı dizilimlerde bir araya gelmesi (47)

Kanal-reseptör kompleksini tamamlayan 5 alt birimin çeşitliliği nedeniyle nAChR'lerinin tanımlanmış ve henüz tanımlanmamış çok sayıda alt tipi vardır. Alt birimlerin birleşme çeşitliliği, reseptör alt tiplerinde işlevsel ve farmakolojik farklılıklara neden olur. Ancak bazı temel özellikler tüm nAChR'lerinde ortaktır. Örneğin bütün nAChR'leri için üç farklı fonksiyonel durum vardır:

- Dinlenim durumunda kapalı
- Por açık
- Desensitize durumda kapalı

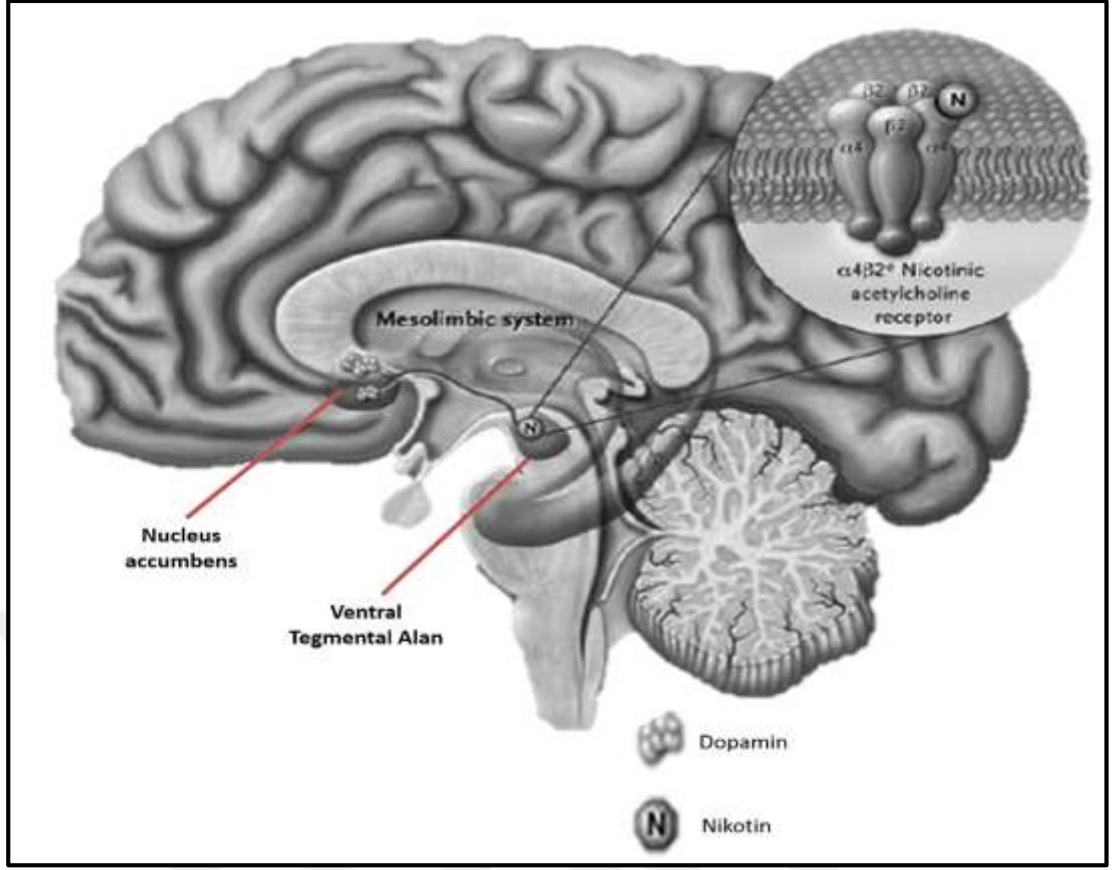
Yüksek konsantrasyonda nörotransmitterle (ACh) kısa süreli karşılaşma katyon seçici porun açılmasına neden olur. Por, Na^+ , K^+ ve Ca^{++} iyonlarına geçirgendir. Por birkaç milisaniye açık kalır, sonra kendiliğinden kapanır. Sigara kullanımıyla düşük dozda ve zamana yayılmış şekilde alınan nikotin, reseptör üzerinde önce kısa süreli bir aktivasyona (1-2 dakika), ardından belirgin bir desensitizasyona neden olur. Desensitizasyon periyodunda por kapalı konumdadır. Reseptör, ortamda agonist olsa bile yanıt vermez (48).

Farklı katyon geçirgenlikleri ve agonist duyarlılıkları olan nAChR alt tipleri,

beynin bir çok alanında değişken yoğunluklarda diffüz bir yayılım göstermektedir. Bu nedenle herhangi bir agonistin bir çok sistemi aynı anda etkileyeceği ve karmaşık bir yanıt oluşturacağı açıktır (47).

Nikotik asetil kolin reseptörleri hem nöron gövdesi üzerinde hem de presinaptik sonlanmada bulunabilir. Presinaptik nAChR'leri, genellikle presinaptik nörondan asetil kolin, norepinefrin, epinefrin, dopamin, serotonin, β endorfin, vb. nörotransmitterlerin salınımını arttırıcı etki gösterir. Postsinaptik ve nöron gövdesi üzerindeki nonsinaptik nAChR'leri içeriye katyon girişi sonucu membran potansiyelini değiştirerek hücre uyarılabilirliğini düzenlerler. Önemli bir ikinci haberci molekül olan kalsiyuma geçirgenliklerinden dolayı hücre içi enzimatik yollar üzerinde etkili olabilirler (49, 50). nAChR'leri dikkat, öğrenme, bellek gibi bilişsel olaylarda yer alırlar (51). Şizofreni, epilepsi, otizm, Alzheimer gibi pek çok merkezi sinir sistemi hastalığında nAChR işlev bozukluğunun rolü olduğu ileri sürülmektedir (52-54).

Nikotin ve diğer kötüye kullanımı olan maddelerin oluşturduğu ödöl cevabının NAcc'in kabuk bölgesinde ekstrasellüler dopamin (DA) artışı ile meydana geldiği bilinmektedir (55). Bu bölgede DA artışını sağlayan birden fazla nöronal mekanizma vardır. Bunlardan en önemlisi VTA'dan NAcc'e projekte olan dopaminerjik nöronlardır (**Şekil 6**). Bu nöronların üzerinde bulunan nAChR'lerinin büyük çoğunluğu $\alpha 4\beta 2$ alt tipindedir (47). $\alpha 4\beta 2$ alt tipindeki reseptörler nikotine yüksek affinite gösterir ve düşük nikotin konsantrasyonlarında bile aktive olurlar. $\alpha 4\beta 2$ 'lerin uyarılması, tonik aksiyon potansiyelleri çıkaran dopaminerjik nöronların patlamalar şeklinde ateşleme yapmasına yol açar. Bu ateşlemeler NAcc'deki ekstrasellüler DA konsantrasyonunu kısa sürede arttırır (56).



Şekil.6. Ventral Tegmental Alan'dan Nucleus Accumbens'e projekte olan dopaminerjik nöronlar ve üzerlerindeki $\alpha 4\beta 2$ nikotinik asetil kolin reseptörleri (41)

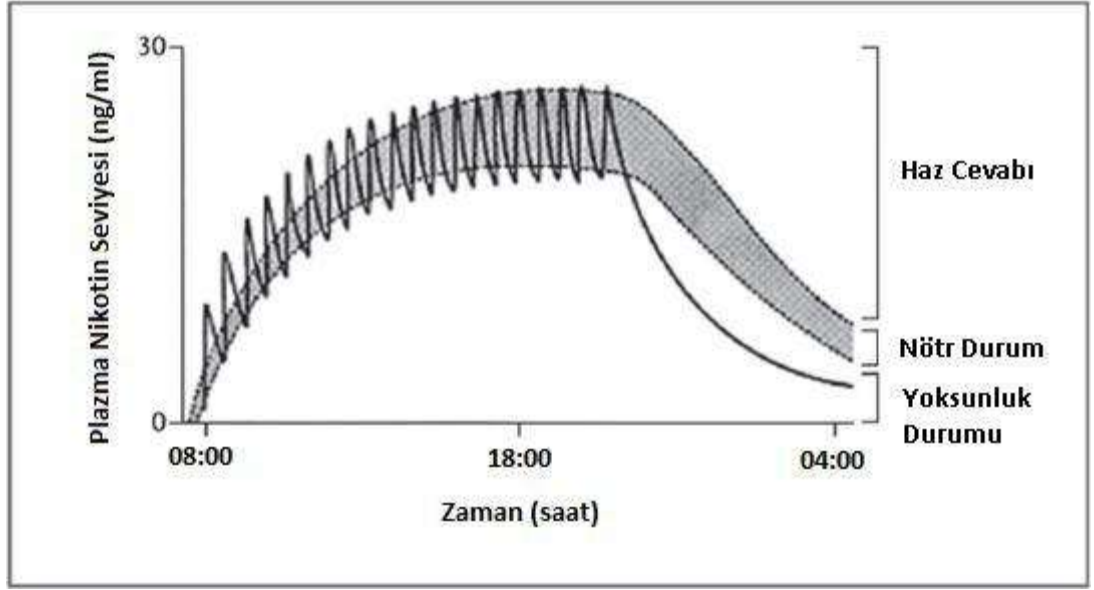
$\alpha 4\beta 2$ nAChR'leri, yüksek nikotin affinitelerinin yanısıra çok hızlı bir desensitizasyon kinetiğine sahiptirler. Reseptörler aktivasyon sonrası 1-2 dakikada desensitize olur. Ancak sigara içimini takiben NAcc'deki DA konsantrasyonu bir saat kadar yüksek seviyede seyrederek (57). Bu olay “uzun dönem potensiyalizasyon” (LTP) ile uyumludur. VTA'dan NAcc'e projekte olan dopaminerjik liflerin 1-2 dakikalık hızlı ateşlemeleri LTP oluşumu için yeterli değildir.

Bu olayda VTA'da yerleşmiş ve NAcc'den VTA'a projekte olan GABAerjik nöronların rolü gösterilmiştir. Normal koşullarda GABAerjik nöronlar mezolimbik dopaminerjik nöronlar üzerinde tonik inhibisyon yaparak dopaminerjik aktiviteyi kontrol altında tutar (49, 58). GABAerjik nöronların üzerinde dopaminerjik nöronlarda olduğu gibi $\alpha 4\beta 2$ nAChR'leri bulunur. Nikotin uygulaması bu reseptörleri de birkaç dakika içerisinde desensitize eder. Desensitize reseptörler Ach'e cevap vermez. Böylece nikotin, GABAerjik nöronların dopaminerjik sistem üzerindeki tonik inhibisyonunu kaldırır (59).

NAcc'deki dopamin konsantrasyonunun uzun süre yüksek kalmasında bir diğer önemli mekanizma, prefrontal korteksten (PFC) kaynaklanan glutamaterjik efferentlerdir. Dopamin salınımını uyaran bu nöronların üzerinde çoğunlukla $\alpha 7$ tipinde nAChR'leri bulunur. $\alpha 7$ nAChR'leri nikotine düşük affinite gösterir ve geç desensitize olurlar (48, 59). Geç aktive olmalarına karşın aktiviteleri uzun süre devam ettiğinden LTP'da önemli role sahiptirler.

Özet olarak sigara ile alınan nikotin, VTA'dan NAcc'e projekte olan dopaminerjik nöronları uyarak, kısa süreli dopamin artışına yol açar. Aynı zamanda bu nöronlar üzerindeki GABAerjik inhibisyonu kaldırır, glutamaterjik aktivasyonu artırır. Böylece NAcc'de uzun süren bir dopamin konsantrasyon artışına neden olur. Aşırı ve uzun süreli agonist etkisi reseptör sayısında azalmaya yol açar. Ancak kronik nikotin uygulaması ile nAChR sayısında artış görülmektedir. Post mortem çalışmalarda sigara içenlerin beyinlerinde normal bireylere göre daha fazla ACh bağlanma bölgesi bulunduğu ve bu bölgelerin sıklığının tüketilen sigara miktarı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (54, 60). Bu artışa nAChR'lerinin desensitizasyon özelliğinin neden olduğu düşünülmektedir. Desensitizasyon sonucu oluşan aktivasyon azalması, uzun dönemde reseptör sayısında artışa yol açmaktadır (61). nAChR artışının membrandaki reseptör devir hızının (turnover) düşmesinden ileri geldiği gösterilmiştir. Uzun süre nikotinle karşılaşmanın reseptörde oluşturduğu konformasyonel değişimler sonucunda reseptörün hücre yüzeyinden ayrılmasının zorlaştığı ileri sürülmektedir (62). Kronik nikotin uygulaması sonucu reseptör sayısı artışının, nikotin yokluğunda ortaya çıkan belirtilerin nedenlerinden birisi olduğu düşünülmektedir (41).

Günlük sigara içimi ile sağlanan kan-nikotin düzeyi (Şekil 7) $\alpha 4\beta 2$ tipi nAChR'lerinin tamamına yakını desensitize halde tutar (63). Yoksunlukta reseptörlerin tekrar uyarılabilir hale gelmesinin de yoksunluk sendromu oluşumunda rol aldığı bildirilmiştir (41, 52).



Şekil.7. Nikotin etkileri ve konsantrasyonunun zamanla gün içindeki değişimi (41)

Reseptörlerinin dağılımı ve karmaşıklığı nedeniyle nikotinin sadece dopaminerjik sistem üzerinden etki göstermediği açıktır. Örneğin yoksunluk durumunda görülen stres ve anksiyetenin, ekstrapotalamik kortikotropin-salgılatıcı faktör (CRF) seviyesinin ve CR'nin kortikotropin-salgılatıcı factor reseptör 1'e olan affinitesinin artması sonucu geliştiğine dair çalışmalar mevcuttur (64).

2.2.1.3. Nikotin Bağımlılığında Bireysel Farklılıklar

Kişisel özellikler (kullanıcının kişilik ve genetik nitelikleri) itibarı ile ele alındığına; Madde bağımlılığı için özel bir kişilik tipi olmadığı gibi herkes için bağımlılık riski bulunmaktadır. Madde bağımlılığı bir ihtiyacın sonucunda ortaya çıkmakta olup, kullanan bireyin kişiliği ile yakından ilişkilidir. Bağımlı birey, günlük yaşamın getirdiği zorluklarla başa çıkabilmek, kaçmak ve yapay cennete sığınma arzusunda (65).

Bağımlılar kişilik yapısı olarak genellikle özgüvenleri zayıf, kendini değersiz ve eksik yanları olan biri gibi algılayan ve kaygılı insanlardır. Alkol ve uyuşturucu maddelerin kaygıyı azaltan niteliği, zorluklardan kaçan kişilerce bir destekleme aracı olarak kullanılmasına yol açmaktadır. Alkol ve uyuşturucu maddelerin yarattıkları

geçici sığınma ortamları ve verdikleri rahatlama, kullananlarda önceleri alışkanlık, daha sonra ise bağımlılık meydana getirmektedir (66).

Sigara ve nikotin bağımlılığında bireysel farklılıkların sigaranın ilk kez denenmesinden başlayarak sonrasında meydana gelen bağımlılık, günlük sigara kullanım değerleri, yoksunluk ve sigara bırakma başarısı gibi nikotin bağımlılığının pek çok basamağında yer alan önemli bir etkidir. Bazı sigara bağımlıları günde dört paket sigara içerken; bazıları günde 5-10 sigara içmekte; bazıları paket taşımamakta ve başka kullanıcılardan sigaralarını temin etmekte, bazı kullanıcılar ise sigara kullanımını aversif bularak hiçbir zaman bağımlı duruma gelmemektedirler.

Sigara ve nikotin bağımlılığında meydana gelen bireysel farklılıklar arasında, sigara kullanım motivasyon ve paternleri, sigara kullanımında nikotinin veya çevresel faktörlerin madde kullanımında pekiştirilen özellikleri, nikotin bağımlılığı derecesi sıralanabilir. Nikotin ve diğer bağımlılık oluşturan maddelerin kullanımında meydana gelen bireysel farklılıkların oluşmasında, cinsiyet, ırk, sosyoekonomik durum, psikiyatrik hastalık durumu, genetik ve diğer biyolojik faktörler sıralanabilir.

Literatürde insanlarda bağımlılık oluşturan maddelere olan duyarlılıkta bireysel farklılıkların önemli rol oynadığını gösteren çok sayıda yayın bulunmaktadır (2, 67). Bireysel farklılıkların oluşmasına neden olan pek çok faktör günümüzde tanımlanmış olmasına rağmen bu faktörlerin neden olduğu etkiler ve süreçleri açıklayan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan insan araştırmalarında sigara kullanan bireylerin özellikleri incelenmiştir. Bu özellikler arasından sigara içme prevalansı, sigara tüketim değerleri, nikotin bağımlılıklarının derecesi ile bunlarla ilişkili genetik değişimler sigara içen ve içmeyen farklı ırklardan bireylerde veya ikizlerde yapılan çalışmalarla karşılaştırmalı olarak incelenmiştir; ancak kontrol edilmesi mümkün olmayan faktörler nedeniyle elde edilen sonuçlar tam açıklayıcı değildir (67). Diğer yandan insan çalışmalarında kontrol edilemeyen farklılıkların en aza indirilebileceği, bireysel farklılıkların araştırıldığı hayvan deneylerinin sayısı insan çalışmalarına oranla daha azdır. Bu durumun temel nedeni ise, insan sigara içme motivasyon ve paternini aynen taklit edebilen bir hayvan modelinin bugüne kadar mevcut olmamasıdır. Ancak, transgenik ve ‘inbred’ sıçan ve farelerde yapılan deneyler ile

nikotin bağımlılığındaki bireysel farklılıkları oluşturan faktörler detaylı şekilde incelenmeye çalışılmıştır.

Madde kötüye kullanma ve bağımlılığında genetik yatkınlığın katkısı halen bilimsel olarak tartışılmaktadır. Ailesinde madde kötüye kullanma ve bağımlılığı öyküsü olanlarda buna bir yatkınlık olduğunu düşündüren verilerin yanı sıra aksini düşündüren verilere de rastlanmaktadır. Madde kötüye kullanımı ve bağımlılığı riskinin değerlendirilmesinde yakın akrabalarındaki şiddetli bağımlılık örnekleri göz ardı edilmemesi gereken ayrıntılardır (67). Madde ayırt etme protokolü kullanılarak yapılan hayvan deneylerinde deneklerin maddeye karşı farklı duyarlılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Meydana gelen farklılıklar da genetik faktörlerin önemli rol oynadığını gösterilmiştir. Örneğin, 0,4 mg/kg nikotin ve serum fizyolojik uygulamasında Lewis sıçanların nikotin bağımlılığına duyarlı olduğunu ve maddeyi serum fizyolojikden ayırt edebildiği gösterilmişken, Fischer 344 sıçanlarda ancak yüksek doz nikotin (0,9 mg/kg) ile nikotin bağımlılığının oluşturulabildiği görülmüştür (68). Yapılan başka bir araştırmada ise C57BL/L farelerin DBA/2 farelere oranla nikotinin etkilerine daha duyarlı olduğu bulunmuştur (69).

Nikotin bağımlılığındaki bireysel farklılıkların incelendiği hayvan deneylerinde özellikle HR (high responder) ve LR (Low responder) sıçanlar üzerinde detaylı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. HR ve LR sıçanlarda nikotinin lokomotor aktivite üzerindeki akut ve kronik etkisi incelendiğinde, HR sıçanların LR'ye oranla nikotinin akut lokomotor aktivite baskılayıcı özelliklerine duyarlı iken, kronik nikotin uygulaması sonrasında nikotinin lokomotor aktivitede meydana getirdiği artışa HR sıçanlarda LR'lere oranla bir fark gözlenmemiştir (70). Bu durum, HR sıçanların LR sıçanlara göre bazal lokomotor aktivite değerlerinin yüksek olduğunu ve etkinin kronik nikotin uygulaması ile daha da baskılandığını göstermektedir.

Kadın ve erkeklerin sigara kullanım profillerinde birtakım farklılıkların bulunduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur (71). Bu araştırmaların bazılarında, kadınların erkeklere oranla, daha az sayıda sigara tükettikleri, içtikleri sigaradan daha az sayıda ve daha kısa süreli nefes çektikleri ve kanlarındaki nikotin konsantrasyonlarının daha düşük düzeyde olduğunu gösterilmiş olmasına ek olarak

(72), kadınların, akciğer kanseri gibi, sigaraya bağlı hastalıklarda daha savunmasız/zayıf oldukları da bilinmektedir (73)

Kadınlar, farmakolojik terapiler aracılığıyla olsun ya da olmasın, sigara bırakabilmede erkeklerin gerisindedir (74). Örneğin Hatsukami ve ark. (1995) kadınların, sigara bırakma yöntemlerinden biri olan nikotin ikame terapilerinde, çok daha fazla aranma tepkisi geliştirip, daha şiddetli yoksunluk belirtileri yaşadıklarını, buna bağlı olarak da tedaviyeye erkeklere göre daha fazla direnç gösterdiklerini ortaya koymuştur. Son dönemde yapılan bir meta analiz çalışmasında ise, Cepeda-Benito (2004) erkeklerle karşılaştırıldıklarında kadınların nikotin ikame terapilerinden daha az, ancak farmakolojik temelli olmayan tedavilerden ise çok daha fazla fayda gördüklerini göstermiştir.

Kadınların erkeklere oranla sigarayı daha zor bırakabilmeleri, yoksunluk belirtilerinin cinsiyete göre farklılaşması ile ilişkilendirilebilse de, bu konuya ilişkin net bir bilgi sağlanabilmiş değildir. Bazı çalışmalar, bir kısım ya da bütün ölçümlerde, kadınların erkeklere oranla yoksunluk etkilerine çok daha fazla maruz kaldığını belirtirken (75), bazı çalışmalarda bir kısım ya da bütün ölçümler açısından, yoksunlukla ilgili olarak cinsiyetler arasında fark olmadığı (76) ve nihayet bazı çalışmalarda ise yoksunluğun, erkeklerdeki ölçümlerde daha etkili olduğu belirtilmiştir (77, 78).

Kadınların nikotin arama davranışlarının, erkeklere oranla, koşullu ipuçlarından daha çok etkilendiği ileri sürülmüştür (79). Buna karşın, her ne kadar daha önceki bir çalışmada kadınların erkeklere oranla daha yüksek düzeyde koşullu nabız tepkisi ortaya koymuş olmaları bu görüşü desteklese de (80), sigarayı bırakanlarla yapılan geniş katılımlı bir çalışmada, koşullu tepki bakımından cinsiyetler arası farka rastlanmamıştır (81).

Son dönemde yapılan bir diğer çalışma, damar içi nikotin enjeksiyonu sonucunda, kadınların erkeklere oranla, nikotinin kötü etkilerini puanlamada daha hassas öznel tepkiler verdikleri gösterilmiştir (82).

2.2.1.4. Nikotin ve Lokomotor aktivite

Nikotin gibi bağımlılık yapıcı maddelerin tekrarlı şekilde verilmeleri sonucunda, psikomotor aktivitelerde artış gözlenir (83). Özellikle lokomotor aktivite (LMA), dönme hareketi ve stereotipi gibi davranışlarda gözlenen bu artış, davranışsal duyarlılaşma gelişmesi olarak kabul edilir (84). Başka bir ifade ile; duyarlılaşma, aynı veya birbiri ile ilişkili uyarıların artış şeklinde cevap oluşturduğu basit öğrenme ve bellek yanıtları olarak tanımlanır (85). Uzun süreli davranışsal duyarlılaşma gelişimi, nöroplastisite ile de ilişkili olabilir (86). Pierce ve ark. (87) duyarlılaşma gelişimini prefrontal korteks ve bazolatarel amigdalaadaki glutamat nöronları ile ventral tegmental alandaki dopaminerjik nöronlar gibi nukleus akumbensi uyaran nöronların artmış yanıtlar oluşturmasından kaynaklandığını göstermişlerdir.

LMA'yı uyarıcı etkilere, dopamin reseptörlerinin bilinen beş alt tipi aracılık etmektedir (50). Santral nikotinik reseptörlerin aktivasyonuna bağlı olarak nukleus akumbensde akut olarak dopamin ve glutamat salıverilmesinin arttırılması ile LMA'da artış oluşur (88). Amfetamin ve kokain gibi bağımlılık oluşturan ilaçların, nikotin ile çapraz duyarlılaşma oluşturmaları ve nukleus akumbensde dopaminerjik aktiviteyi artırması, bu maddelerin ortak mekanizmalar üzerinden duyarlılaşma oluşturabileceğine işaret etmektedir (89). Hücresel ve biyokimyasal bazı çalışmalar, nukleus akumbensde glutamat ve dopamin aracılı nöronal aktivitenin gen ekspresyonu ve protein sentezinde değişiklikler meydana getirerek uzun süreli sinaptik değişiklikler oluşumuna yol açtığını göstermiştir (90).

Duyarlılaşma gelişmesi, basit bir farmakolojik olgu değildir. İlacın veriliş şekli, uygulamanın yapıldığı çevre, kullanılan doz ve kullanılan deneklerin türü duyarlılaşma gelişimini doğrudan etkilemektedir (84). İlaça verilen yanıt genellikle aynı türdeki bireysel farklılıklardan da etkilenmektedir (85). Yeni ortamda (sürekli yaşadığı kafesten farklı özelliklere sahip çevrede) oluşan aktivite artışının miktarı, madde bağımlılığı ile ilgili yeni çalışmalarda ön belirleyici bir değişken olarak kullanılmaya başlanılmıştır. Yeni ortamda yüksek aktivite gösteren sıçanların LMA'sının amfetamine daha duyarlı olduğu gözlenmiştir (91). Uyarıcı etkilere bağlı cevap olarak oluşan bu tür farklılıkların dışında, deney hayvanının düşük veya yüksek psikomotor aktiviteye sahip olmasının duyarlılaşma gelişmesindeki rolü ise

belirsizdir. Ancak psikomotor aktivite artışı, duyarlılaşma gelişimi oluşturan mekanizmaların etkinliğini artırmış veya azaltmış olabilir. Aktivitedeki bu artış LMA ile değerlendiriliyor ise duyarlılaşma gelişiminin değerlendirilmesi daha da güçleşebilmektedir (92).

Bazal koşullar altında dişilerin lokomotor aktivitesi erkeklere oranla daha fazladır. Lokomasyonda meydana gelen cinsel dimorfik etkinin nedenleri kastire edilen sıçanlar üzerinde araştırılmıştır. Overleri alınmış sıçanların naif sıçanlara oranla lokomotor aktivitelerinde azalma meydana geldiği gözlenmiştir (93).

Lokomotor aktivite ve nikotin etkileşimi, nikotin dozu ve süresine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmesine neden olmaktadır. Akut nikotin uygulaması lokomotor aktiviteyi baskıarken, kronik nikotin uygulaması lokomotor aktivitede artışa neden olmaktadır (94). Nikotinin spontan lokomotor aktivitede meydana getirdiği bifazik etkinin VTA'dan NAc'e gelen dopaminerjik projeksiyondaki dopamin salınım kinetiklerine uyumlu bir şekilde ortaya çıktığı belirtilmektedir.

Kanıt ve arkadaşları (1999) cinsiyet ve ovarian hormonların spontan lokomotor aktivite üzerindeki etkisini araştırılmışlar ve dişi sıçanların erkeklere oranla daha yüksek lokomotor aktivite değerleri gösterirken akut nikotinin dişilerde lokomotor aktiviteyi daha fazla baskıladığını bulmuşlardır. Yaptıkları 21 günlük kronik nikotin enjeksiyonu sonrasında ise, lokomotor aktivite her iki cinsiyette de artarken, dişilerde artış daha fazla olmuştur. Overiektomi yapılan dişilerde nikotin ve hormon (17-beta oestradiol, progesteron) resplasman uygulaması sonrasında gruplar karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda, dışarıdan hormon ve nikotin verilen gruplarda lokomotor aktivitede artış meydana gelmiştir (93). Yapılan bu araştırmalar, dişi hormonlarının mezokortikolimbik dopamin sistemi ile etkileşime girerek lokomotor aktiviteyi etkilediğini göstermektedir.

2.2.1.5. Nikotin ve Beyin Gelişimi

Kemirgenler üzerinde yapılan preklinik çalışmalar asetilkolinin, fonksiyonel olarak ligand ilişkili iyon kanalı olan nikotinik asetilkolin reseptörlerini aktive ederek beyin maturasyonunda önemli olduğunu göstermektedir. Nikotinik asetilkolin reseptörleri fetusun santral sinir sisteminde fazla miktarda bulunur ve kritik gelişme periyodunda beynin belirli bölgelerinde yoğunluğu artar. Bu reseptörlerin

aktivasyonu nörotransmitter salınımını, gen ekspresyonunu, hücrenin devamlılığını, maturasyonunu ve sinaps oluşumunu düzenler. Nikotin de asetilkolin gibi bu resptörlere etki eder. Prenatal ve postnatal nikotin maruziyeti beynin seksüel farklılaşmasını, hücrenin yaşam süresini ve sinaps oluşumunu olumsuz yönde etkilemektedir.(95).

Prenatal ve postnatal nikotine maruz kalan hayvan modellerinde nikotinin nöroteratojen olduğu görülmüştür; nikotinin nöronal hücrelerin replikasyon ve diferansiasyonunu bozmaktadır (96). Aynı zamanda sinaps bölgesinde biyokimyasal anormalliklere sebep olmaktadır (97). Bazı yapılan invitro çalışmalarda, nikotinin hipokampustaki progenitör hücrelerde apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir (98). Bundan dolayı sigara içicilerinin yavrularında dikkat eksikliği ve kognitif bozukluklar, öğrenme güçlüğü ve hafızada azalma, düşük IQ seviyesi, davranış bozukluklarının insidansında artış görülmektedir (99). Nikotinin kognitif fonksiyonlar üzerine olan teratojenik etkisi yaşa ve cinsiyete bağlıdır, uzun sürelidir ve AMPA reseptör fonksiyonu ile ilişkidir (100).

Nikotine maruz kalmak dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu için de risk faktörüdür. Ayrıca prenatal nikotine maruz kalan hayvanlarda anksiyete benzeri davranış bozukluğu geliştiği de görülmüştür (101).

2.2.1.6. Nikotin ve Bilişsel Fonksiyonlar

Yapılan çalışmalarda nikotin ve nikotinik agonistlerin bellek ve dikkat performansını arttırdığı gösterilmiştir (102). İnsanlarda yapılan deneylerde nikotinin hem sigara kullanan hem de kullanmayan bireylerde bilişsel performansda artışa neden olduğu belirtilmektedir. Klinik çalışmalarda Alzheimer, şizofreni ve dikkat bozukluğu gibi hastalıkları olan bireylere nikotin bant uygulaması sonucunda bireylerin bilişsel bozulmalarında azalma meydana gelmiştir (103). Akut ve kronik nikotin kullanımının öğrenme ve bellek fonksiyonları üzerindeki etkisi ile ilgili literatürde farklı ve birbiriyle çelişen sonuçlar vardır. Bazı çalışmalar özellikle kronik nikotin uygulamasının öğrenme ve bellek fonksiyonlarında pozitif etki oluşturduğuna işaret ederken, diğer çalışmalarda bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu konu

irdelenirken, tütün endüstrisinin laboratuvarlarında yapılan yayınlara özellikle dikkat edilmesi uygun olacaktır, çünkü olayın arkasındaki sermaye ve kazanç gözardı edilemeyecek boyutlardadır. Diğer yandan, nikotinik ajanların olası bilişsel yararları, ilaç firmalarının üzerinde durduğu ve ümit veren sonuçların alındığı bir alandır.

Nikotinik sistem ile öğrenme ve bellek arasındaki ilişki insan, primat ve kemirgenler üzerinde yapılan detaylı araştırmalarla incelenmiştir. Yapılan farklı deneylerden elde edilen verilerde nikotinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarını arttırdığı gösterilmiştir (104, 105). Sıçanlarda yapılan radya kollu labirent deneylerinde nikotinin işletim belleği fonksiyonlarında gelişme sağladığı gösterilmiştir. Deneylerden 20 dakika önce ciltaltı (sc) tek doz 0.2 mg/kg nikotin enjeksiyonunun dişi sıçanlarda işletim belleği fonksiyonlarında artışa neden olduğu gösterilmiştir (102). Ayrıca, nikotinik agonistlerden epibatidin (106), ARR 1779 (107), TC1743 (108) ve Lobelin (109) uygulamasının da öğrenme ve bellek fonksiyonlarını arttırdığı belirtilmiştir.

Nikotinik agonistlerin bellek fonksiyonlarını arttırıcı etkisi çok sayıda omurgalı hayvan üzerinde çalışılmıştır. Sıçanlarda düşük dozda nikotin uygulamasının öğrenme fonksiyonlarını arttırdığı, oysa yüksek doz nikotin uygulamasının bozulmalara neden olabileceği belirtilmektedir (104). İşletim belleği analizinde kullanılan obje tanıma testinde, sıçanların objelerin kendilerine tanıtılması sonrasında yapılan nikotin enjeksiyonundan bir saat sonra objeleri tanıyabildikleri ancak objelerin tanıtılmasından 24 saat sonra yapılan enjeksiyon sonrasında objeleri tanıyamadıkları tespit edilmiştir (110). Bulgular, obje tanıma testinde yapılan akut nikotin enjeksiyonunun bilginin konsolidasyonunda ve edinim sürecinde pozitif etkiler oluşturduğunu düşündürmektedir (110). Sonuçlar, Levin ve arkadaşlarının yapmış olduğu spasyal işletim belleği deney sonuçları ile uyumlu olup, nikotinin bilişsel fonksiyonlar üzerindeki pozitif etkisini desteklemektedir (111).

Asosiyatif öğrenme ve bellek deneylerinde özellikle insan ve tavşanlar üzerinde kullanılan klasik 'göz kırpma' şartlama deneylerinde nikotin ve GTS-21'in ($\alpha 7$ reseptör parsiyel agonisti ve $\alpha 4\beta 2$ reseptör antagonisti) mekamilamin ile bozulan şartlı göz kırpma yanıtını, tekrar ortaya çıkardığı gösterilmiştir (112). Bu durum

kolinerjik bozulmalar ve asosiyatif öğrenme ilişkisinde nikotin ve nikotinik agonistlerin pozitif etkiler oluşturduğunu gösterir.

Nikotinin öğrenme ve bellek üzerindeki etkisi farklı yaş uygulamalarında da incelenmiştir. Nikotinin meydana getirdiği etkilerin yaşa bağlı olarak değişebileceği gösterilmiştir. Yaşlı ve genç Fisher 344 sıçanlar üzerinde yapılan Morris Su Tankı (MWM) deneylerinde, 0.2 mg/kg nikotin uygulamasının genç sıçanlarda işletim belleği fonksiyonunda artışa neden olduğu aynı etkinin yaşlı sıçanlarda meydana gelmediği belirtilmiştir. Ayrıca hiçbir grupta referans bellek üzerinde nikotinin etkisi gösterilememiştir (113). Elde edilen bu bulgunun tersine, ABT-418 nikotinik agonist uygulamasının hem genç (114, 115) hem de yaşlı maymunlar ve sıçanlarda (116) referans belleği arttırdığı bulunmuştur. Ancak, kronik nikotin uygulaması yaşlanmış olan sıçanlarda işletim belleği fonksiyonunda iyileşmeye neden olmamıştır. Bu durumun nedenleri arasında yaşlanmaya bağlı olarak nikotinik reseptör fonksiyonunda meydana gelen azalma gösterilmektedir (117). Akut nikotinin bilişsel performansda artışa neden olduğu bilgisinin aksine, farelerde yapılan deneylerde 0,35 mg/kg ve 0,175 mg/nikotinin MWM deneylerinde ne genç ne de yaşlı farelerde performans artışına yol açmadığı görülmüştür (118).

Bilişsel fonksiyonların anahtar bölgesi olan hipokampus ve nikotinin hipokampusta meydana getirdiği değişimler çok sayıda araştırmanın konusu olmuştur. Hipokampusta yer alan $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ nAChR'nde nikotinin yarattığı etkiye bağlı olarak öğrenme ve bellek fonksiyonlarında değişimler meydana geldiği gösterilmiştir. Ventral hipokampusa enjekte edilen $\alpha 7$ antagonisti metilkonitin (MLA) ve $\alpha 4\beta 2$ antagonisti DH β E, radyal kollu labirent deneylerinde işletim belleği fonksiyonunda bozulmalara neden olmuştur (119, 120). $\alpha 4\beta 2$ antagonisti ile meydana getirilen etki, sistemik nikotin infüzyonları ile tersine çevrilmiştir. Bu durum $\alpha 4\beta 2$ nAChR'nün aktivasyonunun nikotinin bellek fonksiyonu için tek başına yeterli olmadığına işaret eder. Diğer taraftan $\alpha 7$ antagonisti ile oluşturulan etki ise sistemik nikotin uygulaması ile tersine çevrilememiştir. Bu durum $\alpha 7$ nAChR'ünün hipokampusta nikotinin pekiştirici etkilerinin dekleratif bellekte kodlanmasında kritik rol oynadığını gösterir. Yapılan genetik hayvan çalışmalarında ise $\alpha 7$ nAChR'nün dikkat ve duysal filtrelemede yer aldığı gösterilmiştir (121). Bu veri insan şizofreni çalışmalarından elde edilen sonuçlarla da koreledir.

Bilişsel fonksiyonun emosyonel bileşeni olan amigdala özellikle sigara bağımlılığında nikotinin ödül etkileriyle ilişkili uyarıların kodlanmasında önemli rol oynar. Amigdalaya yapılan nikotinik blokaj sonrasında deneklerde motivasyonel spasyal bellek testinde bozulmaların olduğu belirtilmiştir (122). İşletim belleği performansı hem $\alpha 4\beta 2$ hem de $\alpha 7$ reseptör antagonistinin bazolateral amigdalaya uygulanması sonucunda bozulmuştur. Bu durum her iki reseptörün de amigdalada etkin rol oynayarak nikotinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki etkisine aracılık ettiğini göstermektedir. Frontal korteks, öğrenme ve bellek fonksiyonunda diğer önemli bir bölgedir. Lateral veya medial frontal kortekse yapılan $\alpha 7$ ve $\alpha 4\beta 2$ antagonist uygulaması işletim belleği bozulmalarına yol açmamıştır (104). Ayrıca orta beyin dopaminerjik sistemi, özellikle VTA, nikotinin bellek fonksiyonlarında oluşturduğu etkiler için önemlidir. Substantia nigra ve VTA'ya yapılan nikotinik antagonist uygulamaları işletim belleği fonksiyonlarında bozulmalara neden olmaktadır.

Literatürde nikotin ve öğrenme fonksiyolarının incelendiği bir grup araştırma, biliş aracılı öğrenmenin nikotin bağımlılığının gelişiminde önemli rol oynadığını göstermiştir (123). Sonuçlarda refleks ve biliş aracılığıyla oluşan ilişkilendirmelerin nikotinin ödül etkileri ile çevresel uyaranlar arasında bir bağ oluşturması sırasında rol oynadığı belirtilir (124). Nikotine ilk maruz kalınmayı takiben maddenin sürekli kullanım sürecine geçildiğinde, VTA ve NAc'den çıkan projeksiyonlarda oluşan LTP, bağımlılığın hipokampal öğrenme aracılı olarak meydana gelebileceğini göstermektedir.

Hipokampal öğrenmede, nikotinin uzun dönemde hücre içi ikinci haberci sistemlerinde değişim oluşturması söz konusudur. Meydana gelen etki nikotinin öğrenme ve bellek üzerindeki uzun süreli etkisini açıklamaya yardımcı olmaktadır. Akut nikotin uygulaması ERK, proteinkinaz A ve cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) gibi ikinci haberci sistemlerinin aktivasyonunu artırır (125-128). Raybuck ve arkadaşlarının (2007) yapmış oldukları deneylerde, akut nikotin uygulamasının hipokampusda öğrenme ilişkili hücre sinyallemede değişime neden olarak öğrenme ve bellek performansını arttırabileceği gösterilmiştir (128).

Hipokampusu bağı öğrenme ve bellek fonksiyonlarında özellikle tolerans ve yoksunluk süreçlerinde bozulmalar meydana gelir. Oluşan fonksiyon bozulması hücre içi sinyal yollarındaki fonksiyonel değişimlerle ilişkilidir. Kronik nikotin uygulaması sonrasında oluşturulan yoksunlukta ikincil habercilerle ilgili olarak, gen transkripsiyonunda ve özellikle CREB fosforilasyonunda değişim meydana gelir (129). Nikotin yoksunluğunda meydana gelen öğrenme bozulmalarının CREB aktivasyonundaki değişimle ilişkili olduğu belirtilmektedir (129). Deklaratif belleğin incelendiği korku şartlaması deneylerinde, CREB'in kontekste bağı öğrenmede rol oynadığı gösterilmiştir (130). Öğrenmede yer alan hücre içi sinyal moleküllerinin ve gen transkripsiyon faktörlerinin nikotine tolerans gelişiminde etkilendiği ve buna bağı olarak da nikotinin öğrenme ve bellek fonksiyonunda etkili olduğu gösterilmiştir (67).

Nikotinin öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki etkisi ile ilgili elde edilen kimi sonuçlar literatürde birbiri ile çelişmektedir. Akut ve kronik nikotin uygulamasının öğrenme ve bellek fonksiyonlarındaki farklı etkileri ve nikotin bağımlılığının birden fazla ve farklı aşamalarda ilerlemesi, nikotinin bilişsel mekanizmalardaki rolünün net olarak açıklanamamasına neden olmaktadır. Ayrıca, nikotin bağımlılığının oluşumunda madde ile eşleştirilen pekiştirici uyarıların bellek mekanizmaları üzerinden öğrenilmesi ve var olan bireysel farklılıklar, nikotin bağımlılığı ve bilişsel fonksiyon etkileşiminin araştırılmasını zorlaştırır. Geliştirilecek yeni hayvan modelleri ile bu sürecin moleküler mekanizmaları hakkında daha sağlıklı sonuçlar elde edilebilecektir.

2.3. Öğrenme ve belleğin değerlendirilmesi

Davranışsal süreç ve mekanizmaların araştırılması, sadece hayvan ve insan beyninin nasıl çalıştığının anlaşılması için değil, aynı zamanda insandaki davranış bozukluklarına çözüm getirilmesi açısından da çok önemlidir. Karşılaştırmalı nörobiyolojik çalışmalar farklı memeli gruplarında beyin temel morfolojik ve işlevsel yapılarının çok benzer olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda davranış seviyesinde de yakın benzerlikler bulunmaktadır. Bu nedenle hayvan çalışmalarından elde edilen birçok bilgi insanlar için de geçerlidir (131). Laboratuvar ortamında

yapılan nörobiyolojik ve davranışsal çalışmalarda en yaygın kullanılan deney hayvanı sıçan ve maymundur. Dünyada çok az araştırma merkezinde maymunlar denek olarak kullanılmaktadır. Sıçanların üretim ve bakımı oldukça kolay ve ekonomik olduğu için günümüzde bilimsel araştırmalarda en çok kullanılan hayvandır. Sıçanların bilişsel ve lokomotor yetilerinin değerlendirilmesi sıçanların bilişsel ve lokomotor yetilerinin değerlendirilmesinde bugüne dek tanımlanmış pek çok hayvan davranış deneyi (HDD) modeli mevcuttur. Sıçanlarda, HDD'leri ile anksiyete, otonom fonksiyonlar, öğrenme, hafıza ve lokomotor aktivite gibi pek çok özelliğin değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bilimsel yeterlilik ölçütlerinin tümüne aynı anda sahip olan bir HDD modeli bulunmamaktadır ve bu modellerin çoğu %100 kesinlikte sonuç sağlayamamaktadır. Ancak bilimsel teknolojiye gelişmelerle birlikte HDD'leri giderek daha ideal ölçütlerde yapılabilmektedir.

Davranış deneylerinin erişkin sıçanların çevresel (nöromotor) gelişimin tamamlandığı 80-85. günlerden sonra yapılması önerilmektedir (132). Öğrenme deneyleri ise 21 günlükten itibaren yapılabilmektedir. Ancak sıçanların doğumu takiben kaç haftalık olduğu belirtilen ya da belirtilmeyen pek çok çalışmada, deneylerin ortalama 180-400 gr ağırlığındaki erişkin erkek ratlarla yapıldığı bildirilmiştir. Bu deneylerde ratların cinsiyetlerine göre farklı davranışlar sergilediği tespit edilmiştir. Özellikle uzaysal (spasyal) öğrenmenin değerlendirilmesinde erkek cinsiyetin daha uygun olduğu saptanmıştır. Bu durumun hormonal farklılık ve hipokampus gelişimindeki farktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada bu nedenle erkek rat kullanılmıştır (133).

Tüm HDD'lerin $23\pm1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, 12 saatlik gece-gündüz ritminin sağlandığı bir odada ses, ışık, sıcaklık ve bekleme koşullarının standardize edildiği ortamlarda yapılması önerilmektedir. Bu standardizasyonun sağlanabilmesi için tüm hayvan gruplarının deney alanına deney gününden birkaç gün önce getirilmesi, deneylere başlanmadan önce tek tek bekleme kaplarına konmasının gerekliliği belirtilmektedir. Deney hayvanlarının tümünün daha önce doğum yapmış, bir gebelikte birbirine yakın sayıda yavru doğuran annelerin yavrularından seçilmesi, doğumdan sonra aynı günde sütten kesilerek anneden ayrılması, anneden ayrılan ratların her kafeste eşit sayıda olacak şekilde barındırılması, standart yem ile

beslenmesi gibi temel koşulların sağlanması önerilmektedir. Burada amaç ratların davranış deneylerinin yapılacağı tarihte birbirine yakın ağırlıkta olmalarının, nöromotor gelişiminin eşit düzeyde olmasının sağlanmasıdır. Ayrıca daha önce yavru doğurmuş, yavrularına zarar vermediği bilinen annelerin yavrularının seçilmesi ile deneye alınacak ratların anne tarafından reddedilme ya da yenmesini önleme amaçlanmaktadır. Ratların her zaman aynı araştırmacı tarafından, aynı yöntemle düzeneklere konması, araştırmacının odada her zaman aynı yerde durması, aynı renk kıyafet giymesi ve hatta parfümünü bile deneyler süresince değiştirmemesi önerilmektedir (134).

Yayınlar değerlendirildiğinde sıçanlarda bilişsel ve motor yetilerin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan pek çok farklı deney düzeneği olduğu görülmektedir. Anksiyete, korku, tekrarlayan uygulamalarla öğrenme ve kısa hafıza değerlendirilmesinin labirent deneyi ile doğumdan sonraki altıncı haftada ve iki-üç gün süreyle yapılması önerilmektedir (132). Sıçanların duygusal durumunu, sedasyonunu, lokomotor aktivitesini ölçmede açık alanın kullanılması ve çalışmanın doğumu takiben 10. haftada yapılması önerilmektedir. Prof. Dr. Richard Morris tarafından tanımlandığından bu yana kemirgenlerin öğrenme ve hafıza çalışmalarında sıkça kullanılan Morris Su Tankı (MST) düzeneği ile doğumdan sonraki 12. haftada beş gün süreyle uzak hafızanın (reference memory), 14. haftada ise dört gün süreyle yakın hafızanın (working memory) değerlendirmesi önerilmektedir (132).

Hayvan deneylerinde kullanılan davranış testleri dört başlık altında toplanabilir. Bunlar;

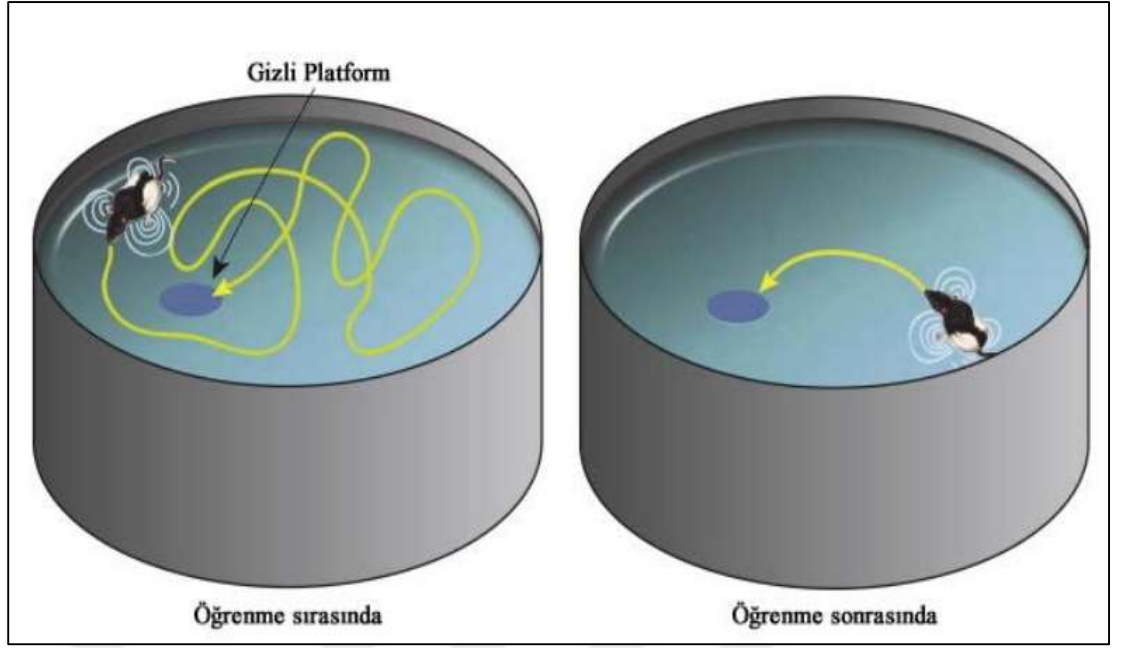
1. Pasif kaçınma testi
 2. Aktif kaçınma ve kaçma testleri
 3. Mekansal bellek testleri
- Labirentler (Y maze, 12-arm radial maze)
 - Yükseltilmiş radyal labirent (Elevated plus maze)

- Barnes labirenti (Barnes maze)
- Morris su tankı (Morris water maze)
- Döner arena
- Olay (71) arena

4.Örneğe gecikmeli eşleştirme/eşleştirmeme testi

2.3.1. Bir öğrenme ve bellek değerlendirme yöntemi olarak Morris Su Tankı

Sıçan ve fare gibi küçük kemirgenlerde hipokampusu bağlı mekansal öğrenme bellek araştırmaları için bugünlerde çok yaygın olarak kullanılan su tankı, 1982 yılında Morris ve arkadaşları tarafından tasarlanmıştır (136) (Şekil 8). Morris su tankı (MST) deneyleri ile uzak hafıza, yakın hafıza ve öğrenme değerlendirilebilir (132). Bu modelde genellikle silindirik şeklinde bir tank kullanılır ve içi 21-26°C sıcaklıkta su ile doldurulur, oda sıcaklığı $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulur. Su tankının içine su yüzeyinin 1-2,5 cm kadar altına hayvan tarafından görülemeyecek şekilde kare veya daire şeklinde bir platform yerleştirilir. Belleğin değerlendirilmesinde su tankı sanal olarak dört kadrana ayrılır. Bir kadrana gizli yükselti sabit olarak yerleştirilir. Her gün sıçanlar sırasıyla farklı bir kadrandan yüzleri su tankının duvarına dönük şekilde bırakılırlar ve gizlenmiş sabit yükseltiyi bulmaları beklenir. Sıçanlar suya her bırakıldıklarında yükseltiyi bulmaları için beklenen süre eşit olmalıdır ve bu süre 30-180 saniye arasında belirlenebilir. Eğer gizli yükselti bulunamaz ise deneyi uygulayan kişi tarafından sıçan yönlendirilerek gizli yükseltiyi bulması sağlanır. Yükselti üzerinde bekleme süresi her sıçan için eşit olmak üzere üç saniye ile 30 saniye arasında belirlenebilir. Gün geçtikçe sıçanların gizli yükseltinin yerini öğrenerek daha kısa sürede bulmaları beklenir. Bellek deneyleri beş ile 13 gün arasında sürdürülebilmektedir. Deneyin son gününde yükselti yerinden çıkarılabilir ve eskiden yükseltinin bulunduğu yerde sıçanların ne kadar süre geçirdikleri değerlendirilir (134).



Şekil.8. Morris Su Tankı Testi'nin şematik olarak gösterimi (134)

Sıçanlarda Morris su labirenti mekansal hafıza testi olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan birçok çalışmada yaşlı sıçanlar bu deneyi öğrenmekte genç kontrollere göre yetersizdir (137). Bu durum yaşlanma ile oluşan mekansal hafıza bozukluğuna atfedilmektedir. Hem gönüllü hem de zorunlu egzersiz uygulamalarının Morris su labirenti, Y-labirent, T-labirent ve ışınal kollu labirent testlerinde mekansal belleği geliştirdiği gösterilmiştir. Egzersiz ile pasif kaçınma, öğrenme ve yeni nesne tanıma gibi sınırlı hareket gerektiren hipokampus bağımlı testlerde de daha iyi bir performans sağlanmıştır (138). Dahası yükseltilmiş labirent testinde hipokampüse bağımlı olmayan anksiyete ilişkili davranışlar da gönüllü veya zorunlu egzersizden yarar görmektedir (139).

2.4. Bağımlılık çalışmaları içerisinde şartlı yer tercihi

Bağımlılığın incelendiği prelinik çalışmalarda değişik deney hayvanı modelleri kullanılmaktadır. Şartlı Yer Tercihi (*Conditioned Place Preference, CPP*) bunlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Pavlovyan şartlama temeline dayanan bu çalışma metodu, maddelerin bağımlılık yapıcı etkisi ile ortam arasında kurulan

etkileşimi inceler. Bu koşullar altında; şartsız uyaran verilen maddenin yarattığı etki, şartlı uyaran ise madde uygulaması sonrası deney hayvanının belli bir süre geçirmesi için bırakıldığı kutu, yani seçilmiş ortamdır.

Kemirgenlerde doğal (örneğin yemek) ya da madde ile ilişkili (örneğin kokain veya nikotin) ödüllerin etkinliklerinin araştırılması amacıyla, Pavlov tipi bir öğrenme modeli olan CPP sıklıkla kullanılmaktadır (140). CPP paradigması sıçanlarda nikotin ile oluşturulan yer şartlamasının ortaya çıkışını, sönmesini, tekrar kazandırılmasını ve diğer ilaçlarla etkileşimini araştırmak için kullanılabilir. Ayrıca CPP, laboratuvar ortamında bağımlılıkta relaps çalışmaları için de uygun bir modeldir (141).

Nikotin veya sigara ile ilişkilendirilen çevresel ipuçları, nikotin alımının sürdürülmesinde önemli bir etkidir. Bu etkileşim, özellikle sigara içme arzusu ve sigaraya yeniden başlama (142). Bu etkileşimlerin altında yatan nöral bağlantılar, nörotransmisyon sistemleri ve moleküler mekanizmalar henüz tam anlamıyla anlaşılmış değildir.

CPP düzenekleri planlanırken farklı uygulamalar yapılabilmektedir. İkili veya üçlü kutular, farklı taban yüzey yapıları deney düzeneğine dahil edilebilmektedir. İkili kutularda, deney hayvanının bir tarafta bulunmasının nedeni, gerçekte ve basitçe diğer tarafta bulunmak istememesi de olabileceğinden, maddelerin oluşturabileceği yer tercihinin yanı sıra anksiyete veya sakınma davranışlarının da etkili olabilmesi mümkün görünmektedir. Üçlü kutularda ise ne madde ne de o maddenin taşıyıcısı (örneğin serum fizyolojik) ile şartlama yapılmayan bir kutu daha bulunması elde edilen verilerin incelenmesinde fayda sağlar.

CPP uygulamaları sırasında, madde enjeksiyonu ile hayvanın deney düzeneğine bırakılması arasındaki sürede; şartlama oluşması açısından etkili bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Enjeksiyondan hemen sonra hayvanın deney düzeneğine alınması (şartlama yapılan kutuya/ortama bırakılması) en etkili yöntem olarak gözükmektedir. Enjeksiyonu takip eden 20., 60. ve 120. Dakikalarda şartlama kutusuna bırakılan hayvanlarda şartlama etkisi görülmemiştir (143).

CPP çalışmalarında kullanılan hayvan ırkı bir diğer belirleyici faktördür. Örneğin, Fischer (F 344) sıçanlar nikotin etkilerine Lewis (LEW) sıçanlara

kıyasla daha az duyarlıdırlar. Bu farklılık ilaç diskriminasyonu ve CPP çalışmalarında ortaya konmuştur ve nikotinin farmakolojik ve davranışsal etkilerinde gözlenen bireysel farklılıklarda genetik bir bileşen olduğunu düşündürmektedir (68). Çalışmamızda kullanılan Sprague Dawley ırkı sıçanların kendi içinde veya diğer ırklarla bu bağlamdaki karşılaştırılmasına dair bir literatür bilgisi bulunmamaktadır.

2.5. Seçici Üretme Soy Oluşturma

Psikologlar kalıtım ve çevrenin davranışları nasıl etkilediğini anlayarak, davranış sorunları olan insanlara yardım etmenin daha mümkün olacağına inanmaktadır. Dolayısıyla, temel araştırmalar genellikle hayvanları kullanarak yapılır. Hayvan davranış genetiğinde kullanılan iki önemli araştırma yöntemi aynı soydan olan hayvanlardan üretilmiş soy ve seçici üretmedir (144). Araştırmacılar genetik olarak yakın ilişkili nesillerin (örneğin abi-kardeş gibi) çiftleşmesiyle kendilerinden türetilmiş soyları üretirler. Sonunda yavrular genetik olarak birbiriyle aynı hale gelir ve süzme bir soya ait olurlar. Doğal ırklar da genetik farklılıkların, davranışı etkileyip etkilemediğini test etmek için kullanılır.

Aynı ortamlarda yetiştirilen hayvanlar iki farklı genetik doğal ırktan gelmişlerse, herhangi bir davranış farkı soylarının genetik farklılığına bağlı olabilir. Örneğin, Badiani, Castellano, ve Oliverio (1991) Farelerde oluşturulmuş farklı doğal ırkların strese farklı tepkiler verdiğini buldu. Farelerdeki farklı tipdeki stres tepkilerinin, nörotransmitter işleyişinde genetik farklılıklar ile açıklandığını

Bir diğer önemli hayvan araştırma tekniği de benzer hayvanların birçok nesiller boyunca çiftleşmiş olduğu seçici üreme tekniğidir. Eğer benzer genlere sahip olan hayvanların çiftleşmesine devam edilirse, sonunda orijinal nüfustan farklı hayvan soyları elde edilir.

Wimer ve Wimer (1985) aktivite, öğrenme, duygusallık, saldırganlık, ve hatta alkol tercihini içeren seçici üretilmiş hayvan davranış türlerini gözlemlemişlerdir. Klasik bir seçici üretme çalışmasında da, Robert Tryon (1940) bir labirent içinde kendi yolunu bulabilen sıçanları seçerek gerçekleştirmiştir. Labirentde (parlak

labirent) kendi yolunu bulmada az hatalar yapan hayvanlar ve en çok hata yapan hayvanlar (donuk labirent) kendi aralarında çiftleştirildi. Yirmi bir nesile kadar en benzer yavrular çiftleştirilmeye devam edildi. Yedi kuşak sonra, Tryon sıçanlarda iki farklı genetik hat (parlak labirent ve donuk labirent) geliştirmiştir.

Başka bir klasik davranış genetik çalışması da Cooper ve Zubek (1958) tarafından yapılmıştır. Kendi deneyleri için, onlar seçici üretilen parlak labirent grubundan ve donuk labirent grubundan yetiştirilen fareleri kullanmışlardır. Parlak ve mat labirentlerinin fareleri aynı ortamlarda yetiştirilmiş olduğundan, iki grup arasındaki fark sadece kalıtıma atfedilebilir.

Cooper ve Zubek her iki grupta sıçanları kısıtlı bir ortamda (gri duvarları boş bir kafes içinde) veya rampalar, aynalar, tüneller salıncaklar, topları, slaytlar gibi nesneler bulunan duvarları üzerinde tasarımları ile bir kafeste zengin bir öğrenme ortamı yerleştirmişlerdir. Kısıtlı ortamlarda zaman geçirdiklerinde, donuk sıçanlar beklendiği gibi birçok hata yaptı, ama parlak sıçanlar da birçok hata yaptı. Zenginleştirilmiş ortamda geçirilen zamanda her iki grup da çok daha az hata yapmıştır. Genotiplerin değişmemesine rağmen çevrenin değişmesiyle davranışların değiştiği açıktı. Cooper ve Zubek bu çalışma sonuçları ile kalıtım ve çevrenin her zaman nihai davranışın oluşumunda etkileşim haline olduklarını savundu.

Weiss JM ve arkadaşları (1998) sıçanlarda yüzme testinde düşük motor aktivitenin depresyon benzeri davranışı temsil ettiğini kabul etmiş ve Sprague Dawley Albino sıçanlardan düşük motor aktivite gösterenlerden seçici bir soy üretmişlerdir. Aynı şekilde yüksek motor aktivite gösteren sıçanlardan da seçici bir soy üretmişlerdir. Bunları seçerken 15 dakikalık yüzme testi kullanmışlardır. Düşük motor aktivitesi olan sıçanların diğerlerine göre daha az hareket ettiğini ve daha fazla su yüzeyinde kaldıklarını görmüşlerdir. Yüksek motor aktivite gösteren sıçanlarda ise bu durumun tam tersi olduğunu gözlemlemişlerdir. Düşük motor aktiviteli sıçanların sekizinci ile onbirinci nesillerine antidepresan ilaçları uzun süreli uygulamışlar ve düşük motor aktiviteli sıçanların yüzme etkinliğini artırdığını tespit etmişlerdir (145).

Seçici üretme, depresyon etyolojisindeki reseptörlerin duyarlılığına göre de yapılabilmektedir. Overstreet ve arkadaşları (2005), depresyonda kolinerjik ve noradrenerjik dengedeki bozulma olduğu hipotezi üzerinden muskarinik kolinerjik agoniste termik yanıtı artmış olan sıçanların seçici üretimi ile "Flinders Sensitive Line"(FSL) modelini kullanmışlardır. FSL sıçanlarda yine yüzme testiyle antidepresanların hareketsizlik durumunu azalttığını göstermişlerdir. FSL sıçan modeliyle depresyonun bazı davranışsal nörokimyasal ve farmakolojik özelliklerini gösterdiklerini düşünmüşlerdir (146).

Sıçanlarda seçici soy araştırmaları alkolün kötüye kullanımı ve alkolizmin nedenlerinin araştırılmasında da temel modellerden olmuştur. Murphy JM ve arkadaşları (2002) sıçanlarda alkol tüketiminin genetik etkilerini yüksek ve düşük alkol tercihiye göre seçici soy üreterek incelemişlerdir. Kendi tercihiyle alkol tüketen ve yüksek alkol alan sıçanlar etanolün uyarıcı etkilerine karşı geliştirilmiş bir cevap vermemişler fakat etanolün tiksindirici ve sedatif etkilerine karşı duyarlılıklarında azalma olduğunu göstermişlerdir. (147).

Nesil ve arkadaşlarının (2013) Sprague Dawley sıçan üzerinde yaptığı bir çalışmada 9 kuşaktır kendi tercihleriyle nikotin alan fareler seçilmiştir. Sıçanların nikotin kullanımlarını yüksek orta ve düşük olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Yapılan analizlerde bağımlı değişken olarak 3 hafta boyunca nikotin kullanımını, bağımsız değişken olarakta nesiller ve nikotin tercihlerini aldıklarında nesil ve nikotin tercihinin önemli bir etkileşim içerisinde olduğunu göstermişlerdir. Ortalama nikotin kullanımını bağımlı değişken olarak aldıklarında ve nesilleri faktör olarak değerlendirdiklerinde ise yüksek ve düşük nikotin tercih eden kuşaklar arasında anlamlı bir fark olduğunu göstermişlerdir (148).

GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Deneylerde ‘Nikotin Bağımlılığına direnci ve yatkınlığı olan sıçan soylarının oluşturulması’ adlı projeye ait olan Dişi ve erkek Sprague Dawley sıçanlar, kullanılmıştır. Bu proje kapsamında 11 nesildir sıçanlar, Ege Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında, nikotin tüketim miktarlarına bakılarak çiftleştirilmiştir. Elde edilen yavrular, standart laboratuvar koşulları altında (20-22 °C; 12-12 saat ışık-karanlık döngüsü), serbest beslenme rejiminde, aynı koşullar altında büyütülmüştür. 11 nesil erişkin sıçanlar deneylerde kullanılmıştır.

Sunulan tez çalışmasında kullanılan deney protokolleri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulunca onaylanmış olup (bu tez projesi için etik onayda değişiklik istenmiştir), deney hayvanlarının maruz bırakıldıkları tüm işlemler Avrupa Birliği Konseyi Direktifleri (86/609/EEC) ile uyumludur.

3.2. Deney Deseni

Tez çalışması deney deseninde 10 nesile ulaşan sıçan soyları kontrolleri ile birlikte üretime konulacak oluşan yavrular anne babalarına göre çok nikotin tüketen ve az nikotin tüketenler olarak cinsiyetleri de dikkate alınarak gruplanmıştır.

Deneyler grupları nikotin tercih eden dişi, nikotin tercih eden erkek, nikotin tercih etmeyen dişi, nikotin tercih etmeyen erkek, kontrol dişi ve kontrol erkek olmak üzere toplam 6 gruptur. 3 ayını dolduran yavrular öncelikle handling yapılarak stres değişkeninin etkileri elimine edilmeye çalışılmıştır, sonra spontan lokomotor aktivite deneylerine alınmıştır. 1 hafta dinlendirilen sıçanlara daha sonra su tankında yer öğrenme deneyleri uygulanmıştır. Morris su tankında Mc Donalds ve White tarafından geliştirilen Kanıt ve ark. tarafından modifiye edilen 13 günlük protokol uygulanmıştır. Çalışmanın üçüncü basamağında ise, CPP protokolü kullanılarak nikotin tercihinin CPP’deki etkisi araştırılmıştır.

Tablo 2. Deney günleri

Handling	LMA	-	Su Tankı	-	CPP
2 Hafta	2 gün	1 hafta	2 hafta	1 Hafta	5 gün

3.3. Deney Protokolleri

3.3.1. (Handling) Ele İnsana Alıştırma Prosedürü

Handling kelime anlamıyla elde tutma ya da ele insana alıştırma anlamına gelmektedir. Handling'in amacı: deney hayvanının, araştırmacının kendisine her dokunuşunu bir stres olarak algılamamasını sağlamaktır. Deneyin güvenilirliği açısından stresle ilgili değişkenlerin ortadan kaldırılması davranışsal parametrelerdeki stress etkisinin azalması için ele insana alıştırma deneyin önemli bir prosedürüdür

. Handling'in uygulaması

Handlingte ilk günlerde sadece 1 dakika kadar elde tutmak veya 15-20 sn süreli birkaç defa ele alıp bırakmak suretiyle alıştırılmaya çalışılmıştır.. 5-7 günlük bir zaman dilimi içinde bu bir dakikalık süre 5-10 dakikaya kadar çıkarılmış. 2-3 gün bu şekilde devam edilerek toplam 10-15 günlük bir süre içinde üst düzeyde bir handling sağlanmaya çalışılmıştır. Handlingin yeterli yapıp yapılmadığını anlamak için, hayvan ele alındığında hiçbir stres göstergesi olmayana kadar yapılmaya devam edilmiştir. Sıçanın strese girdiğini; huzursuz ve agresif görüntü, ele alındığında idrar ve gayta yapma, kuyruğu ya da tüyleri dikleştirilmesi, ses çıkarması, elden kaçmaya çabalaması, nefes alma sıklığının artması, kalp atım hızının artması, kaslarda gerginlik ve ısırma çabası içinde olması ile stres düzeyi anlaşılmaya çalışılmıştır. Ele alınıp oradan koltuk altında bir süre tutularak kalp ritmi yavaşlayana stres tepkisi vermeyene kadar alıştırmalara devam edilmiştir.

3.3.2. Lokomotor aktivite protokolü

Lokomotor aktivite sıçanlarda basit ve kolay uygulanabilir bir davranış ölçüsüdür. Deneylerin gerçekleştirildiği oda davranış çalışmalarının genel prensiplerine uygun biçimde düzenlenmiştir. Dışarıdan ses girişi engellenecek biçimde çift kapıyla izole edilmiştir ve deney süresince odaya düşük volümde gürültü (white noise) uygulanmıştır. Her düzeneğin üzerindeki 25W gücündeki ampullerle, tüm kompartmanların eşit aydınlanması sağlanmıştır.

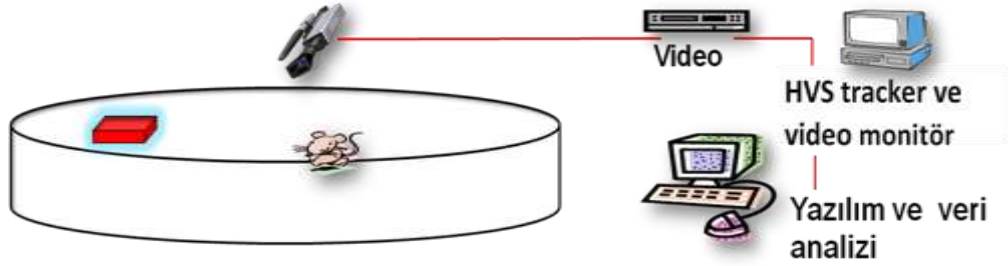
Deneylerin gerçekleştirildiği her bir bölme, bir lokomotor aktivitenin ölçüldüğü çıkarılabilir, havalandırma için delinmiş bir plastik kapağı olan akrilik plastik kutudan (40 cm x 40 cm L G x 30 cm Y) oluşmaktadır. Kutulara aktiviteyi fotosel ışınların kırılması ile tespit eden izleme sistemi yerleştirilmiştir. Aynı kenardaki 2 fotoselin ya da aynı fotoselin ard arda kesilmesi tekrarlayan hareket farklı taraflardaki fotosellerin kesilmesi ise kafes geçişi olarak kaydedilmiştir. Bilgisayar kayıt sistemi Commat şirketi tarafından özel imalat olarak yapılmıştır. Her hayvana ait 30 dakikalık tekrar hareketlerin ve kafes geçişlerinin toplamı istatistiklerde kullanılmıştır.

3.3.3. Morris Su Tankı yer öğrenme protokolü

Sıçanlar ve farelerde bilişsel fonksiyonların test edilmesinde su tankı yer öğrenme deneyleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Su tankına yerleştirilen “görünür” ve “gizli” platform ile sıçanların öğrenme ve bellek aktiviteleri değerlendirilmektedir. Ayrıca, klasik su tankı protokolü değiştirilerek kemirgen hayvanların problem çözmede kullandıkları farklı stratejiler incelenebilir.

Yer öğrenme deneyleri 130 cm çapında ve 75 cm yüksekliğindeki metal havuzda gerçekleştirilmiştir. Havuz, deneyler başlamadan önce su ile 45 cm yüksekliğine kadar doldurulmuş ve toksik olmayan koyu sarı boya ile renklendirilmiştir. Her gün deneylere başlamadan önce su 22°C'ye ısıtılmıştır. Deneylerde görünür ve gizli platform kullanılmıştır. Kullanılan platform 15 x 15 boyutlarında olup görünür durumda iken havuz su seviyesinin 2 cm üzerinde, gizli konumda iken su seviyesinin 2 cm altında bulunması sağlanmıştır. Su tankı dört farklı sanal kadrana ayrılmıştır: Kuzey (K), Güney(G), Doğu(D), Batı (B). Havuzda Güney kadranı olarak adlandırılan bölümün 20 cm Kuzeyine platform sabitlenmiştir. Her hayvan her gün dört farklı yönde suya bırakılmıştır. Salma noktalarının sırlanışı her gün farklı olacak şekilde ayarlanarak deneyler başlamadan önce bilgisayar programında kodlanmıştır (1. gün GBDK, 2.gün BDKG, 3.gün DGKB, 4.gün KGBD... 13. gün KBDG) Deneyler, bir kamera ve VCR kullanılarak kayıt edilmiş ve monitörden izlenmiştir. Kamera çıkışı “tracker” (HVS, image, UK)

tarafından kayıt edilmiş ve “HVS-Water Software” kullanılarak bilgisayarda analiz edilmiştir (Şekil 9).



Şekil.9. Morris su tankı yer öğrenme düzeneği

Yer öğrenme deneylerinde Kanıt ve arkadaşlarının (1998) oluşturduğu protokol kullanılmıştır. Protokol 13 günlüktür. Protokolün ilk 12 gününde platform yeri sabit tutulurken, 13. gün (prob deneme) platformun yeri değiştirilmiştir ve görünür durumdadır. Öğrenmenin ilk 12 günlük edinim sürecinde platform, 1-3, 5-7, 9-11 günlerde görünür konumda iken 4., 8., ve 12. günlerde gizli konumda kullanılmıştır. Bu sistemle sıçanların hem görsel hem de spasyal ipucu kullanarak platformun yerini bulmaları sağlanmıştır (**Tablo 2**).

Tablo 3. Deney günlerinde platform durumu

GÜN	PLATFORM
1-2-3	Görünür
4	Gizli
5-6-7	Görünür
8	Gizli
9-10-11	Görünür
12	Gizli
13 (PROB)	Yeni yerleşimli görünür

Deneyler süresince tüm hayvanlar deney odasında tutulmuştur. İlk gün hayvan, sistem ve ortam koşullarını tanınması için, salış öncesinde platform üzerinde 15 saniye süresince bekletilmiştir. Süre sonunda önceden belirlenmiş olan kadrandan salınmıştır. Sıçanın platformu bulması için 30 sn süre verilmiştir. Verilen süre içinde eğer sıçan platformu bulamamış ise, platformu bulmasına yardım edilmiştir. Platforma çıkan sıçanların burada 15 sn kalmasına izin verilmiştir.

Aynı sıçan için iki salış arasında en az 20 dk süre verilmiştir. Bu süre zarfında diğer deney gruplarının ilk salışları yapılır. Bu düzende her gün her hayvan farklı kadranslardan dört kez salınarak davanışı kaydedilmiştir. Deneyler süresince nikotin/su şişeleri kafeslerden çıkarılmıştır.

13. gün (prob günü) platformun yeri değiştirilir ve görünür duruma getirilir. Yapılan bu değişim ile sıçanların görsel ipucunu mu yoksa spasyal ipucunu mu kullanarak platform yerini buldukları incelenmiştir. Prob gününde deneklerin platformu bulmaları için verilen süre 30 saniyedir. MWM’da kullanılan “video tracking” sistemi ile her bir deneğin yüzme hızı, platformu bulmak için izlediği yol ve platforma ulaşma süreleri prob günü ise ek olarak eski kadranda geçirdiği zaman ve aldığı yol kayıt edilmiştir. Elde edilen kayıtlar, bilgisayardaki yazılım ile Excel dosya formatına çevrilerek deney ve kontrol grupları karşılaştırılmıştır.

3.3.4. Şartlı yer tercihi protokolü

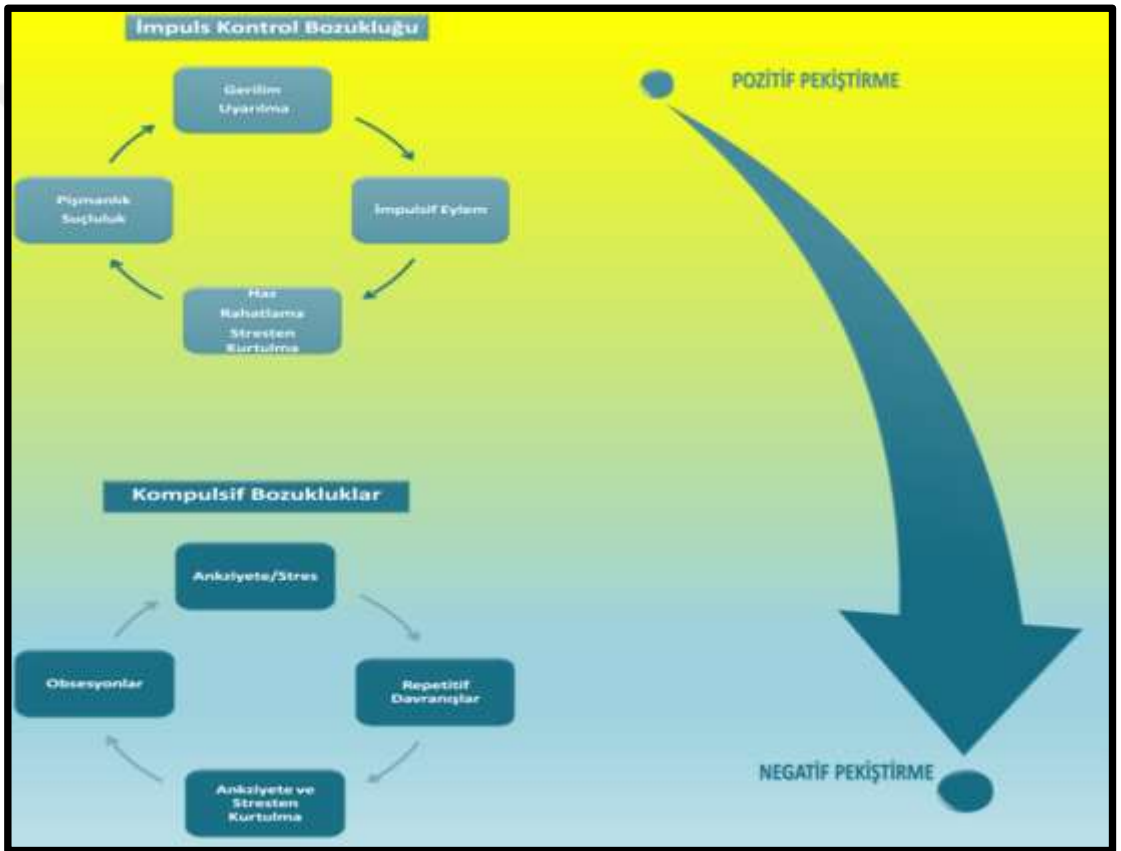
CPP paradigması bağımlılık araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. CPP paradigması (CPP) Pavlov tipi öğrenmeye bağlı olarak gerçekleşen ve sıçanlar üzerinde maddelerin ödül etkilerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir metottur (149-153).



Şekil.10. Şartlı Yer Tercihi Kutu Düzeneği

Deneylerin gerçekleştirildiği oda davranış çalışmalarının genel prensiplerine uygun biçimde düzenlenmiştir. Dışarıdan ses girişi engellenecek biçimde çift kapıyla izole edilmiştir ve deney süresince odaya düşük volümde gürültü (white noise) uygulanmıştır. Her düzeneğin üzerindeki 25W gücündeki ampullerle, tüm kompartmanların eşit aydınlanması sağlanmıştır (Şekil 11).

biyolojik çevrede meydana gelen kompanse edici değişimler, zaman içinde maddenin tekrar tekrar kullanılması ile daha da gelişir. Meydana gelen kompensasyonlar, toleransın temelini oluşturur ve maddenin tekrarlayan alımları sonrasında madde etkisi zayıflamaya başlar. Maddeyi kullanan birey aynı etkiyi hissetmek için madde kullanımını artırır: maddeyi daha sık veya yüksek dozda kullanmaya başlar. Bağımlılığın pozitif pekiştirme modelinde ise, alınan madde kullanan bireyde huzur, rahatlama ve keyif gibi pozitif duygular oluşur. Hissedilen pozitif duygudurum nedeniyle bireyde pozitif pekiştirme olur (Şekil 1).

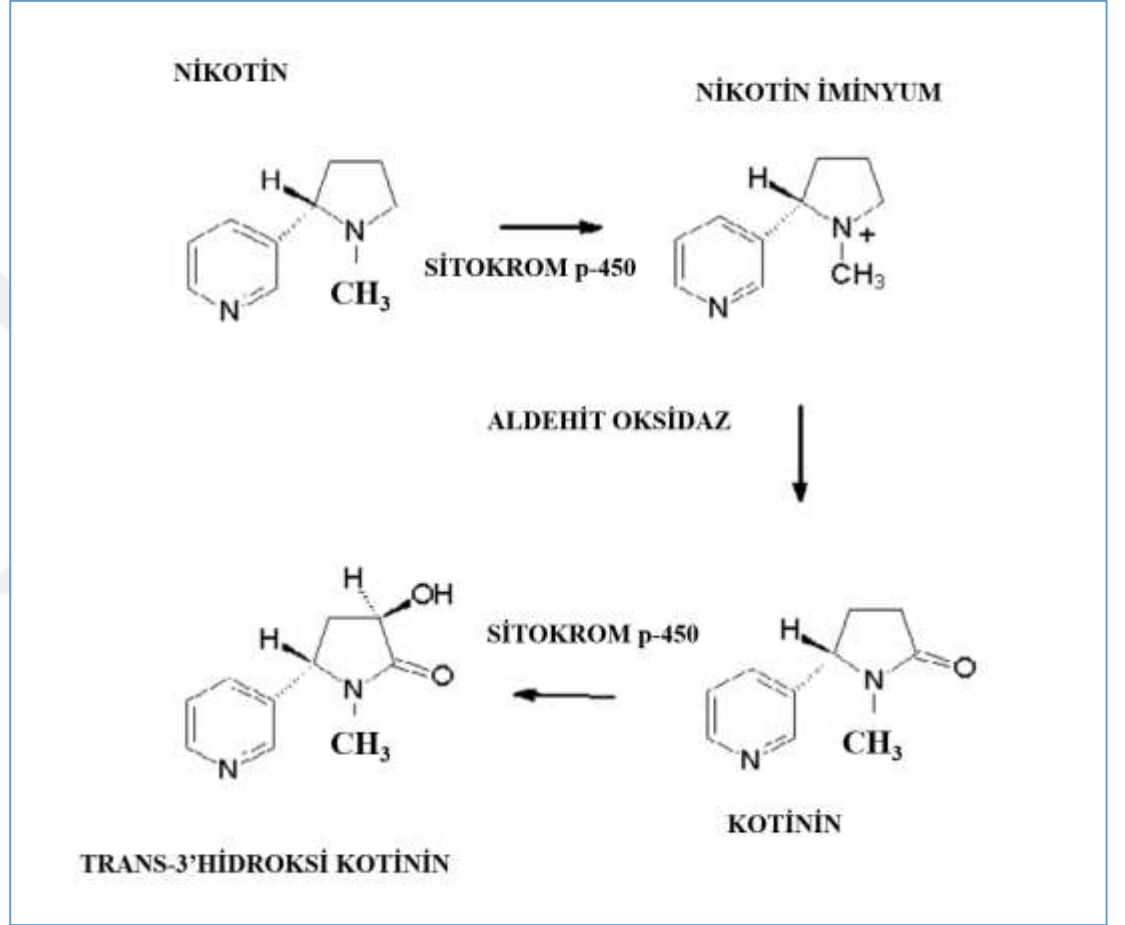


Şekil.1. Madde bağımlılığında pozitif pekiştirmeden negatif pekiştirmeye geçiş sürecinin olası modeli

Literatürde yaygın olarak kabul edilen ve Wise tarafından 1987 yılında ortaya atılan bağımlılık modeli ise “ *bağımlılığının mezolimbik dopamin ödül kuramı*” dır (18). Bu kurama göre, bağımlılık oluşturan maddeler orta beyin dopaminerjik nöronlarının aktivasyonunu değiştirerek maddenin ödül etkisinin ortaya çıkmasını

nikotinin insektisit etkisi de asetil kolin reseptörlerinin bloke edilmesinden kaynaklanmaktadır (34).

İnsanlarda, nikotinin yaklaşık %70-80'i kotinine dönüşmektedir. Bu dönüşüm iki aşamada olmaktadır. İlk aşamada nikotin, sitokrom p-450 (CYP) enzim sistemi ile nikotin iminyum iyonuna, ikinci aşamada ise aldehit oksidaz ile kotinine dönüşmektedir (36).

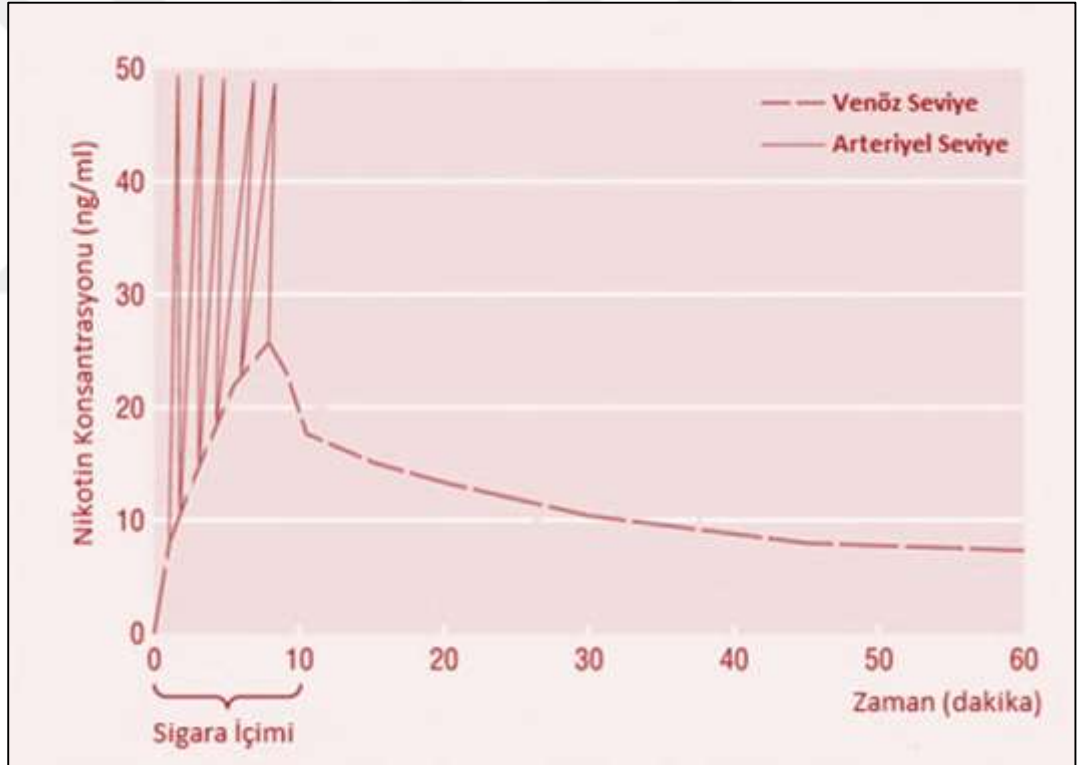


Şekil.3. Nikotin metabolizması (37)

Oluşan kotinin; nikotinin ana metaboliti olup, hem aktif hemde pasif içicilerde sigaranın etkisinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Kotinin; kotinylglukuronid, 3-hidroksi kotinin ve 3-hidroksi kotinin glukuronide metabolize olabilmekte ve %10'u değişmeden idrarla atılmaktadır. Plazma total kotininin konsantrasyonunu hesaplarken, bu dört metabolit toplanmaktadır (38). Kotininin

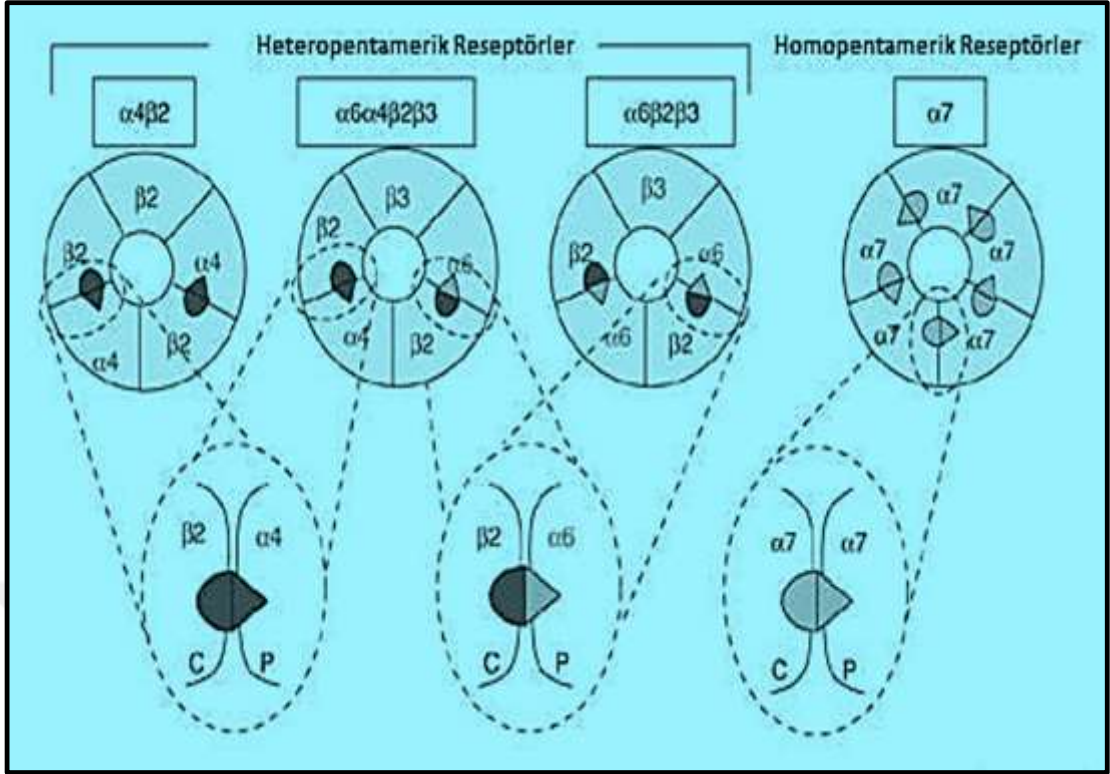
yarı ömrü nikotinden daha uzun olup, kan dolaşımında kalma süresi 48-96 saat'tir. Nikotine göre, kan kotinin düzeyi daha etkili olduğundan dolayı nikotin etkisinin bir göstergesi olarak kotinin kabul edilmektedir. Yine kan ve tükürükte de kotinin tespit etmek mümkün olmaktadır (39).

İnhale edilen sigara dumanı küçük havayollarından ve alveollerden hızla absorbe olur. Absorbsiyonu takiben kan dolaşımına giren nikotin dokulara ulaşır. Nikotin beyne 7-20 saniyede gelir. Sigaradan çekilen her bir nefes arteriyal nikotin konsantrasyonunu hızla artırır. Venöz nikotin konsantrasyonu daha yavaş bir artış gösterir (Şekil 4). Beyin ve plazma nikotin düzeyi, nikotin periferik dokulara dağılımı ile düşer (40).



Şekil.4. Tek sigara içimi sırasında ve bir saatlik sürede arteriyel ve venöz nikotin düzey değişimi (41)

Sigara içenlerde gündüz plazma nikotin konsantrasyonu genellikle 20-40 ng/mL düzeylerinde seyrederek (42). Ortalama bir sigara 6-11 mg nikotin içerir. Bir



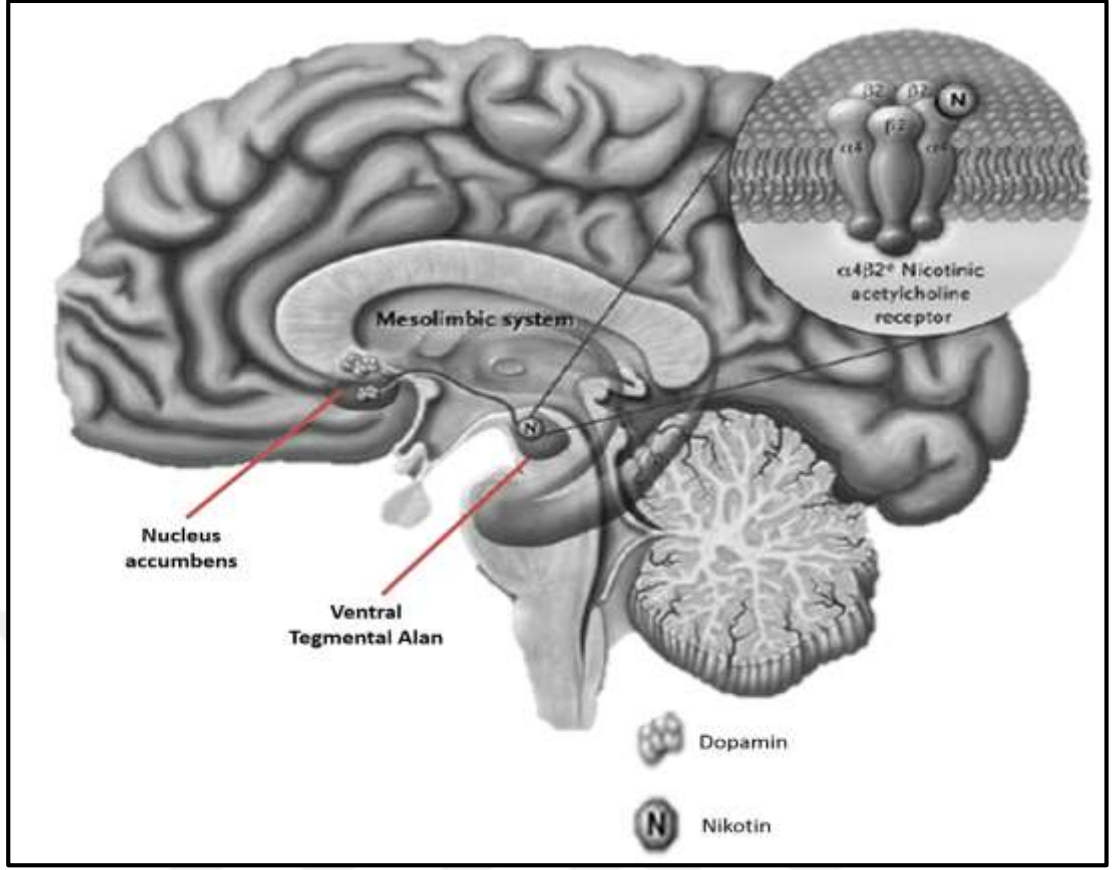
Şekil.5. nAChR tiplerinin oluşumunda alt birimlerin farklı dizilimlerde bir araya gelmesi (47)

Kanal-reseptör kompleksini tamamlayan 5 alt birimin çeşitliliği nedeniyle nAChR'lerinin tanımlanmış ve henüz tanımlanmamış çok sayıda alt tipi vardır. Alt birimlerin birleşme çeşitliliği, reseptör alt tiplerinde işlevsel ve farmakolojik farklılıklara neden olur. Ancak bazı temel özellikler tüm nAChR'lerinde ortaktır. Örneğin bütün nAChR'leri için üç farklı fonksiyonel durum vardır:

- Dinlenim durumunda kapalı
- Por açık
- Desensitize durumda kapalı

Yüksek konsantrasyonda nörotransmitterle (ACh) kısa süreli karşılaşma katyon seçici porun açılmasına neden olur. Por, Na^+ , K^+ ve Ca^{++} iyonlarına geçirgendir. Por birkaç milisaniye açık kalır, sonra kendiliğinden kapanır. Sigara kullanımıyla düşük dozda ve zamana yayılmış şekilde alınan nikotin, reseptör üzerinde önce kısa süreli bir aktivasyona (1-2 dakika), ardından belirgin bir desensitizasyona neden olur. Desensitizasyon periyodunda por kapalı konumdadır. Reseptör, ortamda agonist olsa bile yanıt vermez (48).

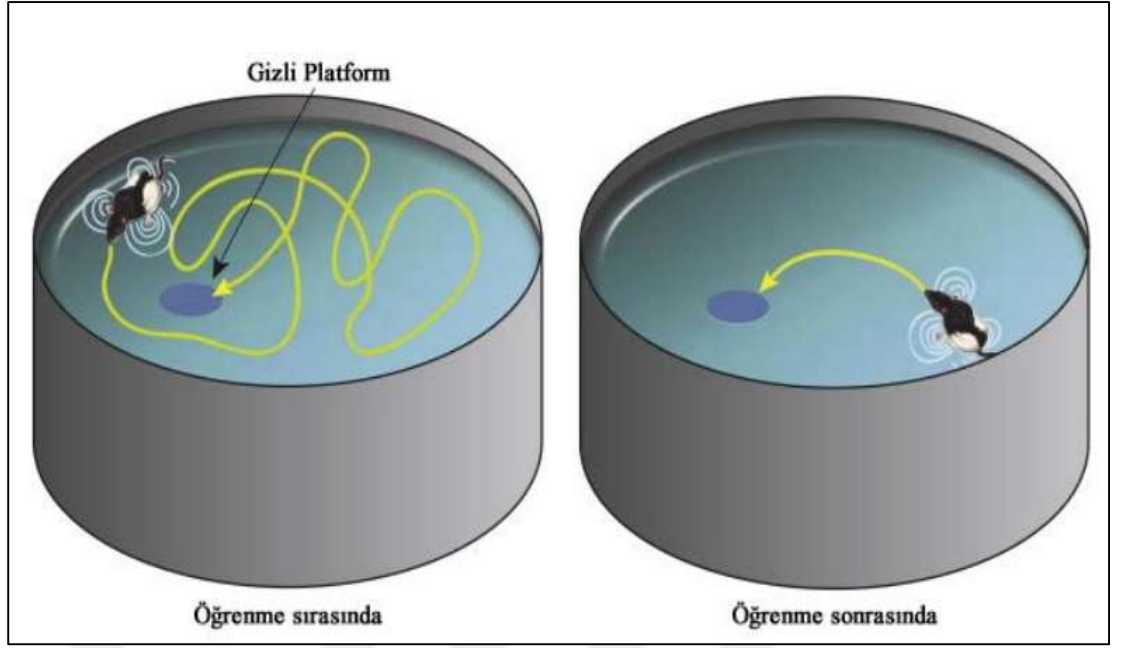
Farklı katyon geçirgenlikleri ve agonist duyarlılıkları olan nAChR alt tipleri,



Şekil.6. Ventral Tegmental Alan'dan Nucleus Accumbens'e projekte olan dopaminerjik nöronlar ve üzerlerindeki $\alpha 4\beta 2$ nikotinik asetil kolin reseptörleri (41)

$\alpha 4\beta 2$ nAChR'leri, yüksek nikotin affinitelerinin yanısıra çok hızlı bir desensitizasyon kinetiğine sahiptirler. Reseptörler aktivasyon sonrası 1-2 dakikada desensitize olur. Ancak sigara içimini takiben NAcc'deki DA konsantrasyonu bir saat kadar yüksek seviyede seyrederek (57). Bu olay “uzun dönem potensiyalizasyon” (LTP) ile uyumludur. VTA'dan NAcc'e projekte olan dopaminerjik liflerin 1-2 dakikalık hızlı ateşlemeleri LTP oluşumu için yeterli değildir.

Bu olayda VTA'da yerleşmiş ve NAcc'den VTA'a projekte olan GABAerjik nöronların rolü gösterilmiştir. Normal koşullarda GABAerjik nöronlar mezolimbik dopaminerjik nöronlar üzerinde tonik inhibisyon yaparak dopaminerjik aktiviteyi kontrol altında tutar (49, 58). GABAerjik nöronların üzerinde dopaminerjik nöronlarda olduğu gibi $\alpha 4\beta 2$ nAChR'leri bulunur. Nikotin uygulaması bu reseptörleri de birkaç dakika içerisinde desensitize eder. Desensitize reseptörler Ach'e cevap vermez. Böylece nikotin, GABAerjik nöronların dopaminerjik sistem üzerindeki tonik inhibisyonunu kaldırır (59).



Şekil.8. Morris Su Tankı Testi'nin şematik olarak gösterimi (134)

Sıçanlarda Morris su labirenti mekansal hafıza testi olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan birçok çalışmada yaşlı sıçanlar bu deneyi öğrenmekte genç kontrollere göre yetersizdir (137). Bu durum yaşlanma ile oluşan mekansal hafıza bozukluğuna atfedilmektedir. Hem gönüllü hem de zorunlu egzersiz uygulamalarının Morris su labirenti, Y-labirent, T-labirent ve ışınal kollu labirent testlerinde mekansal belleği geliştirdiği gösterilmiştir. Egzersiz ile pasif kaçınma, öğrenme ve yeni nesne tanıma gibi sınırlı hareket gerektiren hipokampus bağımlı testlerde de daha iyi bir performans sağlanmıştır (138). Dahası yükseltilmiş labirent testinde hipokampüse bağımlı olmayan anksiyete ilişkili davranışlar da gönüllü veya zorunlu egzersizden yarar görmektedir (139).

2.4. Bağımlılık çalışmaları içerisinde şartlı yer tercihi

Bağımlılığın incelendiği prelinik çalışmalarda değişik deney hayvanı modelleri kullanılmaktadır. Şartlı Yer Tercihi (*Conditioned Place Preference, CPP*) bunlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Pavlovyan şartlama temeline dayanan bu çalışma metodu, maddelerin bağımlılık yapıcı etkisi ile ortam arasında kurulan

GEREÇLER VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Deneylerde ‘Nikotin Bağımlılığına direnci ve yatkınlığı olan sıçan soylarının oluşturulması’ adlı projeye ait olan Dişi ve erkek Sprague Dawley sıçanlar, kullanılmıştır. Bu proje kapsamında 11 nesildir sıçanlar, Ege Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında, nikotin tüketim miktarlarına bakılarak çiftleştirilmiştir. Elde edilen yavrular, standart laboratuvar koşulları altında (20-22 °C; 12-12 saat ışık-karanlık döngüsü), serbest beslenme rejiminde, aynı koşullar altında büyütülmüştür. 11 nesil erişkin sıçanlar deneylerde kullanılmıştır.

Sunulan tez çalışmasında kullanılan deney protokolleri Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulunca onaylanmış olup (bu tez projesi için etik onayda değişiklik istenmiştir), deney hayvanlarının maruz bırakıldıkları tüm işlemler Avrupa Birliği Konseyi Direktifleri (86/609/EEC) ile uyumludur.

3.2. Deney Deseni

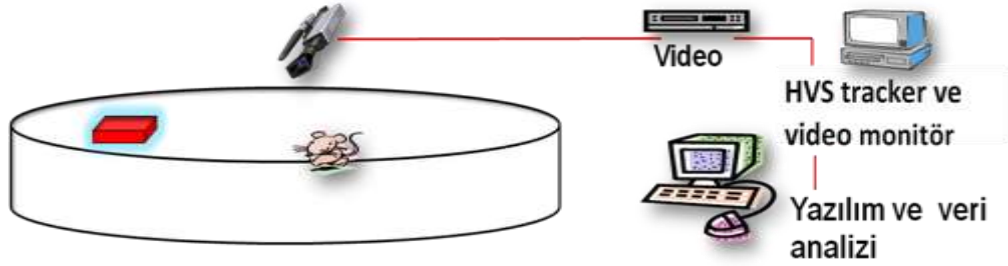
Tez çalışması deney deseninde 10 nesile ulaşan sıçan soyları kontrolleri ile birlikte üretime konulacak oluşan yavrular anne babalarına göre çok nikotin tüketen ve az nikotin tüketenler olarak cinsiyetleri de dikkate alınarak gruplanmıştır.

Deneyler grupları nikotin tercih eden dişi, nikotin tercih eden erkek, nikotin tercih etmeyen dişi, nikotin tercih etmeyen erkek, kontrol dişi ve kontrol erkek olmak üzere toplam 6 gruptur. 3 ayını dolduran yavrular öncelikle handling yapılarak stres değişkeninin etkileri elimine edilmeye çalışılmıştır, sonra spontan lokomotor aktivite deneylerine alınmıştır. 1 hafta dinlendirilen sıçanlara daha sonra su tankında yer öğrenme deneyleri uygulanmıştır. Morris su tankında Mc Donalds ve White tarafından geliştirilen Kanıt ve ark. tarafından modifiye edilen 13 günlük protokol uygulanmıştır. Çalışmanın üçüncü basamağında ise, CPP protokolü kullanılarak nikotin tercihinin CPP’deki etkisi araştırılmıştır.

Tablo 2. Deney günleri

Handling	LMA	-	Su Tankı	-	CPP
2 Hafta	2 gün	1 hafta	2 hafta	1 Hafta	5 gün

tarafından kayıt edilmiş ve “HVS-Water Software” kullanılarak bilgisayarda analiz edilmiştir (Şekil 9).



Şekil.9. Morris su tankı yer öğrenme düzeneği

Yer öğrenme deneylerinde Kanıt ve arkadaşlarının (1998) oluşturduğu protokol kullanılmıştır. Protokol 13 günlüktür. Protokolün ilk 12 gününde platform yeri sabit tutulurken, 13. gün (prob deneme) platformun yeri değiştirilmiştir ve görünür durumdadır. Öğrenmenin ilk 12 günlük edinim sürecinde platform, 1-3, 5-7, 9-11 günlerde görünür konumda iken 4., 8., ve 12. günlerde gizli konumda kullanılmıştır. Bu sistemle sıçanların hem görsel hem de spasyal ipucu kullanarak platformun yerini bulmaları sağlanmıştır (**Tablo 2**).

3.3.4. Şartlı yer tercihi protokolü

CPP paradigması bağımlılık araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. CPP paradigması (CPP) Pavlov tipi öğrenmeye bağlı olarak gerçekleşen ve sıçanlar üzerinde maddelerin ödül etkilerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir metodtur (149-153).



Şekil.10. Şartlı Yer Tercihi Kutu Düzeneği

Deneylerin gerçekleştirildiği oda davranış çalışmalarının genel prensiplerine uygun biçimde düzenlenmiştir. Dışarıdan ses girişi engellenecek biçimde çift kapıyla izole edilmiştir ve deney süresince odaya düşük volümde gürültü (white noise) uygulanmıştır. Her düzeneğin üzerindeki 25W gücündeki ampullerle, tüm kompartmanların eşit aydınlanması sağlanmıştır (Şekil 11).



Şekil.11. Şartlı Yer Tercihi Davranış Odası

Deney hayvanlarının, düzeneklerin her bir bölmesinde geçirdikleri süreleri ölçmek ve kayıt almak için bir bilgisayar yazılımı (COMMAT, MAY-Place Preference) kullanılmıştır. Kutularda bulunan infrared algılayıcılar sıçanın varlığını saptamakta ve bu veriyi bilgisayara göndermektedir. Deneyin araştırmacının varlığından etkilenmemesi için bilgisayar ayrı bir odaya yerleştirilmiştir (Şekil 12).



Şekil.12. Şartlı Yer Tercihi Program Yazılımı

CPP çalışması 5 gün sürmektedir. Sabah (9:00 – 11:00) ve öğleden sonra (14:00 – 16:00) olmak üzere günde iki kez çalışılmaktadır.

İlk gün sabah, kutunun tanınması ve yer tercihlerinin belirlenmesi amacıyla, sıçanlar nötral kompartmandan CPP düzeneğine bırakılır ve giyotin kapılar açık

halde 30 dakika her üç bölmede dolaşmalarına olanak sağlanır. Bu seanstaki ölçümlerden sıçanın siyah ve beyaz kutular arasında yaptığı tercih belirlenir; bu aşamadan sonra nikotin ilk seansta tercih edilmeyen kompartmanla, serum fizyolojik ise tercih edilen tarafla eşleştirilir (**Tablo 3**).

Tablo 4. Şartlı Yer Tercihi Deney Protokolü

	SABAHA (09:00-11:00)	ÖĞLEDEN SONRA (14:00-16:00)
1. Gün	Başlangıç tercihinin belirlenmesi	Nikotin
2. Gün	SF	Nikotin
3. Gün	SF	Nikotin
4. Gün	SF	Nikotin
5. Gün	SF	Son tercihin belirlenmesi

Şartlama süresi 15 dakikadır ve seanslar boyunca giyotin kapılar kapalı durumdadır. Bu aşamada hayvanlar gruplarına uygun enjeksiyonları takiben eşleştirildikleri kutulara hemen yerleştirilirler ve ortamda 15 dakika geçirmeleri sağlanır.

Çalışmanın son günü öğleden sonra, ilk gün tercih belirlemede yapıldığı gibi tüm kapılar açık, 30 dakika süreyle kutularda geçirilen süreler kaydedilir. Sonuçlar değerlendirilirken, tüm kapıların açık olduğu durumda, tercih edilmeyen tarafta ilk gün ve son gün geçirilen süreler, toplam sürelerin yüzdesi olarak değerlendirilmeye alınır. Nötral bölmede geçirilen süreler de ayrıca, aynı şekilde değerlendirilir.

3.4. İstatiksel Analiz

Lokomotor aktivite deneylerinde kafes geçişleri ve tekrarlayan hareketler verilerine nikotin tercihi ve cinsiyetin faktör olarak kullanıldığı çok değişkenli varyans analizi, univariate ANOVA ve gerektiğinde post hoc Bonferonni testleri uygulanmıştır.

MWM yer öğrenme deneylerinin edinim döneminde elde edilen platforma ulaşma süreleri, platforma ulaşmak için alınan yol ve yüzme hızı verileri nikotin tercihi ve cinsiyetin faktör olarak alındığı tekrarlayan veriler için ANOVA ile araştırılmış; gruplar arası farkları belirlemek için Duncan's ve Bonferoni Post-hoc testler uygulanmıştır. 13. gün verileri ise tek yönlü ANOVA ve Post-hoc Bonferoni ve Duncan's testleri ile değerlendirilmiştir.

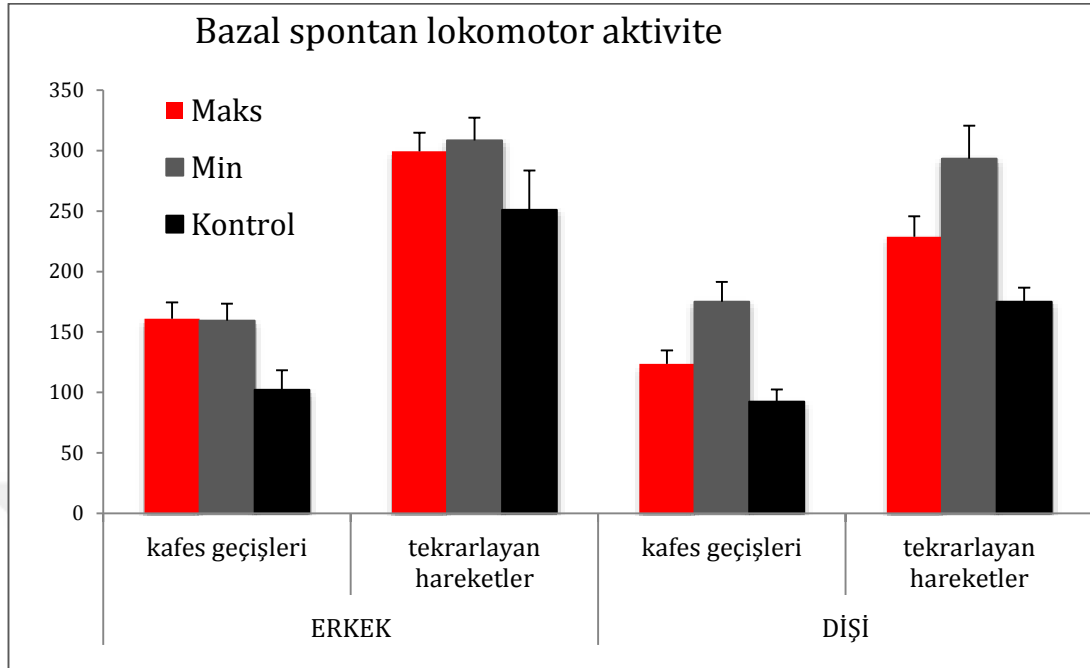
CPP deneylerinde tekrarlayan ANOVA analizi ile başlangıç ve final seansları denek içi (within subjects) olarak değerlendirilirken cinsiyet (dişi, erkek) ve uygulama (Deney 1: nikotin kontrol, SF kontrol, minimum, maksimum, Deney 2 ve 3: nikotin kontrol, minimum, maksimum) denekler arası faktörler olarak incelenmiştir.

Post hoc Bonferroni test sonrasında başlangıç ve final değerlerinin değerlendirilmesinde dişi ve erkekler için tek yönlü ANOVA ayrı ayrı uygulanmıştır. Her bir grupta başlangıç ve son değerleri arasındaki istatistiksel anlamlılığı belirlemek amacıyla *T*-testleri kullanılmıştır. Pearson korelasyon analizleri ise nikotin tüketimi ve CPP performanslarındaki korelasyon belirlenmesinde kullanılmıştır.

Tüm istatistiksel analizler için SPSS paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

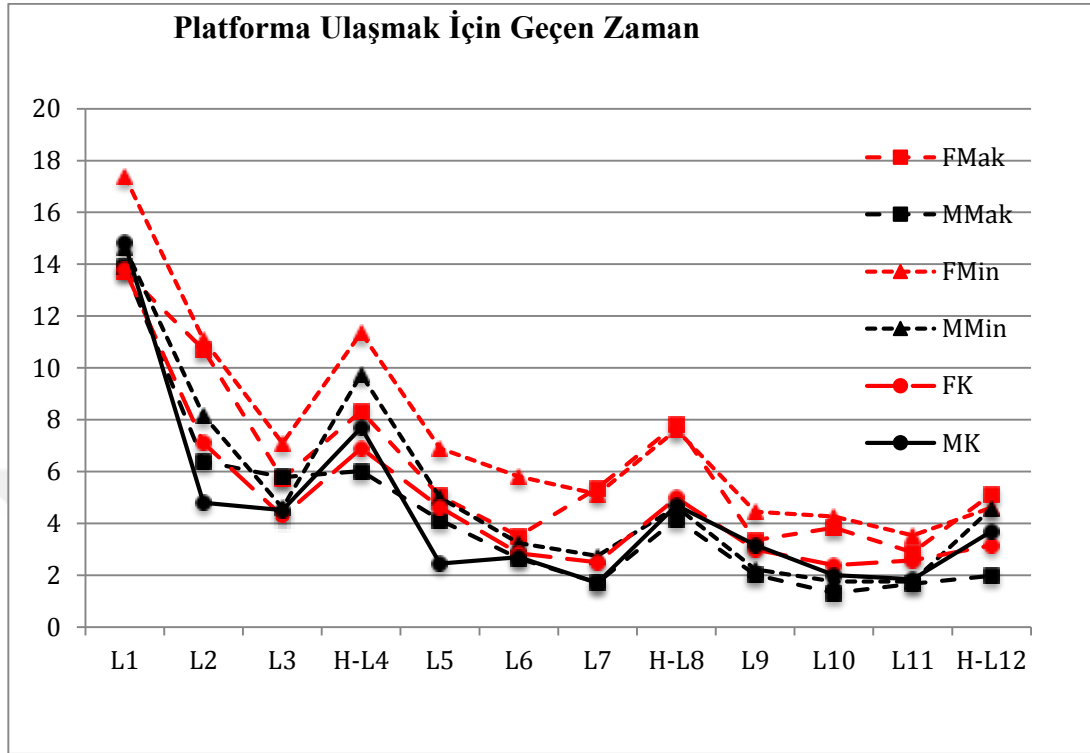
4.1. Spontan lokomotor aktivite değerlendirmeleri



Şekil.13.Bazal spontan lokomotor aktivite sonuçları

Deney hayvanları ailelerinin nikotin alımlarına göre maksimum ve minumun nikotin tercih gruplarına ayrıldıktan sonra kontrollerle birlikte hiç bir işlem yapılmadan spontan lokomotor aktiviteleri kaydedilmiştir (Şekil 13). Elde edilen veriler nikotin alımlarına göre istatistiğe alındığında kafes geiŐİlerinde ($F_{(2,46)}=12,967$, $p\leq 0.001$) ve tekrarlayan hareketlerde ($F_{(2,46)}=8,162$, $p\leq 0.001$) istatistiksel anlamlı farklılaşma görülmüştür. Cinsiyet farkları araŐtırıldıęında ise sadece tekrarlayan veriler de ($F_{(2,46)}=9,378$, $p\leq 0.001$) istatistiksel anlamlı farklılık gözlenmiştir. Posthoc Bonferoni testi ile yapılan değerlendirme de kafes geiŐİlerinde ($p\leq 0.001$) ve tekrarlayan hareketlerde ($p\leq 0.001$) minimumlar kontrollerden istatistiksel anlamlı farklı bulunmuŐlardır.

4.2. Su tankı yer öğrenme deneyleri

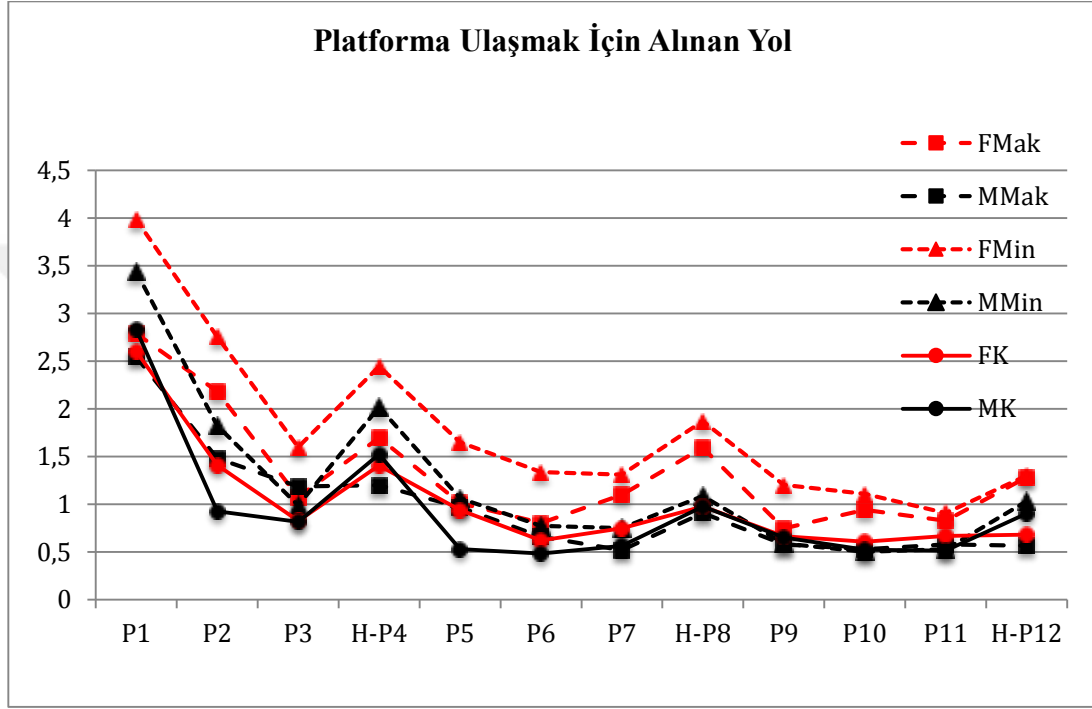


Şekil.14. Su tankında platforma ulaşmak için geçirilen süreler

Görünür platformun bulunduğu günlerde platforma ulaşmak için geçirilen zaman verilerine tekrarlayan değerler için Anova uygulandığında günlerin ($F_{(8,46)}=129,861$ $p \leq 0.001$) istatistiksel anlamlı olarak farklı olduğu bulunmuştur. Tüm hayvanlarımız ilerleyen günlerle platformu daha kısa sürede bulmuşlar yani su tankından kurtulmak için görünür platforma yüzmeleri gerektiğini öğrenmişlerdir. Aynı istatistikte cinsiyetin ($F_{(1,46)}=116,042$ $p \leq 0.001$) ve nikotin ($F_{(1,46)}=5,751$ $p \leq 0.006$) alımının da istatistiksel anlamlı olarak platforma ulaşma süresini etkilediği fakat nikotin alımı ile cinsiyet arasında bir etkileşim olmadığı görülmüştür (Şekil 14).

Aynı veriler 6 farklı grup olarak istatistiğe alındığında da grupların istatistiksel olarak birbirinden farklı ($F_{(5,46)}=6,426$ $p \leq 0.001$) olduğu ve post hoc Duncan's a ($p \leq 0.005$) göre nikotin alan dişilerin kontrolden ve erkeklerden farklı davranış sergilediğini göstermektedir.

Platformun suyun altında gizli olarak bulunduğu 4-8-12. günlerin verilerine benzer istatistik uygulandığında yine günlerin ($F_{(2,46)}=19,397$ $p\leq 0.001$) istatistiksel anlamlı olduğu, yani deney hayvanlarının gizli platformun yerini spasyal olarak bulmayı öğrendiğini göstermektedir. Platformun gizli olduğu günlerde cinsiyet ve nikotin alımı faktörlerinin platformu bulmaya anlamlı bir etkisi olmadığı da görülmüştür.



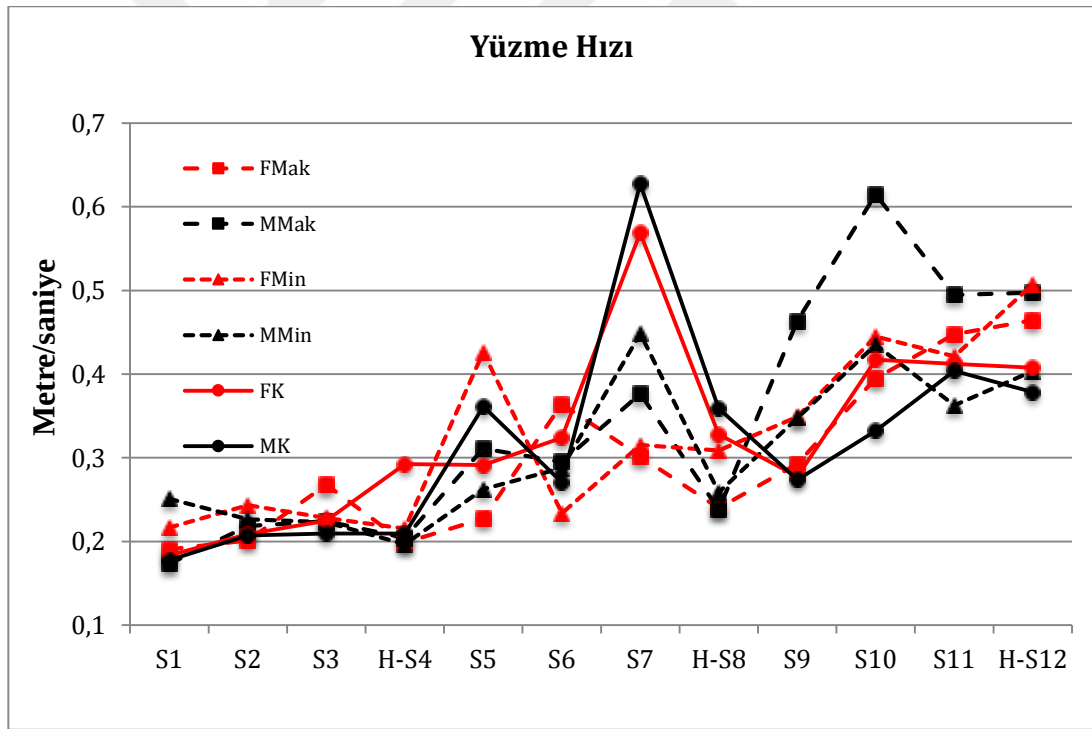
Şekil.15. Su tankında platforma ulaşmak için alınan yol

Görünür platformun bulunduğu günlerde platforma ulaşmak için alınan yol verilerine tekrarlayan değerler için Anova uygulandığında günlerin ($F_{(8,46)}=104,248$, $p\leq 0.001$) istatistiksel anlamlı olarak farklı olduğu bulunmuştur. Tüm hayvanlarımız ilerleyen günlerle platformu daha kısa mesafe yüzerek bulmuşlar yani su tankından kurtulmak için görünür platforma yüzmeleri gerektiğini öğrenmişlerdir. Aynı istatistikte, cinsiyetin ($F_{(1,46)}=24,876$, $p\leq 0.001$) ve nikotin ($F_{(2,46)}=20,150$, $p\leq 0.001$) alımının da istatistiksel anlamlı olarak platforma ulaşma süresini etkilediği ve nikotin alımı ile cinsiyet arasında bir etkileşim ($F_{(2,46)}=4,142$, $p=0.022$) olduğu da görülmüştür (Şekil 15). Yani cinsiyet ve nikotin alımı öğrenmeyi farklı şekillerde etkilemektedirler. Post hoc Duncan's la değerlendirildiğinde de deney hayvanlarının

nikotin alımlarına göre kontrol, minimum ve maksimum olarak gruplandırıldığı görülmüştür.

Aynı veriler 6 farklı grup olarak istatistiğe alındığında da grupların istatistiksel olarak birbirinden farklı ($F_{(5,46)}=14,936$, $p\leq 0.001$) olduğu ve post hoc Duncan's a ($p\leq 0.005$) göre nikotin alan dişilerin kontrolden farklı olarak bulunmuştur.

Platformun suyun altında gizli olarak bulunduğu 4-8-12. günlerin verilerine benzer istatistik uygulandığında yine günlerin ($F_{(2,46)}=14,701$, $p\leq 0.001$) istatistiksel olarak anlamlı olduğu, yani deney hayvanlarının gizli platformun yerini spasyal olarak bulmayı öğrendiğini göstermektedir. Platformun gizli olduğu günlerde platforma ulaşmak için alınan yol verisinde cinsiyet ($F_{(1,46)}=4,862$, $p=0.032$) ve nikotin alımı ($F_{(2,46)}=4,648$, $p=0.015$) faktörlerinin de istatistiksel anlamlı bir farklılaşma oluşturduğu ama aralarında bir etkileşim olmadığı da görülmüştür.

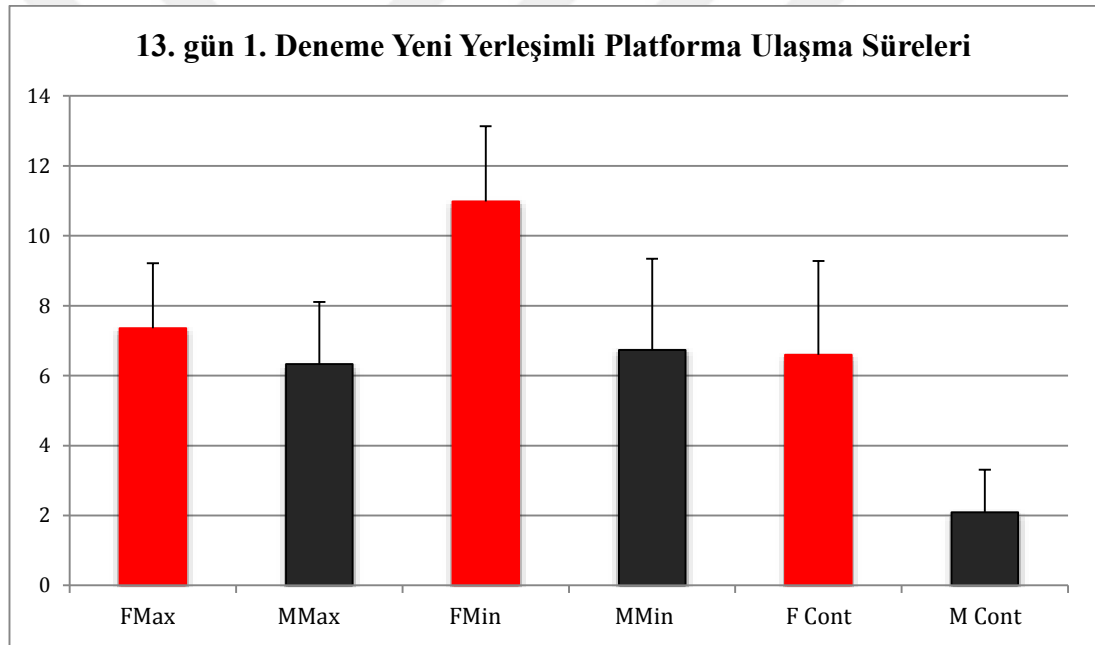


Şekil.16. Platforma ulaşmak için hareket eden hayvanların yüzme hızları

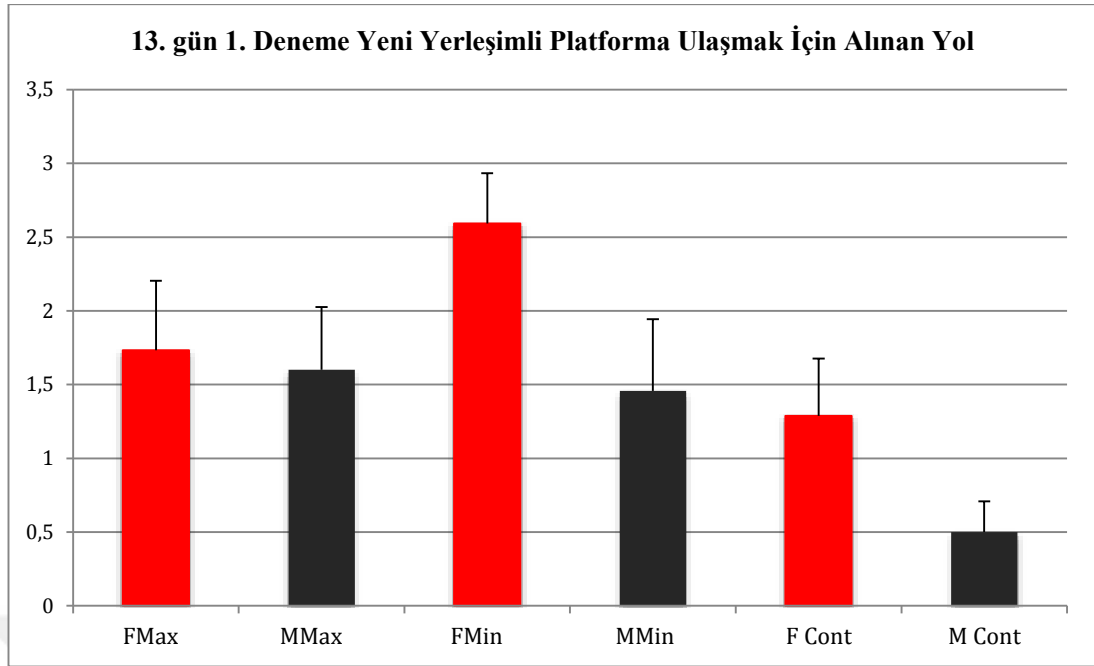
Görünür platformun bulunduğu günlerde platforma ulaşmak için hareket eden hayvanların yüzme hızları verilerine, faktör olarak günlerin alındığı tekrarlayan değerler için Anova uygulandığında günlerin ($F_{(8,46)}=16,239$, $p\leq 0.001$) istatistiksel anlamlı olarak farklı olduğu bulunmuştur. Deney hayvanları platformun yerini

öğrendikçe daha hızlı yüzmüşlerdir. Ayrıca su tankına alıştıkları ve stresleri azaldığı için daha az donma davranışı göstermeleri de bu anlamlılığın ortaya çıkmasına yardımcı olmuştur. Gizli platformun bulunduğu günlerde yüzmeye hızlarında istatistiksel anlamlı bir farklılaşma saptanmamıştır (Şekil 16).

12 gün boyunca gizli ya da görünür olarak aynı noktada bulunan platform 13. gün farklı bir lokalizasyona yerleştirilerek, sıçanlara spasyal ve görsel ipuçlarından hangisini tercih ettiği saptanmıştır. Spasyal ipucunu tercih eden sıçanların platformu bir gün önce gizli olarak bulunduğu kadranda araması beklenirken, görseli tercih eden sıçanların görünür olarak farklı bir noktaya yerleştirilmiş olan platforma doğrudan çıkması beklenmektedir.

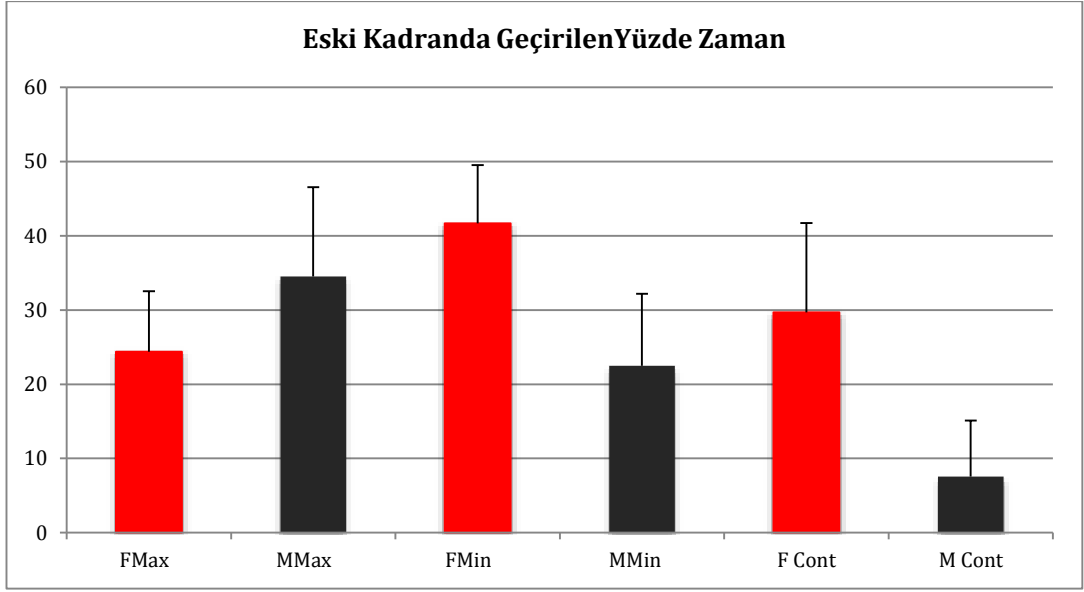


Şekil.17. Platforma ulaşmak için hareket eden hayvanların yüzmeye hızları

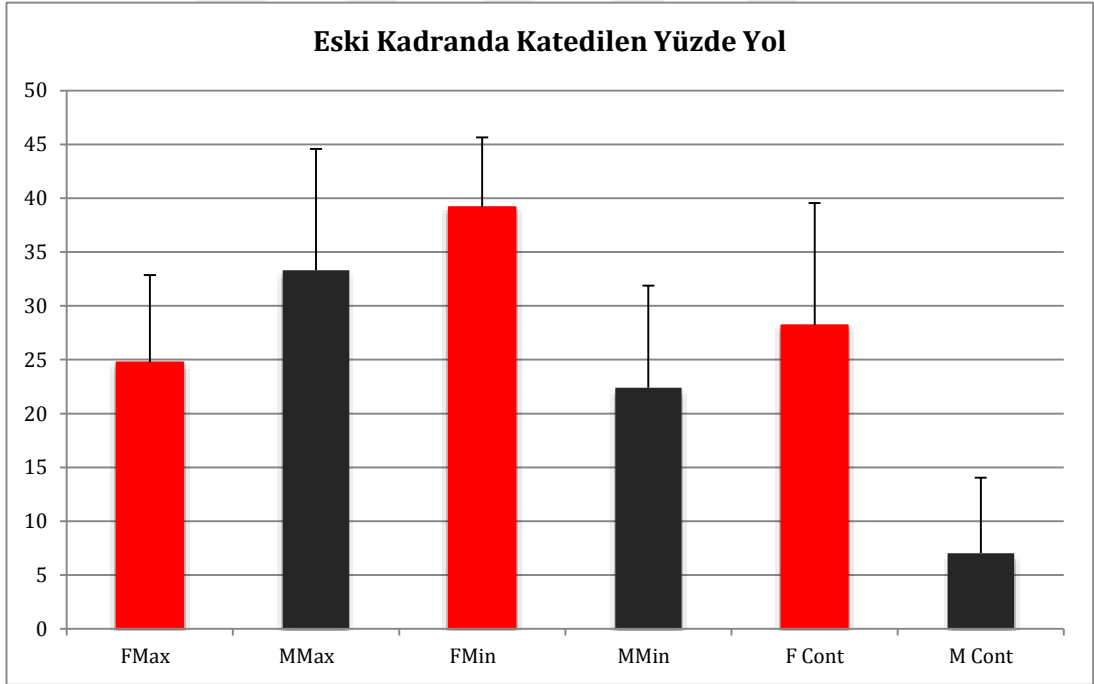


Şekil.18. 13. gün 1. Deneme yeni yerleşimli platforma ulaşmak için alınan yol.

Yeni yerleşimli platforma ulaşma sürelerinde istatistiksel anlamlı bir farklılaşma saptanmazken (Şekil 17) platforma ulaşmak için alınan yol verisinde hem cinsiyetin günlerin ($F_{(1,46)}=4,285$, $p \leq 0.05$) hem de nikotin alımının günlerin ($F_{(1,46)}=3,938$, $p \leq 0.05$) istatistiksel anlamlı olarak farklılaştığı gözlenmiştir (Şekil 18). Post Hoc Duncan'sa göre minimum nikotin tercih eden annelerin dişi yavruları diğer gruplardan farklı davranmışlardır. Yeni yerleşimli platforma çok daha uzun sürede ulaşmışlar platformun eskiden bulunduğu kadranda çok daha uzun süre geçirmişler yani strateji tercihi olarak spasyali tercih etmiş gibi görünmektedirler.



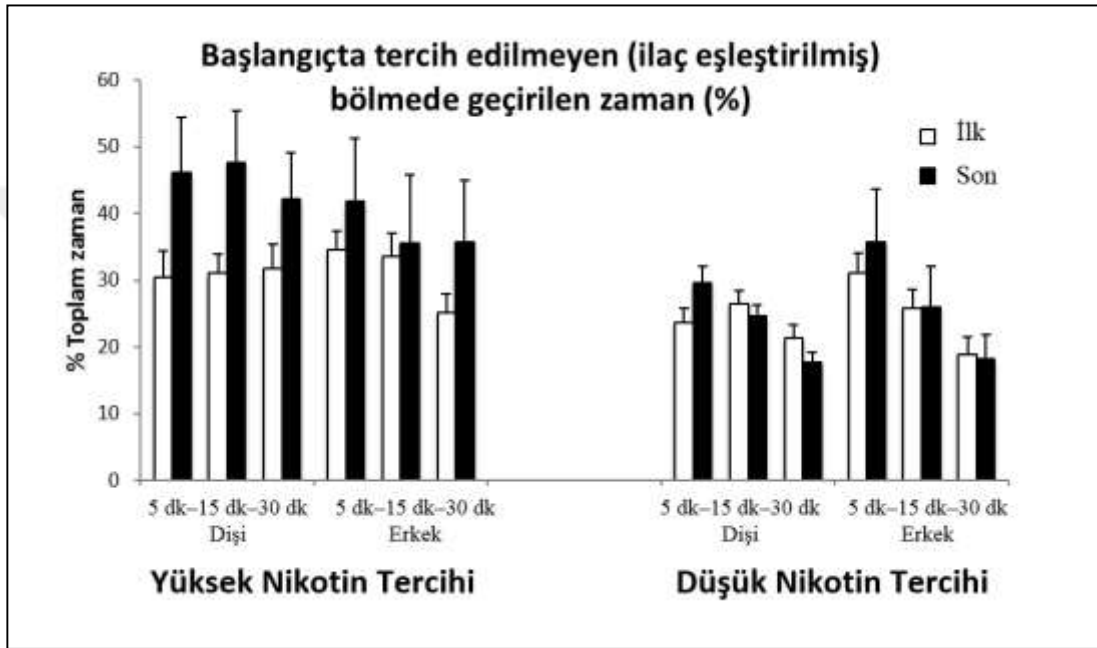
Şekil.19. Platformun eskiden bulunduğu kadranda geçirilen zamanın yüzdeleri



Şekil.20. Platformun eskiden bulunduğu kadranda geçirilen yolun yüzdeleri

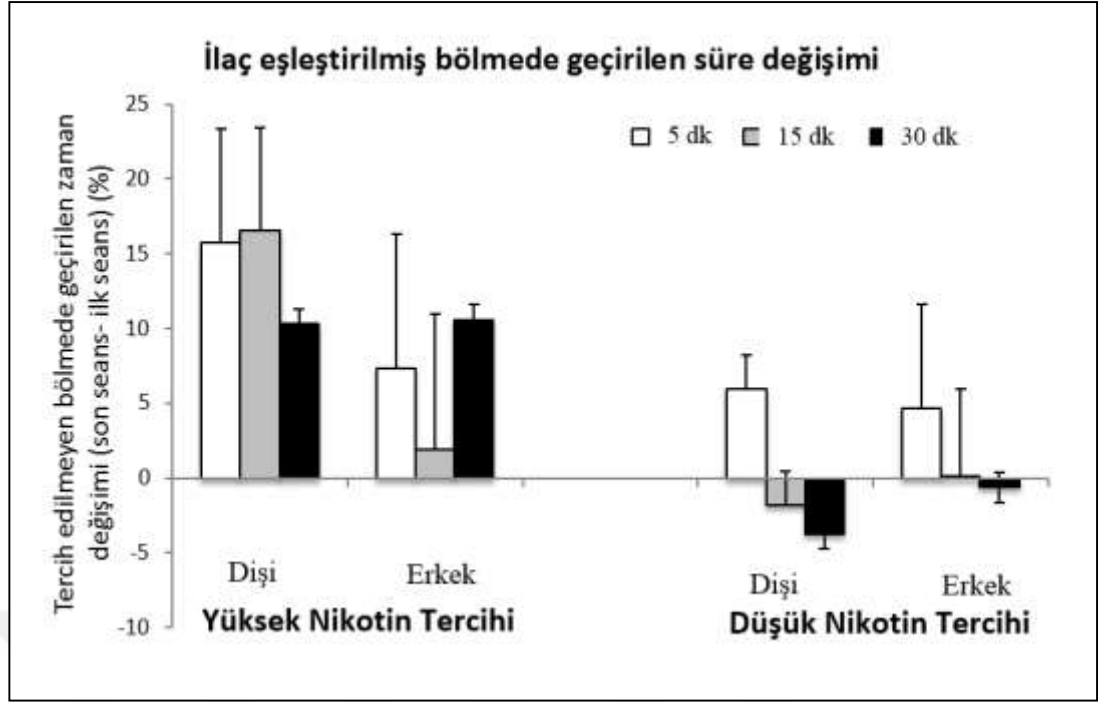
Eski kadranda geçirilen zaman ve eski kadranda alınan yol verilerinde istatistiksel anlamlı bir farklılaşma saptanmamıştır. Erkek kontrol grubu eski kadranda en az zaman geçiren grup olarak dikkat çekmektedir (Şekil 19- 20).

4.3. Yüksek nikotin tercih eden ve düşük nikotin tercih eden nesillerde erkek ve dişi sıçanlarda şartlı yer tercihi



Şekil.21. Başlangıçta tercih edilmeyen bölmelerde ilk ve son seansta geçirilen zaman

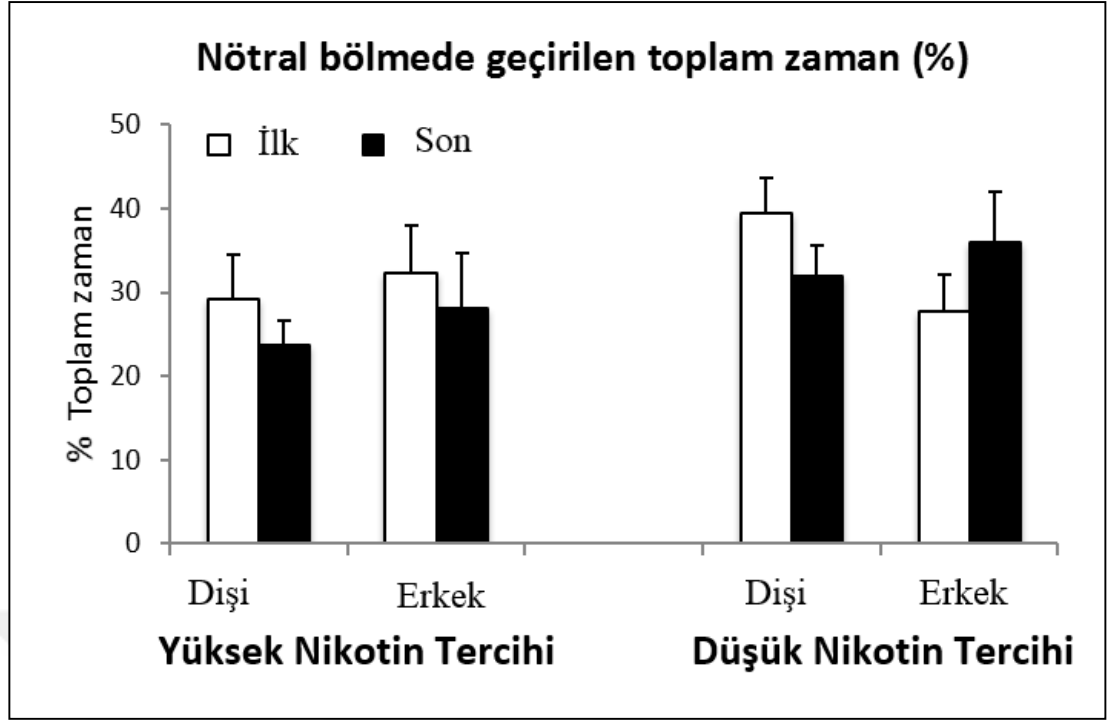
Sıçanlar tarafından başlangıçta tercih edilmeyen bölmelerde ilaç eşleştirilmesi yapılmadan önce ve eşleştirme yapıldıktan sonra son seansta geçirilen sürelele bakılmıştır (Şekil 21). Tekrarlayan ölçümler için ANOVA uygulandığında son seansta ilk 5 dakikada görülmeyen etki 15 ve 30. dakikalarda belirgin bir şekilde karşımıza çıkmaktadır. [$F_{(2,64)} = 13.18, p < 0.001$].



Şekil.22. Nikotin eşleştirilmesi yapıldıktan sonra tercih edilmeyen bölmelerde geçirilen zaman

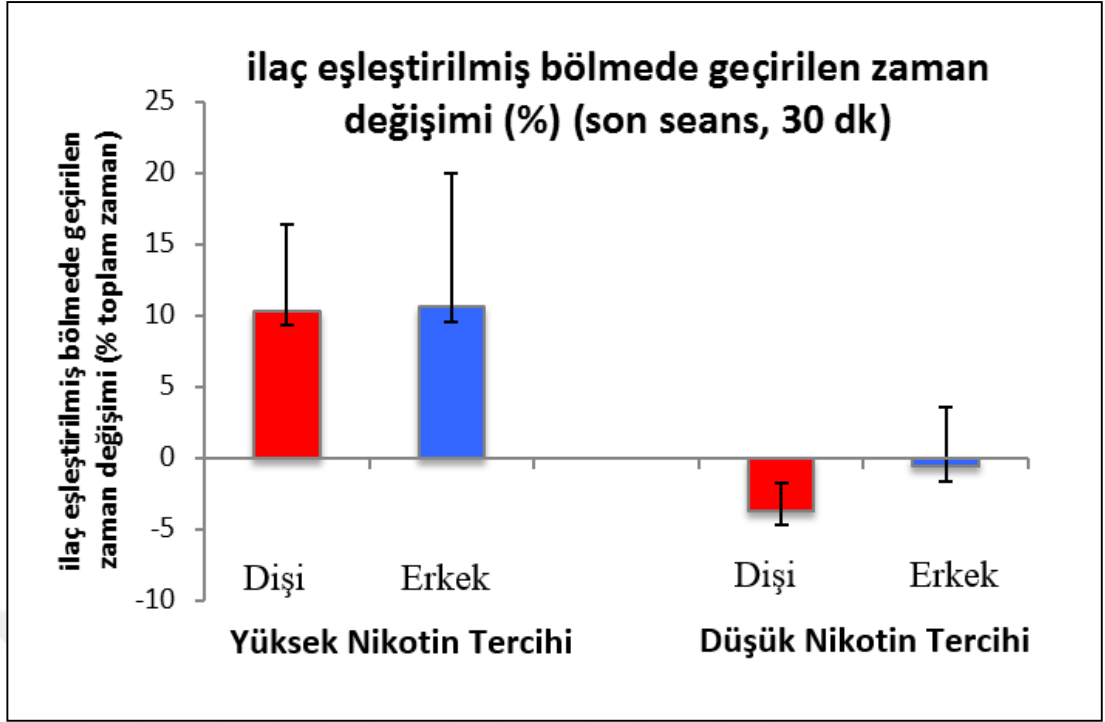
Nikotin eşleştirilmesi yapıldıktan sonra ilk seansta tercih edilmeyen bölmede, ilk seansta ve son seansta geçirilen zamanlardaki farklılık (son seans- ilk seans) ayrı olarak değerlendirilmiştir (Şekil 22). Sıçanların bölmelerde geçirdikleri süre ilerledikçe ilaç eşleştirilmiş bölmede geçirilen sürelerdeki azalmanın, düşük nikotin tercih eden nesilde, yüksek nikotin tercih eden nesile göre daha belirgin olarak düşme eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. Bu farkın tekrarlayan ölçüm ANOVA değerlendirilmesi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($F_{(2,64)} = 2,64, p < 0.001$).

İlaç eşleştirilmiş bölmede geçirilen sürelere bakıldığında ise bu bölmede geçirilen sürenin nikotin tercihinin fazla olduğu nesilde belirgin olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($F_{(1,32)} = 16,05, p < 0.001$).



Şekil.23. Nötral bölmede geçirilen zaman yüzdesi

Nötral bölmede geçirilen sürelere bakıldığında dişi sıçanlarda hem yüksek nikotin tercihi olan hem de düşük nikotin tercihi olanlarda, nötral bölmede geçirilen sürede ilk seanstan son seansa bir azalma meydana gelmiştir. Erkek sıçanlarda ise yüksek nikotin tercihi olan sıçanlarda nötral bölmede geçirilen sürede son seansta bir azalma mevcutken, düşük nikotin tercihi olan sıçanlar nötral bölmede son seansta ilk seansa göre daha fazla zaman geçirmişlerdir (Şekil 23)



Şekil.24. Başlangıçta tercih edilmeyen bölmelerde geçirilen sürede ilaç eşleştirmesi yapıldıktan sonra meydana gelen değişim

Başlangıçta tercih edilmeyen bölmelerde ilaç eşleştirilmesi yapıldıktan sonra geçirilen süredeki değişime bakıldığında; nikotin tercihi fazla olan nesil sıçanların, nikotin eşleştirilmiş bölmelerde geçirdikleri sürelerde belirgin bir artış olduğu, nikotin tercihi düşük olan nesil sıçanlarda ise; nikotin eşleştirilmesi yapılan bölmelerde geçirilen sürelerde belirgin azalma olduğu ve bu farkların her iki cinsiyet içinde geçerli olduğu görülmektedir (Şekil 24). Tek yönlü ANOVA değerlendirilmesi sonucunda bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur [$F_{(1,35)} = 4,363, p < 0.05$].

Sonuç olarak nikotin tercihinin fazla olduğu nesiller nikotini ödüllendirici olarak görmektedirken, nikotin tercihi düşük olan nesiller ise nikotini itici bir faktör olarak değerlendirme eğilimindedirler ve nikotinden kaçınmaktadırlar.

6. TARIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

Bulgular incelendiğinde bazal spontan lokomotor aktivite ölçümlerinde ailesi nikotin alan sıçan gruplarının tümünün kontrollerden daha hareketli olduğu, görülmüştür. Su tankı yer öğrenme deneylerinde hem cinsiyetin hem nikotin kullanımının yer öğrenme performansını etkilediği görülmüştür. Fakat strateji tercihlerinde bir değişim saptanmamıştır. Şartlı yer tercihi deneylerinde de nikotine duyarlı soylarda (çok tüketen) şartlı yanıtta artma bulunurken nikotine dirençli (az tüketen) soylarda ise aversif bir yanıtı neden olduğu görülmüştür. Sıçanlar nikotin alımlarına göre istatistiğe alındığında kafes geçişlerinde ve tekrarlayan hareketlerde istatistiksel anlamlı farklılaşma görülmüştür. Tüm hayvanlarımız ilerleyen günlerde platformu daha kısa sürede bulmuşlar yani su tankından kurtulmak için görünür platforma yüzmeleri gerektiğini öğrenmişlerdir. Platformun suyun altında gizli olarak bulunduğu 4-8-12. günlerin verilerine benzer istatistik uygulandığında yine günlerin istatistiksel anlamlı olduğu, yani deney hayvanları gizli platformun yerini spasyal olarak bulmayı öğrenmiştir. Tüm hayvanlarımız ilerleyen günlerle platformu daha kısa mesafe yüzerek bulmuşlar yani su tankından kurtulmak için görünür platforma yüzmeleri gerektiğini öğrenmişlerdir. Deney hayvanları platformun yerini öğrendikçe daha hızlı yüzmüşlerdir. Ayrıca su tankına alıştıkları ve stresleri azaldığı için daha az donma davranışı göstermeleri de bu anlamlılığın ortaya çıkmasına yardımcı olmuştur. Çalışmamızda kullanılan CPP düzeneğinden elde edilen sonuçlar, tütün kullanımı ve nikotin bağımlılığında görülen bireysel farklılıkları yansıtmaktadır. Yapılan istatistiksel değerlendirme, kontrol grubunun yanı sıra nikotin tercih eden ve nikotin tercih etmeyen olarak isimlendirilen ve nikotinin ödül ve pekiştirme özelliklerinden farklı yönde etkilenen iki grubun var olduğunu kanıtlamaktadır.

Deney hayvanları yeni bir ortama girdiklerinde, yeni ortamlarında tanıdıkları ortama göre daha fazla aktivite göstermektedirler. Yeni ortama giren hayvanda meydana gelen davranışsal aktivite artışının nedenlerinden biri, canlının strese

duyarlılığının bir sonucu olarak ortaya çıkmasıdır (154). Yeni ortam ile karşılaşan deney hayvanlarında stres hormonu kortikosteronun artması, LMA artışında stresin etkisinin olabileceğini göstermektedir (155). Diğer taraftan, deney hayvanlarını sabit tutmakta kullanılan kafesler ile oluşturulan stresin, yeni ortama göre daha düşük kortikosteron oluşturmaya, stresin LMA'daki katkısını azaltmaktadır (156). Bizim çalışmamızda çevresel stresi en aza indirmek için deneylerin gerçekleştirildiği oda davranış çalışmalarının genel prensiplerine uygun biçimde düzenlenmiştir. Dışarıdan ses girişi engellenecek biçimde çift kapıyla izole edilmiştir ve deney süresince odaya düşük volümde gürültü (white noise) uygulanmıştır. Her düzeneğin üzerindeki 25W gücündeki ampullerle, tüm kompartmanların eşit aydınlanması sağlanmıştır. Sıçanlara öncelikle handling uygulanarak stres değişkeninin etkileri elimine edilmeye çalışılmıştır, sonra spontan lokomotor aktivite deneylerine alınmıştır. Bu düzeneklerle stres en aza indirilerek en doğru sonuçların elde edilmesi hedeflenmiştir.

Nikotinin NAc yapıları üzerindeki etkileri ve meydana gelen etkinin davranışsal cevapları, farklı açılardan pek çok araştırmacı tarafından değerlendirilmiştir. Nikotinin neden olduğu davranışsal sensitizasyon, naif sıçanlara kronik nikotin uygulaması sonrasında lokomotor aktivitede artışla gösterilir; bu diğer bağımlılık oluşturan maddeler için de geçerli olan bir parametredir. Meydana gelen lokomotor aktivite artışının, nikotinin NAc'in iç bölgesinde yer alan ve beynin sensorimotor korteksine giden efferentlerinde meydana gelen değişimle ilgili olduğu gösterilmiştir. Kronik nikotin, NAc'in iç bölgesinde dopamin akışında artışa neden olarak lokomotor aktiviteyi artırır (157). Kayır ve Uzbay'ın 2001 yılında yaptığı bir çalışmada nikotinin 1 mg/kg akut tek doz uygulamasının sıçanlarda lokomotor aktivite üzerinde anlamlı bir değişiklik meydana getirmediği aynı dozun beş gün süre ile günde bir kez uygulanmaya devam edilmesi sonucunda sıçanlarda lokomotor aktivitede artış ile karakterize lokomotor duyarlılaşmaya yol açtığı görülmüştür (158). Nikotinin sıçanlarda 1 mg/kg'lık akut tek doz uygulaması ile ilişkili literatürde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Locomotor aktivite üzerine depresif (159) veya psikostimülan (160) özellikte olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bir uyararla eşleştirilerek yapılan kendi kendine nikotin uygulaması deneylerinde ise, hayvanların kendilerine madde uygulamaları sırasında NAc'in iç (core) bölgesinde

yer alan nöronların aktivitesinde artış meydana gelmiştir. Bu durum madde ile eşleştirilip oluşturulan pekiştirme sonucunda NAc iç bölgesinin nikotin bağımlılığının ilerleyen süreçlerinde madde arama davranışını oluşturarak, madde bağımlılığına geçişi tetiklediğini gösterir (161).

Kanıt ve arkadaşlarının cinsiyet ve ovarian hormonların spontan lokomotor aktivite üzerine olan etkisini araştırdıkları bir çalışmanın sonuçlarına göre bazal koşullar altında dişilerin lokomotor aktivitesi erkeklere oranla daha fazladır. Lokomasyonda meydana gelen cinsel dimorfik etkinin nedenleri kastire edilen sıçanlar üzerinde araştırılmıştır. Overleri alınmış sıçanların naif sıçanlara oranla lokomotor aktivitelerinde azalma meydana geldiği gözlenmiştir ve dişi sıçanların erkeklere oranla daha yüksek lokomotor aktivite değerleri gösterirken akut nikotinin dişilerde lokomotor aktiviteyi daha fazla baskıladığı saptanmıştır. Bu çalışmada 21 günlük kronik nikotin enjeksiyonu sonrasında ise, lokomotor aktivite her iki cinsiyette de artarken, dişilerde artış daha fazla olmuştur. Overiektomi yapılan dişilerde nikotin ve hormon (17-beta oestradiol, progesteron) resplasman uygulaması sonrasında gruplar karşılaştırılmıştır. Sonuçlarda, dışarıdan hormon ve nikotin verilen gruplarda lokomotor aktivitede artış meydana gelmiştir (162). Stoleran ve arkadaşlarının yaptıkları diğer bir çalışmada nikotine karşı oluşan toleransın nikotin uygulamasının kesilmesinden üç ay sonra dahi devam ettiğini gösterilmiştir (163). Ancak daha sonra akut nikotin uygulamasıyla sıçanlarda nikotinin davranışsal etkilerine karşı meydana gelen toleransın kademeli olarak 3-4 hafta sonra kaybolduğu gösterilmiştir (164).

Nikotin bağımlılığındaki bireysel farklılıkların incelendiği hayvan deneylerinde özellikle HR (high responder) ve LR (Low responder) sıçanlar üzerinde detaylı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. HR ve LR sıçanlarda nikotinin lokomotor aktivite üzerindeki akut ve kronik etkisi incelendiğinde, HR sıçanların LR'ye oranla nikotinin akut uygulanmasında lokomotor aktiviteyi baskılayıcı özelliklerine daha duyarlı iken, kronik nikotin uygulaması sonrasında nikotinin lokomotor aktivitede meydana getirdiği artışa HR sıçanlarda LR'lere oranla bir fark gözlenmemiştir. Bu durum, HR sıçanların LR sıçanlara göre bazal lokomotor aktivite değerlerinin yüksek olduğunu ve etkinin kronik nikotin uygulaması ile daha da baskılandığını göstermektedir (70).

Reavill ve Stoleran'ın yaptığı bir çalışmada nikotinik lokomotor aktivite üzerine olan etkisi incelenmiştir ve kafes geçişi ile tekrarlayan hareketler değerlendirilmiştir. Bir grup sıçana salın, diğer gruba ise nikotin enjekte edilerek sıçanların lokomotor aktiviteleri incelenmiştir. Saline maruz kalan sıçanlara göre nikotine maruz kalan sıçanların kafes geçişlerinde ve tekrarlayan hareketlerinde artış gözlenmiştir. Düşük doz nikotin kafes geçişini artırmazken, yüksek dozda uygulanan nikotinik doza bağlı olarak kafes geçişini artırdığı gösterilmiştir. Tekrarlayan hareketlere bakıldığında ise, nikotin uygulanması ile anlamlı bir ilişki içerisinde iken, dozun artması ile tekrarlayan hareket sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bu durum nikotinik tekrarlayan hareketler üzerine olan etkisinin doz bağımlı olmadığını düşündürmektedir (165). Bizim çalışmamızda nikotinik kafes geçiş ve tekrarlayan hareket sayıları üzerine olan etkisi değerlendirmek için deney hayvanları ebeveynlerinin nikotin alımlarına göre iki gruba ayrılmış sonra kontrollerle birlikte hiç bir işlem yapılmadan spontan lokomotor aktiviteleri kaydedilmiştir. kafes geçişleri ($F(2,46)=12,967$, $p\leq 0.001$) ve tekrarlayan hareket sayıları ($F(2,46)=8,162$, $p\leq 0.001$) ailelerin nikotin alımlarına göre değerlendirildiğinde veriler arasında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu görülmüştür.

Sıçanlarda spasyal öğrenmenin adölesan dönem süresince gelişimini inceleyen bir çalışmada, tüm sıçanların dört günlük öğrenme testi süresince platformun yerine bulma sürelerinin giderek kısalarak kararlı bir seviyeye ulaştığı görülmüştür. Yaş grupları arasında farklılıklar olduğu saptanmıştır. Yaş gruplarının yüzme hızlarında ise bir farklılık saptanamamıştır (166). Bizim çalışmamızın sonuçları da aynı şekilde, görünür platformun bulunduğu günlerde platforma ulaşmak için geçirilen süre giderek kısalma eğiliminde olmuştur ($F(8,46)=129,861$ $p\leq 0.001$). Platforma ulaşma için alınan yol verilerine bakıldığında ise tüm hayvanlarımız ilerleyen günlerde platformu daha kısa mesafe yüzerek bulmuşlardır. Yani su tankından kurtulmak için görünür platforma yüzmeleri gerektiğini öğrenmişlerdir ($F(8,46)=104,248$, $p\leq 0.001$). Yüzme hızlarındaki değişime bakıldığında ise, deney hayvanlarının platformun yerini öğrendikçe daha hızlı yüzme eğiliminde oldukları görülmüştür ($F(8,46)=16,239$, $p\leq 0.001$). Platforma ulaşma sürelerinin günler geçtikçe gitgide azalması, platformun

yerini öğrenme ile birlikte yüzme hızında meydana gelen artış ve yüzme mesafesindeki kısılmanın doğal bir sonucu olabilir.

Literatüre bakıldığında nikotinin spasyal öğrenme üzerine olan etkisini değerlendiren, soy üretme tekniği ile oluşturulan ve kendi tercihi ile nikotin tüketen sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma mevcut değildir. Sıçanlara enjeksiyon ile nikotin uygulanarak yapılan, kronik nikotin kullanımının Morris su tankında spasyal öğrenmeye etkisini değerlendiren bir çalışmada, düşük doz nikotin alanlarda 1. ve 2. günlerde kontrol grubuna göre platforma ulaşma daha hızlı iken, yüksek doz nikotin alanlarda ise platforma ulaşma süreleri daha uzun sürmüştür. Gruplar ve günler arasında özellikle dördüncü günde olmak üzere anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Post hoc testinde de yüksek doz nikotin alanların kontrol grubuna göre daha uzun sürede platforma çıktıkları sonucuna varılmıştır. Yüzme hızlarına bakıldığında ise, yüksek nikotin tüketen ve düşük nikotin tüketen gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. (167). Bizim çalışmamızda da nikotin alımı ile platforma ulaşma süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Fakat diğer çalışmadan farklı olarak düşük doz nikotin alan sıçanlar platforma daha uzun sürede, yüksek doz nikotin alan sıçanlar ise daha kısa sürede ulaşmışlardır. Minimum nikotin tercih eden annelerin dişi yavruları diğer gruplardan farklı davranmışlardır. Yeni yerleşimli platforma çok daha uzun sürede ulaşmışlar platformun eskiden bulunduğu kadranda çok daha uzun süre geçirmişler yani strateji tercihi olarak spasyal öğrenmeyi tercih etmiş gibi görünmektedirler. Sıçanların yüzme hızları da gün geçtikçe istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış göstermiştir. Diğer çalışma ile uyumlu olarak günler geçtikçe platforma ulaşmak için sıçanların geçirdikleri sürelerde istatistiksel olarak anlamlı azalma görülmüştür.

Benwell ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1,0 ve 4,0 mg/kg/gün nikotin enjeksiyonlarının öğrenme ve bellek çalışmalarında inhibitör etki oluşturduğu belirlenmiştir. Ancak düşük doz nikotinin (0,25 mg/kg/gün) reseptörlerde desensitizasyon oluşturmadığı ve spasyal öğrenme çalışmalarında performans artışına neden olduğu gösterilmiştir (168). Ayrıca Lewin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda 0.4 mg/kg /gün nikotin dozunun öğrenme ve bellek deneylerinde eşik değerdeki doz olduğunu göstermişlerdir (169). Bahsedilen sonuçlar nikotinin

enjeksiyonla verilmesi sonucunda elde edilmiştir, bizim çalışmamızda ise kronik oral yolla nikotin uygulaması değerlendirilmiştir.

Nikotinin öğrenme ve bellek üzerindeki etkisini farklı yaş gruplarında da inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Nikotinin meydana getirdiği etkilerin yaşa bağlı olarak değişebileceği gösterilmiştir. Yaşlı ve genç Fisher 344 sıçanlar üzerinde yapılan Morris Su Tankı deneylerinde, 0,2 mg/kg nikotin uygulamasının genç sıçanlarda işletim belleği fonksiyonunda artışa neden olduğu aynı etkinin yaşlı sıçanlarda meydana gelmediği belirtilmiş ayrıca hiçbir grupta referans bellek üzerinde nikotinin etkisi görülmemiştir (113). Elde edilen bu bulgunun tersine, ABT-418 nikotinik agonist uygulamasının hem genç (114, 115) hem de yaşlı maymunlar ve sıçanlarda (116) referans belleği arttırdığı bulunmuştur. Ancak, kronik nikotin uygulaması yaşlanmış olan sıçanlarda işletim belleği fonksiyonunda iyileşmeye neden olmamıştır. Bu durumun nedenleri arasında yaşlanmaya bağlı olarak nikotinik reseptör fonksiyonunda meydana gelen azalma gösterilmektedir (117). Akut nikotinin bilişsel performansda artışa neden olduğu bilgisinin aksine, farelerde yapılan deneylerde 0,35 mg/kg ve 0,175 mg/kg nikotinin MWM deneylerinde ne genç ne de yaşlı farelerde performans artışına yol açmadığı görülmüştür (118).

Yapılan çalışmalarda nikotinin spasyal öğrenmedeki edinim sürecine etkileri incelenmiştir. Ancak deney öncesi ve deney sırasında uygulanan doz rejimleri nikotinin etkileşime geçtiği nAChR'nin fonksiyonel durumuyla ilişki göstermektedir (170). Yapılan bir çalışmada 0,07 mg/kg nikotin deneyden üç gün önce, günde bir kez olmak üzere yaşlı ve genç sıçanlara uygulanmış ve deney süresince de nikotin enjeksiyonlarına devam edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, nikotin yaşlı sıçanlarda öğrenme edinim sürecini geliştirirken genç sıçanlarda aynı etkiyi göstermemiştir. Aynı çalışmada yaşlı ve genç sıçanlara 0,2 mg/kg nikotin enjeksiyonu su tankı deneyleri süresince uygulanmış ancak nikotinin öğrenme üzerinde herhangi bir etkisi görülmemiştir (116). Nikotinin spasyal öğrenme üzerindeki pozitif ya da negatif etkileri doz ve uygulama süresine bağlı olarak meydana gelmektedir. Başka bir çalışmada ise fareye deneylerden dört gün önce uygulanan 0,7 mg/kg nikotinin öğrenmeyi bozduğu ancak 0,35 mg/kg ya da 0,7 mg/kg nikotin enjeksiyonun deneylerden beş gün önce başlanarak ve deneyin ilk dört günü boyunca uygulanması sonucunda öğrenmede artış meydana geldiği

gösterilmiştir (171). Deneylerden önce ve deneyler süresince nikotin uygulamasının kesilmesi sonucunda elde edilen veriler yoksunluk semptomlarıyla ilişkilendirilebilir. Ancak başka bir çalışmanın sonuçlarına göre nikotinin oluşturduğu negatif etki yoksunlukla ilişkilendirilmemektedir. Çalışmada, sıçanlara deneylerden 10 günde önce bir kere günde iki enjeksiyon ya da deneylere başlamadan 24 saat öncesine kadar 10 gün boyunca enjeksiyon yapılmıştır. Sonuçlarda MWM deneylerinde edinimde artış belirlenmiştir (172). Özetle, nikotin deneylerde kullanılan farklı türler, dozlar ve uygulama süreleri ile spasyal öğrenme üzerine farklı etkiler göstermektedir.

Bizim çalışmamızda nikotin az ya da çok alan hayvanların yavrularında öğrenmede bozulma ve hafızada azalma saptanmıştır. Fakat unutulmaması gereken deney hayvanlarımıza nikotin uygulanmamış olduğu ve nikotini az ya da çok alan nesillerin çocukları olduğudur. Göstermek istediğimiz aillerin aldığı nikotinin çocuklara iletilen bir etkisi olup olmadığıdır.

Şartlı yer tercihi (CPP) hayvan modellerinde kötüye kullanım potansiyeli olan ilaçların ödüllendirici etkisini belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bizim laboratuvarımızda kullanılan üç bölmeli CPP düzeneği, Sprague Dawley cinsi sıçanların yer aldığı nikotin bağımlılığı araştırmalarında güvenle kullanılabilir bir düzenektir. Şartlı yer tercihi çalışmalarında gerek nikotin, gerek diğer bağımlılık yapıcı maddeler araştırılırken kullanılan deney düzenekleri, deney hayvanları ve deney protokolleri açısından büyük farklar olduğu görülmektedir. Özellikle nikotin ile yapılan çalışmalarda bu farklılık çok belirgindir. Bu nedenle bazı laboratuvarlarda nikotin ile CPP oluşumu gösterilememiştir (173). Sunulan tez çalışmasında CPP düzeneğinin geliştirilmesi aşamasında farklı seçenekler irdelenmiş ve üç bölmeli bir düzeneğin en güvenilir sonuçlar verdiği saptanmıştır. CPP’de etkili olan diğer faktörler, örneğin hayvanların laboratuvar ve deney ortamına alıştırılması, deneylerden önce handling gibi koşullar sağlanmıştır. Grabus ve arkadaşları deney hayvanlarının ele alıştırılması (handling), çevreye uyum, ve enjeksiyonlara alıştırma gibi faktörlerin nikotin ile meydana gelen CPP’ye etkilerini ICR farelerde araştırmışlardır. Soy farklılıklarının olası katkısını aydınlatmak üzere de iki farklı türün (C57BL/6J ve DBA/2J) yanıtlarında etkin nikotin dozu değerlendirilmiştir. Ayrıca nikotinik reseptör agonist ve antagonistlerinin de etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları deneylere başlamadan önce hayvanların ele alıştırılmasının

nikotin ile oluşturulan CPP için gerekli olduğuna işaret etmektedir, çünkü ele alıştırmamış farelerde CPP oluşmamıştır. Diğer yandan kullanılan düzeneğin otomasyonu kontrollü çalışmalarla doğrulanmış ve bulgular konservatif bir yaklaşımla analiz edilmiştir (174). Örneğin bazı çalışmalarda, üç bölmeli CPP düzenekleri kullanıldığında sadece şartlamanın yapıldığı ortamlardaki süreler istatistiksel analizlerde kullanıldığı halde, bizim çalışmamızda her bölmede geçirilen zaman toplam sürenin yüzdesi olarak değerlendirmeye alınmıştır. Bu bağlamda, deney düzenimizin güvenilirliğini kanıtlayan bir diğer veri, nötral bölmede geçirilen sürelerin ortalamalarının tüm deney gruplarında benzer olması, aralarında herhangi bir farklılık bulunmamış olmasıdır.

Şartlı yer tercihi değerlendirilen farelerde nikotinin motivasyonel etkilerini incelemek için yapılan bir çalışmada nikotinin düşük dozda şartlı yer tercihinin tetiklediği, yüksek dozda ise kaçınmaya neden olduğunu gösterilmiştir. Genel olarak, bu sonuçlar nikotinin doza bağımlı ödüllendirici ve caydırıcı etkisi olduğunu düşündürmektedir (175).

Literatürde çeşitli çalışmalar CPP sıçan modellerinde nikotinin caydırıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir (Fudala and Iwamoto 1986, Horan, Smith et al. 1997). Yararbaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sıçanlarda nikotin ile ilişkili şartlı yer tercihinde cinsiyetler arası fark gözlenmiştir. Nikotin erkek Sprague Dawley sıçanlarında şartlı yer tercihinin indüklerken dişi sıçanlarda aynı etkiyi gösterememiştir (153). Adolesan dişi sıçanlarda nikotinin şartlı yer tercihinin indüklemek için gereken en düşük dozunun belirlenmesi için tasarlanan bir çalışmada, adolesan dişi Sprague-Dawley sıçanlarda nikotinin uygulanan doza bağlı olarak hem ödüllendirici hem de caydırıcı etkisinin olduğu gösterilmiştir (176). Başka bir çalışmada ise 0,4, 0,8 ve 1,2 mg/kg nikotin uygulanan hayvanlarda şartlı yer tercihi oluşmazken, 0,8 mg/kg nikotin dozunun caydırıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (177). Bu çalışmanın aksine Calcagnetti ve Schechter 0,8 mg/kg nikotin dozunun şartlı yer tercihinin indüklediğini göstermişlerdir (178). Böyle çelişkili sonuçların ortaya çıkmasındaki sebeplerden biri nikotinin aynı dozunun hem caydırıcı hem de ödüllendirici potansiyele sahip olması olabilir (179). Eğer ödül değeri caydırıcı değerinden daha büyük olursa bağlamsal öğrenme modelinde şartlı yer tercihi oluşabilir. Nikotinin çok düşük ya da yüksek dozda verilmesi, hayvanın

yaşı veya türünün farklı olması gibi uygulanan prosedürdeki küçük değişiklikler bile dengeyi caydırıcı yönde bozabilir. Örneğin; Fischer 344 ve Lewis türü sıçanlarda gerek nikotin, gerek diğer bağımlılık yapıcı maddelerle oluşturulan CPP'de farklılıklar gözlenmektedir. Lewis türü sıçanlarda nikotin CPP oluşturduğu halde, Fischer türü sıçanlarda bu durum gözlenmemiş, hatta aversiyon ortaya çıkmıştır (68).

Bizim çalışmada sıçanlar tarafından başlangıçta tercih edilmeyen bölmelerde nikotin eşleştirilmesi yapılmıştır. Tercih edilmeyen bölmelerde ilk ve son seansta geçirilen süreler bakıldığında, son seansta ilk 5 dakikada görülmeyen etki 15 ve 30. dakikalarda belirgin olarak görülmüştür ($F(2,64) = 13.18, p < 0.001$). Sıçanların bölmelerde geçirdikleri süre ilerledikçe eşleştirilmiş bölmede geçirilen sürelerdeki azalmanın, düşük nikotin tercih eden nesilde, yüksek nikotin tercih eden nesile göre daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir ($F(2,64) = 2.64, p < 0.001$). İlaç eşleştirilmiş bölmede geçirilen süreler bakıldığında ise bu bölmede geçirilen sürenin nikotin tercihinin fazla olduğu nesilde belirgin olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($F(1,32) = 16.05, p < 0.001$). Sonuç olarak yüksek nikotin tercih eden nesilde şartlı yer tercihinin nikotinin indüklediği gösterilmiştir.

Sonuç olarak nesiller boyunca verilen nikotin kendileri hiç nikotinle karşılaşmayan yavruların spontan lokomotor aktivitelerini artırdığını, özellikle dişilerde öğrenmeyi ve hafızayı bozduğunu ve nikotini fazla tercih eden soylarında nikotin bağımlılığına yatkınlığın arttığını göstermiştir.

7. KAYNAKLAR

1. USDHHS. The Health Consequences of Smoking: Nicotine Addiction. A report of the Surgeon General. . 1988.
2. Bierut LJ, Madden PA, Breslau N, Johnson EO, Hatsukami D, Pomerleau OF, et al. Novel genes identified in a high-density genome wide association study for nicotine dependence. *Hum Mol Genet.* 2007;16(1):24-35.
3. Pogun S, Yazarbas G. Sex differences in nicotine action. *Handbook of experimental pharmacology.* 2009(192):261-91.
4. Caggiula AR, Donny EC, White AR, Chaudhri N, Booth S, Gharib MA, et al. Environmental stimuli promote the acquisition of nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology.* 2002;163(2):230-7.
5. Chaudhri N, Caggiula AR, Donny EC, Booth S, Gharib MA, Craven LA, et al. Sex differences in the contribution of nicotine and nonpharmacological stimuli to nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology.* 2005;180(2):258-66.
6. Donny EC, Chaudhri N, Caggiula AR, Evans-Martin FF, Booth S, Gharib MA, et al. Operant responding for a visual reinforcer in rats is enhanced by noncontingent nicotine: implications for nicotine self-administration and reinforcement. *Psychopharmacology.* 2003;169(1):68-76.
7. Paul RH, Brickman AM, Cohen RA, Williams LM, Niaura R, Pogun S, et al. Cognitive status of young and older cigarette smokers: data from the international brain database. *J Clin Neurosci.* 2006;13(4):457-65.
8. Drugs UNOo. World drug report 2010: United Nations Publications; 2010.
9. Babaoğlu NA. Uyuşturucu ve Tarihi. Ankara: Kaynak Yayınları; 1997.
10. Ravishankar J. Drugs of Abuse- Classification and Effects 2000 [cited 2014 04.10]. Available from: <http://www.addictionindia.org/images-ttkh/drugs-of-abuse-classification-and-effects-04.pdf>.
11. Koob GF, Le Moal M. Addiction and the brain antireward system. *Annual review of psychology.* 2008;59:29-53.
12. Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Swanson JM. Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Molecular psychiatry.* 2004;9(6):557-69.
13. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Rooney WD, Felder CA, Lee JH, et al. Resting brain metabolic activity in a 4 tesla magnetic field. *Magn Reson Med.* 2000;44(5):701-5.
14. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology.* 35(1):217-38.
15. Nestler EJ. Historical review: Molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Trends in pharmacological sciences.* 2004;25(4):210-8.
16. Wolfe WL, Maisto SA. The effect of self-discrepancy and discrepancy salience on alcohol consumption. *Addictive behaviors.* 2000;25(2):283-8.
17. Solomon RL, Corbit JD. An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychological review.* 1974;81(2):119-45.
18. Wise RA, Bozarth MA. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological review.* 1987;94(4):469-92.
19. Wise RA. Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. *Neuron.* 2002;36(2):229-40.

20. Tizabi Y, Copeland RL, Louis VA, Taylor RE. Effects of combined systemic alcohol and central nicotine administration into ventral tegmental area on dopamine release in the nucleus accumbens. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2002;26(3):394-9.
21. Benowitz NL, Hansson A, Jacob P. Cardiovascular effects of nasal and transdermal nicotine and cigarette smoking. *Hypertension*. 2002;39(6):1107-12.
22. Karlıkaya C, Öztuna F, Solak ZA, Özkan M, Örsel O. Tütün kontrolü. *Toraks Dergisi*. 2006;7(1):51-64.
23. Kaufman N, Yach D. Tobacco control: challenges and prospects. *Bulletin of the World Health Organization*. 2000;78(7):867-.
24. Çan G, Çakırbay H, Topbaş M, Karkucak M, Çapkın E. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde sigara içme prevalansı. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*. 2007;55(2):141-7.
25. Karlıkaya C, Deveci S, Ekuklu G. Smoking prevalence and quit rates in Edirne. *Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi, Fırat Üniversitesi*. 2009;23(1):25-9.
26. Benowitz NL. Pharmacology of nicotine: addiction, smoking-induced disease, and therapeutics. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2009;49:57-71.
27. Kovacic P. How safe is bisphenol A? Fundamentals of toxicity: metabolism, electron transfer and oxidative stress. *Medical hypotheses*. 2010;75(1):1-4.
28. Lakier JB. Smoking and cardiovascular disease. *The American journal of medicine*. 1992;93(1):S8-S12.
29. Marnett LJ. Peroxyl free radicals: potential mediators of tumor initiation and promotion. *Carcinogenesis*. 1987;8(10):1365-73.
30. Martin K, Barrett J. Reactive oxygen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity. *Human & experimental toxicology*. 2002;21(2):71-5.
31. Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD, Calafiore AM, Costantini F, Riario-Sforza G, et al. Vitamins E, C and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. *Atherosclerosis*. 1995;112(1):91-9.
32. Gorrod JW, Jacob III P. Analytical determination of nicotine and related compounds and their metabolites: Elsevier; 1999.
33. Zevin S, Jacob P, Benowitz N. Cotinine effects on nicotine metabolism*. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1997;61(6):649-54.
34. Wang M. Nicotine: The Masked Killer. 2001.
35. Brewer BG, Roberts AM, Rowell PP. Short-term distribution of nicotine in the rat lung. *Drug and alcohol dependence*. 2004;75(2):193-8.
36. Hukkanen J, Jacob P, 3rd, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacological reviews*. 2005;57(1):79-115.
37. Yildiz D, Ercal N, Armstrong DW. Nicotine enantiomers and oxidative stress. *Toxicology*. 1998;130(2):155-65.
38. Dawson EB, Evans DR, Harris WA, McGanity WJ. The effect of ascorbic acid supplementation on the nicotine metabolism of smokers. *Preventive medicine*. 1999;29(6):451-4.
39. Kovacic P, Cooksy A. Iminium metabolite mechanism for nicotine toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Medical hypotheses*. 2005;64(1):104-11.
40. Brunton LL. Goodman & Gilman's manual of pharmacology and therapeutics: Mcgraw-hill United State of America; 2008.

41. Benowitz NL. Nicotine addiction. *The New England journal of medicine*. 2010;362(24):2295.
42. Benowitz NL, Jacob P, 3rd. Individual differences in nicotine kinetics and metabolism in humans. *NIDA research monograph*. 1997;173:48-64.
43. Herning RI, Jones RT, Benowitz NL, Mines AH. How a cigarette is smoked determines blood nicotine levels. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1983;33(1):84-90.
44. McGehee DS, Role LW. Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Annual review of physiology*. 1995;57(1):521-46.
45. Clarke P, Schwartz RD, Paul SM, Pert CB, Pert A. Nicotinic binding in rat brain: autoradiographic comparison of [3H] acetylcholine, [3H] nicotine, and [125I]-alpha-bungarotoxin. *The Journal of Neuroscience*. 1985;5(5):1307-15.
46. Lukas RJ, Changeux J-P, le Novère N, Albuquerque EX, Balfour DJ, Berg DK, et al. International Union of Pharmacology. XX. Current status of the nomenclature for nicotinic acetylcholine receptors and their subunits. *Pharmacological reviews*. 1999;51(2):397-401.
47. Gotti C, Zoli M, Clementi F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends in pharmacological sciences*. 2006;27(9):482-91.
48. Quick MW, Lester RA. Desensitization of neuronal nicotinic receptors. *Journal of neurobiology*. 2002;53(4):457-78.
49. Dani JA, De Biasi M. Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2001;70(4):439-46.
50. Wooltorton JR, Pidoplichko VI, Broide RS, Dani JA. Differential desensitization and distribution of nicotinic acetylcholine receptor subtypes in midbrain dopamine areas. *The journal of neuroscience*. 2003;23(8):3176-85.
51. Albuquerque EX, Alkondon M, Pereira EF, Castro NG, Schratzenholz A, Barbosa CT, et al. Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological characterization and modulation of synaptic function. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1997;280(3):1117-36.
52. Dani JA, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007;47:699-729.
53. Léna C, Changeux J-P. Allosteric nicotinic receptors, human pathologies. *Journal of Physiology-Paris*. 1998;92(2):63-74.
54. Paterson D, Nordberg A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Progress in neurobiology*. 2000;61(1):75-111.
55. Adinoff B. Neurobiologic processes in drug reward and addiction. *Harvard review of psychiatry*. 2004;12(6):305-20.
56. Ray R, Schnoll RA, Lerman C. Nicotine dependence: biology, behavior, and treatment. *Annual review of medicine*. 2009;60:247-60.
57. Mansvelder HD, McGehee DS. Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron*. 2000;27(2):349-57.
58. Kalivas PW. Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Brain Research Reviews*. 1993;18(1):75-113.
59. Wang H, Sun X. Desensitized nicotinic receptors in brain. *Brain research reviews*. 2005;48(3):420-37.

60. Breese CR, Marks MJ, Logel J, Adams CE, Sullivan B, Collins AC, et al. Effect of smoking history on [3H]nicotine binding in human postmortem brain. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1997;282(1):7-13.
61. Govind AP, Vezina P, Green WN. Nicotine-induced upregulation of nicotinic receptors: underlying mechanisms and relevance to nicotine addiction. *Biochemical pharmacology*. 2009;78(7):756-65.
62. Peng X, Gerzanich V, Anand R, Whiting PJ, Lindstrom J. Nicotine-induced increase in neuronal nicotinic receptors results from a decrease in the rate of receptor turnover. *Molecular pharmacology*. 1994;46(3):523-30.
63. Brody AL, Mandelkern MA, London ED, Olmstead RE, Farahi J, Scheibal D, et al. Cigarette smoking saturates brain $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors. *Archives of general psychiatry*. 2006;63(8):907-14.
64. George O, Ghozland S, Azar MR, Cottone P, Zorrilla EP, Parsons LH, et al. CRF–CRF1 system activation mediates withdrawal-induced increases in nicotine self-administration in nicotine-dependent rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(43):17198-203.
65. Özaydın S. Toksikomaniler. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi; 1984.
66. Köknel Ö. Kaygıdan Mutluluğa Kişilik. İstanbul: Altın Kitaplar Matbaası; 1982.
67. Portugal GS, Gould TJ. Genetic variability in nicotinic acetylcholine receptors and nicotine addiction: converging evidence from human and animal research. *Behavioural brain research*. 2008;193(1):1-16.
68. Philibin SD, Vann RE, Varvel SA, Covington HE, 3rd, Rosecrans JA, James JR, et al. Differential behavioral responses to nicotine in Lewis and Fischer-344 rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2005;80(1):87-92.
69. Siu EC, Tyndale RF. Characterization and comparison of nicotine and cotinine metabolism in vitro and in vivo in DBA/2 and C57BL/6 mice. *Molecular pharmacology*. 2007;71(3):826-34.
70. Coolon RA, Cain ME. Individual differences in response to novelty and the conditioned locomotor effects of nicotine. *Behavioural pharmacology*. 2009;20(4):322-9.
71. Leventhal AM, Waters AJ, Boyd S, Moolchan ET, Lerman C, Pickworth WB. Gender differences in acute tobacco withdrawal: effects on subjective, cognitive, and physiological measures. *Experimental and clinical psychopharmacology*. 2007;15(1):21.
72. Eissenberg T, Adams C, Riggins EC, Likness M. Smokers' sex and the effects of tobacco cigarettes: subject-rated and physiological measures. *Nicotine & Tobacco Research*. 1999;1(4):317-24.
73. Stabile L, Siegfried J. Sex and gender differences in lung cancer. *The journal of gender-specific medicine: JGSM: the official journal of the Partnership for Women's Health at Columbia*. 2002;6(1):37-48.
74. Scharf D, Shiffman S. Are there gender differences in smoking cessation, with and without bupropion? Pooled- and meta-analyses of clinical trials of Bupropion SR. *Addiction (Abingdon, England)*. 2004;99(11):1462-9.
75. Field M, Duka T. Cue reactivity in smokers: the effects of perceived cigarette availability and gender. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2004;78(3):647-52.

76. Evans SE, Blank M, Sams C, Weaver MF, Eissenberg T. Transdermal nicotine-induced tobacco abstinence symptom suppression: nicotine dose and smokers' gender. *Experimental and clinical psychopharmacology*. 2006;14(2):121.
77. Hatsukami D, LaBounty L, Hughes J, Laine D. Effects of tobacco abstinence on food intake among cigarette smokers. *Health Psychology*. 1993;12(6):499.
78. Pomerleau OF, Pomerleau CS, Mehringer AM, Snedecor SM, Ninowski R, Sen A. Nicotine dependence, depression, and gender: Characterizing phenotypes based on withdrawal discomfort, response to smoking, and ability to abstain. *Nicotine & Tobacco Research*. 2005;7(1):91-102.
79. Perkins KA, Gerlach D, Vender J, Grobe J, Meeker J, Hutchison S. Sex differences in the subjective and reinforcing effects of visual and olfactory cigarette smoke stimuli. *Nicotine Tob Res*. 2001;3(2):141-50.
80. Niaura RS, Rohsenow DJ, Binkoff JA, Monti PM, Pedraza M, Abrams DB. Relevance of cue reactivity to understanding alcohol and smoking relapse. *Journal of abnormal psychology*. 1988;97(2):133.
81. Shiffman S, Shadel WG, Niaura R, Khayrallah MA, Jorenby DE, Ryan CF, et al. Efficacy of acute administration of nicotine gum in relief of cue-provoked cigarette craving. *Psychopharmacology*. 2003;166(4):343-50.
82. Sofuoglu M, Mooney M. Subjective responses to intravenous nicotine: greater sensitivity in women than in men. *Experimental and clinical psychopharmacology*. 2009;17(2):63.
83. Domino EF. Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2001;25(1):59-71.
84. Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev*. 1993;18(3):247-91.
85. Stewart J, Badiani A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioural pharmacology*. 1993;4(4):289-312.
86. Berke JD, Hyman SE. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*. 2000;25(3):515-32.
87. Pierce RC, Kalivas PW. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain research reviews*. 1997;25(2):192-216.
88. Reid MS, Fox L, Ho LB, Berger SP. Nicotine stimulation of extracellular glutamate levels in the nucleus accumbens: neuropharmacological characterization. *Synapse (New York, NY)*. 2000;35(2):129-36.
89. Birrell CE, Balfour DJ. The influence of nicotine pretreatment on mesoaccumbens dopamine overflow and locomotor responses to D-amphetamine. *Psychopharmacology*. 1998;140(2):142-9.
90. Hernandez PJ, Sadeghian K, Kelley AE. Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens. *Nature neuroscience*. 2002;5(12):1327-31.
91. Piazza PV, Deminière J-M, Le Moal M, Simon H. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science (New York, NY)*. 1989;245(4925):1511-3.
92. Kayır H, Çelik T. FARELERDE BİREYSEL LOKOMOTOR AKTİVİTE FARKLILIĞININ NİKOTİN DUYARLILAŞMASINA ETKİLERİ. *Journal of Dependence*. 2003;4:62-6.

93. Kanyt L, Stolerman IP, Chandler CJ, Saigusa T, Pogun S. Influence of sex and female hormones on nicotine-induced changes in locomotor activity in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1999;62(1):179-87.
94. Schwartz RD, Kellar KJ. In vivo regulation of [3H]acetylcholine recognition sites in brain by nicotinic cholinergic drugs. *Journal of neurochemistry*. 1985;45(2):427-33.
95. Dwyer JB, Broide RS, Leslie FM. Nicotine and brain development. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2008;84(1):30-44.
96. Eppolito AK, Bachus SE, McDonald CG, Meador-Woodruff JH, Smith RF. Late emerging effects of prenatal and early postnatal nicotine exposure on the cholinergic system and anxiety-like behavior. *Neurotoxicology and teratology*. 2010;32(3):336-45.
97. Slikker Jr W, Chang LW. *Handbook of Developmental Neurotoxicology*: Academic Press; 1998.
98. Berger F, Gage FH, Vijayaraghavan S. Nicotinic receptor-induced apoptotic cell death of hippocampal progenitor cells. *The Journal of neuroscience*. 1998;18(17):6871-81.
99. Wakschlag LS, Lahey BB, Loeber R, Green SM, Gordon RA, Leventhal BL. Maternal smoking during pregnancy and the risk of conduct disorder in boys. *Archives of general psychiatry*. 1997;54(7):670-6.
100. Vaglenova J, Parameshwaran K, Suppiramaniam V, Breese C, Pandiella N, Birru S. Long-lasting teratogenic effects of nicotine on cognition: gender specificity and role of AMPA receptor function. *Neurobiology of learning and memory*. 2008;90(3):527-36.
101. Winzer-Serhan UH. Long-term consequences of maternal smoking and developmental chronic nicotine exposure. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. 2007;13:636-49.
102. Levin ED, Rezvani AH. Development of nicotinic drug therapy for cognitive disorders. *European journal of pharmacology*. 2000;393(1-3):141-6.
103. White HK, Levin ED. Chronic transdermal nicotine patch treatment effects on cognitive performance in age-associated memory impairment. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004;171(4):465-71.
104. Levin ED, Chen E. Nicotinic involvement in memory function in zebrafish. *Neurotoxicology and teratology*. 2004;26(6):731-5.
105. Yilmaz O, Kanit L, Okur BE, Pogun S. Effects of nicotine on active avoidance learning in rats: sex differences. *Behavioural pharmacology*. 1997;8(2-3):253-60.
106. Levin ED, Christopher NC, Weaver T, Moore J, Brucato F. Ventral hippocampal ibotenic acid lesions block chronic nicotine-induced spatial working memory improvement in rats. *Brain Res Cogn Brain Res*. 1999;7(3):405-10.
107. Levin ED, Bettgowda C, Blosser J, Gordon J. AR-R17779, and alpha7 nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. *Behavioural pharmacology*. 1999;10(6-7):675-80.
108. Gatto GJ, Bohme GA, Caldwell WS, Letchworth SR, Traina VM, Obinu MC, et al. TC-1734: an orally active neuronal nicotinic acetylcholine receptor modulator with antidepressant, neuroprotective and long-lasting cognitive effects. *CNS drug reviews*. 2004;10(2):147-66.
109. Levin ED, Christopher CN. Lobeline-induced learning improvement of rats in the radial-arm maze. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2003;76(1):133-9.

110. Puma C, Deschaux O, Molimard R, Bizot JC. Nicotine improves memory in an object recognition task in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1999;9(4):323-7.
111. Levin ED, Torry D. Acute and chronic nicotine effects on working memory in aged rats. *Psychopharmacology (Berl).* 1996;123(1):88-97.
112. Woodruff-Pak DS. Mecamylamine reversal by nicotine and by a partial $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist (GTS-21) in rabbits tested with delay eyeblink classical conditioning. *Behavioural brain research.* 2003;143(2):159-67.
113. Attaway CM, Compton DM, Turner MD. The effects of nicotine on learning and memory: a neuropsychological assessment in young and senescent Fischer 344 rats. *Physiology & behavior.* 1999;67(3):421-31.
114. Buccafusco JJ, Jackson WJ. Beneficial effects of nicotine administered prior to a delayed matching-to-sample task in young and aged monkeys. *Neurobiol Aging.* 1991;12(3):233-8.
115. Buccafusco JJ, Jackson WJ, Terry AV, Jr., Marsh KC, Decker MW, Americ SP. Improvement in performance of a delayed matching-to-sample task by monkeys following ABT-418: a novel cholinergic channel activator for memory enhancement. *Psychopharmacology (Berl).* 1995;120(3):256-66.
116. Socci DJ, Sanberg PR, Arendash GW. Nicotine enhances Morris water maze performance of young and aged rats. *Neurobiol Aging.* 1995;16(5):857-60.
117. Levin ED, Kim P, Meray R. Chronic nicotine working and reference memory effects in the 16-arm radial maze: interactions with D1 agonist and antagonist drugs. *Psychopharmacology (Berl).* 1996;127(1):25-30.
118. Vicens P, Carrasco MC, Redolat R. Effects of early training and nicotine treatment on the performance of male NMRI mice in the water maze. *Neural plasticity.* 2003;10(4):303-17.
119. Bancroft A, Levin ED. Ventral hippocampal $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors and chronic nicotine effects on memory. *Neuropharmacology.* 2000;39(13):2770-8.
120. Levin ED, Bradley A, Addy N, Sigurani N. Hippocampal $\alpha 7$ and $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors and working memory. *Neuroscience.* 2002;109(4):757-65.
121. Radek RJ, Miner HM, Bratcher NA, Decker MW, Gopalakrishnan M, Bitner RS. $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptor stimulation contributes to the effects of nicotine in the DBA/2 mouse model of sensory gating. *Psychopharmacology (Berl).* 2006;187(1):47-55.
122. Addy NA, Nakijama A, Levin ED. Nicotinic mechanisms of memory: effects of acute local DH β E and MLA infusions in the basolateral amygdala. *Brain Res Cogn Brain Res.* 2003;16(1):51-7.
123. Hogarth L, Duka T. Human nicotine conditioning requires explicit contingency knowledge: is addictive behaviour cognitively mediated? *Psychopharmacology (Berl).* 2006;184(3-4):553-66.
124. Cohen C, Perrault G, Griebel G, Soubrie P. Nicotine-associated cues maintain nicotine-seeking behavior in rats several weeks after nicotine withdrawal: reversal by the cannabinoid (CB1) receptor antagonist, rimonabant (SR141716). *Neuropsychopharmacology.* 2005;30(1):145-55.
125. Fujii S, Ji Z, Morita N, Sumikawa K. Acute and chronic nicotine exposure differentially facilitate the induction of LTP. *Brain research.* 1999;846(1):137-43.
126. Fujii S, Ji Z, Sumikawa K. Inactivation of $\alpha 7$ ACh receptors and activation of non- $\alpha 7$ ACh receptors both contribute to long term potentiation induction in the hippocampal CA1 region. *Neuroscience letters.* 2000;286(2):134-8.

127. Matsuyama S, Matsumoto A. Epibatidine induces long-term potentiation (LTP) via activation of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in vivo in the intact mouse dentate gyrus: both $\alpha 7$ and $\alpha 4\beta 2$ nAChRs essential to nicotinic LTP. *Journal of pharmacological sciences*. 2003;93(2):180-7.
128. Raybuck JD, Gould TJ. Extracellular signal-regulated kinase 1/2 involvement in the enhancement of contextual fear conditioning by nicotine. *Behavioral neuroscience*. 2007;121(5):1119-24.
129. Pluzarev O, Pandey SC. Modulation of CREB expression and phosphorylation in the rat nucleus accumbens during nicotine exposure and withdrawal. *Journal of neuroscience research*. 2004;77(6):884-91.
130. Selcher JC, Weeber EJ, Varga AW, Sweatt JD, Swank M. Protein kinase signal transduction cascades in mammalian associative conditioning. *Neuroscientist*. 2002;8(2):122-31.
131. Kesner RP, Hopkins RO. Mnemonic functions of the hippocampus: a comparison between animals and humans. *Biological psychology*. 2006;73(1):3-18.
132. Pereira LO, Arteni NS, Petersen RC, da Rocha AP, Achaval M, Netto CA. Effects of daily environmental enrichment on memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Neurobiology of learning and memory*. 2007;87(1):101-8.
133. Szyndler J, Piechal A, Blecharz-Klin K, Skórzewska A, Maciejak P, Walkowiak J, et al. Effect of kindled seizures on rat behavior in water Morris maze test and amino acid concentrations in brain structures. *Pharmacological reports*. 2006;58(1):75.
134. D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*. 2001;36(1):60-90.
135. Lieben CK, Oorsouw Kv, Deutz NE, Blokland A. Acute tryptophan depletion induced by a gelatin-based mixture impairs object memory but not affective behavior and spatial learning in the rat. *Behavioural brain research*. 2004;151(1):53-64.
136. Morris R. Developments of a Water-Maze Procedure for Studying Spatial-Learning in the Rat. *J Neurosci Meth*. 1984;11(1):47-60.
137. Rapp PR, Rosenberg RA, Gallagher M. An evaluation of spatial information processing in aged rats. *Behavioral neuroscience*. 1987;101(1):3.
138. O'Callaghan RM, Ohle R, Kelly ÁM. The effects of forced exercise on hippocampal plasticity in the rat: A comparison of LTP, spatial-and non-spatial learning. *Behavioural brain research*. 2007;176(2):362-6.
139. Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, et al. Freewheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *The Journal of Neuroscience*. 2003;23(7):2889-98.
140. Balda MA, Anderson KL, Itzhak Y. Adolescent and adult responsiveness to the incentive value of cocaine reward in mice: Role of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) gene. *Neuropharmacology*. 2006;51(2):341-9.
141. Biala G, Budzyska B. Reinstatement of nicotine-conditioned place preference by drug priming: Effects of calcium channel antagonists. *European journal of pharmacology*. 2006;537(1-3):85-93.
142. Brody AL, Mandelkern MA, London ED, Childress AR, Lee GS, Bota RG, et al. Brain metabolic changes during cigarette craving. *Archives of general psychiatry*. 2002;59(12):1162-72.

143. Fudala PJ, Iwamoto ET. Further studies on nicotine-induced conditioned place preference in the rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1986;25(5):1041-9.
144. Plomin R, DeFries JC, Craig IW, McGuffin P. *Behavioral genetics*. 2003.
145. Weiss JM, Cierpial MA, West CH. Selective breeding of rats for high and low motor activity in a swim test: toward a new animal model of depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1998;61(1):49-66.
146. Overstreet DH, Friedman E, Mathé AA, Yadid G. The Flinders Sensitive Line rat: a selectively bred putative animal model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2005;29(4):739-59.
147. Murphy JM, Stewart RB, Bell RL, Badia-Elder NE, Carr LG, McBride WJ, et al. Phenotypic and genotypic characterization of the Indiana University rat lines selectively bred for high and low alcohol preference. *Behavior genetics*. 2002;32(5):363-88.
148. Nesil T, Kanit L, Li MD, Pogun S. Nine generations of selection for high and low nicotine intake in outbred Sprague-Dawley rats. *Behav Genet*. 2013;43(5):436-44.
149. Bardo MT, Rowlett JK, Harris MJ. Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 1995;19(1):39-51.
150. Le Foll B, Goldberg SR. Nicotine induces conditioned place preferences over a large range of doses in rats. *Psychopharmacology*. 2005;178(4):481-92.
151. Le Foll B, Goldberg SR. Nicotine as a typical drug of abuse in experimental animals and humans. *Psychopharmacology*. 2006;184(3-4):367-81.
152. O'Dell LE, Khroyan TV. Rodent models of nicotine reward: what do they tell us about tobacco abuse in humans? *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2009;91(4):481-8.
153. Yazarbas G, Keser A, Kanit L, Pogun S. Nicotine-induced conditioned place preference in rats: sex differences and the role of mGluR5 receptors. *Neuropharmacology*. 2010;58(2):374-82.
154. Prasad, B. M., Sorg, B. A., Ulibarri, C., & Kalivas, P. W. (1995). Sensitization to stress and psychostimulants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 771(1), 617-625.,
155. Oitz, M. S., van Haarst, A. D., & de Kloet, E. R. (1997). Behavioral and neuroendocrine responses controlled by the concerted action of central mineralocorticoid (MRS) and glucocorticoid receptors (GRS). *Psychoneuroendocrinology*, 22, S87-S93.
156. Piazza, P. V., Deminière, J. M., Le Moal, M., & Simon, H. (1989). Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science*, 245(4925), 1511-1513.
157. Cadoni, C., & Di Chiara, G. (2000). Differential changes in accumbens shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *European journal of pharmacology*, 387(3), R23-R25.
158. Uzbay IT, Kayir H (2003) Bromocriptine and quinpirole, but not 7 OH-DPAT or SKF 38393, potentiate the inhibitory effect of L-NAME on ethanol-induced locomotor activity in mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 367:414-421

159. Schaefer, G. J., & Michael, R. P. (1986). Task-specific effects of nicotine in rats: intracranial self-stimulation and locomotor activity. *Neuropharmacology*, 25(2), 125-131.
160. Goshima, Y., Miyamae, T., Nakamura, S., Miki, K., Kosaka, K., & Misu, Y. (1996). Ventral tegmental injection of nicotine induces locomotor activity and L-DOPA release from nucleus accumbens. *European journal of pharmacology*, 309(3), 229-233.
161. Ito, R., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (2004). Differential control over cocaine-seeking behavior by nucleus accumbens core and shell. *Nature neuroscience*, 7(4), 389-397.
162. Kanit, L., I. P. Stolerman, et al. (1999). "Influence of sex and female hormones on nicotine-induced changes in locomotor activity in rats." *Pharmacol Biochem Behav* 62(1): 179-87.
163. Stolerman, I. P., Fink, R., & Jarvik, M. E. (1973). Acute and chronic tolerance to nicotine measured by activity in rats. *Psychopharmacologia*, 30(4), 329-342.
164. James, J. R., Villanueva, H. F., Johnson, J. H., Arezo, S., & Rosecrans, J. A. (1994). Evidence that nicotine can acutely desensitize central nicotinic acetylcholinergic receptors. *Psychopharmacology*, 114(3), 456-462.
165. Reavill, C., & Stolerman, I. P. (1990). Locomotor activity in rats after administration of nicotinic agonists intracerebrally. *British journal of pharmacology*, 99(2), 273-278.
166. Uysal, N., Dayı, A., Özbıl, S., Çetin, F., Aksu, İ., Yalaz, G., ... & Arda, S. G. (2010). Sıçanlarda Spasyal Belleğin Adölesan Dönem Süresince Gelişimi. *Journal of Neurological Sciences-Turkish*, 27(4), 407.
167. Scerri, C. (2011). Effects of nicotine administration on amyloid precursor protein metabolism, neural cell genesis and acquisition of spatial memory.
168. Benwell, M. E., Balfour, D. J., & Birrell, C. E. (1995). Desensitization of the nicotine-induced mesolimbic dopamine responses during constant infusion with nicotine. *British journal of pharmacology*, 114(2), 454.
169. Levin, E. D., Rezvani, A. H., Montoya, D., Rose, J. E., & Swartzwelder, H. S. (2003). Adolescent-onset nicotine self-administration modeled in female rats. *Psychopharmacology*, 169(2), 141-149.
170. Giniatullin, R., Nistri, A., & Yakel, J. L. (2005). Desensitization of nicotinic ACh receptors: shaping cholinergic signaling. *Trends in neurosciences*, 28(7), 371-378.
171. Bernal, M. C., Vicens, P., Carrasco, M. C., & Redolat, R. (1999). Effects of nicotine on spatial learning in C57BL mice. *Behavioural pharmacology*, 10(3), 333-336.
172. Abdulla, F. A., Bradbury, E., Calaminici, M. R., Lippiello, P. M., Wonnacott, S., & Gray, J. a. and Sinden JD (1996) Relationship between up-regulation of nicotine binding sites in rat brain and delayed cognitive enhancement observed after chronic or acute nicotinic receptor stimulation. *Psychopharmacology (Berl)*, 124, 323-331.

173. Tzschentke, T. M. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in neurobiology*, 56(6), 613-672.
174. Grabus, S. D., Martin, B. R., Brown, S. E., & Damaj, M. I. (2006). Nicotine place preference in the mouse: influences of prior handling, dose and strain and attenuation by nicotinic receptor antagonists. *Psychopharmacology*, 184(3-4), 456-463.
175. Risinger, F. O., & Oakes, R. A. (1995). Nicotine-induced conditioned place preference and conditioned place aversion in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 51(2), 457-461.
176. Natarajan, R., Wright, J. W., & Harding, J. W. (2011). Nicotine-induced conditioned place preference in adolescent rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 99(3), 519-523.
177. Jorenby, D. E., Steinpreis, R. E., Sherman, J. E., & Baker, T. B. (1990). Aversion instead of preference learning indicated by nicotine place conditioning in rats. *Psychopharmacology*, 101(4), 533-538.
178. Calcagnetti, D. J., & Schechter, M. D. (1994). Nicotine place preference using the biased method of conditioning. *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 18(5), 925-933.
179. Laviolette, S. R., & van der Kooy, D. (2003). Blockade of mesolimbic dopamine transmission dramatically increases sensitivity to the rewarding effects of nicotine in the ventral tegmental area. *Molecular psychiatry*, 8(1), 50-59.

ÖZGEÇMİŞ

Unvanı, Adı Soyadı: Psikolog Sinem Demirel Balcı

Doğum Tarihi: 17.11.1980

Medeni Durum: Evli

Yabancı Dil:

- İngilizce (iyi seviye)

Eğitimi:

- Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Psikoloji Bölümü 1997/2002-İzmir

Yüksek Lisans:

- Ege Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Eğitim Bilimleri Tezsiz Yüksek Lisans 2002/2004-İzmir
- Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilim Tezli Yüksek Lisans 2012/...İzmir

Çalıştığı Kurumlar:

- 2002- 2006 Özel Özel Eğitim Merkezleri /Psikolog
- 2006-2010 Milli Eğitim Bakanlığı- Psikolojik Danışman/Psikolog
- 2010- 2013 E.Ü.T.F.H. Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları A.D. / Uzm. Psikolog
- 2013-2014 E.Ü. Tülay Aktaş Onkoloji Hastanesi Çocuk Onkolojisi A.D. /Uzm. Psikolog
- 2014- E.Ü Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilimdalı Sinirbilim Yüksek Lisans Tezi için Geçici Görevlendirme

Eğitimler

Aile Terapisi Eğitimi ,Türk Psikologlar Derneği ,Davranış Bilimleri Enstitüsü-İzmir 2002

Psikolojik Testler -(Wisc-r) 6-16 yaş Çocuklar için Zeka Testi/ Türk Psikologlar Derneği

Children Apperception Test (C.A.T.) Psikolojik Testler Derneği 2008/İstanbul

Psikodrama Kongresi 2005/ Bergama

Tematik Algı Testi (T.A.T.)- Psikolojik Testler Derneği 2008/ İstanbul

Ericksonian (Çözüm Odaklı Stratejik Terapi) Psikoterapi Eğitimi
Süpervizyon Jeff Zeig Milton Erickson Foundation-İstanbul 2007-2014

Çift Terapisi Süpervizyon Jeff Zeig Milton Erickson Foundation-İstanbul 2012

Depresyon ve Anksiyete Bozukluklarında Çözüm Odaklı Ericksonian yaklaşım
Süpervizyonu Jeff Zeig 2009

Depresyonun Kognitif Terapisi- Kognitif Terapi Derneği-İstanbul/2001

46. Ulusal Psikiyatri Kongresi 2010/İzmir- Adli Psikiyatri Kursu

21. Ulusal Çocuk ve ergen Psikiyatrisi Kongresi 2011/ Antalya- Sözel Bildiri
(E.Ü. 6 ay içinde gelen Adli Vakalarda Zeka ve Psikiyatrik Tanıları)

11. Ulusal Sinirbilim Kongresi -Molekülden Topluma Beyin ve Davranış-
İzmir

E.Ü. Tıp Fakültesi Fziyoloji A.D. Beyin Araştırmaları U.A. Merkezi Sürekli
Eğitimleri

Yurtdışı Projeleri:

- A.B. Grundtvig Öğrenme Ortaklıkları Projesi (Hollanda ve İngiltere) Pathways
To Learning Together (anne – baba-çocuk eğitimi) Proje sorumlusu ve
Koordinatörü
- A.B. Grundtvig Öğrenme Ortaklıkları Projesi (Almanya-İspanya-Polanya)
Cometh (Ailelerin çocukların yetiştirilmesinde desteklenmesi projesi) Türkiye
Koordinatörü

E-mail: sinem.balci@hotmail.com

17 Eylül 2013

EGE ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞINA

Konu: projede değişiklik bildirimi

2011-160 sayı ile etik onay alan ‘NİKOTİN BAĞIMLILIĞINA DİRENCİ VE YATKINLIĞI OLAN SIÇAN SOYLARININ OLUŞTURULMASI’ isimli projemizde şu sıralarda 10 nesile kadar ilerledik. Bu arada bu projeden ilk yayınıımızı da yaptık, yayının bir kopyasını dilekçe ekinde görebilirsiniz. Alkole dirençli ve duyarlı soyların oluşturulması ile ilgili literatüre göre 20 nesilden itibaren yavruların %90 ve üzerinde oranlarda istenen şekilde alındığı bildirilmektedir. Biz şu anda % 60-70 lere varan oranda nikotin duyarlı ve dirençli yavrular elde etmeye başladık. Çalışmanın bu aşamasında deney hayvanlarının 10 nesildir aldıkları nikotinle spasyal öğrenme, şartlı yer tercihi ve lokomotor aktiviteleri gibi davranışsal parametrelerde bir değişiklik oluşup oluşmadığını merak etmekteyiz. Yavrularımızın tercihlerini belirlemeden önce bu deneyleri yapıp sonra tercihlerini belirleyip üretimlerine devam edeceğiz. Yani deneylerimizin arasına bu davranış deneylerini sokup eski projeye aynen devam edeceğiz. Eğer bu değişikliği yapmamız uygun görülürse bunu bir yüksek lisans öğrencisinin tezi olarak değerlendireceğiz.

Projede araştırmacı değişikliği de yapmamız gerekmektedir, Projeye başladığımızda bu işi temel olarak yürüten doktora öğrencisi Tanseli Nesil Amerikaya gitmiştir. Soy projesi ile ilişkisini kesmediği için projeden adının çıkarılmamasını talep etmekteyim. Fakat buradaki işlerde bana yardım etmek üzere 3 yüksek lisans öğrencisinin adının da projeye eklenmesini istemekteyim. Müzeyyen Uğur ve Hasibe Şahin soy üretimi ile ilgili konularda bana yardım edeceklerdir, Sinem Demirel ise davranış deneylerinde bana yardımcı olacaktır.

Projeye ilgili değişiklik taleplerimi Etik kurulunuzun onayına sunarım.

Saygılarımla

Prof. Dr. Lütfiye Kanit



Bu sayfa EÜ Hayvan Yerel Etik Kurulu tarafından doldurulacaktır!

Başvuru No: 2011-160

Araştırmacı: Prof. Dr. Lütfiye KANIT

Fakülte / Enstitü / Yüksekokul / Merkez: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.

EÜHADYЕК değerlendirme sonucu:

- | | |
|---------------------|---|
| 1. Uygun | ■ |
| 2. Koşullu uygun | □ |
| 3. Düzeltme gerekli | □ |
| 4. Uygun değil | □ |

Açıklama (yukarıdaki numaralar referans gösterilerek yorum yapılmalıdır):

“NİKOTİN BAĞIMLIĞINA DİRENCİ VE YATKINLIĞI OLAN SIÇAN SOYLARININ OLUŞTURULMASI”

- Araştırmamız EÜ.HADYЕК onayı almıştır. Onay belgenizi EÜ Rektörlüğü HADYЕК Sekreterliğinden alabilirsiniz.

Ege Üniversitesi Rektörlüğü
Strateji ve Planlama Koordinatörlüğü
Üniversitem Programı Birimi
Gençlik Cad. No.12 35040
Bornova / İZMİR

Tel: 232 388 28 53 / 3-5
232 388 01 10-2188 / 3-5
Faks: 232 388 01 10-2050
E-Posta: euspk@mail.ege.edu.tr

EGE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

SAYI: 2011-160
KONU: Onay

30.09.2011

Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda “**NİKOTİN BAĞIMLIĞINA DİRENCİ VE YATKINLIĞI OLAN SIÇAN SOYLARININ OLUŞTURULMASI**” isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

Yürütücü: **Prof. Dr. Lütfiye KANIT**, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Prof. Dr. Sakire PÖĞÜN, Ege Üniversitesi Beyin Araştırmaları UAM
Doktora Öğr. Tanseli NESİL, Ege Üniversitesi Beyin Araştırmaları UAM

Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda deney hayvanı kullanarak araştırmayı gerçekleştirmeniz kurumumuz tarafından uygun bulunmuştur. Saygılarımla bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Rasih YILMAZ
(E.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. Süleyman AKKAN

Prof. Dr. Hüseyin TEZEL *Katılmadı*

Prof. Dr. İsmet DELİLOĞLU GÜRHAN

Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK

Prof. Dr. Gülcihan Mehtap KÖKSAL

Doç. Dr. Tansel TANRIKUL

Doç. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

Yrd. Doç. Dr. Gülnur SEVİN

Özcan NALBANTOĞLU

Tingiz ÖZCAN *Katılmadı*