

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(Yüksek Lisans Tezi)

Sıçanlarda Nikotin Tercihinin

Oluşturulması ve Araştırılması

Tanseli Nesil

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bilim Dalı Kodu: 614.02.07

Sunuş Tarihi: 18/01/07

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şakire PÖĞÜN

BORNOVA-İZMİR

Sayın Tanseli NESİL tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Sıçanlarda Nitokin Tercihinin Oluşturulması ve Araştırılması” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 18.01.2007 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Prof. Dr. Şakire PÖĞÜN (Danışman)

(E.Ü. Tıp. Fak., Fizyoloji Anabilim Dalı)

Prof. Dr. Fazilet VARDAR SÜKAN

(E.Ü. Müh. Fak.,Biyomühendislik Bölümü)

Prof. Dr. Lütüye KANIT

(E.Ü. Tıp. Fak., Anabilim Dalı)

ÖZET

Sigara tüketimi toplum için zararlı sonuçları olan bir bağımlılıktır. Nikotin tütündeki bağımlılık yapıcı madde olup tütün bağımlılığının temelini teşkil etmektedir. Gelişmiş ülkelerde erişkinlerde tütün kullanımı azalmakta iken adölesanlarda, özellikle de kızlarda sigara tüketimi artmaktadır. Adolesan tütün kullanımı bu boyutu ile halk sağlığı üzerinde önemli bir sorundur. Tütün ve sigara kullanımı ile ilgili literatür genellikle erişkinleri içermektedir. Ayrıca hamilelikte fetal maruziyet ile de ilgili yayınlar bulunmaktadır. Ancak, adölesans dönemindeki çalışmalar sadece son zamanlarda ivme kazanıştır. Bu oldukça talihsiz bir durumdur, çünkü genellikle adölesans sigara kullanımına tipik olarak başlanan dönemdir. Hayvan odelleri nikotin etkilerini araştırmak açısından önemli avantajlar sağlar. Adölesan dönemde kronik nikotin maruziyeti beynin yapısını, biyokimyasını ve bilişsel fonksiyonları etkiler; bu etki erişkinliktekenden daha önemlidir. Sunulan çalışmada 90 sıçana oral yolla nikotin tercihi sunulmuş, hayvanların kendi tercihleri ile nikotin tüketimi sağlanmış; sıçanlar doğumlarından itibaren 4 aylık oluncaya kadar izlenmiş, adölesans ve erişkinlik dönemlerinde altışar hafta nikotine maruz bırakılmışlardır. Bu dönemler içinde 24 saat serbest erişimli olarak nikotine ulaşmalarını mümkün kılan bir düzen içinde, kontrollerle karşılaştırmalı olarak nikotin tüketimleri kaydedilmiştir. Nikotinin tadı sakkarin ile maskelenmiş ve sakkarin hem su hem de nikotin çözeltilerine uygulanmıştır. Bu uygulama sırasında sıçanlar her iki yaş döneminde de nikotini sudan ayırdetmişlerve bireysel farklılık göstererek tüketmişlerdir. Grup ortalamaları nikotin tüketiminin adölesan dönemde erişkinliktekenden anlamlı derecelerde daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca dişi sıçanlar erişkinlik döneminde nikotini daha fazla tercih etmişlerdir. Adölesans ve erişkinlik dönemlerinde tüketilen nikotin arasında dişilerde anlamlı bir korelasyon bulunduğu halde, erkeklerde böyle bir korelasyon gözlenmemiştir. Çalışmanın ikinci bölümünde nikotinin dikkat üzerindeki

etkileri, tarafımızdan geliştirilmiş olan dikkat ipuçlu, su tankında yer bulma deneyi le değerlendirilmiştir. Dikkat testinde niotin dişilerde performansı iyileştirdiği halde erkeklerde bu anlamlı bir etki görülmemiştir. Sonuçta, dişilerin adölesans döneminde nikotine daha duyarlı oldukları ve dişilerde bu dönemde nikotin maruziyetinin erişkinlikte nikotin tüketimini belirlediği söylenebilir. Kronik nikotin dişi sıçanlarda dikkati arttırdığı halde erkeklerde anlamlı bir etki oluşturmamıştır. Sonuçlarımız nikotine maruz kalınmasının cinsel dimorfik etkiler oluşturduğunu ortaya koymaktadır.

ABSTRACT

Smoking is an addiction with detrimental effects on society. Nicotine is the addictive component of tobacco and underlies the addictive properties of tobacco use. While the tobacco use among adults is decreasing in developed countries, adolescent smoking, especially among girls is increasing. Tobacco use in adolescence is a major problem which has significant impact on public health. Most of the literature on smoking and tobacco covers adult subjects. There is a large number of studies exploring the consequences of fetal nicotine exposure as well. However, studies on adolescents have become available only recently. This is rather unfortunate as adolescence is the stage where regular cigarette use typically begins. Animal models present a valuable approach to study the effects of nicotine. Chronic treatment with nicotine differentially alters brain structure, biochemistry and cognitive functions in adolescent rats compared to adult rats. In the current study oral nicotine self administration was studied in a total of 90 rats which were followed from birth until 4 months. Nicotine was presented as a choice for 6 weeks in adolescence and 6 weeks in adulthood. Rats were tested for voluntary nicotine consumption by providing 24-h free access to both water or nicotine containing solutions; the taste of nicotine was masked by saccharin, which was also used in water. Rats were able to discriminate nicotine from water and showed individual differences in nicotine consumption both as adolescents and adults. Group means showed that nicotine consumption was higher in adolescent rats than adults and that female rats increased nicotine consumption as adults. Furthermore, there was a correlation between adolescent and adult nicotine in consumption only in female rats but not in males. The second part of the study evaluated the effects of nicotine in attentionally cued performance in a modified version of the water maze task. In the attention task, nicotine improved the performance of female rats only without having a significant effect on males. In

VIII

conclusion, female rats are more vulnerable to nicotine as adults and adolescent exposure predicts higher nicotine consumption as adults. Chronic nicotine improves attention in adult female rats but has no significant effect on males. Our results confirm a sexually dimorphic response to nicotine exposure in rats.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında büyük bir sabır ve anlayış göstererek her zaman yanımda bulunan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Şakire PÖĞÜN' e teşekkürü bir borç bilirim.

Araştırmanın deneylerini yürütmede bilgi ve tecrübesiyle katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Lütfiye KANIT' a teşekkürlerimi sunarım. Davranış çalışmaları sırasında yardım ve destekte bulunan Uzman Dr. Gökem YARARBAŞ ve her konuda benden yardımlarını esirgemeyen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki değerleri arkadaşlarıma teşekkür etmek isterim.

Yüksek Lisans eğitimime katkıda bulunan ve tez çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyerek benim için uygun koşulların yaratılmasını sağlayan Biyoteknoloji Bölümündeki tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	
TOBLOLAR DİZİNİ.....	
1 GİRİŞ ve AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	6
2.1 Nikotin	6
2.1.1 Nikotinin yapısı ve ilişkili moleküller	6
2.1.2 Nikotinin etki mekanizması	9
2.1.3 Nikotinin etkileri	9
2.2 Nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR)	14
2.2.1 Nikotinik nAChR'lerinin yapısı	14

2.2.2	Nikotinik AChR'lerinin lokalizasyonu	22
2.2.3	Nikotinik AchR'lerinin fonksiyonel özellikleri	25
2.2.4	Nikotinik AChR'lerinde gelişim ve yaşlanma süresince meydana gelen değişimler	29
2.3	Bağımlılık	31
2.3.1	Beyin ödül devrelerinde meydana gelen etkiler	34
2.3.2	Bağımlılık sürecinde plastisite ve adaptasyonlar	38
2.4	Nikotin bağımlılığı	40
2.4.1	Nikotin bağımlılığında nACh reseptörlerinin davranışı	41
2.4.2	Nikotin bağımlılığında nACh Reseptör sayısında artış	47
2.4.3	Nikotin bağımlılığının hücrel ve sinaptik mekanizmaları	49
2.4.4	VTA'da glutamaterjik iletinin nikotinik modülasyonu	50
2.4.5	VTA'da GABAerjik iletinin nikotinik modülasyonu	51
2.4.6	VTA Dopaminerjik nöron inhibisyonunun ortadan kaldırılması ve ödül.....	55
2.4.7	Nikotin duyarlılığında gelişimsel değişiklikler	56

2.5	Cinsiyet farklılıkları	57
2.5.1	Bağımlılıkta cinsiyet farklılıkları	58
2.5.2	Nikotin bağımlılığında cinsiyet farklılıkları	60
2.6	Nikotin bağımlılığı ve adölesans	64
2.6.1	Adölenans döneminde uygulanan nikotin davranışa etkileri	69
2.7	Nikotin ve dikkat	72
2.8	Nikotin bağımlılığının çalışılması için deneysel prosedürler	74
2.8.1	Kendi kendine madde uygulaması (Drug self administration)	75
2.8.2	Şartlı yer tercihi	77
2.8.3	Bir öğrenme ve bellek değerlendirme yöntemi olarak Morris su tankı	79
3	YÖNTEM	82
3.1	Deney hayvanları	82
3.2	Kimyasallar	83
3.3	Deney Prosedürü	83

3.4	Su Tankında dikkat deneyleri	85
3.4.1	Su Tankı Düzeneği	85
3.4.2	Su tankında ışık ipuçlu dikkat deneyleri	86
3.5	İstatistiksel Analiz	87
4	BULGULAR	88
4.1	Adolesans ve erişikilik dönemlerinde sıçanların nikotin tüketimine göre gruplandırılması	88
4.2	Nikotinin sudan ayırdedilmesi ve bireysel farklılık gösteren tüketimi.	93
4.2.1	Adolesan sıçanlarda	93
4.2.2	Erişkin sıçanlarda	96
4.3	Vücut ağırlığındaki artış	97
4.3.1	Adolesan sıçanlarda	98
4.3.2	Erişkin sıçanlarda	100
4.4	Yaş ve Cinsiyetin altı hafta boyunca nikotin tüketimine etkilerinin araştırılması	102

4.5	Alınan toplam sıvı, Vücut ağırlığı ve Tüketilen nikotin arasında korelasyonların araştırılması:.....	102
4.6	Işıklı ipucu kullanılarak gerçekleştirilen, su tankında dikkat çalışmaları	105
4.6.1	Erkek ve dişi sıçanların 7 gün boyunca ışık ipucu ile platformu bulma süreleri.	106
4.6.2	Dikatin değerlendirildiği Prob denemeleri sırasındaki performans.....	108
4.6.3	Nikotin tüketimi ve 7. gün öğrenme performansı ile prob denemelerde platformu bulma süreleri arasındaki korelasyonların araştırılması.	110
5	TARTIŞMA	112
6	REFERANS LİSTESİ	119

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil

Sayfa

Şekil 1: Erkek ve dişilerde nikotin/sigara bağımlılığındaki farklılıklar	3
Dişiler daha erken bağımlı olurlar, bırakmaya karar verildiğinde yoksun kaldıkları süreler daha kısadır ve daha az bırakma denemesi yaparlar, nüks daha sıktır ve bırakmada başarı daha düşüktür.....	3
Şekil 2: Nikotinin kimyasal yapısı	6
Şekil 3: Asetilkolin, CAT tarafından katalizlenmesi ve AchE ile yıkımı	7
Şekil 4: Asetilkolinin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 5: Lobelinin kimyasal yapısı	8
Şekil 6: d-Tuboküarin'in kimyasal yapısı.....	8
Şekil 7: Sinir sistemindeki kolinerjik sinapslar. N, nikotinik reseptörler; M, muskarinik reseptörler; Ad, adrenalin; NA, noradrenalin.....	10
Şekil 8: Nikotinik AChR'ün organizasyon ve şekli. (A) nAChR alt birimlerinin şematik görünümü ve transmembran topolojisi. Model, üç hidrofobik transmembran birim ile (M1-M3) devam eden, hücre dışı amino terminal kısımlarını, büyük bir hücre içi halka ve dördüncü bir transmembran birimi(M4) göstermektedir. (Wonnacott, 1997)	15

Şekil 9: nAChR alt birimlerinin reseptörde pentamerik düzenlenişi ve asetil kolin, nikotin bağlanması sonucunda meydana gelen katyonik akış.....	16
Şekil 10: Limnea ACh bağlanma proteini (Sexma et al. 2001)	17
Şekil 11: Nikotinik AchR alt birimlerinin organizasyonu	21
Şekil 11: Reseptör kanalının 2 farklı durumu : B, bazal, dinlenme, kapalı durumu gösterir. A; aktif, açık kanal durumunu gösterir. I ve D; hızlı, yavaş desensitizasyon ile nikotinik reseptörlerin yüksek affiniteli durumunu göstermektedir.....	28
Şekil 12: Bağımlılık Sarmalı.....	31
Şekil 13: Madde bağımlılığında pozitif pekiştirmeden negatif pekiştirmeye geçiş sürecinin olası modeli	32
Şekil 14: Bağımlılık davranışının biyopsikososyal modeli.....	33
Şekil 15: Mezolimbik yolak: Sagital sıçan beyni kesiti ventral tegmental alandan nukleus akumbense olan dopaminerjik projeksiyonları göstermektedir. Nukleus akumbens maddelerin ödül etkilerini oluşturmada merkezi bir rol oynar. Kokain, mafetamin gibi bağımlılık oluşturan önemli maddeler nukleus akumbensde etkilerini gösterir. Nikotin ve etanol ise VTA nöronlarının ateşlenme değerlerini arttırmaktadır. Opiatlar ve THC birincil etki alanları VTA dır ancak bazı etkilerini nukleus akumbensde de göstermektedirler (Nora Volkow, NIH/NIDA).	35
Şekil 16: Madde bağımlılığındaki Nöronal yollar: Glutamaterjik projeksiyon nöronları mavi ile; GABAerjik projeksiyon nöronları turuncu, dopaminerjik nöronlar yeşil ile gösterilmektedir. (Nora Volkow, NIH/NIDA).	36
Şekil 17: Kendi kendine madde uygulaması.....	77

Şekil 18: Şartlı yer tercihi düzeneği	78
Şekil 19: Morris Su Tankı	79
Şekil 20: Ward metoduna göre gruplandırılan sıçanların son iki hafta ortalama nikotin tüketimleri ($\pm$ standart hata).	90
Şekil 21: Adölesans ve erişkinlik dönemlerinde deney gruplarındaki sıçanların 3 grup arasındaki orantısal dağılımı.	90
Şekil 22: Erkek ve dişi sıçanlarda adolesans ve erişkinlik dönemlerinde iki haftalık dönemlerde ortalama nikotin tüketimi (mg/kg/hafta).	91
Şekil 23: Adolesans ve erişkinlik dönemlerinde 5-6. haftalarda tüketilen nikotin miktarları (mg/kg/hafta).	92
Şekil 24: .Adolesans döneminde erkek ve dişi sıçanların nikotin bulunan şişeden (veya kontrol gruplarında aynı taraftaki su bulunan şişeden içtikleri sıvının toplam sıvı miktarına göre %si.	94
Şekil 25: Adolesans dönemindeki sıçanlarda altı hafta içindeki vücut ağırlığı değişimi (ortalama $\pm$ sem).	98
Şekil 26: Altı hafta boyunca adolesan sıçanların vücut ağırlığındaki değişim.	99
Şekil 27: Erişkinlikte sıçanlarda altı hafta içindeki vücut ağırlığı değişimi (ortalama $\pm$ sem).	100
Şekil 28: Altı hafta boyunca erişkin sıçanların vücut ağırlığındaki değişim.....	101

Şekil 29: Erkek ve dişi sıçanların 7 günlük öğrenme denemeleri sırasında ortalama performansları. Performans ışıklı ipucu ile platformun kaç saniyede bulunduğu şeklinde belirlenmiştir.....	107
Şekil 30: Prob denemeler sırasındaki başarı (ortalama $\pm$ sem).....	108
Şekil 31: Öğrenme çalışmalarının . ve 7. günlerinde, süreye bakılmaksızın, platformu bulabilen sıçanların grup içindeki oranı.....	109
Şekil 32: Prob denemeleri sırasında (4 deneme), süreye bakılmaksızın, platformu bulabilen sıçanların grup içindeki oranı.....	110

TABLO LİSTESİ

Tablo

Sayfa

Tablo 1: Kolinerjik iletimi modifiye eden bazı maddeler.....	12
Tablo 2: Bazı beyin bölgelerinde nikotinik reseptör bağlanması ve mRNA alt birim dağılımı (Shacka ve Robinson 1996)	23
Tablo 4: Ward metoduna göre yapılan gruplandırmada her iki yaş grubunda maksimum, median ve minimum nikotin alan gruplara düşen hayvan sayıları.....	89
Tablo 5: Erişkinliklerindeki gruplandırma içinde gösterilen sıçanların adölesans dönemindeki nikotin tercihlerinin grup %si olarak ifadesi.....	89
Tablo 6: Deney gruplarında nikotinli su, kontrol grubunda deney gruplarında nikotin sunulan taraftaki su şişesinden içilen sıvı miktarının oranı. Cinsiyet farkı saptanmadığı için erkek ve dişiler birlikte gösterilmektedir.	95
Tablo 7: Deney gruplarında nikotinli su, kontrol grubunda deney gruplarında nikotin sunulan taraftaki su şişesinden içilen sıvı miktarının oranı. Cinsiyet farkı saptanmadığı için erkek ve dişiler birlikte değerlendirilmiştir.....	96
Tablo 8: Adolesan sıçanlardaki anlamlı korelasyonlar (p değerleri)	103
Tablo 9 : Erişkin sıçanlardaki anlamlı korelasyonlar (p değerleri).....	104
Tablo 10: Su tankı deneylerinde anlamlı korelasyonlar (p değerleri).....	111

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sigara ve diğer tütün ürünleri, içerdikleri nikotin nedeniyle bağımlılık oluşturmaktadır (US Department of Justice, Federal Bureau of Investigation,1993). Sigara kullanımının kardiovasküler hastalıklar, inme, akciğer kanseri gibi pek çok hastalığa yakalanma riskini arttırdığı bilinmektedir ve sigara kullanımı ile ilişkili olarak meydana gelen hastalıklar nedeniyle her yıl dört milyondan fazla insan hayatını kaybetmektedir (Smoking Statics Fact Sheet, 2005). Amerika Birleşik Devletlerinde halen sigara tiryakisi olan erişkinlerin % 91,3'ünün sigarayı ilk kez 13 -19 yaş aralığında denedikleri ve bu kişilerden %77'sinin deneme sürecinin ardından 20 yaşında her gün sigara içen bağımlı kişiler durumuna geldikleri belirtilmektedir. Türkiye'nin 15 ayrı ilinde standart yöntem ve araçlarla 20.000 öğrenci ile yapılan araştırmanın sonuçlarına göre 15-17 yaş grubundaki öğrencilerin %22' sinin her gün sigara içtikleri belirlenmiştir (Ögel. K,2003 ; Bağımlılık Dergisi).

Adölesans dönemi nöronal gelişimin son basamağı olup sigara kullanımına başlamada kritik rol oynamaktadır. Genel erişkin popülasyonunda, özellikle batılı ve gelir düzeyi yüksek ülkelerde sigara kullanımının prevalansı azalmakta olmasına rağmen adölesanlarda sigara kullanımının prevalansı artmıştır. Ayrıca, yetişkin nüfusta genel ortalamalar değerlendirildiğinde kadınlarda sigara kullananların oranı erkeklerden düşük olmasına rağmen adölesanlarda bu fark kaybolmaktadır. Demen ki kızlar, eskisinden farklı olarak, daha erken yaşlarda ve erkeklerle aynı oranda sigara içmeye başlamaktadırlar. Diğer bir önemli gözlem, sigarayı bırakmaya karar verildiğinde, erişkin nüfusta sigarayı bırakabilme oranının kadınlarda erkeklerden daha düşük olmasıdır.

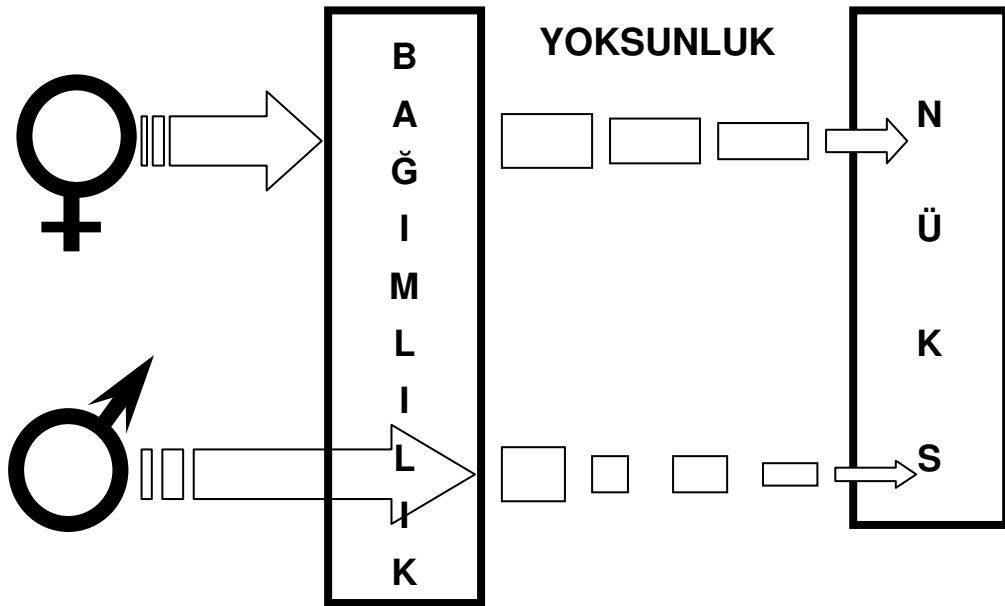
Sigara kullanımına başlama yaşının düşmesi hem erişkinlikte, hem de adölesans döneminde çeşitli sağlık sorunlarının ve risklerinin artmasına yol açmaktadır (O'Malley, Johnston et al. 1998).

Sigara kullanımına erken adölesan dönemde başlanması erişkin dönemde sigara kullanım potansiyelinin kuvvetli bir belirleyici parametresini oluşturmaktadır. Adölesans döneminde sadece birkaç adet sigara içmek nikotine bağımlılık gelişmesi olasılığını arttırmakta (Russell 1990) ve erişkinlikte sigara kullanım riskini 16 kat yükseltmektedir (Chassin, Presson et al. 1990). Erken yaşta günde birden fazla sigara tüketimi, erişkinlikteki meydana gelebilecek olan bağımlılığın ciddi kriterlerini oluşturmakta (DiFranza, Wellman et al. 2006) ve bu kişiler erişkinliklerinde tütün ile bağlantılı sağlık sorunları ile daha ciddi bir boyutlarda karşı karşıya kalmaktadırlar (USDHHS, 1989). Adölesan sigara kullanımı ile daha sonra oluşan uzun süreli tütün bağımlılığı arasında kuvvetli bir korelasyon bulunmaktadır. Erişkin ve adölesan beyni arasındaki temel farklılıkların gençlerin sigara kullanımına karşı olan duyarlılıklarına yansımakta ve farklılıklar bulunmaktadır. Ara sıra tütün kullanımına başlamanın ardından adölesanlarda nikotin bağımlılığı günler ve haftalar gibi çok kısa bir zaman diliminde gelişmeye başlamaktadır. Ayrıca erişkin kullanıcılarda görülen cinsiyet farklılıklarına adölesanlarda da rastlanmaktadır. Bazı ülkelerde kızların tütün kullanım prevalansı erkeklere oranla daha yüksektir (Stanton, Baade et al. 2006). Kadınlar sigara kullanımı sırasında veya yoksunluk döneminde erkeklere oranla daha fazla duygu durum değişikliği göstermektedir (Perkins 1999).

Oluşturulan hayvan modellerinde tütündeki temel psikoaktif bileşen olan nikotinin adölesanlardaki nikotinik kolinerjik reseptör ekspresyonuna etki göstererek hücre farklılaşmasında yer alan genlerde değişime neden olduğu ve devam eden nikotin uygulamalarının apoptozise yol açtığı belirlenmiştir (Slotkin 2002). Adölesan kemirgenler, erişkin kemirgenlere göre nikotinin ödül

etkilerine daha duyarlı iken (Belluzzi, Lee et al. 2004) nikotin aversif etkilerine karşı daha az duyarlılık göstermektedirler (Wilmouth and Spear 2004).

Gerek deneysel hayvan modellerinde, gerek insanlardaki sigara bağımlılarında görülen nikotin ve sigara bağımlılık paternleri Şekil 1’de özetlenmiştir.



Şekil 1: Erkek ve dişilerde nikotin/sigara bağımlılığındaki farklılıklar

Dişiler daha erken bağımlı olurlar, bırakmaya karar verildiğinde yoksun kaldıkları süreler daha kısadır ve daha az bırakma denemesi yaparlar, nüks daha siktir ve bırakmada başarı daha düşüktür.

Cinsiyet farklılıkları açısından erişkin sıçanların kendi kendine nikotin uygulama davranışında (self administration) daha fazla motive oldukları (Donny, Caggiula et al. 2000) ve farmakolojik olmayan ipuçlarına karşı dişilerin daha duyarlı oldukları bilinmektedir (Chaudhri, Caggiula et al. 2006).

Nikotinin davranışsal etkileri yaş ve cinsiyete bağlı olarak farklılaşmaktadır. Erişkinlerde akut nikotin lokomotor depresan etki oluşturduğu halde adölesanlarda akut nikotin uygulaması lokomotor aktiviteyi artırır (Vastola, Douglas et al. 2002; Elliott, Faraday et al. 2004). Dişiler hem adölesan dönemde hem de erişkinliklerinde nikotinin lokomotor etkilerine karşı daha duyarlıdır (Elliott, Faraday et al. 2004).

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 çok nemli bir boyutu da bilişsel süreçlerle olan ilişkisidir. Nikotin bazı bilişsel süreçleri desteklemekte, özellikle dikkati arttırmaktadır. (Hahn et al.2003) Bu nedenle bazı bağımlı kişilerde sigara bırakmadaki en önemli sorunlardan biri bilişsel etkilerinden vazgeçilmesinin zor olmasıdır. Son yıllarda bu etkide iki farklı boyut dikkati çekmektedir: 1) Sigarayı bırakma denemeleri sırasında yoksunluk nedeniyle ortaya çıkan belirtiler bireyler tarafından yanlış değerlendirilmekte ve nikotinin olumlu etkilerinin ortadan kalkması olarak yorumlanmaktadır 2) Etkiler gençlik yıllarında daha beirgindir, yaşlılıkta ise sigara tiryakilerinde bilişsel performansta düşme gözlenmiştir (Paul, Brickman et al. 2006). Bu nedenle nikotinin dikkat ve bilişsel performans üzerindeki etkilerinin ve bu etkilerdeki bireysel farklılıkların iyi bilinmesi ve tanımlanması gerekmektedir.

Nikotinin adölesans dönemindeki biyolojik ve davranışsal etkilerindeki özelliklerin ve özellikle bireysel farklılıkların anlaşılması ve bununla beraber cinsiyet farklarının ortaya çıkarılması, bağımlılıkla erken dönemde mücadele etmede daha etkin yolların bulunması adına daha iyi koruma ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Bu nedenle çalışmamız adölesan dönemde içme suyunda serbest erişimli olarak nikotin tercihi sunulan sıçanlarda nikotin tüketim paternlerinin ve tercihte bireysel farkların saptanması, daha sonra erişkinlik döneminde aynı koşullarda sunulan nikotin tercihinin tekrar belirlenmesini değerlendirilmek üzere planlanmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde, bireysel tercihlerine göre daha çok veya daha az nikotin tüketen erkek ve dişi sıçanlara dikkati değerlendiren bir test uygulanmıştır. Bu amaçla kullanılan test tarafımızdan geliştirilmiş olup özgün bir deney düzenidir. Çalışmanın amacı erkek ve dişi sıçanlarda adölesans ve erişkinlik dönemlerinde nikotin tercihinin belirlenmesi ve aralarındaki ilişkinin irdelenmesi, ve nikotin tercihi farklı olan sıçanlarda kontrol grupları ile de karşılaştırmalı olarak erişkinlikte öğrenme ve dikkatin değerlendirilmesidir.

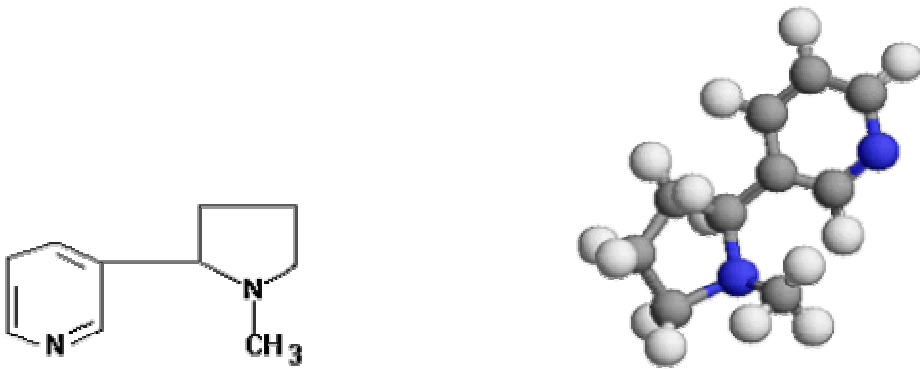
2.GENEL BİLGİLER

2.1.Nikotin

Nikotin bazı bitki türlerinin yapraklarında bulunan bir alkaloiddir. Nikotinin birincil ticari kaynağı kurutulmuş tütün bitkisi (*Nicotinia tabacum* ve *Nicotinia rustica*) yapraklarıdır.

2.1.1. Nikotinin yapısı ve ilişkili moleküller

Nikotin sigarada bulunan Polonyum, Radon, Metanol, Toluen, Kadmiyum, Bütan, DDT, Hidrojen Siyanür, Aseton, Naftalin, Arsenik, Amonyak, Karbon Monoksit gibi 3.885 toksik maddeden biridir. Kimyasal formülü $C_{10}H_{14}N_2$ ve molekül ağırlığı 162.23 'dür. Kimyasal yapısı 3-(1-Metil-2-pirrolidinil) piridin'dir ve Pinner (Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft 29: 294) tarafından tanımlanmıştır (Şekil 2).

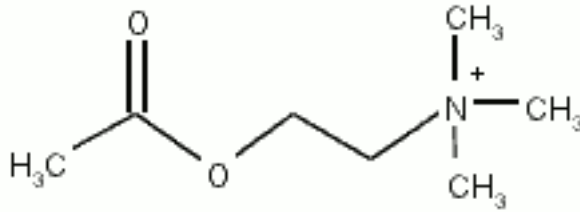


Şekil 2: Nikotinin kimyasal yapısı

Asetilkolin (ACh), nikotinin bağlandığı reseptörün doğal agonistidir. ACh vücutta kolin ve asetilCoA'dan kolin asetil transferaz (CAT) ile yapılır ve asetilkolinesteraz (AChE) ile yıkılır (Şekil 3). Laboratuarda ise AChCl (asetilkolin klorid) trimetilam ve beta-kloretilasetattan üretilir. AChCl'in kimyasal formülü $C_7H_{16}ClNO_2$ ve molekül ağırlığı 181.68 dir. Kimyasal yapısı 2-(Asetiloksi)-N,N,N-trimetiltananium klorid'dir (Şekil 4).



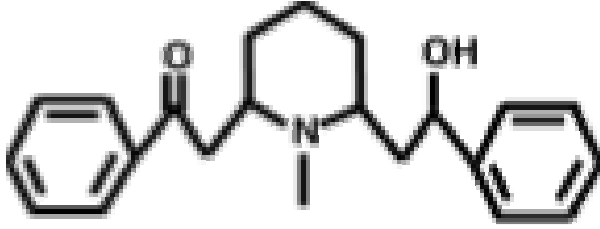
Şekil 3: Asetilkolin, CAT tarafından katalizlenmesi ve AChE ile yıkımı



Şekil 4: Asetilkolinin kimyasal yapısı

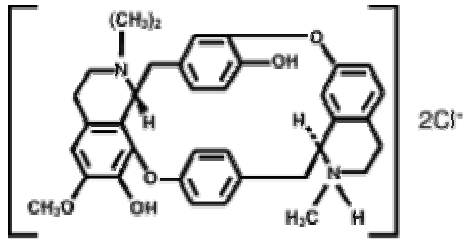
Lobelin de nikotinle aynı yolla etki eden bir bitki alkaloididir. Lobelin Kanada ve Amerikada bulunan *Lobelia inflata* (Indian tobacco) bitkisi ve tohumundan ekstrakte edilir. İlginç olarak bitkinin diğer isimleri “yabani tütün”, “emetik ot”, “astma otu” gibi nikotin vücuttaki diğer etkileriyle ilgili ipuçları

verir. Lobelinin kimyasal formülü $C_{22}H_{27}NO_2$ 'dir. Kimyasal yapısı ise 2-(6-(2-Hidroksi-2-feniletil)-1-metil-2-piperidinil)-1-feniletanon'dur (Şekil 5).



Şekil 5: Lobelinin kimyasal yapısı

d-Tubokürarin klorid, ya da Kürar nikotinin antagonisti olan diğer bir bitkisel alkaloiddir. Bir Güney Amerika asması olan Chondodendron tomentosumdan ekstrakte edilir. Cerrahide yaygın olarak kas gevşetici olarak kullanılır. Kürarin Brazilya, Peru, Ekvador ve Kolombiya yerlileri tarafından kullanıldığı bildirilmiştir. Kimyasal formülü $C_{37}H_{43}Cl_2N_2O_6$ dır ve yapısı 7',12'-Dihidroksi-6,6'-dimetoksi-2,2',2'-trimetiltubakuraranium klorid hidroklorid' dir. (Şekil 6)



Şekil 6: d-Tubokürarin'in kimyasal yapısı

2.1.2 Nikotinin etki mekanizması

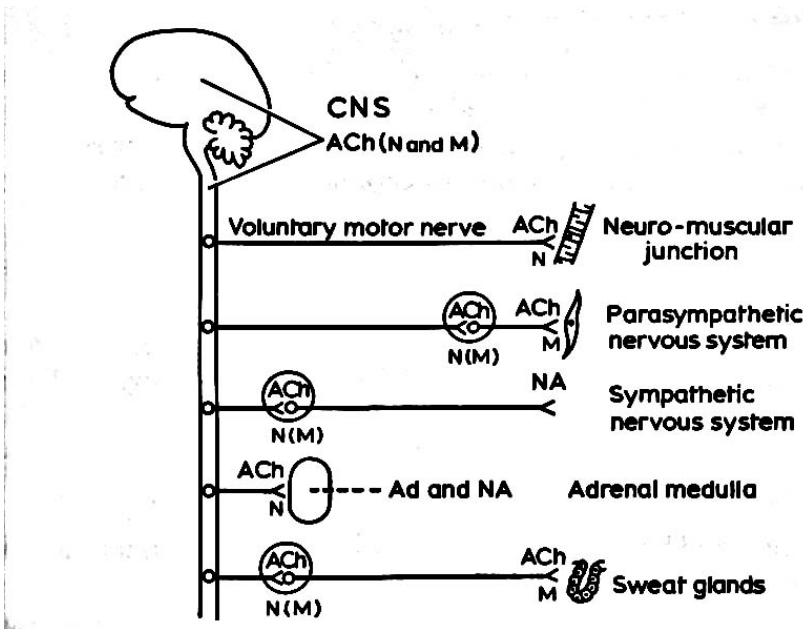
Dışardan alınan etken maddeler, vücuttaki etkilerini doğal olarak vücutta bulunan endojen bazı maddeleri taklit ederek ya da vücutta sürmekte olan bazı işlemleri engelleyerek gösterirler. Nikotinin etkisine aracılık eden spesifik bir reseptörün varlığı bu yüzyılın başlarında fizyolog John Newport Langley tarafından öne sürülmüştür (1905). Nikotin de etkisini vücutta nörotransmitter olarak bulunan bir madde olan asetilkolini (ACh) taklit ederek gerçekleştirir. ACh hücre membranında bulunan asetilkolin reseptörlerine (AChRs) bağlanarak etkisini gösterir.

Sir Henry Dale (1914), bugün klasik kabul edilen makalesinde, vücutta temel olarak kendilerine bağlanan maddelerle anılan muskarinik asetilkolin reseptörü (mAChRs) ve nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChRs) olarak iki büyük grup asetilkolin reseptörü olduğunu bildirmiştir. Muskarinik etki parasempatik sistemin son organlarında, nikotinik komponent otonomik ganglion ve nöromusküler kavşaktaki etkileri belirler. Santral sinir sistemindeki kolinerjik etkiler hem nikotinik hemde muskarinik mekanizmaları içermektedir (Wonnacott 1997). Böylece nikotinin vücuttaki etki yerlerinin kas-sinir kavşağı, otonomik ganglionlar ve merkezi kolinerjik sinapslar olduğunu görmekteyiz. Şekil 7’de Ach reseptörlerinin bulunduğu bölgeler şematik olarak gösterilmektedir.

2.1.3 Nikotinin etkileri

Sinir-kas kavşağındaki nikotinik reseptör genellikle 5 alt üniteden ($\alpha_2\beta\gamma\delta$) oluşan bir pentamerdir. İki adet olan α alt ünitesi ACh, değişik antagonistler, reseptör için tersinir olan α -bungarotoxin gibi ligandları tanıma bölgesidir. Agonist tanıma bölgesine tutunduğu zaman konformasyonel değişiklik

reseptörün ortasındaki iyon kanalının açılmasına neden olur. Bu şekilde MEPP (miniature end plate potential = minyatür uç plak potansiyeli) oluşur. MEPP'lerin toplanmasıyla kas lifi kontraksiyonu için gerekli olan depolarizasyon gerçekleşir. Nöromusküler iletide nikotinik reseptör üzerine etki eden iki tip madde vardır. Tubokurarin gibi kompetitif antagonistler asetilkolinin reseptöre bağlanmasını engeller, kendisinin bir etkisi yoktur. Dekametonium ve süksinilkolin gibi depolarize edici ajanlar ACh reseptörünü agonistik etkiyle açarak depolarizasyonu uzatırlar (Sargent 1993)



Şekil 7: Sinir sistemindeki kolinerjik sinapslar. N, nikotinik reseptörler; M, muskarinik reseptörler; Ad, adrenalin; NA, noradrenalin.

Otonomik ganglionlarda uyarı sonrası ACh salınması postsinaptik nöronda hızlı bir EPSP (excitatory postsynaptic potential = eksitator postsinaptik potansiyel), yavaş EPSP, geç yavaş EPSP, IPSP (inhibitory postsynaptic potential = inhibitör postsinaptik potansiyel) oluşturabilir. Hızlı EPSP ACh'nin nikotinik reseptörler üzerine etkisiyle gerçekleşir. Yavaş EPSP saniyelerle sürer

ve ACh'in muskarinik reseptörler üzerine etkisinden sorumlu potasyum kanallarını kapatır ve hızlı nikotinik stimülasyonu potansiyalize eder.

Geç yavaş EPSP nonkolinerjik, muhtemelen peptiderjik orijinlidir ve dakikalarca sürer. Bu nedenle LTP'yi (long term potentiation = uzun süreli potansiyelizasyon) hızlı, nikotinik EPSP'ye ilettiği düşünülür. IPSP ise dopamini iletilen olarak kullanan adrenerjik internöronlar tarafından iletilir. Hızlı nikotinik cevabı (hızlı EPSP) bloke eden maddeler fizyolojik ganglion iletimini de bloke eder. Ganglion bloke eden ajanlar nikotin ve tetrametilammonium gibi depolarize edici ve heksametonium ve klorisondamin, mekamilamin veya trimetafan gibi non-depolarize edici ajanlar olarak ikiye ayrılır. Non-depolarize edici grup nikotinik reseptörlere agonist bağlanmasını engelleyen reseptör blokerleri ve agonist tarafından açılan kanalı bloke eden kanal blokerleri olarak iki alt gruba ayrılır. Sığında trimetafan ve mekamilamin reseptör blokerine, hekzametonium ve tubokürarin kanal blokerine örnektir. Klorisondamin ve mekamilamin ıstakoz kasında iyon kanalını bloke eder, bu da değişik bir nikotinik farmakolojiyi gösterir(Changeux, Bertrand et al. 1998).

Nöromusküler kavşaktaki nikotinik reseptör mezodermden, otonomik gangliondaki nikotinik reseptörler nöral krestten geliştikleri için embriolojik olarak farklıdır. Bu nedenle α -nörotoksinler ganglionlarda sinir-kas kavşağında olduğu gibi blok yapmaz, κ -bungarotoksin (toksin F) ganglionik reseptörleri bloke eder (Chiappinelli 1983)

Nikotin ganglion hücrelerinde önce kısa bir stimülasyonun ardından uzamış ganglionik blokaj yapar. Postganglionik sempatik nöronlarla adrenal medulla hücrelerinin benzerliği nedeniyle nikotinin adrenal katekolaminleri salıverici etkisi ortaya çıkar. Nikotin aynı zamanda postganglionik sempatik sinir sonlanmalarında noradrenalin salgılatır, ve sistemik nikotin uygulanması

doku noradrenalin düzeylerini azaltır. Adrenalin ve noradrenalinin kan düzeylerinin nikotin dozuna bağlı olarak arttığı ve kalpte β -adrenerjik reseptörlerde “down regülasyon” olduğu gözlenmiştir.

Santral sinir sisteminde kolinerjik etkilerin anatomik ve fonksiyonel karakteristikleri araştırılmış ve ACh'nin hızlı eksitasyon (nikotik), yavaş eksitasyon (muskarinik) ve inhibisyon (muskarinik) olarak üç tip etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Kolinerjik iletiyi modifiye eden maddeler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Mekanizma	Madde	Etki
Sentez	Kolin	Sentezi artırır
	Hemikolinyum	Kolin geri alınımını azaltır
Salınım	Kara dul örümcek venomu	ACh'nin fazla salınımı
	ACh' in salınım blokajı	ACh salınım blokajı
Reseptörler	ACh (nikotik)	
	Nikotin	Nikotik reseptör aktivasyonu
	Hekzamethonyum Mekamilamin	Ganglionda nikotik reseptör blokajı
	(+) – Tüboküarin Gallamin Pankuronyum	Nöromuskular bağlantıda nikotik reseptör blokajı
	Suksamethonyum	Nöromuskular bağlantıda desensitizasyon bloğu
	ACh (muskarinik)	
	Muskarin Metakolin	Muskarinik reseptör blokajı
	Betanekol Pilokarpin	Seçici olmayan agonist
	Atropin	Muskarinik reseptör bloğu
	Hyoscine	Seçici olmayan blokerler
	Fizostigmin	Tersinir antikolinesteraz
Metabolizmanın inaktivasyonu	Neostigmin Pridostigmin	Tersinmez antikolinesteraz

Tablo 1: Kolinerjik iletimi modifiye eden bazı maddeler

Beynin değişik bölgelerindeki hücreler ACh ve kolinerjik ilaçlara değişik cevaplar verirler. Değişik beyin bölgelerinde farklı nikotinik reseptörler tespit edilmiştir, ve reseptörler agonist bağlama ve uyarıya elektrofizyolojik yanıtlar açısından farklıdır (McGehee 2002). Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin yapı ve fonksiyon farklılıkları nikotin etkisinin farklılıklarını açıklamaya yardımcı olur.

Nikotin bir reseptöre bağlandığı zaman, iyon kanalının açılmasına neden olan alt ünitelerde allosterik bir değişime neden olur, daha sonra kanalın kapandığı desensitize duruma neden olur (Lena, Changeux et al. 1993). İlginç bir bulgu ise nikotinin uzun süreli uygulamasının nikotinik reseptör sayısının artmasına neden olmasıdır (Collins, Luo et al. 1994). Diğer sistemlerde ise reseptör “up regülasyonu” agonistten ziyade antagonist uygulanmasıyla ilişkili olarak ortaya çıkar.

Nikotinik reseptör aktivasyonu asetilkolin, norepinefrin, dopamin, serotonin, beta endorfin, glutamat vs. içeren nörotransmitter salınımına neden olur. Nikotin aynı zamanda büyüme hormonu ve ACTH salınımını kolaylaştırmaktadır. Nikotine bağımlılık ve fizyolojik ödöl özellikleri en çok dopamin salınımı ile ilişkilidir (Corrigall and Coen 1994), ancak diğer nörotransmitterlerin de salınımı ile ilişkili olabilir.

Nikotinin farmakodinamiğini anlamak için iki nokta önemlidir. Birincisi, doz-cevap ilişkisi komplekstir ve ikincisi ise uygulamadan kısa bir süre sonra tolerans gelişir. Düşük dozlarda nikotin özellikle periferik kemoreseptör aktivasyonu yada doğrudan beyin üzerine etki ile kalp hızında artma ve periferik vazokonstriksiyonla birlikte kan basıncında artışa neden olur. Yüksek dozlarda nikotin direkt olarak periferik nöron sistemi üzerine etki ederek, ganglionik stimülasyon ve adrenallerden katekolamin salınımına neden olur. Çok yüksek

dozlarda nikotin ganglion bloğu, muhtemel vagal stimölasyon ve beyindeki aktivitelere direkt depresan etki ile hipotansiyon ve bradikardiye neden olur .

2.2 Nikotirik asetilkolin reseptörleri (nAChR)

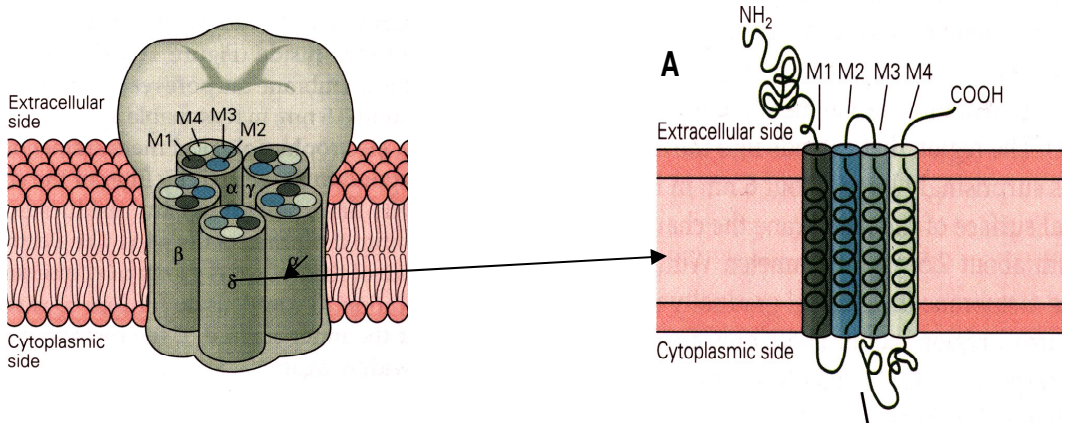
Asetilkolin (ACh) nörotransmitter bir madde olup kolinerjik nöronlar tarafından sentezlenmekte, depolanmakta ve salınmaktadır. Nöronal nikotirik asetilkolin reseptörleri asetilkolinin taşıdığı mesajı iletmektedir. Nikotirik ACh reseptörleri, sinir sisteminde eksprese edilmektedir. Asetilkolin reseptörleri, periferel ganglionda ve beyinin çeşitli alanlarındaki sinapslarda bilgi iletimini transdükte eder. Merkezi sinir sistemindeki kolinerjik innervasyon nikotirik asetilkolin reseptörleriyle beraber fonksiyon göstermekte olup nörotransmitter salınımı, hücre eksitabiletesi ve nöronal integrasyon gibi pek çok kritik ağ oluşumunda yer almaktadır. Ayrıca nikotirik asetilkolin reseptörleri; uyku-uyanıklık, yorgunluk, anksiyete, ağrı, besin alınımı ve kognitif fonksiyonlar gibi pek çok fizyolojik fonksiyonlarda etkinlik göstermektedir.

2.2.1 Nikotirik nAChR'lerinin yapısı

Ekzojen agonist olan nikotin, endojen agonist asetilkolini taklit ederek nAChR'lerine bağlanarak etkilerini başlatabilmektedir. Nikotirik reseptörler; glisin, GABA_A, 5-HT₃ serotonin reseptörlerini de içermekte olan ligand-kapılı iyon kanalları süper ailesine aittir (Albuquerque, Alkondon et al. 1997; Broide and Leslie 1999; Buisson and Bertrand 1998; Paterson and Markou 2005; Wonnacott 1997). Reseptör kanalı, rozet benzeri 5 adet alt birimden oluşur ve bu alt birimler su dolu kanalın çevresini sarmaktadır. Yapılan nikotirik radyoligand bağlanma denemelerinde sinir sisteminde farmakolojik özellikler açısından en az 2 tip nACh reseptörün sinir sisteminde bulunduğu gösterilmiştir.

Bir grup nM affinite ile ^3H -agonistlerini bağlarken α bungarotoksin bağlamamaktadır bu tip reseptörler nACh olarak adlandırılmaktadır. Diğer grup ise μM affinite ile agonist ve nM affinite ile α bungarotoksin bağlamaktadır bu tip reseptörlere ise α -bungarotoksin nACh olarak adlandırılır.

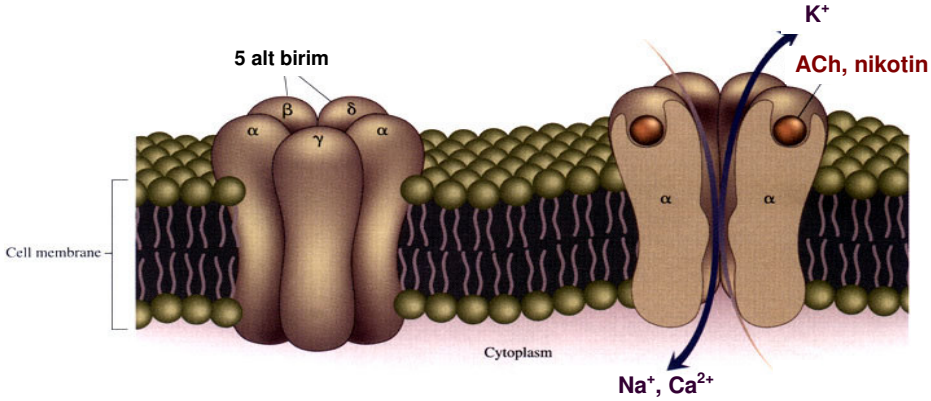
Nikotinik asetilkolin reseptörünün alt birimlerinde ekstraselüler amino terminal kısmında, 3 adet membranı kateden hidrofobik birim (M1-M3) bulunur. Bu yapı takip eden büyük bir intraselüler halka ve 4. hidrofobik membranı kateden yapı takip etmektedir (Hogg, Raggenbass et al. 2003). Alt birimlerin ortak bir yapısı bulunmaktadır ve bu yapı evrim sırasında korunmuştur. (Şekil 8)



Şekil 8: Nikotinik AChR'nin organizasyon ve şekli. (A) nAChR alt birimlerinin şematik görünümü ve transmembran topolojisi. Model, üç hidrofobik transmembran birim ile (M1-M3) devam eden, hücre dışı amino terminal kısımlarını, büyük bir hücre içi halka ve dördüncü bir transmembran birimi(M4) göstermektedir. (Wonnacott, 1997)

Nikotinik asetilkolin reseptör alt birim kombinasyonları farklı fizyolojik ve farmakolojik özelliğe sahip olan nACh reseptör tiplerinin oluşmasına neden

olmaktadır. Son yıllara kadar en iyi tanımlanmış olan kombinasyonda alt birimlerinden 2 tanesi α ve 3 tanesi β alt birim tipinde dir. Alt birim α 'ya ligand bağlanması sonucunda reseptörde konformasyonel bir değişim meydana gelerek katyon kanalının açılmasına ve hücre içine Na^+ , K^+ ,ve Ca^{2+} iyonlarının girmesine neden olur (Wonnacott, Sidhpura et al. 2005). (Şekil 9)



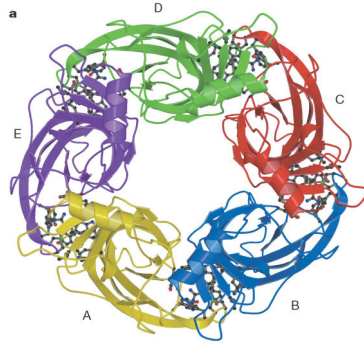
Şekil 9: nAChR alt birimlerinin reseptörde pentamerik düzenlenişi ve asetil kolin, nikotin bağlanması sonucunda meydana gelen katyonik akış.

Yapılan genetik çalışmalarda nikotinik asetilkolin reseptörlerinin 9 adet α alt birimin ($\alpha 2$ - $\alpha 10$) ve 3 adet β alt birime ($\beta 2$ - $\beta 4$) sahip olduğu belirlenmiştir (Le Novere and Changeux 1995; Lindstrom 2000). Alfa alt birimler birbirine komşu olan iki adet sistein grubuna sahip olup kas tipi asetilkolin reseptörleriyle homoloji göstermektedir.

Ancak β alt birimler ($\beta 2$ - $\beta 4$) birbirine komşu olan sistein gruplarını içermemektedir (Le Novere and Changeux 1995; Changeux, Bertrand et al. 1998). Alfa ve beta alt birimler nikotinik asetilkolin reseptör alt birimlerinin spesifik bir farmakolojiye sahip olmalarına katkıda bulunmaktadır. Son yıllarda alt grup kombinasyonları ile fonksiyon ilişkileri araştırılmaktadır.

Farklı filogenetik, fonksiyonel ve farmakolojik özelliklerine göre nACh reseptör alt birimleri homomerik ve heteromerik olmak üzere 2 sınıfa ayrılmaktadır. $\alpha 7$ - $\alpha 9$ altbirimlerini içeren α Bungarotoksin nikotinik asetilkolin reseptörleri homomerik yapıda iken nikotinik asetilkolin reseptörleri $\alpha 2$ – $\alpha 6$ ve $\beta 2$ - $\beta 4$ alt birimlerine sahip olduğundan heteromerik yapıda olup daha yüksek affinitede agoniste bağlanmaktadır (Lindstrom 2000)

nACh Reseptörlerindeki ligand bağlama alanının belirlenmesinde bir tatlı su yılanı olan *Lymnea stagnalis* 'den alınan asetilkolin bağlama proteininin kristal yapısının tanımlanmasına katkıda bulunmuştur (Şekil 10). Bahsedilen homopentamerik çözünebilir protein 210 rezidü uzunluğunda olup yılanın glial hücrelerinde kolinerjik sistemine salınan asetilkolini bağlayabilmektedir (Brejc, van Dijk et al. 2001) ve NACH reseptörlerinin ekstraselüler ligand bağlama birimi ile analog bir yapı göstermektedir. Kristalize asetilkolin bağlama proteininin yapısal verisi bağlanma alanlarının topolojisini ortaya koymaktadır.



Şekil 10: Limnea ACh bağlanma proteini (Sexma et al. 2001)

Merkezi kanal çevresinde organize olan alt birimler ile hem homomerik hem de heteromerik nACh reseptörleri pentamerik bir yapıya sahiptir: Her bir homo-oligomerik reseptör başına 5 adet identik asetil kolin bağlama alanı

bulunmakta olup birbirine komşu olan iki alt birim arasında lokalize olmuş iken hetero-oligomerik reseptörler 2 alfa alt birimi ve 3 beta alt birimine sahip olduklarından dolayı her bir reseptör başına 2 bağlama alanı alfa ve beta alt birimler arasındaki yüzeye lokalize olmuştur. Asetil kolin bağlama alanı bir temel ve bir de tamamlayıcı olmak üzere iki adet bileşene sahiptir. Heteromerik nACh reseptörlerinde temel bileşen $\alpha 2 - \alpha 4$ tarafından taşınır iken tamamlayıcı bileşen $\beta 2 - \beta 4$ alt birimleriyle taşınmaktadır.

Homomerik reseptörlerdeki her bir alt birim ise bağlama alanının hem tamamlayıcı hem de temel bileşenini taşımaktadır (Changeux and Edelstein 1998; Corringer, Le Novère et al. 2000)

Heterolog ekspresyon sistemleri kullanılarak nACh reseptörlerinin olası kombinasyonlarının aktif iyon kanalını nasıl oluşturdukları incelenmiştir (McGehee and Role 1995; Patrick, Sequila et al. 1993). Yapılan incelemelerde *Xenopus* oosit ekspresyon sistemlerinde nACh reseptör alt birimlerinin nasıl grup oluşturdukları araştırılmıştır. Bunlardan birinci grubu sadece $\alpha 7$ alt birimlerinin oluşturduğu homomerik reseptörler, ikinci grubu α alt birimlerinin ($\alpha 2, \alpha 3$ veya $\alpha 4$) ve de β alt birimlerinin ($\beta 2 - \beta 4$) kombinasyonu ile oluşan heterodimerik $\alpha\beta$ nACh reseptörleri ve üçüncü grubu ise birden fazla β veya α alt birimlerinin kombinasyonu ile oluşan kompleks reseptörler olarak tanımlanmışlardır (örneğin $\alpha 2\beta 2\beta 4$). Bahsedilen 3. grup kombinasyonlar ayrıca $\beta 3$ ve $\alpha 5$ gibi nACh reseptörlerin içerdiği alt birimleri kapsamasına rağmen bunlar eksprese edildikleri zaman veya tekli α ve tekli β alt birimleri şeklinde eksprese edildikleri zaman kanal oluşturamazlar (Conroy and Berg 1995); (Conroy, Vernallis et al. 1992); (Ramirez-Latorre, Yu et al. 1996). Alt birim $\alpha 6$ nadiren de olsa $\alpha\beta$ reseptörü oluşturarak daha kompleks yapılar meydana getirmektedir (Gerzanich, Kuryatov et al. 1997). Elde edilen verilere göre $\alpha 7$ alt birimlerinin de daha kompleks oluşumlara katıldığı belirlenmiştir

(Girod, Crabtree et al. 1999; Zoli, Lena et al. 1998). Ekspresyon sistemlerinden elde edilen genel sonuç ise alt birim kombinasyonlarının sınırlı sayılarının birbirine fazla benzerlik göstermediği ancak bu tip bir durumun nadir olarak gözlenebileceğidir.. Merkezi sinir sisteminde nACh reseptör çeşitliliği adına inanılmaz bir potansiyel bulunmaktadır.

Bazı genel kurallar bulunmaktadır ve bunlar belirli bir alt birimin fonksiyonunun anlaşılmasını kolaylaştırmaktadır. Örneğin $\alpha 7$ homomerik nACh reseptörleri yüksek kalsiyum geçirgenliğine, hızlı aktivasyon kapasitesine ve desensitizasyon kinetiğine sahip olup α -bungarotoksin ve metilnikotin tarafından bloke edilmektedir (Castro and Albuquerque 1995; Gray, Rajan et al. 1996). Bu özellikleri içeren nikotinik ACh reseptörleri hipokampus gibi bazı bölgelerde bulunmuştur. Bu özellikler arasında α -bungarotoksinin, $\alpha 7$ alt birimini içeren nACh reseptörüne bağlanması değerlendirilmiştir (Zarei, Radcliffe et al. 1999). Bu hipotezi $\alpha 7$ “knockout” farelerde α -bungarotoksin bağlanmasını desteklemiştir (Orr-Urtreger, Goldner et al. 1997). Yüksek affiniteli [^{3} H] nikotin bağlama alanlarında $\alpha 4$ ve $\beta 2$ alt birimlerinin bulunduğu ve bazılarının da ek alt birimler içerdiği düşünülmektedir. Bahsedilen yüksek affiniteli alanlar $\beta 2$ alt birimleri “knockout” edilmiş farelerde kaybolmaktadır (Zoli, Lena et al. 1998). Beta2 alt birimi içermeyen farelerde diğer düşük affiniteli nikotin bağlama alanları ortaya çıkarılmıştır ve bu alanlar $\alpha 3$ alt birimi içermektedir.

Alfa7 alt birim içeren nACh reseptör çalışmalarında bu reseptörlerinin NMDA reseptörleri gibi yüksek kalsiyum geçirgenliğine sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak NMDA reseptöründen farklı olarak $\alpha 7$ alt birimli nACh reseptörü kalsiyum geçirgenliği için plazma membranının depolarizasyonuna gereksinim duymaz. Presinaptik $\alpha 7$ reseptörlerİ aktive olduğu zaman kalsiyum, transmitter salınımını kolaylaştırmakta; postsinaptik hücre depolarize olmakta

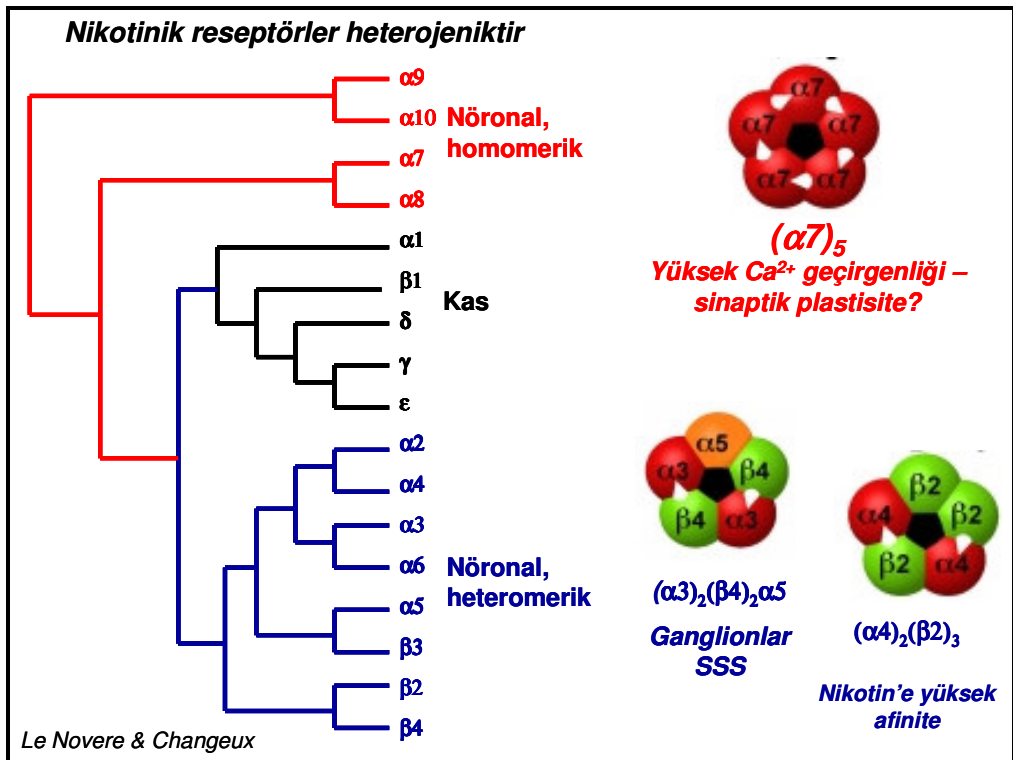
ve ikincil habercilerin aracılığıyla pek çok hücre sürecini başlatmaktadır. Hücresel fonksiyonlar arasında nöronal hücrenin hayatta kalmasında bulunmaktadır (Messi, Renganathan et al. 1997).

Alfa7 reseptörlerinden kalsiyum girişi ve etkilerini göstermesi reseptörün hızlı bir şekilde desensitize olması ile sınırlanmakta olup eksitotoksiste önlenmiş olur. Ayrıca $\alpha 7$ reseptör fonksiyonu kalsiyum, çinko, magnezyum, kurşun ve kadminyum gibi divalent katyonlarla modüle edilmektedir. Divalent katyonlar homomerik reseptörün $\alpha 7$ alt biriminin N terminalindeki 160-174 alanı ile etkileşime girerek asetilkolinin neden olduğu cevabını potansiyelize eder (Hogg and Bertrand 2006). Kültürü yapılmış olan hipokampal nöronlardaki $\alpha 7$ reseptörlerinin hem aktivasyonunda hem de deaktivasyonunda ekstraselüler kalsiyum rol oynadığı gösterilmiştir (Bonfante-Cabarcas, Swanson et al. 1996).

Heteromerik reseptör sistemlerde eksprese edilen bazı alt birimlerin fonksiyonel ve farmakolojik özelliklerini bulundukları hücre tipleri belirlemektedir (Lewis, Harkness et al. 1997). Hem α hem de β alt birimler; eksprese edilen alt birimlerin fonksiyonel ve farmakolojik özelliklerini belirlemektedir. Örneğin $\beta 2$ ile $\alpha 2$ - $\alpha 4$ ve $\alpha 6$ kombinasyonu kanalın ortalama açık kalma süresinde, tek kanal kondüktansı, agonist ve antagonist duyarlılığında farklılıklar oluşturur. Beta alt birimler , hangi agonist ve antagonistlerin bağlanacağını veya ayrılacağını, bununla beraber nACh reseptörlerinin farmakolojik duyarlılıklarını regüle etmektedir (Papke 1993).

nAChR'lerinin yapısının kompleksliği $\alpha 5$ ve $\beta 3$ alt birimlerini içeren moleküllerle ortaya çıkarılmıştır. Ne $\alpha 5$ ne de $\beta 3$ alt birimleri başka bir α veya β alt birimleriyle beraber eksprese edildikleri zaman fonksiyonel kanalları oluşturamazlar. Bu alt birimler sadece hem α hem de β ile beraber eksprese edildikleri zaman kanal oluşturabilirler (Lindstrom 2000). Piliçlerde yapılan bir

çalışmaya göre $\alpha 5$ alt birimi, $\beta 4$ ve $\beta 2$ ile beraber eksprese edildiği zaman fonksiyonel $\alpha 4\beta 2\alpha 5$ alt birimlerini oluşturabilirler. Bu alt birim ($\alpha 5$ alt birimi direkt olarak kanal hattına katılır) yüksek nikotin kondüktansı, kanalın açılma olasılığı, desensitizasyon değeri, kalsiyum geçirgenliği ve nikotinik agonistler için yüksek yarı maksimal efektör konsantrasyonu ile $\alpha 4\beta 2$ alt birim özelliklerinden farklılık gösterir (Ramirez-Latorre, Yu et al. 1996). Alfa5, $\alpha 3$ ve $\beta 2$ alt birimleriyle beraber eksprese edildiği zaman $\alpha 5$ 'in asetilkoline duyarlılığı artar ancak bu etki $\beta 2$ alt biriminin $\beta 4$ ile yer değiştirmesiyle görülebilmektedir. Tersine, $\alpha 5$ alt biriminin varlığı Ca^{++} geçirgenliğini ve hem $\alpha 3\beta 2$ hem de $\alpha 3\beta 4$ alt birimlerindeki desensitizasyonu kuvvetlendirir. Şekil 11'de reseptör altbirim dağılımı şematize edilmiştir.



Şekil 11: Nikotinik AchR alt birimlerinin organizasyonu

Sonuç olarak nACh reseptör alt birim kompozisyonu; reseptörün aktivasyon hızını, agoniste verilen farmakolojik cevapları, iyonik akım, desensitizasyon değerleri, desensitizasyondan normal duruma dönme değerlerini belirlemede oldukça önemli rol oynamaktadırlar.

2.2.2 Nikotinik AChR'lerinin lokalizasyonu

Nikotinik asetilkolin reseptörleri kolinerjik sistemler üzerinde bulunurlar. Kolinerjik nöronlar, merkezi sinir sisteminin hemen hemen her yerine projekte olmakta ve beyinde difüz, ancak çok yoğun olmayan innervasyon sağlamaktadırlar; bununla birlikte bağlantılarda diverjans gözlenir (Oh, Woolf et al. 1992). Bu durumdan dolayı az sayıda kolinerjik nöron aktivitesi çeşitli ve oldukça yaygın etki göstermektedir. Önemli kolinerjik yollar ise, magnoselüler bazal kompleks, pedunkulopontin lateridorsal tegmental kompleks, striatum, alt beyin sapı, habenula-interpedinkuler sistem ve otonom sinir sistem olarak sıralanabilir.

Memeli beynindeki nAChR'lerinin çoğu ya $\alpha 4\beta 2$ alt birimlerini ya da $\alpha 7$ alt birimini içermektedir (Charpantier, Barneoud et al. 1998). Birçok nACh reseptörü $\alpha 4$ veya $\beta 2$ alt birimlerini içermesine rağmen farklı nukleuslardan köken alan hücreler için agonist ve antagonist profili farklıdır. Örneğin; hem medial habenula hem de lokus soruleus nöronlarının farmakolojik profili benzer nACh reseptörlerini eksprese eder ve bu alanda bulunan reseptörlerde $\alpha 3$ ve $\beta 4$ alt birimleri bulunmaktadır (Mulle, Vidal et al. 1991). Yapılan çalışmalara göre çok az sayıda $\beta 2$ alt biriminin medial habenula nACh reseptör yapısına katıldığını gösterir (Quick, Ceballos et al. 1999). Diğer bir örnekte ise, $\alpha 7$ alt birimi içeren nACh reseptörlerinin hipokampal nöronlarda belirgin nikotinik akımlara aracılık etmesidir ancak bu bölgede $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$ içeren diğer nACh reseptörleride bulunmaktadır (Albuquerque, Alkondon et al. 1997)Zarei,

Radcliffe et al. 1999). İn-situ hibridizasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre sıçan hipokampusunda yüksek miktarlarda $\alpha 7$ ve $\beta 2$ alt birimi eksprese olurken meydana gelir iken aynı alanda zayıf $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ ve $\beta 4$ ekspresyonu tespit edilmiştir (Zoli, Lena et al. 1998).

Nikotinik asetilkolin reseptör mRNA, in-situ hibridizasyon ve nikotinik ligand bağlama çalışmaları; yaygın, tekdüze olmayan, çok çeşitli alt birim dağılımını ve nAChR alt birimlerinin alt gruplarını seçici olarak eksprese eden nükleusları tespit etmiştir (Charpantier et al. 1998; Lena et al. 1999). Her bir nöron eksprese ettiği farklı alt birim nACh kombinasyonları ile diğer nöronlarda diğer nöronlardan farklı olarak nikotinik cevaplarını oluşturabilmektedir (Dani et al. 2000).

Beyin Bölgesi	mRNA alt birimi	$^3\text{H-NIC}$ ve $^3\text{H-ACh}$ bağlama	αBgt -bağlama
Serebral Korteks	$\alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 7, \beta 2, \beta 4$	+	+
Septum	$\alpha 4, \alpha 7, \beta 2$	-	+
Hipotalamus	$\alpha 3, \alpha 4, \alpha 7, \beta 2, \beta 4$	-	+
Talamus	$\alpha 3, \alpha 4, \alpha 7, \beta 2, \beta 3, \beta 4$	+	-
Hipokampal formasyon	$\alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 7, \beta 2, \beta 4$	+	+
Medial Habenula	$\alpha 3, \alpha 4, \alpha 7, \beta 2, \beta 3, \beta 4$	+	-
Amigdala	$\alpha 3, \alpha 4, \alpha 7, \beta 2$	-	+
Substansia Nigra ve/veya VTA	$\alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \beta 2, \beta 3$	+	-
İnterpedinküler Nükleus	$\alpha 2, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 7, \beta 2, \beta 4$	+	+
Superior kollikulus	$\alpha 4, \alpha 7, \beta 2$	+	+

Tablo 2: Bazı beyin bölgelerinde nikotinik reseptör bağlanması ve mRNA alt birim dağılımı (Shacka ve Robinson 1996)

Beyinde nAChR'leri nöronun “somatodendritik”, “presinaptik” ve “postsinaptik” olmak üzere değişik bölgelerinde bulunurlar. Elde edilen anatomik ve fonksiyonel verilere göre nAChR'leri öncelikle beynin çeşitli alanlarındaki nörotransmitter sekresyonunu düzenleyen presinaptik bölgelerde yer alırlar (Wonnacott 1997). Özellikle presinaptik nAChR'leri; asetilkolinin (Wilkie, Hutson et al. 1993), noradrenalinin (NA) (Alkondon, Pereira et al. 1997) ve GABA' nın (Yang, Criswell et al. 1996) salınımında rol oynarlar.

Kemirgenlerde ve maymunlarda yapılan çalışmalara göre presinaptik alanlarda bulunan nAChR alt birimlerinin farklı beyin bölgelerinde farklı kompozisyonlarına sahip olduğu belirtilmektedir. Presinaptik nAChR'lerinin nörotransmitterlerin salgı kontrolü ve modülasyonun yanı sıra denervasyon veya gelişim süreçlerinde diğer moleküllere yol gösterdiği ve nöroenezde fonksiyonu olduğu bilinmektedir (Del Signore, Gotti et al. 2004)

Yüksek affiniteli nikotin bağlayan nACh reseptörleri beynin çeşitli alanlarında somatodendritik bölgelerde postsinaptik membranda bulunur. Bu şekilde nikotin postsinaptik nöronal reseptörler üzerinden hücre cevabını ortaya çıkarabilmektedir (de la Garza, Bickford-Wimer et al. 1987). Alt birim $\alpha 7$ içeren reseptörler bir çok farklı beyin bölgesinde bulunur ve özellikle de hipokampusda yoğunlurlar. Bu bölgede ya glutamat veya GABA gibi transmitterlerin salınımını presinaptik olarak kolaylaştırmaktadırlar (MacDermott, Role et al. 1999) veya direkt olarak post sinaptik etkiler ile hızlı sinaptik transmisyon sağlamaktadır (MacDermott, Role et al. 1999).

Alfa7 içeren reseptörler ayrıca presinaptik lokasyonlarda bulunmaktadır ve bu alanda nörona gelen diğer inputları modüle ederler ve birçok yukarıdan aşağıya sinyal yolağını aktive ederler (Berg and Conroy 2002). Otonom ganglionlarda bulunan ve $\alpha 7$ alt birimini içeren reseptörler peri sinaptik

lokalizasyonlarından dolayı hızlı sinaptik iletimde rol alırlar (Dajas-Bailador and Wonnacott 2004).

Otonom gangliondaki hızlı sinaptik akım $\alpha 3\beta 4/\alpha 5$ alt birimlerinin aracılığıyla ortaya çıkmaktadır. (Del Signore, Gotti et al. 2002; Del Signore, Gotti et al. 2004) tarafından elde edilen verilere göre asetilkolin reseptörlerinin postsinaptik lokalizasyonu kemirgen servikal superior ganglionunda ve piliç silier ganglionunda bulunmuştur. Silier ganglionların hem sinaptik hem de presinaptik alanlardaki aktivitesi nöronal bugarotoksin ile bloke edilebilmektedir (Chiappinelli 1983). Yukarıda verilen örneklerden anlaşılacağı üzere nAChR'leri alt birim, sinaptik lokalizasyon, bulundukları beyin bölgeleri ve fonksiyon açısından çok büyük çeşitlilik sergilemektedirler.

2.2.3 Nikotinik AchR'lerinin fonksiyonel özellikleri

Asetilkolin; nikotinik asetilkolin reseptörü üzerindeki bağlanma alanına bağladıktan sonra reseptördeki iyon kanalı açık konformasyonda birkaç milisaniye kalır. Daha sonra reseptör kanalı açık durumda iken birkaç milisaniyeden daha uzun süre için asetilkolin veya diğer agonistler için cevapsız duruma gelecekleri desensitizasyon durumuna geçer. Reseptör kanalı açık iken katyonlar nACh reseptörlerinden içeri girerek membranın lokal depolarizasyonuna neden olur.

nACh Reseptörlerinden sinyal iletiminde sodyum ve potasyum öncelikli rol oynamakla birlikte kalsiyum da bu sinayallemede etkindir (Castro and Albuquerque 1995; Dani and Mayer 1995). Kalsiyumun nACh reseptörlerinin içine girmesi biyolojik olarak oldukça önemlidir ve voltaj kapılı kalsiyum kanal aracılı kalsiyum akışından veya glutamatın NMDA tipi reseptörü tarafından oluşturulan kalsiyum akışından farklıdır. Akımın serbest olarak geçebilmesi için

hem voltaj kapılı kalsiyum kanallarında hem de NMDA reseptörlerinde membran depolarizasyonuna gereksinim duyulur. Hiperpolarize edici potansiyellerde veya dinlenme durumunda voltaj kapılı kanallar genellikle açılmaz ve NMDA reseptörlerinde ekstraselüler magnezyum iyonları tarafından bloke edilmektedir. Nöronal nACh reseptörleri açılırsa depolarize edici potansiyeller oluşur ve hücreye giren katyonlar aracılığıyla kuvvetli bir voltaj gücü oluşur ve hücreye sodyum ile birlikte kalsiyumda girer. Bundan dolayı nACh reseptör aracılı kalsiyum akımları, diğer kalsiyuma geçirgen olan iyon kanallarından daha farklı bir mekanizmayla oluşmaktadır. Ayrıca hücreye giren kalsiyumun spasyal dağılımı hücre üzerindeki nACh reseptörlerinin lokalizasyonuna bağlıdır (Court and Clementi 1995).

Nöronal nACh reseptörlerinin en temel konformasyonları ise, dinlenme durumunda kapılı, uyarılma durumunda açık ve desensitize olarak 3 farklı şekilde görülmektedir (Şekil 11). Nikotinik reseptör konformasyonu ve madde seçiciliği alt birim kompozisyonu gibi birçok faktöre bağlıdır (Changeux, Bertrand et al. 1998).

nACh Reseptör çeşitliliği nedeniyle endojen ve ekzojen birçok agoniste karşı farklı cevaplar oluşabilmektedir. Aktivasyon hızı, membran depolarizasyonunun yoğunluğu, iyonik sinyal büyüklüğü, desensitizasyon değerleri ve daha sonra da eski durumunu alma değerleri, farmakoloji ve nACh reseptör cevaplarının düzenlenmesi reseptörün alt birim kompozisyonuna ve çevresel faktörlere bağlı olarak gerçekleşmektedir. Reseptörlerin kompleks yapı durumu, nikotinik reseptörlerin gerçek kinetik özelliklerini belirlememektedir. Desensitizasyon birçok zaman sabitinden oluşmaktadır. Bundan dolayıda desensitizasyonun uzun ve kısa periyot olmak üzere iki farklı zaman birimi bulunur. Uzun süreli ve düşük konsantrasyondaki agoniste maruz kalma sonucunda büyük desensitizasyon seviyeleri oluşur ve bu durum tüm gün

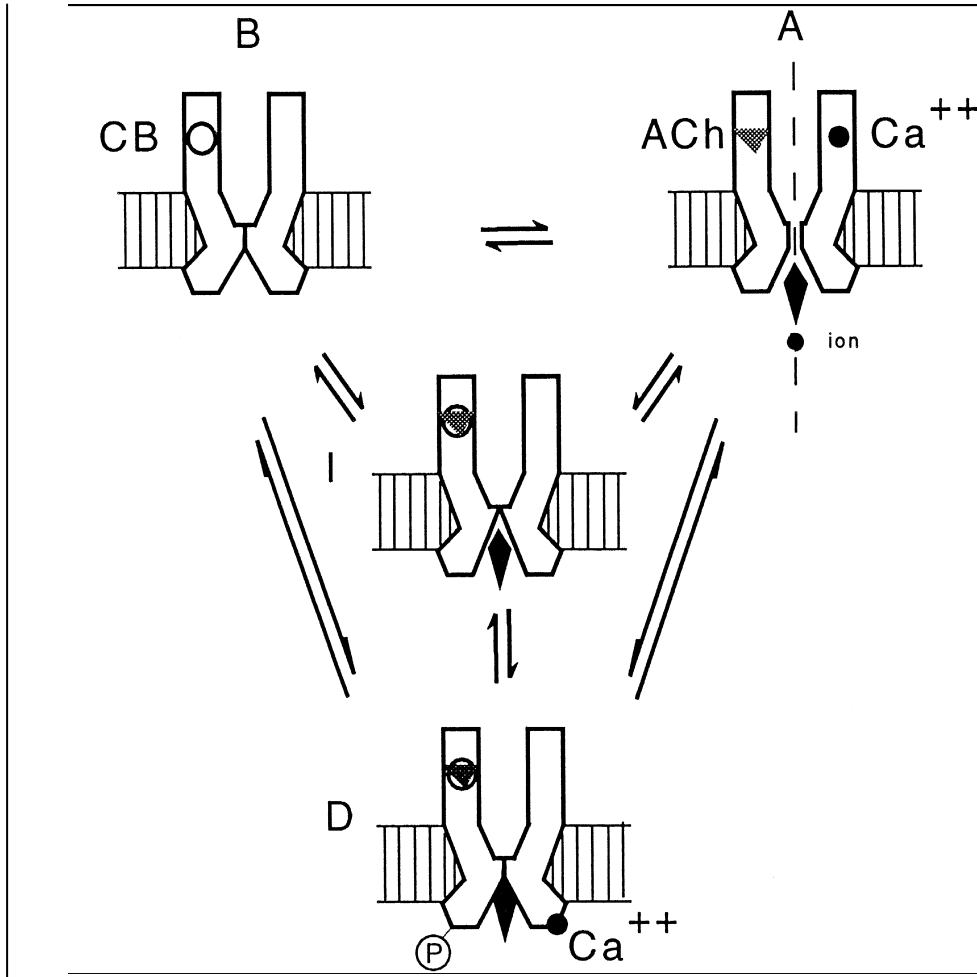
boyunca nikotinin düşük konsantrasyonlarını alan sigara kullanıcılarında görülebilmektedir (Benwell, Balfour et al. 1995; Dani 2001).

Nöronal nACh reseptörleri açık ve kapalı durumlarıyla katyonların kondüktansını regüle ederler. Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin üzerinde bulunan alanlar bahsedilen fonksiyonu değiştirebilmektedir. Kompetitif antagonistler ve kısmi agonistler, bağlanma alanlarını doldurabilirler. Fensiklidin gibi açık kanal blokerleri reseptörün bağlanma bölgelerine bağlanabilmekte ve ayrıca diğer non-kompetitif inhibitörler ve modülatörler de reseptöre bağlanabilirler.

Nikotinik ACh reseptörleri, peptid nörotransmitterler, çeşitli protein kinazlar ve kalsiyum gibi diğer pek çok faktörler tarafından regüle edilebilirler.

Kalsiyum modülasyonu intraselüler olarak etki göstermesine rağmen, nACh reseptörleri ekstraselüler kalsiyum tarafından allosterik olarak modüle edilerek kanalın açık kalma olasılığında dramatik değişimlere neden olmaktadır (Adams and Nutter 1992). Bu modülasyon eksternal kalsiyumun fizyolojik konsantrasyon değerlerinde boyunca meydana gelmektedir.

Bundan dolayı aşırı nöronal aktivite ekstraselüler kalsiyum ile önlenmektedir (Wiest, Eagleman et al. 2000) ve negatif geri-besleme ile nACh reseptörlerinin açık kalma olasılığını azaltır. Kalsiyum modülasyonu iyi dökümanite edilmiştir ancak diğer allosterik efektörler tarafından nACh reseptörlerinin düzenlenmesi halen üzerinde çalışılmakta olan bir konudur.



Şekil 11: Reseptör kanalının 2 farklı durumu : B, bazal, dinlenme, kapalı durumu gösterir. A; aktif, açık kanal durumunu gösterir. I ve D; hızlı, yavaş desensitizasyon ile nikotinik reseptörlerin yüksek affiniteli durumunu göstermektedir.

2.2.4 Nikotinik AChR'lerinde gelişim ve yaşlanma süresince meydana gelen değişimler

Nikotinik ACh reseptörleri tüm hayvan hücrelerinde gelişim ve yaşlanma süresince değişim göstermektedir. Sıçanlarda $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ ve de $\beta 2$ - $\beta 4$ alt birimlerinin ekspresyonu için gereken mRNA, gelişimin erken dönemlerinde organizmalarda bulunmaktadır. Bahsedilen alt birimlerin dağılımı erişkinlik ve adölesans dönemi süresince benzerlik göstermemektedir. Alt birimlerin postnatal davranışı gelişimin erken basamaklarında baskılanır iken ilerleyen dönemlerde artmaktadır. Bu duruma örnek olarak $\alpha 3$, $\alpha 4$ ve $\beta 2$ verilebilir (Zoli, Moretti et al. 2002).

Sıçanlarda zamana bağlı olarak meydana gelen alt birim değişimleri arasında 7. günde korteks ve hipokampusda $\beta 2$ düşük miktarlarda bulunur iken bu alt birimin seviyelerinin 14. günde artması sayılabilir. Alfa4 ekspresyonu ise 7. günde yüksektir.

İnsanlarda ise yüksek affiniteli ^3H -Nikotin bağlanması gebelik süresince artarak 12-27 haftalarda ve en yüksek seviyelere ulaşır (Court and Clementi 1995).

Nikotin bağlama bölgelerinin yoğunluğu insan beyin alanlarında yaşı ilerlemesiyle azalmaktadır. Yapılan araştırmalarda talamustaki bağlama bölgesi yoğunluğunun ise yaşı ilerlemesiyle ya sabit kaldığı ya da arttığı gösterilmiştir (Court and Clementi 1995). Alt birim dağılımında belirtilen genel görüş ise $\beta 2$ alt biriminin yaşılanan beyin alanlarında azaldığı, $\alpha 2$ ve $\alpha 3$ alt birimlerinin ise hipokampus ve putamende azaldığı yönündedir (Gotti, Fornasari et al. 1997).

Yüksek affiniteli olan nikotin ve alfa bungarotoksin bağlanma alanlarının türler arasında beyinin farklı alanlarında gelişim ve yaşlanma süresi boyunca regüle edildiği bilinmektedir. Bu durumun oluşması beyin farklı alanlarındaki nAChR'lerini kodlayan farklı transkripsiyonel faktörlerinin ve gen promoter yapılarından dolayı farklı transkripsiyonel regülasyonların meydana gelmesine bağlıdır (Gotti, Moretti et al. 1997). Gelişim ve yaşlanma sürecinde bahsedilen değişimler nAChR'lerine spesifiktir çünkü muskarinik ve glutamaterjik reseptörlerdeki değişimler ve ayrıca CAT aktivitesinde farklı bir pattern izlenmektedir (Court and Clementi 1995). Zaman içinde nAChR ekspresyon patternindeki değişiklikler, bu reseptörlerin beyin gelişimi süresince önemli rol oynadıklarına işaret eder.

Nikotinik ACh reseptörlerinin konsantrasyonu sinaps formasyonu süresince oldukça yüksektir. Yapılan in-vitro denemelerde nAChR'lerin (özellikle $\alpha 7$) nöronal mimarinin gelişimini kontrol ettiği, sinaps oluşumunu stabilize ettiği ve nörit yönelmesini kontrol ettiği gösterilmiştir (Galzi and Changeux 1995).

Yukarıda bahsedilen veriler nAChR'lerinin beyin yaşamının 2 kritik periyodunda farklı yönlerde ve büyük öneme sahip olduğunu gösterir: pre-perinatal dönem sırasında hücre oluşumu ve yaşlanma süresinde hücre yıkımı. Bahsedilen her iki evrede de nikotinik maddelerin kullanımı oldukça önemlidir. Fötal beyine nikotin uygulaması (aktif veya pasif sigara kullanıcısı durumunda olan anne tarafından bebeğe iletilen nikotin) beyin devrelerinde modifikasyona neden olmakta ve nACh reseptörlerinin sayısını arttırmaktadır. Bununla beraber nikotinik maddeler beyin dejenerasyonunu azaltabilmekte veya önleyebilmektedir.

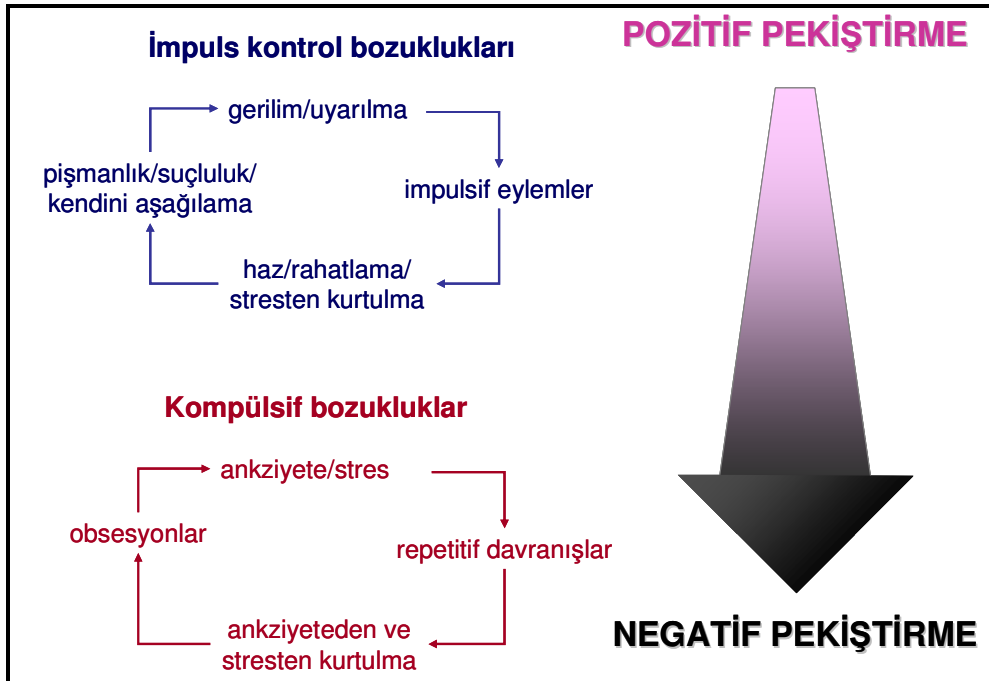
2.3 Bağımlılık

Bağımlılık (addiction) terimi Latince’de bir şeye tutunma anlamına gelen “addictus” kelimesinden köken almaktadır. Günümüzümüzde bağımlılık tedavi edilebilir bir beyin hastalığı olarak değerlendirilmektedir. Çünkü uzun süreli madde kullanımı beyinde temel, yapısal ve fonksiyonel değişimlere neden olmaktadır. Madde bağımlılığı kronik olarak rölaps (nüks) oluşturan bir bozukluk olarak iki temel özelliklerle tanımlanmaktadır: (1) Madde kullanımını kompulsif olarak arttırmak ve buna eşlik eden davranışlar. (2) Madde alınımlarını sınırlamada kontrol kaybının meydana gelmesi (Amerikan Psikiyatri Birliği 1994; Dünya Sağlık Örgütü 1992). Madde alınımlarının kontrolü ve bu kontrolün kaybolması arasında ki nöroadaptif farklılıklar bağımlılığa neden olan moleküler, hücresel ve sistem boyutlarında meydana gelen değişimler ile oluşmaktadır (Koob and Le Moal 1997). Şekil 12’de bağımlılık süreci bir sarmala benzetilerek şematize edilmiştir.



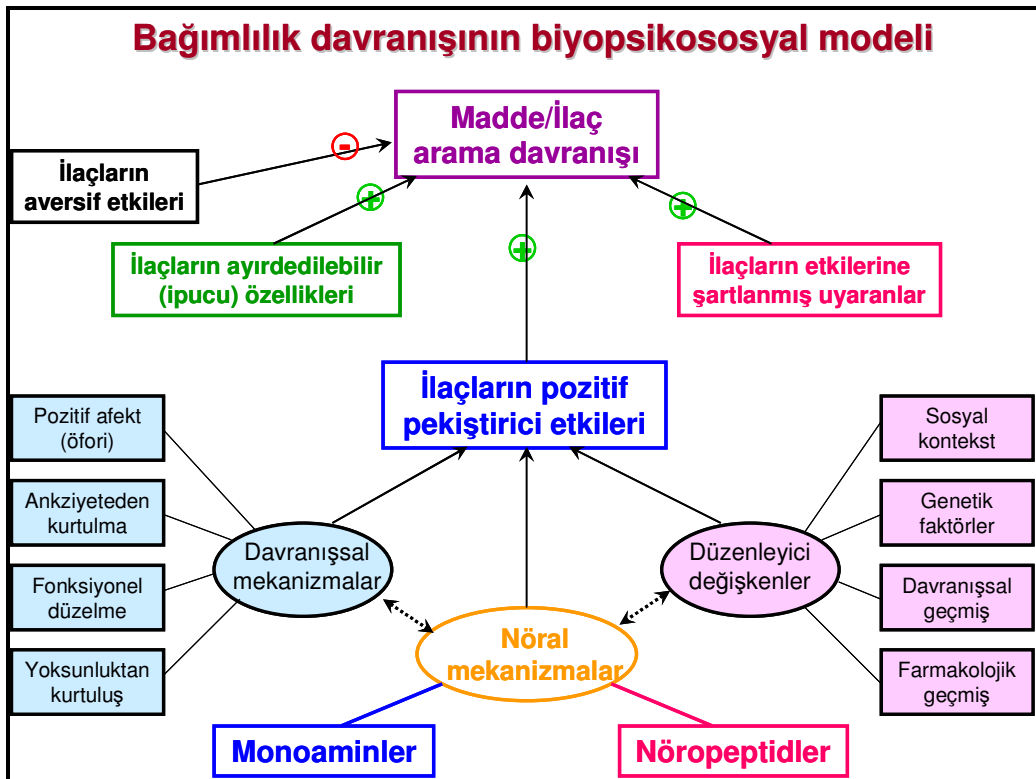
Şekil 12: Bağımlılık Sarmalı.

Günümüzde iti tip bağımlılık teorisi bulunmaktadır. Bunlar, fiziksel bağımlılık (yoksunluk) olarak adlandırılan negatif pekiştirme modeli ve Pozitif ödül teorisini meydana getiren pozitif pekiştirme modeli olarak sıralanabilir. Fiziksel bağımlılık hemoestazisten dolayı meydana gelmektedir. Vücut, madde alınımlı kaynaklı olarak meydana gelen değişimleri kompanse etmeye çalışır. Kompanse edici değişimler zaman içinde alınan madde ile daha da gelişir. Meydana gelen kompensasyonlar toleransın temelini oluşturur ve tekrarlanan alımdan sonra madde etkisi zayıflamaya başlar, maddeyi kullanan birey aynı etkiyi hissetmek istediğinden dolayı daha fazla madde kullanmaya başlar. bağımlılığın pozitif pekiştirme modelinde (ödül teorisi) ise alınan madde kullanıcıya huzur, keyif gibi pozitif duygu durumlarında olmasını sağlar. Bu duygu durumunun hissedilmesinden sonra oluşan cevap pozitif pekiştirmeye neden olmaktadır. (Şekil 13)



Şekil 13: Madde bağımlılığında pozitif pekiştirmeden negatif pekiştirmeye geçiş sürecinin olası modeli

Bağımlılık oluşturan maddeler; beyinde ödül sistemi olarak adlandırılan nöronal devrelerin bir parçası olan nörokimyasal sistemlerdeki lokal hücre membranlarına etki etmektedirler. Ödül sistemlerini dopamin ve opiyoid peptid ağları oluşturmakta olup beynin pek çok alanına projekte olmaktadır. Orta beyin dopamin sistemleri, ödül ve motor sistemlerin yanı sıra bilişsel, bellek fonksiyonları gibi yüksek fonksiyonlarda önemli rol oynamaktadır (Slotkin 2002). Bağımlılık oluşturan maddeler ilk etkilerini ödül devreleri üzerinde hücresel boyutta gösterirler. Daha sonra ise maddeyi devamlı kullanma, bağımlılık ve maddeyi bıraktıktan sonra tekrar başlamaya (rölaps=nüks) karşı oluşan duyarlılık meydana gelmektedir.

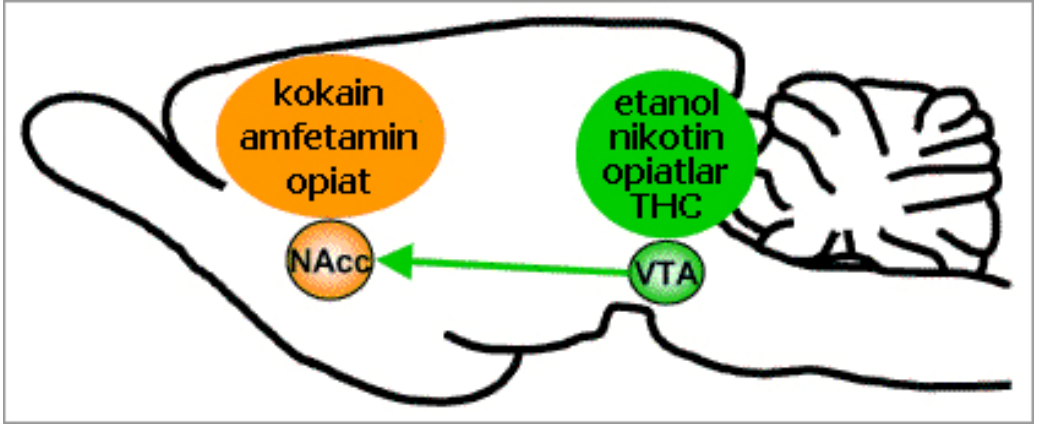


Şekil 14: Bağımlılık davranışının biyopsikososyal modeli

Kötüye kullanım sonucunda bağımlılık oluşturan maddelerin bağımlılık oluşturma potansiyelleri farklıdır ancak bu tip maddelerin beyinde etki oluşturma patternleri aynı yollar üzerinden gerçekleşmektedir. Bu bağlamda en önemli bölge/iletici sistemi mezolimbik dopaminerjik sistemdir.

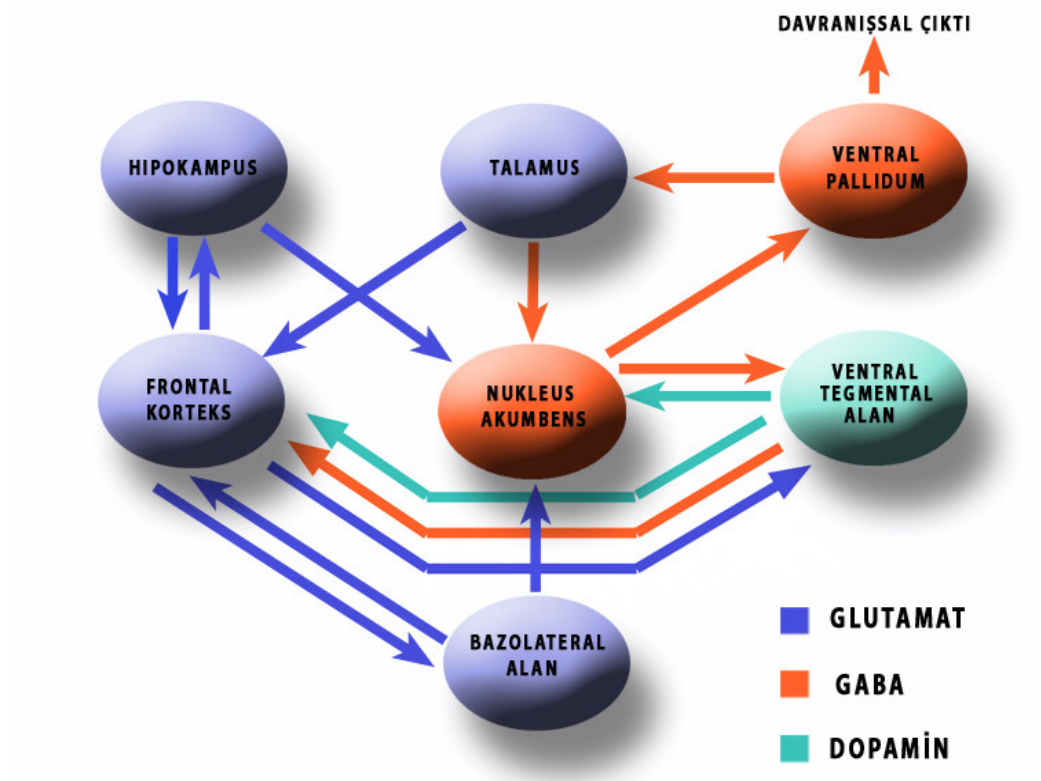
2.3.1 Beyin ödül devrelerinde meydana gelen etkiler

Bağımlılık oluşturan tüm maddeler beynin limbik sistemindeki nöronal devrelere etki göstermektedir (Wise 2004). Etkilerin bir çoğu dopaminerjik nöronları bulunduran orta beynin ventral tegmental alan (VTA) ile limbik sistemde bulunan nukleus akumbens arasındaki yolu oluşturan mezolimbik yolda meydana gelmektedir. Ventral tegmental alan ve nukleus akumbens bağımlılık oluşturan maddelerin akut ödül etkileri için önemli substrat yapılarını oluşturmaktadır. Her bir madde ventral tegmental alanda ve nukleus akumbens üzerinde farklı etkiler oluşturmaktadır. Ancak ortak özellik nukleus akumbensdeki dopaminerjik iletimin aktive edilmesi ve buradaki nöronlardan dopamin salınmasının uyarılmasıdır (Howlett, Breivogel et al. 2004). Maddelerin kronik kullanımı sonucunda ventral tegmental alan ile nukleus akumbens yollarında değişimler meydana gelmektedir. Yapılan araştırmalarda ventral tegmental alan ve nukleus akumbensde akut madde uygulamasının ödül ve bağımlılık durumlarının oluşmasında meydana gelen değişimlere beynin pek çok alanın etkileşime girdiği belirtilmiştir. Bu alanlar arasında amigdala, hipokampus, hipotalamus ve frontal korteksin birçok alanı yer almaktadır (Benowitz 1999). Bahsedilen alanlardan bazıları öğrenme, bellek, duygudurum üzerinde etkilidir. VTA ve nukleus akumbens yolağı ve diğer limbik alanlar yemek yeme veya sosyal etkileşimler gibi “doğal ödüllerin” akut pozitif emosyonel etkilerine aracılık eder. (Şekil 15, 16)



Şekil 15: Mezőlimbik yolak: Sagittal sıçan beyni kesiti ventral tegmental alandan nukleus akumbense olan dopaminerjik projeksiyonları göstermektedir. Nukleus akumbens maddelerin ödöl etkilerini oluşturmada merkezi bir rol oynar.

Kokain, amfetamin gibi bağımlılık oluşturan önemli maddeler nukleus akumbensde etkilerini gösterir. Nikotin ve etanol ise VTA nöronlarının ateşlenme değerlerini arttırmaktadır. Opiatlar ve THC birincil etki alanları VTA dır ancak bazı etkilerini nukleus akumbensde de göstermektedirler (Nora Volkow, NIH/NIDA).



Şekil 16: Madde bağımlılığındaki Nöronal yollar: Glutamaterjik projeksiyon nöronları mor ile; GABAerjik projeksiyon nöronları turuncu, dopaminerjik nöronlar yeşil ile gösterilmektedir. (Nora Volkow, NIH/NIDA).

Kokain, amfetamin, alkol ve nikotin gibi psikostimülan maddeler VTA'daki dopamin sentezini sınırlayan enzim olan tirozin hidroksilaz (TH) seviyelerini arttırmaktadır (Benowitz 1999). Kronik madde kullanımı sonrasında meydana gelen bu adaptasyon dopaminerjik sinyallemede azalmaya neden olur. Transkripsiyon faktörlerinden biri olan CREB (Cyclic AMP response element binding protein) aktivitesinin kronik uygulama sonrasında VTA arttırdığı belirtilmiştir ve bu faktörün VTA'daki GluR1 ve TH'ın indüksiyonuna aracılık ederek bağımlılıkla alakalı olan davranışsal plastisiteyi meydana getirdiği düşünülmektedir (Olson, Zabetian et al. 2005).

Bağımlılık oluşturan maddelerin nukleus akumbensdeki bağımlılık oluşturan etkileri biyokimyasaldır. Oluşan en büyük indüksiyon ise kokain, amfetamin ve nikotinin kronik uygulamalarından sonra nukleus akumbensde biriken cFos ekspresyonunun artmasıdır. Bu durum kokain ve opiatlara olan davranışsal cevabı arttırmaktadır. cFos bazı hedef genleri regüle ederek bağımlılığın oluşmasına aracılık eder (McClung and Nestler 2003). Nukleus akumbensde oluşan CREB aktivasyonu ise diğer bir hücrel adaptasyon çeşididir. Kokain, amfetamin ve diğer opiatların tekrarlanan uygulamalarında nukleus akumbensdeki CREB fonksiyonunda farklılık bulunmasına rağmen CREB aktivasyonuna benzer davranışsal etkiler meydana gelmektedir. Nukleus akumbensdeki CREB aktivasyonunun artması kokain, opiat ve alkole olan davranışsal cevabı azaltır iken azalan CREB aktivasyonu ise bahsedilen davranışları arttırmaktadır (Carlezon, Duman et al. 2005). Ayrıca CREB, cAMP yolağının “up-regülasyonuna” katılır. cAMP yolunun aktivasyonunun bağımlılık oluşturan maddelere verilen davranışsal cevabını azalttığı, bu yolun inhibe edilmesinin ise maddelere verilecek olan cevabı kolaylaştırdığı bilinmektedir (Kreek 2001).

Uyarıcı etkiye sahip olan maddeler nukleus akumbensdeki nöronlarda uzun süreli depresyonun (LTD) oluşmasına neden olmaktadır ve glutamata verilen postsinaptik cevabı azaltırlar (Thomas and Malenka 2003). Bu duruma cFos aracılı GluR2 indüksiyonu neden olur. Sonuç olarak da AMPA reseptör kondüktansı ve Ca^{+2} iletkenliği azalır. Nukleus akumbensde oluşan bu durum uyarıcı maddenin bağımlılığının kompulsif ve impulsif özellikleriyle ilişkilidir.

2.3.2 Bağımlılık sürecinde plastisite ve adaptasyonlar

Bağımlılık, beyinde değişiklikler getiren plastik bir süreçtir. Bu süreç sırasında çeşitli düzeylerde adaptasyonlar görülür.

2.3.2.1 Beyin ödül devrelerinde meydana gelen adaptasyonlar

Kötüye kullanılan ve daha sonra bağımlılığa neden olan tüm maddelerin akut uygulaması sonrasında nukleus akkumbense olan dopaminerjik iletide artış meydana gelir. Bununla beraber aynı maddenin farklı dozları, uygulamaları veya uygulama rejimleri beyinde değişik tipte etkiler oluşturarak beyin alanlarında kompleks adaptasyonlar oluşturmaktadır. Bağımlılık oluşturan herhangi bir maddenin kronik uygulaması ise tolerans oluşturur diğer bir deyişle madde uzun süre kullanıldığında giderek maddeden aynı etkiyi elde edebilmek için dozun artırılması gerekir. Maddenin kronik olarak kullanılmasından sonra dopaminin fonksiyonunun bazal seviyeleri azalır ve bu nedenle ve normal ödül uyarısı dopamin iletimdeki tipik artışı ortaya çıkarmada daha az etkili olur. Bu değişimler, maddeye maruz kalma veya madde yoksunluğu sonrasında negatif emosyonel semptomların oluşmasına katkıda bulunur. Aynı zamanda kronik madde kullanımı, madde ile ilişkili olan ipuçları ve madde arama davranışına cevap olarak meydana gelen dopaminerjik transmisyonunda artışa yol açarak dopamin sistemini sensitize eder (Wise 2004). Sensitizasyon maddenin alımıyla sona ermektedir. Bu durum maddeyi aşırı isteme (craving) ve rölaps (nüks) ile ilişkilidir.

Ayrıca kronik madde kullanımı santral kortikotropin salgılatıcı faktör (CFR) sistemindeki değişimlerle ilişkilidir. Yoksunluk durumunda amigdalada CRF içeren nöronların aktivasyonunda artış meydana gelir. Klasik anlamda bu nöronlar beyin sapı ve önbeyin alanlarını innerve etmekte olup korku ve diğer

aversif durumların ortaya çıkmasında rol alır. Madde yoksunluğu süresince bu nöronların aktivasyonu kortikal piramidal nöronların doğal ödülleri ile aktivasyonuna olan duyarlılığını azaltmaya aracılık eder. Bu durumun tersine CRF nöronlar madde ilişkili uyaranlar tarafından aktivasyona hipersensitivite göstermektedir. Nukleus akumbense gelen glutamaterjik transmisyonundaki madde nedenli değişimler nukleus akumbense olan dopaminerjik iletim ile paralellik göstermektedir.

2.3.2.2 Bağımlılıkta oluşan hücresel ve moleküler adaptasyonlar

Bağımlılık oluşturan maddeler VTA'da, nukleus akumbens ve diğer beyin yollarında çeşitli moleküler ve hücresel adaptasyonlara neden olur. Bu adaptasyonlardan biri kokain, amfetamin, alkol veya nikotinin neden olduğu uzun süreli potansiyasyon (LTP) benzeri durumun VTA nöronlarında meydana gelmesidir. Bu sensitizasyon durumu GluR1 AMPA reseptör alt biriminin indüksiyonu tarafından meydana getirilen AMPA glutamat reseptör cevabında oluşan artış aracılığıyla meydana gelir (Saal, Dong et al. 2003). Glutamaterjik transmisyonda oluşan adaptasyon, sensitizasyon ile direkt olarak ilişkili olmasına rağmen bu model halen tartışılmaktadır. VTA dopamin nöronlarının GABAerjik regülasyonundaki değişimler opiatlar için gösterilmiştir ancak diğer maddelerde halen tam olarak aydınlatılamamıştır (Aramakis and Methamphetamine 1998).

Kortikal alanlarda meydana gelen diğer hücresel ve moleküler adaptasyonlar arasında ise dopaminin prefrontal kortikal nöronlar üzerindeki etkisi önemlidir. Bu alanda meydana gelen değişimler nukleus akumbens nöronlarındaki glutamat reseptör fonksiyonundaki postsinaptik aktivasyonla ilişkilidir.

2.4 Nikotin bağımlılığı

Günümüzde tütün kullanımının dünya genelinde bir sağlık problemi olduğu bilinmektedir (Leshner 2000). Dünya sağlık örgütü dünya üzerindeki erişkin popülasyonunun 1/3'ünün sigara kullandığını belirtmektedir. Tütün kullanımı daha az gelişmiş olan ülkelerde yaygınlaşmakta bu nedenle bahsedilen ülkelerde sigara kullanımından ölen birey sayısı artmaktadır (Peto, Lopez et al. 1996). Sigara kullanımına adölesan dönemde başlanmakta olup bu kişilerin yaklaşık olarak yarısı ise sigara kullanımıyla ilişkili olan hastalıklardan dolayı hayatını kaybetmektedir (WHO, 1997). Gelişmiş olan ülkelerde sigara, meydana gelen prematüre ölümlerin %20'sine neden olmaktadır. Bundan dolayı gelişmiş olan ülkelerdeki tütün kullanımının prematüre ölümlerin en büyük nedeni olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca genelde, erkek ölümlerinin 1/3'ünden fazlasının 35–69 yaş arasında olduğu ve tütün kullanımı ile ilişkili olduğu bilinmektedir. (Peto, Lopez et al. 1992)

Tütün bağımlılık oluşturmaktadır ve kullanımı bırakmak oldukça zordur. Bir yıl içinde sigara kullanımını bırakmak isteyen kişilerin % 80'i başarılı olamamakta ve bırakanların ise devamlı olarak bırakma girişiminde bulunan bireyler olduğu bilinmektedir (Schelling 1992). Diğer bir deyişle sigaraya bırakabilme pek çok denemeden sonra “bazen” mümkün olabilmektedir. Amerika Birleşik Devletlerinde sigara kullanan kişilerin %70'i sigarayı bırakmak istediklerini ancak bu kişilerin sadece % 3'ünün bir yıl sonunda sigara kullanımını bırakmayı başarabildiği bilinmektedir (Benowitz 1999). Tütünün temel bağımlılık oluşturan maddesi nikotindir ve sigara kullanan bireyler tarafından kullanımın zararlı sonuçları olduğunun bilinmesine rağmen kullanıma devam edildiğine dikkat çekilmektedir (Dani 2001).

Bağımlılık oluşturan diğer maddeler gibi nikotin de bağımlılığı oluşturmada ve sürdürmede iki temel özelliği sergilemektedir. Bunlardan birincisi kullanımı pekiştiren ödül ve hoşnutluk durumunu beyinde oluşturmaktır. İkincisi ise, kronik nikotin uygulamasını takiben kullanıma aniden ara verildiğinde yoksunluk sendromuna yol açmasıdır (Balfour et al. 2000). Yapılan deneysel çalışmalarda nikotinin diğer bağımlılık oluşturan maddeler gibi davrandığı ortaya çıkarılmıştır. Sınırlandırılmış olan dozlarda nikotin hem hayvanlarda hem de insanlarda pekiştirici etki göstermektedir. Yapılan hayvan denemelerinde amfetamin ve kokain gibi bağımlılık yapıcı maddelerle nikotin karşılaştırıldığı zaman nikotinin diğer maddelere oranla daha zayıf bir pekiştirici etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Benwell and Balfour 1992). Nikotin uygulaması beyinde serotonin, dopamin ve noradrenalin gibi katekolaminlerin konsantrasyonlarında değişimlere neden olmakta ve bunun sonucunda da bir seri fizyolojik cevap oluşmaktadır. Cevaplar arasında deride vazokonstriksiyon, kan basıncında ve kalp frekansında artma, iskelet kaslarında vazodilatasyon yer almaktadır (Balfour and Ridley 2000). Ancak; kronik nikotin kullanımı sonucunda meydana gelen fizyolojik durumların pek çoğuna karşı tolerans gelişmektedir. İnsanda ve hayvanda yapılan beyin görüntüleme çalışmalarında nikotinin ve sigara dumanının beyin aktivitesinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu azalmanın özellikle prefrontal korteksde olduğu, görme sistemi ve talamus alanlarında ise aktivite artışı bulunduğu gözlenmiştir (Brody 2006).

2.4.1 Nikotin bağımlılığında nACh reseptörlerinin davranışı

Bir adet sigara tüketilmesi sonucunda beyindeki nikotin konsantrasyonu 50–300 nM değerine nikotin ulaşmaktadır (Gourlay and Benowitz 1997). Beyinde normal koşullarda nikotin bulunmamaktadır ve nACh reseptöleri de bu durumda normal olarak endojen kolinerjik aktivitelere cevap oluşturabilmektedir

(Rose, Behm et al. 2003). Nikotinin beyinde etkilerini gösterebilmesi nöronlar üzerindeki nACh reseptörlerine bağlanarak olur ve bu nöronlarda ya aksiyon potansiyelleri oluşur ya da aktivite düzeyi farklılaşır. Bu süreç sonucunda pek çok farklı hücreyel ve davranışsal değışim meydana gelecektir.

Sigara kullanımının etkileri ile ilişkili olarak ve nAChR'lerinin fonksiyonu incelendiğı zaman, nACh reseptörünün belirli bir konformasyonel durumda olma olasılığının agonist konsantrasyonuna ve agoniste maruz kalma süresince bağı olarak değıştiğı görülmektedir. Merkezi sinir sistemi sinapslarında presinaptik terminalden bırakılan asetilkolin konsantrasyonu sinaptik aralıkta AChE ile yıkılmadan önce 1 mM'dır ve ACh yakında bulunan nACh reseptörlerinde küçük veya desensitize olmayan senkronize aktivasyona neden olur. Tütünden elde edilen nikotin 0.1 µm konsantrasyonuna oldukça yavaş ulaşmaktadır ve sinaptik aralıkta asetilkoline oranla daha uzun süre kalmaktadır. Bunun nedeni ise nikotinin asetilkolinesteraz tarafından parçalanamamasıdır. Gerçekte düşük agonist konsantrasyonunun yavaş uygulaması reseptörde aktivasyon oluşturmada desensitizasyona neden olmaktadır. Bu durumun nedeni ise nACh reseptörlerinin desensitize konformasyonunun, dinlenme veya açık kalma pozisyonuna oranla agonistlere karşı daha yüksek affiniteye sahip olmalarıdır. Agonist için desensitize reseptörlerin yüksek affinitesi ve çeşitli konformasyonlar boyunca nACh reseptörlerinin dağılımındaki değışimler, devam eden nikotin kullanımı süresince göz önünde bulundurulmalıdır. Nikotinik reseptörler hücre yüzeyinde fonksiyonel olmayan reseptörler olarak bulunabilirler veya uzun süre desensitize durumda kalabilirler (Lester and Dani 1994). Desensitizasyonun uzun sürmesi, yoksunluk sendromlarında ve nikotine karşı oluşan toleransta oldukça önemlidir. Tolerans ve yoksunluk, nACh reseptörlerinin desensitizasyonun fonksiyonel olmayan çeşitli durumlarından fonksiyonel duruma yavaş yavaş dönmesiyle açıklanmaktadır. Nikotinik AChR'lerinde desensitizasyon başladığı zaman, daha fazla sigara kullanımı

şeklinde akut tolerans meydana gelecektir. Çeşitli nikotinik reseptör tiplerinin sensitizasyonundaki önemli farklar desensitizasyon değerlerinde de farklılaşmaya neden olmaktadır (Dani, Radcliffe et al. 2000). Desensitizasyon durumunda nACh reseptörleri hücre membranında oldukça yavaş biçimde dönüşürve sayıları artar (Peng et al., 1994, 1997). Ortamdaki değişik faktörlerin etkisiyle dopamin nöronlarındaki eksitasyon ve inhibisyon farklılaşabilir (Mansvelder and McGehee 2000); ayrıca nACh reseptörlerinin sayısında meydana gelen artış nikotin sensitizasyonuna katkıda bulunur (Balfour and Ridley 2000). Nikotin beyinden uzaklaştırıldığı zaman artmış nACh reseptör fazlalığı sigara kullanıcılarındaki nikotinik kolinerjik sistemlerin fazla oranda eksisitabiletisine neden olmaktadır. Kolinerjik sinapslarda meydana gelen bu hipereksisitabilite ajitasyona neden olarak sigara kullanıcısının daha sonraki sigarası için motivasyon sağlamaktadır. Yakılan diğer sigara ise fazla sayıdaki nikotinik asetil kolin reseptörlerini desensitize ederek normal sayısına ulaştıracağından kullanıcıyı tedavi etmektedir (Benowitz 1999).

Pek çok sigara kullanıcısına göre günün ilk sigarasının en rahatlatıcı olan olduğu söylenmektedir. Nikotinden bir gece yoksun kalındığı zaman beyindeki nikotin konsantrasyonu sabah en düşük seviyesine gelmektedir. Bundan dolayı da günün ilk sigarasının nACh reseptörleri için en güçlü uyarıcı olduğunu ve bununla beraber de büyük miktarda dopaminin salındığını ve sonuç olarak da günün en keyifli etkisini oluşturduğu düşünülür. Birkaç sigaradan sonra ise daha çok desensitizasyon meydana gelir ve akut tolerans oluşur. Aktivasyon süreci ve desensitizasyon farklı nACh reseptör alt birimlerini farklı etkilemekte ve sinaptik plastisite üzerinde fonksiyon göstererek (Dani, Ji et al. 2001) bağımlılık ile ilişkili olan uzun süreli değişimlere katkıda bulunmaktadır.

Sigara kullanan kişiler gün boyunca kullandıkları sigaranın yapmış oldukları işe daha fazla odaklanmalarına ve rahatlamalarına yardımcı olduğunu

ve bu şekilde de daha etkili çalışabildiklerini ifade etmektedir. Gün boyunca içilen sigaradan alınan nikotin, yavaş yavaş artmaktadır (Benowitz, Porchet et al. 1989). Sonuç olarak gün boyunca nikotine maruz kalan sigara tiryakisi nACh reseptörlerini desensitize durumuna dönüştürebilmektedir. Bu nedenle nikotinik asetilkolin reseptörlerinin desensitize durumu ile nACh reseptörlerinin sayısı yüksek değerlerde sabitlenmiş olur. Eğer nikotin alınıcı birkaç hafta engellenir ise, nACh reseptörlerinin sayısı sigara kullanmayan kişilerdeki normal sayılarına dönmektedir. Sigara kullanımının uzun yıllar devam etmesi sonucunda nöroadaptasyonlar gelişmekte ve uzun süreli sinaptik değişimlerle öğrenme davranışında değişimlerle sonuçlanmaktadır.

Nöronal nACh reseptörlerinin merkezi sinir sisteminde en sık olarak gözlenen sinaptik fonksiyonu ise nörotransmitter salınımına olan etkisidir. Presinaptik nACh reseptörlerinin aktivasyonu presinaptik terminallerde kalsiyum artışını başlatmakta ve çok sayıda nörotransmitterin salınımını arttırmaktadır (Mansvelder and McGehee 2000). Özellikle $\alpha 7$ nACh reseptörleri kalsiyum geçirgenliği en yüksek olan reseptörlerdir ve reseptör genellikle nörotransmitter salınımının artışına aracılık eder. Ancak bazı durumlarda farklı nACh reseptörlerinin alt tipleri de bu durumu gerçekleştirebilmektedir (Ji, Lape et al. 2001);

Direkt, hızlı nikotinik sinaptik transmisyon, beyindeki birkaç alanda küçük bir eksitator input olarak izlenmiştir (Hefft, Hulo et al. 1999). Hızlı nikotinik ileti eksitator girdinin minör bileşenidir, çünkü kolinerjik sinapslar düşük yoğunluklarda bulunmaktadır. Nöronun direkt nikotinik kolinerjik girdileri, kolinerjik projeksiyonların olduğu alanlardaki nöron gruplarının eksitabilitesine etkide bulunmaktadır (Ji and Dani 2000). Direkt kolinerjik bağlantılara ek olarak sinaptik olmayan ve ACh'in merkezi sinir sistemindeki volüm transmisyonuna dair kanıtlar bulunmaktadır. Örneğin, hipokampusdaki

kolinerjik varikoziteler sinaptik alanlarla örtüşmektedir (Benowitz 1999). Bu durum kolinerjik salınımın difüzyon veya volüm iletim yoluyla olabileceğine işaret eder. Sonuç olarak nACh reseptörleri geniş alanlarda gerek sinaptik gerek volüm ileti yoluyla modüle edilebilmektedir. Tütünden alınan nikotinin beyindeki seviyesi süratle yükselmekte ve sonuç olarak da nikotin sinaptik ve sinaptik olmayan nACh reseptör alanlarına ulaşılabilir. Nikotinik asetil kolin reseptörleri, yaygın dağılımı ve çeşitli süreçlerdeki rolleri ile nikotinin etkisini arttırarak nikotinin birçok nöronal alana etki etmesine neden olur. Nukleus akkumbens ve VTA'daki dopaminerjik nöronların terminal ve hücre gövdelerinde yüksek ve düşük affiniteli nikotinik ACh reseptörleri tanımlanmıştır (Balfour 2002). Uzun süreli nikotin uygulaması ile ilgili olarak diğer bir bilgi ise nikotinin insan, sıçan ve maymun beyindeki nikotinik asetilkolin reseptörlerinin sayısını arttırmasıdır (Wonnacott 1990). Bu artış nACh reseptörlerine özgüdür, özellikle de nikotine karşı yüksek affinitesi olan $\alpha 4\beta 2$ alt birimlerde etki gözlenebilmektedir (Buisson and Bertrand 2001). $\alpha 4\beta 2$ alt birimlerine sahip olan nikotinik asetilkolin reseptörleri farede ki nikotinik self-administration adına önem taşımaktadır (Picciotto, 1998). Ancak daha önce de belirtildiği gibi bu konuda cinsiyet farklılıkları vardır; nikotin dişilerde reseptör sayısını arttırmamaktadır (Koylu et al, 1997).

Nikotin, ventral tegmentumdaki dopaminerjik nöronlar üzerinde bulunan presinaptik nACh reseptörlerini uyarmaktadır (Pidoplichko, Noguchi et al. 2004). Bu nöronlar nukleus akumbensin kabuk (shell) kısmına projekte olarak buradan dopamin salınımına neden olmaktadır. Yükselen dopamin konsantrasyonu lokomotor aktiviteyi arttırmaktadır. Bu bağlamda fazla miktarlarda dopaminin nukleus akumbense akışı kokain, amfetamin, nikotin gibi bağımlılık oluşturan maddelerle yakından ilişkilidir (Pontieri, Tanda et al. 1996). Ancak nikotinin diğer maddelerin ödül etkisiyle yakın olan ilişkisi

önemlidir. Bahsedilen bu mekanizma, maddelerin bağımlılık oluşturma potansiyeli ile doğrudan ilişkilidir.

Ayrıca nikotinik asetilkolin reseptörleri VTA'a projekte olan glutamaterjik afferentler üzerinde de eksprese edilmektedir. Bu reseptörlere nikotin bağlanmakta ve dopamin nöronları üzerinde eksitasyonu arttırmaktadır. Ancak bu alanda ki GABAerjik nöronlar üzerindeki nAChR'lerine bağlanan nikotin hızlı bir şekilde reseptörleri desensitize etmekte ve dopamin nöronları üzerindeki GABA inhibisyonunu azaltmaktadır. Bahsedilen her iki mekanizma beraber çalışarak nikotine karşı verilecek olan cevapta dopaminerjik nöronların ateşlenme sürelerini uzatarak (Pidoplichko, Noguchi et al. 2004) nikotinin bağımlılık oluşturma potansiyelini arttırmaktadır. Beyinde nikotin pek çok nörotransmitterin konsantrasyonunda kompleks değişimlere neden olmasına rağmen, dopamin sistemlerinin bağımlılık ile olan ilişkisinden dolayı bu ilişki daha yoğun olarak çalışılmıştır. Nikotinin hem kemirgenlerde hem insanlarda beyinde dopamin seviyelerini arttırdığı bilinmektedir. Pozitron emisyon tomografisi (PET) çalışmalarında sigara kullanan kişilerin bazal ganglion alanlarında dopamin seviyelerinin sigara kullanmayan bireylere oranla arttığı belirlenmiştir (Salokangas, Vilkmann et al. 2000). Mikrodializ çalışmalarında ise nikotinin nukleus akumbensdeki dopamin konsantrasyonlarını 2 kat arttırdığı bulunmuştur (Pontieri, Tanda et al. 1996). Ayrıca kronik nikotin uygulaması hipokampusda serotonin seviyelerinde azalmaya neden olmaktadır (Balfour and Ridley 2000). Bu azalma hipokampus ile sınırlıdır ve serotonin sentezindeki azalma ile ilişkilidir. Hipokampusda ki serotoninin kronik uygulamayla azalması bu alandaki 5-HT_{1A} reseptörlerinin sayısında artışa (up-regulation) neden olur. 5HT_{1A} reseptörlerinin uyarılması anksiyete oluşturur. Sıçan beyin kesitlerinde tütünden sağlanan nikotin konsantrasyonunun VTA'daki dopamin nöronları üzerindeki nACh reseptörlerini aktive ettiği ve bundan dolayı da VTA

nöronlarının ateşlenmesini modüle edebildiği ortaya koyulmuştur (Pidoplichko, DeBiasi et al. 1997)

Ventral Tegmental Alandaki nikotinik akımların önemli en önemli bileşeni $\beta 2$ alt birimini içeren nACh reseptörleridir (Picciotto, Zoli et al. 1998), ancak bu bölgede $\alpha 7$ alt birimlerinden oluşan nACh reseptörlerinin de etkinliği gözardı edilemez (Pidoplichko, DeBiasi et al. 1997). Ayrıca, Mansvelder ve MacGehee (2000) nikotinin VTA'da glutamatın salınımını arttırarak sinaptik plastisitenin başlatılmasına yardımcı olduğunu belirtmişlerdir. Artan glutamat salınımı post sinaptik depolarizasyon ile eşleşerek NMDA reseptörleri üzerinde bulunan magnezyum blokajını kaldırmakta ve uzun süreli potansiasyonun oluşmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı nikotin aktivitesi dopaminerjik sistemdeki sinaptik plastisiteyi etkileyebilmektedir. Ayrıca hipokampusdaki sinaptik plastisitenin pek çok formunun nACh reseptör aktivitesi ile modüle edilebildiği gösterilmiştir (Ji, Lape et al. 2001). Hipokampusun öğrenme ve bellek süreçlerindeki önemli fonksiyonları bağlamında değerlendirildiğinde, nikotinik mekanizmaların sinaptik plastisitenin çeşitli formlarını etkileyerek öğrenme ve bellek mekanizmalarını düzenlediği görülmektedir; bu da özellikle nikotin/tütün bağımlılığı ile bilişsel süreçler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi açısından önemlidir (Dani, Ji et al. 2001). Diğer bir devre ise ödül etkileri, nöroadaptasyon ve öğrenme ile ilişkili davranışları içermekte olup nikotin bağımlılığı ile bağlantılıdır, ancak mezolimbik dopaminerjik nöronların bağımlılık süreçlerinde baş rol oyuncusu oldukları gözardı edilmemelidir.

2.4.2 Nikotin bağımlılığında nACh Reseptör sayısında artış (up-regulation)

Nikotinik reseptörler, uzun süre agoniste maruz kalırsa reseptör sayılarında artma meydana gelir. Bu durum nAChR'lerine özgü olup, başka reseptör

sistemlerinde görülmemektedir; aksine, klasik farmakoloji bilgilerine göre bir reseptörün agonistindeki artış veya uzun süre agoniste maruziyet reseptöre sayılarını düşürür. Uzun süreli nikotine maruz kalma sonucunda insanlarda da olmak üzere pek çok türün beyindeki nAChR'lerinin sayısı artmaktadır. Postmortem çalışmalarda sigara kullanan kişilerin beyinlerinde [³H]-nikotin bağlanmasının sigara kullanmayanlara oranla artmış olduğu görülmüştür. Kronik nikotin uygulamasının ardından meydana gelen desensitizasyon ve “up-regülasyon”un sigara (Benwell and Balfour 1992) kullanıcılarında meydana gelen toleransın temelini oluşturduğu, bununla beraber sigara kullanımının kesilmesinden sonra ortaya çıkan yoksunluk sendromlarını oluşturduğu belirtilmektedir (Balfour and Fagerstrom 1996). Sıçanlarda sub-kronik nikotin uygulaması (günde 2 kere 0.45 mg/kg) korteksteki yüksek affiniteli nAChR alanlarının sayısında artmaya neden olur iken düşük affiniteli alanların oranında azalma meydana gelmiştir (Romanelli, Ohman et al. 1988). Nikotinik AChR “up-regülasyon”u altında yatan mekanizma ise bu reseptörlerin hızlı desensitize olması ve bunun ardından gelen kronik uygulama ile de inaktivasyonun meydana gelmesidir. “Up-regülasyon”, desensitizasyon ve sonuç olarak meydana gelen nAChR inaktivasyonu, agoniste maruz kalma süresine ve agonistin doğal yapısına bağlı olarak meydana gelir (Rowell and Li 1997). Kas tipi nAChR'lerinin desensitizasyonundan elde edilen verilere göre, reseptörün kısa süreli olarak nikotin veya asetilkoline maruz kalması hızlı bir şekilde desensitizasyon oluşturabilmektedir. Nikotin uygulamasından sonra reseptörün tekrar eski durumunu alması, asetilokolin uygulamasına oranla daha hızlı bir şekilde meydana gelmektedir. Elde bu bulgular; birden fazla reseptör desensitizasyon durumu olduğuna işaret eder. Her bir nAChR alt birimine agonist uygulaması sonrasında desensitizasyon ve inaktivasyon durumlarında farklı yanıtlar olduğu belirtilmiştir. Yapılan denemelerde $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ nAChR alt birimlerinin diğer alt birimlere oranla inaktivasyona ve desensitizasyona daha duyarlı oldukları gösterilmiştir. Nikotin; nAChR'leri üzerindeki etkisini

özellikle (tolerans, yoksunluk, v.b.) $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ alt birimleri üzerinden göstermektedir, ancak diğer alt birimler üzerindeki çalışmalardan sağlanacak yeni verilerle bu gözlemin modifiye edilmesi olasıdır.

2.4.3 Nikotin bağımlılığının hücresel ve sinaptik mekanizmaları

Bağımlılık kompleks bir davranışlar dizisi olup moleküler mekanizmalardan, sosyal etkileşimlere kadar uzanan pek çok etki ile oluşmaktadır. Madde bağımlılığı süreci moleküler etkileşimlerle başlayarak nöronların metabolizmasını ve aktivitesini değiştirerek nöronların maddeye karşı duyarlı duruma gelmelerine neden olur. Zaman içinde bağımlılık yapıcı maddeler nöronların ve nöron ağlarının özelliklerini değiştirerek bağımlılık, tolerans,duyarlılaşma (sensitizasyon) ve maddeyi arama davranışı gibi kompleks davranışların oluşmasına neden olur (Nestler and Aghajanian 1997).

Bağımlılık oluşturan maddelerin kendi kendine uygulama denemelerinde nukleus akumbensde oluşan dopamin artışı ve VTA dopamin nöronlarının eksitabilitesi yoğun olarak incelenmiştir. VTA DA nöronlarına asıl eksitator uyarı prefrontal korteksten glutamaterjik projeksiyonlardır (Kalivas, Duffy et al. 1989; Sesack and Pickel 1992)

VTA nöronlarının primer inhibitör girdileri lokal internöronları da içeren NAcc ve ventral pallidumdan projekte olan GABAerjik nöronlardır (Kalivas, Churchill et al. 1993). VTA'a kolinerjik projeksiyonlar pedünkülopontin tegmental nukleus (PPTg) ve lateral dorsal tegmental nukleus (LDTg) gibi beyin sapı nukleuslarından gelir. Ultrastrüktürel analizler VTA'daki kolinerjik akson terminalerinin düşük oranda dopamin transporteri eksprese eden postsinaptik yapılar olduğunu ortaya koymuştur (Garzon, Vaughan et al. 1999). Serotonin,

norepinefrin, endojen opioid ve diğer bir çok nörotransmitter ve nöromodülatör VTA aktivitesini etkiler (Tzschentke 2001).

VTA projeksiyonlarından DA salımı eksitator ve inhibitör girdilerin dengesine ve DA nöronlarının içsel (intrinsik) aktivitesine bağlıdır. Nikotinik reseptörlerin değişik alt tipleri DA nöronları, GABA nöronları ve bu nükleusa glutamaterjik girdilerin akson terminallerinde eksprese olur.

2.4.4 VTA’da glutamaterjik iletinin nikotinik modülasyonu

VTA’ın DA nöronlarının tanımlanmalarını sağlayan karakteristik elektriksel özellikleri vardır. Bu nöronlar spontan olarak ateşlerler ve “pacemaker” akımı, ya da hiperpolarizasyonla uyarılan akımlar (I_h) oluştururlar (Pidoplichko, DeBiasi et al. 1997). Nikotin ve diğer bağımlılık yapıcı maddelerin uygulanması Nacc’de DA salınımının artışı için gerekli olan patlama tarzı bir ateşleme olduğu in-vivo olarak gösterilmiştir (Murase, Grenhoff et al. 1993). Patlama tarzı ateşleme, davranışsal pekiştirme, ve VTA’da LTP indüksiyonu arasındaki bağlantı NMDA reseptör aktivasyonuna bağlıdır. DA nöronlarına glutamaterjik girdi, LTP’yi pre- ve postsinaptik uyarıyı eşleştirmeye cevap olarak aşağı çekebilir, ve bu işlem NMDA reseptör aktivasyonuna bağımlıdır (Bonci and Malenka 1999). İlginç olarak bu çekirdek içinde GABAerjik ara nöronlara eksitator uyarı, benzer bir indüksiyon protokolü ile, LTP oluşturmaz.

Nikotinik reseptörler hem presinaptik glutamaterjik terminallerde, hem de DA nöronları üzerinde yer alırlar. Nikotin VTA’ya ulaştığı zaman pre- ve postsinaptik bileşenlerin eşleşmiş elektriksel uyarısını taklit edebilen glutamaterjik terminalleri ve DA nöronlarını direkt olarak uyarır. VTA’daki eksitator ileti nikotin varlığında potansialize olur. İstirahat membran

potansiyelinde açılan presinaptik $\alpha 7$ nAChR kanalları hücre içi kalsiyum artışı için hızlı bir yol sağlarlar (Seguela, Wadiche et al. 1993). DA nöronlarındaki postsinaptik nAChRlerinin eş zamanlı olarak aktivasyonu, depolarizasyon ve magnezyum bloğundan kurtulan NMDA reseptör aktivasyonu ihtimalini artırır. Normalde DA nöronlarında nAChRlerinin çoğunun yapısındaki β_2 alt ünitesinden yoksun mutant farelerde (β_2 knock out), nikotin ile DA sisteminde uzun dönem aktivasyon gözlenmez ve yoktur ve fareler kendi kendilerine nikotini uygulamazlar (Picciotto, Zoli et al. 1998). Bu da göstermektedir ki β_2 içeren nAChRleri olmadan nikotin DA nöronlarını NMDA reseptörlerinin magnezyum bloğundan kurtulabilmesi için yeterince uyaramamaktadır.

Tek bir sistemik nikotin enjeksiyonunu takiben NAcc'de DA salınım sürecine nikotitle uyarılmış LTP katkıda bulunuyor olabilir (Schilstrom, Nomikos et al. 1998). LTP çok düşük nikotin konsantrasyonlarında uyarılır ve 200 saniyelik maruz kalma süresi LTP oluşumu için yeterlidir. Kişinin bir sigara içimi sonrası beynine giden nikotin miktarının VTA'daki sinaptik plastisitenin uyarılması için yeterli olması çok muhtemeldir. İlaveten bu bulgular öğrenme ve hafıza ile ilgili hücrel mekanizmaların bağımlılık yapan bir madde ile aktive edilebileceğini göstermektedir (Mansvelder and McGehee 2000). Benzer olarak neonatal sıçanlarda tek doz kokain uygulamasının VTA DA nöronlarında 10 gün süren eksitator LTP girdisi oluşturabileceği gösterilmiştir (Ungless, Whistler et al. 2001). Bu bulgular bir araya getirildiğinde, bağımlılık yapan maddelerin beyin ödül sistemlerinde bellek mekanizmalarını aktive ettiği yönünde güçlü kanıtlar oluşturduğu ortaya çıkmaktadır (Nestler 2001).

2.4.5 VTA'da GABAerjik iletinin nikotinik modülasyonu

Eksitator girdilere ilaveten, VTA DA nöronları öncelikli olarak GABAerjik girdilerle inhibitör kontrol altındadır. VTA DA nöronlarına

GABAerjik girdiler lokal ara nöronlardan ve projeksiyon lifleri ile NAcc ve ventral pallidumdan gelir (Steffensen, Pachai et al. 1998). Nikotin VTA'a ulaştığı zaman GABA nöronlarının bu alanda eksprese ettiği nAChRleri aktive olur ve nöronların ateşlemesi artırır (Mansvelder and McGehee 2000; Yin and French 2000). Bu durum genellikle $\alpha 4$ ve $\beta 2$ alt birimleri içeren non- $\alpha 7$ tip nAChRlerde gözlenir. Nikotin bu reseptörlere uygulandığı zaman VTA'daki DA nöronlarında geçici bir inhibitör girdi artışı olur. Bu etki muhtemelen artmış GABA iletimindeki nikotinin bazı eksitator etkilerini sonlandırır.

DA nöronları üzerindeki non- $\alpha 7$ nAChRlere benzer olarak GABA nöronları üzerindeki nAChRleri hızla desensitize olur. GABA nöronlarının artmış aktivitesi böylece yatışır ve DA nöronlarına inhibitör girdi azalır. Desensitizasyon sadece nAChR'i nikotinin devam eden aktivasyonundan değil, aynı zamanda bu nAChR'leri endojen kolinerjik sinyallerden de korur. Laterodorsal ve pedunkülopontin tegmental nükleuslardan VTA'a kolinerjik girdiler (Oakman, Faris et al. 1995) selektif olarak non-DA nöronları ve DA nöronlarının bir alt grubunu hedef alır (Garzon, Vaughan et al. 1999). İnhibitör ara nöronların kolinerjik kontrolü hipokampal internöronların direkt kolinerjik inervasyonu ile benzer özellikler sergilerler (Frazier, Buhler et al. 1998). DA nöronları üzerindeki nonsinaptik nAChR'lerinin fonksiyonları, hücreler arası haberleşmedeki nonsinaptik volüm iletimine katılmalarına rağmen halen tam olarak açıklanamamıştır. VTA içeren beyin kesitlerinde ACh yıkımı bir kolinesteraz inhibitörü ile önlendiğinde GABA nöron eksitabilitesi, nikotin perfüzyon etkisine benzer şekilde, artar (Mansvelder and McGehee 2002). Buda VTA'a fonksiyonel kolinerjik girdilerin varlığı ve GABA iletimini etkilediği fikrini destekler.

VTA GABA nöronlarına gelen endojen kolinerjik uyarı, nAChR agonist uygulaması, ya da nikotin uygulaması ile desensitizasyon ile inhibe edilebilir.

Aynı zamanda nAChRs aktivitesinin kaybı nikotinin GABA üzerindeki stimülatör etkisini inhibe etmekle kalmaz, GABA nöronlarının çoğunun aktivitesini bazal aktivitenin altına düşürür (Mansvelder and McGehee 2002). Sonuç olarak VTA'daki DA nöronları nikotinin VTA'ya ulaşmasından öncesine göre daha az inhibitör GABAerjik girdi alırlar ve bu inhibitör tonusun azalması aksiyon potansiyeli ateşlemesinde artışa neden olur.

GABA nöronları üzerindeki nAChRlerinin desensitizasyondan kurtuluşu çok yavaş olur. Nikotinden sonraki ilk 15 dakikada, GABA nöronları bir sonraki nikotin uygulamasına cevap vermezler. Daha sonra cevap yavaşça toparlanır, ve normal düzeye erişmeşi yaklaşık bir saati bulur (Mansvelder and McGehee 2002). Endojen kolinerjik iletinin toparlanması da benzer bir süreyi gerektirir. Bu toparlanma fazı esnasında GABA nöronlarının aktivitesi düşüktür ve DA nöronları daha az inhibitör girdi almaları nedeniyle daha aktiftirler.

Glutamaterjik terminaller üzerindeki $\alpha 7$ nAChRlerinin hızla desensitize olmasına rağmen, tütün kullanımıyla oluşan düşük nikotin konsantrasyonu reseptörde daha az desensitizasyona neden olur. 250 nM nikotine 10 dakika maruziyet GABA nöronlarındaki nAChRlerini tamamen desensitize eder. Benzer bir nikotin uygulamasında glutamaterjik ileti desensitizasyon göstermez. Böylece inhibitör GABAerjik girdilerin deprese edilmesi ile nikotinle VTA'daki DA nöronlarındaki eksitator girdiler artmış olur. İlaveten, DA nöronları yeterince depolarize olursa, glutamaterjik ileti artışı bu girdiden LTP oluşturabilir. DA nöronları sinaptik girdiden, nikotin varlığından ve nAChRs aktivasyon zamanından daha uzun süren net bir eksitator artış alırlar. Özet olarak VTA'da DA nöronları, GABA nöronları ve glutamaterjik nöronlar tarafından nAChR alt tiplerinin farklı ekspresyonu nedeniyle aktivasyon ve desensitizasyon birlikte DA nöron aktivitesini artırmak için süregelen bir yol oluşturur. nAChR alt tiplerinin farklı özelliklerle subsellüler yerleşimi VTA DA

nöron afferent terminallerinin NAcc 'de tek doz nikotine cevap olarak in-vivo olarak tespit edildiği gibi ısrarcı bir DA salınımına yol açar.

Nikotinik AChRlerinin bazı beyin bölgelerinde eksitator glutamaterjik iletiyi modüle ettiği bildirilmiştir (Wonnacott 1997). İlavaten nAChRleri talamus, korteks, hipokampus ve interpedinküler nükleus gibi bir çok beyin bölgesinde GABAerjik iletiyi de modüle eder (Lena and Changeux 1993; Alkondon, Pereira et al. 1997; Alkondon, Braga et al. 2000). GABA nöronlarının nAChRleri ile modülasyonu en çok GABAerjik ara nöronların çok sayıda nAChRs alt tipini eksprese ettiği hipokampusta çalışılmıştır (Alkondon, Pereira et al. 1997; Frazier, Buhler et al. 1998; McQuiston and Madison 1999; Ji and Dani 2000). nAChRlerinin aktivasyonunun fizyolojik önemi, kritik olarak lokalizasyona bağlıdır. nAChR ekspresyonunun presinaptik terminalde aksiyon potansiyelinden bağımsız, direkt olarak GABA salınımı ile uyarıldığı (Radcliffe, Fisher et al. 1999) ve sinaptik terminalden uzakta GABA salınımının modülasyonunun TTX'e hassas olduğunu gösterir kanıtlar vardır (Alkondon, Pereira et al. 1997; Frazier, Buhler et al. 1998; Alkondon, Braga et al. 2000). VTA'daki GABAerjik iletinin nAChRleri ile uyarılmış modülasyonu TTX duyarlıdır; bu da reseptörün terminalde eksprese olmadığını göstermektedir.

Kortikal ve hipokampal ara nöronlar üzerindeki nikotinik reseptörlerin piramidal nöronların inhibisyon ya da disinhibisyonunu ilettikleri gösterilmiştir (Alkondon, Braga et al. 2000; Ji and Dani 2000; Ji, Lape et al. 2001). Bu bölgelerdeki nAChRs aktivasyonu GABA internöronlarındaki inhibitör GABAerjik iletiyi azaltarak piramidal nöron disinhibisyonuna neden olur. Sonuç olarak piramidal nöronlar daha az GABAerjik girdi alır ve inhibisyonundan kurtulurlar. VTA'da düşük nikotin konsantrasyonunun farklı bir mekanizma ile DA nöronlarını disinhibe ettiği gösterilmiştir. Nikotin, GABA nöronları üzerindeki nAChRlerini devam etmekte olan endojen kolinerjik iletiye

duyarsız hale getirmek üzere desensitize eder, böylece GABA nöron eksitabilitesini önler. GABAerjik iletinin kaybı DA nöron disinhibisyonuna neden olur. Benzer bir mekanizma hipokampal GABA ara nöronlarını disinhibe eder (Alkondon, Braga et al. 2000). Düşük doz nikotine kronik maruziyet, ara nöronlara GABAerjik girdinin ACh duyarlılığını azaltır. Hipokampal ara nöronlar, kolinerjik sinaptik girdisi nAChRleri ile sağlanan az sayıdaki hücrelerdendir (Frazier, Buhler et al. 1998; Hefft, Hulo et al. 1999).

2.4.6 VTA Dopaminerjik nöron inhibisyonunun ortadan kaldırılması ve ödül

Gerek tütün kullanımı, gerek deneysel olarak uygulanan nikotin, nAChRlerinin desensitizasyonu ile VTA DA nöronlarına GABAerjik girdileri baskılar. VTA GABAerjik iletide azalmanın nikotin bağımlılığında bir katkısı olup olmadığı önemli bir sorudur. Gerçekte GABAerjik ileti ile davranışsal pekiştirmeyi bağdaştıran kanıtlar vardır. Sıçan ve fareler fokal olarak VTA'ya infüzyon ile verilen GABA_A reseptör antagonistlerini kendi kendilerine uyguladılar (Ikemoto, Kohl et al. 1997). Demek ki, VTA'da GABA_A sisteminin inhibisyonu ödül etkisi oluşturmaktadır. Kendi kendine uygulamada DA salınımına bakıldığı zaman, VTA'da GABA_A reseptör blokajının NAcc'de DA düzeylerini artırması da sürpriz olmayacaktır (Westerink, Kwint et al. 1996; Ikemoto, Kohl et al. 1997). VTA'da nAChR desensitizasyonunu takiben GABAerjik iletinin azalması nikotinin pekiştirici etkisine katkıda bulunur. Sıçan ve farelerde yapılan çalışmalar GABA nöronlarına nikotin etkisini taşıyan $\beta 2$ alt biriminin, nikotinin kendi kendine uygulanmasının sürdürülmesinde gerekli olduğunu ortaya koymuştur (Picciotto, Zoli et al. 1998; Grottick and Higgins 2000).

Asetilkolinesteraz inhibisyonu VTA'da endojen ACh iletimini kuvvetlendirerek GABA iletimini fazlalaştırır (Mansvelder and McGehee 2002). İn-vivo yapılan deneysel çalışmalarda VTA'da kolinesteraz inhibisyonunun NAcc'de DA salınımını artırdığı belirtilmiştir (Blaha, Allen et al. 1996). Bu sonucun yorumlarından biri VTA'daki endojen ACh iletiminin DA sistemini aktive ettiğidir. VTA'a kolinerjik projeksiyonların ultrastrüktürel analizinde, kolinerjik terminallerin sadece küçük bir kısmının DA nöronları üzerinde sonlandığını (Garzon, Vaughan et al. 1999), fizyolojik deneyler de VTA DA nöronlarına çok az sayıda kolinerjik girdi olduğunu işaret etmektedir (Fiorillo and Williams 2000). Laterodorsal tegmental ve pedinkülopontin çekirdeklerdeki kolinerjik nöronların büyük çoğunluğu VTA'daki GABA nöronlarına projekte olur (Garzon, Vaughan et al. 1999). Bu nedenle VTA'a bir kaç saat süreyle in-vivo kolinesteraz uygulanması ile NAcc'de oluşturulan DA düzey artışına, GABA nöronları üzerindeki nAChRs desensitizasyonunun neden olduğu söylenebilir.

GABAerjik ileti, kişinin bir sigara içmesiyle aynı düzeydeki nikotin uygulaması ile modifiye edilebilmektedir. Nikotin uygulamasına yanıt olarak GABA iletiminin depresyonu dakikalarca sürerken (Mansvelder and McGehee 2002), nikotininle uyarılmış eksitator iletimin uyardığı LTP saatlerce hatta daha uzun devam eder (Mansvelder and McGehee 2000). GABAerjik iletimin azalmasının DA nöronlarını depolarize etmesi gibi LTP indüksiyonuna yardımcı olmasında muhtemeldir. Sonuc olarak kısa süreli nikotine maruziyet mezolimbik ödül sisteminde süregelen değişiklikler oluşturmak için yeterli görünmektedir

2.4.7 Nikotin duyarlılığında gelişimsel değişiklikler

Doğumdan sonraki 10-14. günlerde kemrigenlerden elde edilen beyin kesitleri kullanılarak yapılan çalışmalarda gelişim sırasında nAChR alt tiplerinin

ekspresyonunda dramatik değişiklikler meydana geldiği görölmüştür; bu durumun fizyolojik sonuçlarını yorumlamak oldukça karmaşık görünmektedir (Zoli, Le Novere et al. 1995; Broide and Leslie 1999). Sinapsların nikotin hassasiyetini genç ve yetişkin hayvanlarda karşılaştırmak önemli ve ilginç sonuçlar verebilir. Son çalışmalar, nikotine davranışsal yanıtlarda adölesan ve yetişkin sıçanlarda dramatik farklar olduğunu göstermektedir (Faraday, Elliott et al. 2001). İlaveten insan adölesanlarda nikotin bağımlılık bulguları çok az sayıda sigara içmekle ortaya çıkmaktadır (DiFranza, Rigotti et al. 2000). İlk semptomlar günlük düzenli kullanım öncesi tesadüfi kullanma sırasında ortaya çıkar. Bu davranışsal değişiklikler nikotin tek bir dozuyla oluşan sinaptik aktivitedeki süregen değişimleriyle ilgili gözlemleri destekler (Hamid, Dawe et al. 1997; Vanderschuren, Schoffemeer et al. 1999) . DA ödöl sisteminde nikotin aktive ettiği sinaptik mekanizmaların nikotin bağımlılığının ilk basamaklarının temelinde yer alıyor olması muhtemeldir.

Nöronal plastisite üzerine nAChRlerinin dramatik etkisi, nikotin prenatal, postnatal ya da adölesan gelişim sırasında uygulamasının etkileri ile ortaya konmuştur. Nikotin kolinerjik, dopaminerjik, serotonerjik ve adrenerjik sistemler gibi test edilen neredeyse her sistemde nöronal morfoloji, sağ kalım ve gen ekspresyonunu değiştirmiştir (Slotkin 2002).

2.5 Cinsiyet farklılıkları

Erkekler ve dişiler farklıdır. Bu farklılıklar üreme fonksiyonlarının dışında da gözlenmekte olup beynin yapısal organizasyonuna etki ederek kognitif fonksiyonlara ve davranışları şekillendirmektedir. Genetik cinsiyet, gonadal cinsiyeti belirlemekte ve çevre ile de etkileşerek fenotipik cinsiyeti oluşturmaktadır. Cinsiyet hormonları embriyonik, prenatal, pubertal ve erişkin yaşam dönemlerinde farklı etkiler gösterir. Beyin fonksiyonlarıyla ilişkili olan

çeşitli parametrelerde cinsiyet farklılıklarının etkisi görülmektedir. Bunlar arasında ödül sisteminin cevapları, farmakolojik ajanlara ve bağımlılık oluşturan maddelere karşı oluşan duyarlılık, metabolik aktivite ve bilişsel süreçler sayılabilir. Bahsedilen cinsel dimorfik özellikler beyin yapı ve fonksiyonuna ve dolayısıyla davranışa yansımaktadır (Pogun 2001)

2.5.1 Bağımlılıkta cinsiyet farklılıkları

Ödül sistemleri ve dopaminerjik nörotransmisyon hem bağımlılığa, hem de öğrenme süreçlerine aracılık eder. Merkezi dopaminerjik transmisyonunda cinsiyet farklılıkları görülmektedir (Dluzen and Ramirez 1990). Bağımlılık oluşturan maddelerin etkilerinde erkek ve dişi farklılıkları bulunmaktadır ve dolayısıyla ödül sistemlerinde oluşan cinsiyet farklılıkları bağımlılık davranışındaki erkek ve kadın farklılıklarının altında yatan en önemli faktördür. Yaşlı ve genç dişi sıçanlar erkeklere göre yüksek değerlerde striatal dopamin ve homovanilik asit değerlerine sahiptir ve yaşlanma ile homovanilik asit ve dopamin değerleri erkeklerde azalır iken bu durum dişilerde gözlenmemiştir (Dorce and Palermo-Neto 1994).

Estrojen siklusu sırasında ovaryum hormonlarındaki dalgalanma; davranışın ve psikomotor stimulan maddelerin nörokimyasal cevaplarında değişime neden olur. Yapılan bir araştırmada dişi sıçanların diestrus dönemlerine göre proestrus ve estrus dönemlerinde daha yüksek ekstraselüler striatal dopamin seviyelerine sahip olduğu ancak bu etkinin kastre edilmiş olan erkeklerde görülmediği belirtilmiştir. Bahsedilen bulgular endojen ovaryum hormonlarının sıçanlardaki ekstraselüler striatal dopamin konsantrasyonlarını modüle ettiğine işaret etmektedir (Becker 1994). Sonuç olarak; sinaptik aralıktaki dopamin seviyelerinde artışa neden olan nikotin gibi psikostimulan

maddelerin pekiştirici etkilerine karşı dişilerin erkeklere göre daha duyarlı olduğu görülmektedir (Becker and Jarvis 1996)

Sıçanda sağ ve sol beyin, pekiştirici özellikteki lateral hipotalamik stimülasyona karşı farklı duyarlılığa sahiptir. Bu tip bir durumun oluşuma nedeninin ise dopaminerjik nigrostriatal fonksiyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Pekiştirici mekanizmaların asimetrisinin, bağımlılık oluşturan maddelerin pekiştirici etkilerinden kaynaklanması olasıdır (Pogun 2001). Amfetamin, ödül için lateral hipotalamik asimetriyi potansiyelize ederken morfin bu etkiyi tersine çevirir. Kendi kendine stimülasyonun asimetri yönü cinsiyete bağlıdır. Dişilerde beyin kontralateral alanı daha duyarlı iken erkeklerde ipsilateral alan daha duyarlıdır. Lateral hipotalamusun kendi kendine stimülasyonuna en az iki sistem aracılık etmekte ve maddelerin bağımlılık özellikleriyle bu sistemlerin rölatif desteği cinsiyetlerde farklılık göstermektedir. Dopaminerjik mezolimbik sistem, erkeklerde kendi kendine stimülasyonunda etkin iken dişilerde dopaminerjik nigrostriatal sistem daha önemli rol oynar. Amfetamin ve kokain etkilerini oluşturur iken cinsiyet farklılıklarını ortadan kaldırır (Glick and Badalamenti 1986).

Cinsiyet hormonları beyinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarının gerçekleştiği hipokampus alanını etkilemektedir. Gonadal hormonlar, öğrenme ve belleği modifiye etmekte ve gözlenen farklılıkların her biri farklı adaptif cevaplar oluşturan çevresel durumlara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Sprague- Dawley sıçanlarda aktif sakınma davranışının santral dopaminerjik ve kolinerjik sistemler üzerindeki etkisinde cinsiyet farklılıkları ortaya çıkmıştır. Öğrenme denemelerinde erkek sıçanların hipokampusundaki dopamin D2 reseptörlerinde artış meydana gelirken dişi sıçanlarda aynı durum görülmemiştir (Pogun, Kanit et al. 1992). Diğer taraftan öğrenme denemelerinde asetilkolinesteraz seviyelerinin her iki cinsiyette de arttığı ve muskarinik

asetilkolin reseptörlerinin erkek sıçanların parietal korteks ve hipokampusunda arttığı belirlenmiştir (Pogun, Kanit et al. 1992). Elde edilen tüm sonuçlar; öğrenme deneyimiyle beyin biyokimyasında modifikasyonlara neden olduğu ve bu durumun erkek ve dişi sıçan beyinlerinde farklı değişimler oluşturduğunu göstermektedir.

2.5.2 Nikotin bağımlılığında cinsiyet farklılıkları

Dişi ve erkekler arasında nikotin kullanma ve tüketilen nikotin/sigara miktarı arasında farklılıklar olduğuna dair çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu durum; cinsiyetler arasında sigara kullanım davranışının farklı olduğunu gösterir. Halbreich ve arkadaşlarına (Halbreich, Petty et al. 1996) göre maddeye verilen cevaptaki cinsiyet farklılığı değişik boyutlarda değerlendirilebilir: (a) cinsiyet farklılığı önemli bir faktör olup maddenin farmakodinamik özelliklerine karşı verilen doku cevaplarını direkt olarak etkileyebilir, (b) madde farmakokinetiğindeki cinsiyet farklılıkları sistematik olarak yüksek veya düşük plazma konsantrasyonlarının oluşmasına neden olabilir, ve/veya (c) “cinsel kimlik” ile ilişkili faktörler bulunabilir (biyopsikososyal faktörler, insanlara spesifik olup kadın ve erkeklerde sosyal olarak farklılaşarak cinsiyetteki rolleri tanımlar), ayrıca (d) şartlama cevaplarında cinsiyet farklılıkları görülebilir. Örneğin; farmakolojik olmayan uyaranlarla ve ipuçları ile sigara arasındaki asosiasyon oldukça kuvvetlidir.

Sigara kullanımının prevelansına ilişkin yapılan araştırmalarda sigara kullanımı 1960’larda erkeklerde % 53, kadınlarda % 32 iken 1960’lardan 80’li yıllara gidildikçe sigara kullanım prevelansının erkeklerde düştüğü ancak kadınlarda arttığı belirlenmiştir (Fiore, Jorenby et al. 1992). Ayrıca geç kızlarda sigaraya başlama yaşının düşmesi sonucunda zaman içinde kadınların sigarayı bırakma olasılığı azalmaktadır (Giovino, Henningfield et al. 1995). Kadınlar,

erkeklere göre sigarayı bırakmada daha az başarı göstermektedir. Sigarayı bırakma durumunda oluşan cinsiyet farklılığının nedenleri arasında kadınların kilo alma sorunları, negatif duygudurum bozukluklarıyla kadınların daha fazla karşılaşması ve kadınların sigarayı bırakmak için daha fazla sosyal desteğe gereksinim duymaları sıralanabilir (Gilpin, Lee et al. 1994). Sigara bırakmada görülen cinsiyet farklılıklarının diğer bir nedeni ise nikotinin pekiştirici etkisinde aranabilir (Perkins, Benowitz et al. 1996). Erkeklerle oranla kadınlar nikotinik olmayan faktörleri daha fazla pekiştirmektedirler.

Kadınlar daha hafif, daha az sigara tüketmelerine ve daha az sigara dumanı solumalarına rağmen daha zor sigarayı bırakmaktadırlar. Farmakoterapi ile sigara bırakma denemelerinden elde edilen verilerde sigara bırakma süresince kadınların daha fazla depresyona girdiği belirtilmiştir. Kemirgenlerde de kendi kendine nikotin uygulama çalışmalarında da cinsiyet farklılıkları gözlenmektedir. Dişi sıçanlar daha çabuk bağımlı olmakta ve yoksunluk döneminden sonra nikotin ile karşılaştıklarında nüks daha kolay ortaya çıkmaktadır (Donny, Bigelow et al. 2004). Diğer yandan, bir hafta boyunca sürdürülen bir insan çalışmasında deneklere sigara bıraktırma amacıyla nikotin ve plasebo burun speyleri verilmiştir ve önemli bir cinsiyet farkı saptanmıştır: erkeklerin bir gün içerisinde nikotin spreyini, plaseboya oranla iki kat daha fazla kullandığı tesbit edilmiş, oysa bu durum kadınlarda gözlenmemiştir. Diğer bir deyişle erkekler için sigara bırakma programlarında nikotin replasmanı önemli olduğu halde kadınlarda nikotin replasmanı plaseboya göre önemli bir fark oluşturmamıştır (Perkins, Benowitz et al. 1996).

Kadın sigara kullanıcılarında erkeklere oranla rölapsın daha fazla olduğu belirtilmektedir. Yapılan araştırmalarda bu durumun nedeninin doğrudan nikotin ile ilişkili olmayan faktörlere bağlı olabileceği olası görülmektedir. Örneğin kadınlar sigarayı bıraktıklarında ellerinde tutacak herhangi bir şey bulunmaması

ve bu elleriyle sigarayı tutmak istemelerinin önemi vurgulanmıştır. Başka bir çalışmada ise sigara kullanan bireylerden alınan bilgilere göre el ve dudak aktivitesinin erkeklere göre kadınlarda daha önemli olduğu ortaya çıkarılmıştır ve bu durumun bir davranış biçimi olup sigarayı bırakmada zorlukların yaşanmasının nedenlerinden biri olduğu belirlenmiştir (Royce, 1997). Ayrıca kadınlar; erkeklere göre sigarayı bırakma sırasında daha fazla sosyal baskı hissettiklerini belirtmişlerdir. Bu durum kadın ve erkek kullanıcılarıdaki kullanım patterni üzerindeki sosyal faktörlerin etkileşimini vurgulamaktadır (Taylor, Shakoor et al. 1995).

Anksiyete, depresyon, iritabilete gibi negatif duygu durumları genellikle menstrüel faz öncesinde kadınlarda görülür. Bu semptomlar ayrıca tütün yoksunluğunda da görülmektedir. Kadınlar bu siklus fazı süresince daha fazla sigara içmekte ve bahsedilen semptomları bu yolla iyileştirmektedirler. Sigarayı bırakmak isteyen kadınlardaki yoksunluk sendromları üzerine menstrüel siklus fazının etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada kadınlar arasında ilk hafta süresince yoksunlukta görülen semptomlar foliküler fazda bırakmak isteyen kadınlara oranla daha fazla görülmektedir (Saal, Dong et al. 2003). Bu gözlem ovaryum hormon düzeyleri ile sigara bağımlılığı ve yoksunluk belirtileri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır.

Östrojen ve progesteron reseptörleri genellikle dopamince zengin olan alanlarda bulunmaktadır. Bahsedilen hormonların dalgalanmaları veya deneysel olarak gerçekleştirilen overektomi sonrasında dopamin aktivitesinde veya dopamin ilişkili davranışlarda değişim meydana gelir (McDermott, Kreutzberg et al. 1994) Östrojen; dopamin aktivitesini ve dopamin ilişkili davranışları arttırmaktadır. Kanıt ve arkadaşları, (Kanyt et al., 1999) cinsiyet ve ovaryum hormonlarının, nikotinik lokomotor etkileri üzerine nasıl bir etkileşim gösterdiğini araştırmıştır. Çalışmada dişi sıçanlar, erkeklere oranla daha yüksek

lokomosyon sergilemiştir. Akut nikotin'in deprese edici etkileri, erkeklere göre dişilerde daha fazla görülmektedir. Diğer yandan 21 gün boyunca her gün verilen kronik nikotin, lokomotor aktiviteyi dişilerde dereceli olarak daha fazla artmıştır. Aynı çalışmada ovariektomi yapılan ve hormon replasmanı uygulanan sıçanlarda elde edilen sonuçlar dişi hormonlarının nikotinin mezolimbik dopaminerjik yollar üzerinden lokomotor aktivasyonuna aracılık ettiğini göstermektedir.

Nikotin metabolizmasında da cinsiyet farklılığı bulunmaktadır. Dişi ve erkek sıçanlarda üriner nikotin metabolit profilinde farklılıklar ortaya çıkar. Ayrıca sigara kullanımının biyokimyasal belirleyicileri olan kan ve tükürük kotinin değerleri kadınlarda daha düşük çıkmaktadır. Kadınlarda, sigaraya karşı daha az bağımlılık oluşmasına rağmen daha büyük sağlık sorunlarıyla karşılaşmaktadırlar (Algan, Furedy et al. 1997). Sigaradan alınan nikotinin kadınlarda daha az sigara içme davranışı oluşturduğu ve erkeklerin nikotini ayırt etmeye karşı daha duyarlı olduğu bilinmektedir (Perkins, Grobe et al. 1995).

Nörotransmitter sistemlerdeki cinsiyet farklılığı kronik nikotin uygulamasının nikotinin biyolojik substratı olan nAChRleri ile olan ilişkisine yansımaktadır. Erkek sıçanlarda kronik nikotin uygulaması sonrasında nAChRinin sayısı artar ancak bu konuda da seksüel dimorfizm bulunmaktadır. Dişi sıçanlarda bazal koşullarda nAChR'leri erkeklerden daha yüksek oranda bulunmaktadır, ancak 15 gün boyunca subkutan olarak 0,6 mg /kg nikotin uygulaması sonrasında erkek sıçanlarda [³H]-cytisine bağlanması ile değerlendirilen reseptör sayısında artırma görüldüğü halde bu durum dişi sıçanlarda gözlenmemiştir(Koşlu et al.,1997). Bu veriler, beyindeki farmakolojik cevapların ve nörokimyasal özelliklerdeki cinsiyet farklılıklarının önemine işaret eder.

Bağımlılık patternlerinde de cinsiyet farklılıkları bulunmaktadır. sigara bırakma programlarından elde edilen sübjektif değeriendirme sonuçlarına göre kadınlar sigarayı streslerini azaltmak adına kullandıklarını, erkekler ise nikotinin stimölasyon etkilerinden yararlandıklarını ifade etmektedirler (Spielberg 1986). Oysa yapılan psikofizyolojik çalışmaları bunun aksini ortaya koymaktadır (Algan et al., 1997) diğeri bir deyişle sübjektif izlenimler ile biyolojik yanıtlar örtüşmemektedir.

2.6 Nikotin bağımlılığı ve adölesans

Adölesan sigara kullanıcılarının günden güne artması toplumsal sağılık sorunları arasında en önemli risklerden birini oluşturmaktadır. Gençler arasında sigara kullanımı hem kendi tercihleri doğrultusunda gerçekleşmekte hem de hamilelik döneminde sigara kullanan anneden kaynaklı olarak oluşmaktadır. Adölesan sigara kullanımı ile daha sonra oluşan uzun süreli tütün bağımlılığı arasında kuvvetli bir korelasyon bulunmaktadır. Bu konuyla ilgili olarak elde edilenbilgilere göre erişkin ve adölesan beyni arasındaki temel farklılıkların gençlerin sigara kullanımına karşı olan duyarlılıklarına da yansıdığını ve farklılıkların bulunduğunu düşündürmektedir. Pek çok adölesan tütün kullanıcısı, ara sıra tütün kullanımına başlamanın ardından günler ve haftalar gibi kısa bir zaman diliminde bağımlılık davranışını geliştirmeye başlamaktadırlar.

Sıçanlarda yapılan çalışmaları nikotinin nöroteratojen özelliklerini doğrulamakta olup nikotinin gelişmekte olan beyin hücrelerine zarar verdiğini, hücre farklılaşmasını etkileyerek sinaptik matürasyonu etkilemekte olduğunu ve sinaptik aktivitede kalıcı değıişimlere neden olarak hücre sinyallesini değııştirdiğini ortaya koymaktadır (Levin, Connors et al. 1998). Bu durumun tersine erişkin sıçanlarda yapılan çalışmaları ise nikotin kısa dönem kognitif

performansı desteklemekte (Wilson, Langley et al. 1995), olgunlaşmış olan hücrelerdeki nikotinik kolinerjik reseptörleri uyararak hücre ölümünü azaltmakta olduğu bildirilmektedir (Kaneko, Maeda et al. 1997). Ortaya çıkarılan bu farklılığın nedeni olasılıkla farklı gelişim dönemlerinin özelliklerine bağlıdır ve nörotrofik faktörlerin nikotin tarafından uyarılmasını içerir.

Beyin gelişimi sırasında meydana gelen hücre oluşumu, apoptozis, sinpatogenez ve sinaptik aktivitenin programlanması adölesan dönemde de devam etmektedir (Bellivier, Laplanche et al. 1997). Psikoaktif maddelerle yapılan çalışmalarda adölesan beyninin erişkin beynine göre bu maddelere karşı farklı cevap verdiği tespit edilmiştir (Slotkin, Pinkerton et al. 2001). Örneğin etanol adölesanlar ve erişkinlerde farklı davranışsal değişimlere neden olmaktadır (Markwiese, Acheson et al. 1998). Bu bilgilerden yola çıkarak Slotkin ve arkadaşlarının (2002) yapmış oldukları bir çalışmada dişi ve erkek adölesanlardaki nikotin seviyelerinin, gebe dişi sıçanlardakine oranla oldukça düşük olduğunu belirlemiştir (Slotkin 2002). Bu durum nikotin kullanım isteğinde yaş, cinsiyet ve/veya hormonal durumların oldukça büyük bir rol oynadığını ifade etmektedir. Kronik nikotin uygulamalarında çalışma modelinin oluşturulmasında ve alınan sonuçların yorumlanmasında yaş ve cinsiyet önemli bir parametre olarak dikkate alınmalıdır. Örneğin yaşlanan sıçanlarda davranışsal cevapların ortaya çıkmasında nikotin çok az etki gösterebilmektedir.

Adölesanlar, erişkinlere göre nikotine verdikleri cevaplar ve nikotine maruz kaldıktan sonra meydana gelen davranışsal ve hücresel değişiklikler (yoksunluk dönemi ile beraber), ayrıca bu durumların bölgesel ve cinsiyet etkileri ilişkilerinde farklılıklar sergilemektedirler. Adölesan nikotin uygulamalarında DNA içeriği incelemelerinden elde edilen sonuçlara göre serebral korteks, orta beyin ve hipokampustaki toplam hücre sayısında azalma meydana gelmektedir (Trauth, Seidler et al. 2000). Dişilerin hipokampusundaki

hücrelerin membran proteinlerinin konsantrasyonunda progresif bir artış meydana gelmiştir (Slotkin, Pinkerton et al. 2001). Sonuç olarak yapılan denemelerden elde edilen verilere göre adölesan dönemde beyin gelişiminin nikotine karşı oldukça duyarlı olduğu gösterilmektedir. Gen ekspresyonu, hücre sayısı ve hücre büyüklüğünde görülen değişimler adölesansda gebelik dönemindeki nikotin uygulamalarında görülen değişimlere oranla daha az miktarda meydana gelmektedir. Çalışmadan elde edilen ilginç verilerden biri ise; dişi hipokampusunda belirlenen değişimlerdir. Hipokampal prekürsör hücreler aktif sigara kullanıcısının konsantrasyonlarına uygun dozlardaki nikotine maruz kaldığında apoptozise girmektedir (Berger, Gage et al. 1998). Aynı durum adölesans süresince ve sonrasında nikotine maruz kalındığında da hücre kaybı veya ölümü ile sonuçlanmaktadır. Östrojen, hipokampal hücrelerin proliferasyonunu erişkin beyinlerde regüle etmektedir (Tanapat, Hastings et al. 1999). Bu sonuçlar, nikotinin hipokampal hücre gelişimi üzerindeki etkilerinde cinsiyet ve adölesans sırasındaki hormonal durumun etkileşimine dikkat çekmektedir.

Adölesan dönem süresince ve sonrasında sıçanlarda [³H]-Cytisine'in nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanmasının güçlü bir şekilde arttığı belirlenmiştir. Nikotin uygulaması yapıldığında ise orta beyin, serebral korteks ve hipokampustaki nACh reseptörlerine bağlanmada eşit miktarda artış meydana gelmiştir. Uygulamanın bitmesinden üç gün sonra değerler kontrol grubuyla karşılaştırıldığı zaman oldukça yüksek çıkmış ve arasında bölgesel farklılıklara rastlanmıştır:serebral korteks > orta beyin > hipokampus. Cinsiyet farkı bu dönemde gözlenmemiştir, ancak uygulamanın sona ermesinden 25 gün sonra nACh reseptör “up-regülasyonu” sadece erkeklerde gözlenmiştir (Slotkin, Pinkerton et al. 2001).

Adölesanlarda nikotinin kalıcı etkilerinin araştırılması amacıyla adölesan dönemde nikotin uygulamasına maruz bırakılan sıçanlar erişkinlik dönemine kadar yetiştirilmiş ve bu dönemde de sıçanlara nikotin uygulanmıştır. Erişkinliğe ulaşan sıçanlarda nikotin uygulaması sonucunda nikotinik asetilkolin reseptörlerinde bağlanmada artış meydana gelmiş ve reseptör bağlanma alanlarının lokalizasyonlarında değişimler belirlenmiştir. Bu bulgulara göre, adölesan dönemde nikotin uygulaması süresince farklı bölgesel hiyerarşiler ortaya çıkmaktadır. Orta beyin ve hipokampusda uygulama bitiminden 4 hafta sonra reseptör sayısındaki artış normale dönerken serebral korteksteki değerlerin yüksek kaldığı görülmüştür (Slotkin, Pinkerton et al. 2001). Başka bir çalışmada ise adölesan nikotin uygulamasının etkileri tüm beyin bölgelerinde uygulamadan bir ay sonra bile halen belirgin biçimde devam etmektedir. Oysa daha önceden yapılan çalışmalarda erişkinlerde nikotin etkilerinin uygulamadan hemen sonra, bir hafta içinde hızlı bir şekilde sonlandığı belirlenmiştir (Pauly, Marks et al. 1996).

Adölesan nikotin uygulaması ile nikotinik asetilkolin reseptörlerinin “up-regülasyonu” erişkinlere göre daha farklı alanlarda ve daha farklı temporal patternlerde gerçekleşmekte ve nikotin etkileri adölesanlarda erişkinlere oranla daha düşük dozlarda ortaya çıkmaktadır. Ayrıca adölesanlarda nikotine verilen cevaplarda cinsiyet farklılığı bulunmaktadır. Erkek sıçanlarda dişilere oranla reseptör “up-regülasyon”u daha uzun sürmekte, diğer yandan dişilerin ortalama aldıkları nikotin dozları daha yüksek bulunmaktadır. Tüm bulgular birlikte değerlendirildiğinde adölesanların nikotine karşı verdikleri cevaplarda cinsiyet farklılığı bulunduğu, erkeklerde kalıcı nikotinik asetilkolin reseptör up-regülasyonu ve dişilerde hipokampal hücre hasarı görüldüğü (Slotkin,2000) söylenebilir. Adölesan sigara kullanıcılarında meydana gelen hızlı ve kalıcı nikotin bağımlılığı (DiFranza, Rigotti et al. 2000) nikotinik asetilkolin reseptörlerinde meydana gelen değişimlerle ilişkilendirilebilmektedir.

Nikotinik reseptörler direkt olarak kolinerjik nörotransmisyonunda ve periadölesan dönemde de devam eden santral kolinerjik sistemlerin biyokimyasal, fonksiyonel matürasyonunda yer alırlar (Zahalka, Seidler et al. 1992). Yapılan bir çalışmada adölesan nikotin uygulama etkilerinin kolinerjik sinaptik markerlar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Ayrıca bu çalışmada iki biyokimyasal parametre kullanılmıştır: kolinerjik innervasyonun yoğunluğunu belirlemede asetilkolini sentezleyen CAT ve yüksek affiniteli presinaptik kolin taşıyıcılarını işaretleyen [^3H]-hemicholinium-3 (Zahalka, Seidler et al. 1992). Elde edilen sonuçlar ise iki boyutta değerlendirilmektedir. Bunlardan birincisi, orta beyin ödül ve bağımlılık nöral bölgelerinde adölesanlarda erişkinlere göre daha fazla nikotinik asetilkolin reseptör up-regülasyonu meydana gelmesi, ikincisi deCAT içeren nöronlardan girdilerin (input) azalması veya kaybolmasıdır. Bu durum yaşlanma ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda görülmektedir.

Nikotinik kolinerjik reseptörler ayrıca katekolaminler, norepinefrin ve dopamin salınımını kontrol etmektedir (Yin and French 2000) ve bundan dolayı da adölesan nikotin uygulamaları merkezi sinir sisteminin (MSS) diğer iletilici sistemlerini de etkilemektedir. MSS katekolamin sistemleri kardiyovasküler sistem ve bağımlılıkla yakından ilişkilidir. Her iki sistem de adölesan sigara kullanıcılarında veya adölesan nikotin uygulamalarına maruz kalan hayvanlarda (Trauth, Seidler et al. 2000) etkilenmektedir. Slotkin ve arkadaşlarının (2002) yapmış oldukları çalışmada kardiyovasküler kontrol, bağımlılık, öğrenme, bellek ve kognitif performansı içeren altı beyin bölgesinde norepinefrin ve dopamin düzeylerini ve aktivitelerini araştırmışlardır. Seçilen bu alanlarda daha önceden yapılmış olan çalışmalarda hücre hasarı, nikotinik reseptör ekspresyonunda kalıcı değişimler ve kolinerjik sinaptik fonksiyonlarda değişimler tespit edilmiştir (Trauth, Seidler et al. 2000). Adölesan nikotin uygulamasının orta beyinde ve hipokampusda katekolaminlerjik sistemler üzerine etkisi, bölgesel ve

cinsel dimorfik farklar içermekte olup nikotinik reseptörlerle ilişkili etkilerden, kolinerjik fonksiyondan ve hücre hasar belirleyicilerinden elde edilen bulgularla desteklenmektedir (Trauth, Seidler et al. 2000). Önemli olan başka bir konu ise meydana gelen bu etkilerin ve değişimlerin ne erişkin nikotin uygulamalarında (Salminen, Seppa et al. 2000) ne de fetal nikotin uygulamasından sonra meydana gelmemesidir (Slotkin 1998). Diğer bir deyişle bu önemli etkiler adolesans nikotin tüketimine özeldir.

2.6.1 Adölenans döneminde uygulanan nikotinin davranışa etkileri

Nikotinin neden olduğu anormal hücre gelişimi ve sinaptik fonksiyonlar sonuçta davranışı ve fizyolojik performansı değiştirmektedir. Erişkinlerde veya fetal dönemde nikotinin neden olduğu davranışsal değişimlerin özellikleri iyi tanımlanmış olmasına rağmen (Slotkin 1998), bu konu adolesanlarda tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan bir araştırmada farede adolesan dönemde nikotin uygulamasının ardından erişkinlikte ödül kökenli davranışlardaki bozukluklar incelenmiştir (Kelley and Middaugh 1999). Diğer bir çalışmada ise adolesan dönemde nikotin uygulanan sıçanlarda, erişkin nikotin alan sıçanlara uygulanmakta olan testler yapılmıştır. Bu testler açık alanda performans (Booze, Welch et al. 1999) ve pasif sakınma (Zarrindast, Sadegh et al. 1996) testleridir.

Prenatal 30-47.5 günler arasında nikotin alan dişilerde açık alan aktivitesindeki bozulmalar iki etapta ortaya çıkmıştır (Trauth, Seidler et al. 2000). Uygulama süresi boyunca temizlenme (grooming) davranışında belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Postnatal 60. günde ise (nikotin uygulamasının bitiminden 2 hafta sonra) lokomotor aktivitede azalma oluşmuştur. Erkek adolesan sıçanlar ise açık alan performansında bazı yetersizlikler sergilemişlerdir. Açık alan performans testlerinden elde edilen sonuçların tersine

adölesan nikotin uygulamasında genellikle uygulama sonrası dönemde pasif sakınmada bellek performansı artmıştır. Bu sonuç erkeklerde daha belirgin olup, dişilerde gözlenmemiştir.

Davranış çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre adölesan nikotin uygulaması sonucunda meydana gelen biyokimyasal değişimler hem deneme süresince hem de uygulama sonrasında gözlenebilmektedir. Açık alan davranış denemelerinde dişilerde büyük nikotin etkilerine rastlanmıştır. Bunun nedeninin hipokampusdaki gen ekspresyonundaki değişimler ve hücre hasarı olması olası görülmektedir.

Adölesan nikotin uygulamasının etkilerinin erkek sıçanlarda açık alan aktivitesinde görülmemesi kısmen şaşırtıcıdır çünkü nikotinik reseptör sayısındaki artış adölesan erkeklerde dişilere göre daha uzun süre devam etmektedir (Trauth, Seidler et al. 1999). Gerçekten de erkek adölesan sıçanlarda dişi sıçanlara benzer biçimde nikotin uygulamasından sonra hipokampal kolinerjik sistemdebaskılanma görülmüştür (Trauth, Seidler et al. 2000). Erkek sıçanlar lokomotor aktivitede nikotinin neden olduğu değişimlere karşı daha az duyarlılık göstermektedir ve bazal koşullar altında farklılık sergilememektedir ancak akut nikotine maruz kaldıklarında lokomotor aktivitede değişimler meydana gelmektedir. Bundan dolayı erkeklerdeki adölesan nikotin uygulamasının etkilerinin ortaya çıkarılmasında öğrenme veya entegre cevap gibi durumlara gereksinim vardır (Kelley and Middaugh 1999). Açık alan aktivitesinden farklı olarak erkeklerde adölesan nikotin uygulaması genellikle pasif sakınmada bellek performansına etkisini etkili biçimde göstermiştir. Etkinin temporal patterni ve nikotin uygulaması süresince minimal gelişmenin görülmesi oldukça ilginç bir veridir ancak bu etki uygulama sonrasındaki periyotta daha yoğun olarak görülmektedir. Demek ki erkeklerde adölesans döneminde uygulanan nikotinin etkileri oldukça uzun bir zaman sonra ortaya

çıkmaktadır. Ayrıca artan kognitif performansın adölesan nikotin uygulamasından sonraki haftalarda ve aylarda devam edebileceği belirtilmektedir (Levin, Connors et al. 1998). Erişkinlerde ise, adölesanlardan farklı olarak, pasif sakınmayı da içeren olan kognitif fonksiyonların nikotin uygulamalarıyla geliştiğini ancak en yüksek etkilerin uygulama sırasında alındığı, yani akut etkiler olduğu tespit edilmiştir (Popke, Mayorga et al. 2000). Kronik nikotin uygulamasına maruz kalan erişkinlerden alınan hipokampal beyin kesitlerinde uzun dönem potensiasyonun kolaylaştırıldığı görülmektedir ve sonuç olarak ta öğrenme ve bellekte gelişmeler oluşmaktadır (Hamid, Dawe et al. 1997). Ancak nikotin hem desensitizasyon hem de stimülasyon ile hipokampal öğrenmeyi geliştirmektedir (Fujii, Jia et al. 2000). Bu bağlamda adölesan beyinleri erişkinlerden farklıdır (Trauth, Seidler et al. 1999). Adölesan beyinlerinin reseptör ekspresyonu ve nöral aktivitesinin farklı patternlere sahip olması nedeniyle adölesanlarda nikotinik etki ile farklı davranışsal sonuçlar elde edilecektir. Ayrıca, adölesan nikotin uygulaması sonucunda meydana gelen yapısal değişimlere (hücre kaybı veya hücre büyüklüğünde ki değişimler) bağlı olarak da davranış farklılaşabilmektedir (Trauth, Seidler et al. 1999). Bu bağlamda yine cinsiyet farklılıkları olduğu dikkat çeker: Dişi hipokampusunda adölesan nikotin uygulaması ile meydana gelen gecikmiş hücre hasarı nedeniyle pasif sakınma ile ilişkili bellek performansında bozulma olduğu halde, erkeklerde aynı bölgede hasar oluşmaz ve performans etkilenmez.

2.7 Nikotin ve dikkat

Nikotin ve agonistlerinin öğrenme ve bellekle ilgili olarak etkisi geniş biçimde araştırılmış olmasına rağmen nikotinin dikkat üzerine etkileri hakkında bilgilerimiz daha sınırlıdır. Ancak insan ve hayvanlar üzerine yapılan çalışmalarda nikotinin, nikotinik reseptörleri uyarmasıyla dikkat fonksiyonları üzerinde gelişme sağlandığı tespit edilmiştir (Rezvani and Levin 2001).

Yapılan hayvan çalışmalarında nikotinin kognitif fonksiyonlar ve bellek üzerine etkisine oranla dikkat üzerindeki etkilerinin daha belirgin olduğu, hatta bazı öğrenme ve bellek çalışmalarında ortaya çıkan olumlu sonuçların dikkat artışına bağlı olarak açıklanabileceği yönünde son yıllarda kanıtlar sağlanmıştır (Stolerman and Olufsen 2000). Operant yöntemle bir sinyalin farkedilmesi şeklinde tasarlanan dikkat değerlendirme testinde düşük dozlarda uygulanan nikotin (0.0125- 0.05 mg/kg) doğru cevap oranlarını arttırmıştır; nikotinle oluşan etki dikkatteki iyileşmeyi yansıtmaktadır (Levin, Rezvani et al. 2003). Aynı deney prosedüründe, nikotinic antagonist olan mekamilamin uygulaması dikkati azaltarak doğru seçim yapmaya bağlı olan performans değerlerini düşürmektedir (Rezvani, 2002). Beş seçenekli seri reaksiyon zamanı testi (5-CSRTT) iyi tanımlanmış ve kabul edilmiş olan bir sıçan dikkat modelidir ve 30 dakikalık uygulama bölümleri süresince beş lokalizasyondan birinde randomize olarak beliren ışık sinyalinin tespit edilmesini içermektedir (Robbins 2002). Mekamilaminin dikkat ölçen bu testte sıçanlarda performansı bozduğu gösterilmiştir (Stolerman, Naylor et al. 1999). Aynı yöntemi kullanan diğer bir grup ise (Ruotsalainen, Miettinen et al. 2000) sıçanlarda mekamilamin uygulaması sonrasında sadece reaksiyon zamanında uzama olduğunu ama bu durumun doğru cevapları etkilemediğini bildirmiştir. Kognitif fonksiyonlarda mekamilamin ile oluşturulan bozulma, bu süreçlerde nöronal nikotinic kolinerjik sistemlerin rolü olduğuna işaret eder. Nikotin agonisti olan ABT-418'in de 5-CSRTT'de doğru seçim yapılan yanıtları arttırdığı gözlenmiştir (McGaughy, Decker et al. 1999).

Dikkat performansında nikotinin neden olduğu artmanın hayvan türlerinde farklı olabildiği görülmüştür. Mirza ve Bright (2001), nikotin uygulamasının Sprague-Dawley sıçanlarda 5-CSRTT dikkat performansını arttırdığını ancak aynı durumun Lister tipindeki sıçanlarda oluşmadığını göstermişlerdir (Mirza and Bright 2001) Elde edilen bulgular nikotinic reseptörler veya nöronal

sistemlerdeki türe bağlı farklılıkların kognitif fonksiyonlar için önemli olan reseptörlerin ekspresyonu bağlamında kritik rol oynadığına işaret etmektedir (Shoaib, Schindler et al. 1997)

Nikotinik analog uygulamasının da ayrıca dikkati arttırdığı belirlenmiştir. Terry et al (2002) nikotinik agonist olan SIB-1553A'nın sıçanlarda belirgin biçimde CSRTT performansını arttırdığını, ancak doğru cevapların rahatsız edici bir uyarana veya NMDA-duyarlı glutamat reseptör antagonisti dizocilpine enjeksiyonu ile azaldığını gözlemişlerdir.

Nikotin ayrıca sıçanlarda bazal önbeyin lezyonları sonucunda meydana gelen dikkat bozulmalarını (Stolerman 2000) veya septohipokampal yolak lezyonlarına bağlı dikkat sorunlarını (Levin 1993) düzeltebilmektedir. İlginç olarak, tipik antipsikotikler olan Klozapin ve Risperidon'un sıçanlarda 5-CSRTT dikkat performansında oluşturdukları bozulmalar kronik nikotin enjeksiyonları ile oratadan kaldırılabilir (Rezvani and Levin 2004).

İnsan çalışmalarında da nikotinin dikkat üzerindeki etkileri sigara kullanan ve kullanmayan kişiler üzerinde incelenmiştir. Sigara kullanmayan ve hiçbir dikkat bozukluğu sorunu olmayan bireylere her gün 4.5 saat boyunca 7 mg/kg/gün nikotin bandı veya plasebo uygulanmıştır. Bu uygulama sürekli performansın değerlendirildiği bir testte (CPT) unutma hatalarının sayısını belirgin biçimde azaltmıştır; eylem hatalarında farklılaşma bulunmamıştır. Ayrıca nikotin bantlarının belirgin biçimde cevap zamanının değişkenliğini azalttığı ve kompoze dikkat değerlendirilmesini arttırdığı saptanmıştır. Bu çalışma transdermal olarak verilen nikotinin, dikkat bozulması olmayan ve sigara kullanmayan bireylerdeki dikkati geliştirdiğini göstermektedir (Levin, Rezvani et al. 2003).

Ayrıca sigara kullanan bireylerdeki dikkat süreçlerine nikotinin seçici etkileri de araştırılmıştır. Dnekler testten en az 10 saat önceden itibaren sigara içmemişlerdir ve test sırasında 3 veya 6 saat içinde 21 mg trasndermal nikotin bantı takmışlardır. Bu çalışmada da nikotinin rastgele sözcük oluşturma testinde hem kontrol hem de uygulama grubundaki süreçlerin hızını arttırdığı belirlenmiştir. Araştırmacılar nikotinin temelde dikkat artışına yol açtığını göstermişlerdir (Mancuso, Warburton et al. 1999). Nikotin agonisti olan ABT-418'in dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (ADHD) olan erişkin bireylerde yararlı olduğu bilinmektedir . Nikotinin neden olduğu dikkat gelişimi MRI görüntüleme çalışmalarında kaudat, parietal korteks ve talamusda meydana gelen, aktivasyon artışı ile gösterilmiştir (Lawrence, Ross et al. 2002). Normal insanlardaki bellek testlerinde nikotinin dikkati desteklediği, ve buna anterior singulat korteks, superior frontal korteks ve superior parietal korteks gibi birçok kortikal alanda meydana gelen aktivite artışının eşlik ettiği gösterilmiştir (Kumari, Gray et al. 2003).

2.8 Nikotin bağımlılığının çalışılması için deneysel prosedürler

Bağımlılık çalışmalarında hayvan çalışmaları büyük önem taşımaktadır. Gerek kontrol gruplarının oluşturulmasındaki avantajlar, gerek çeşitli farmakolojik ajanların denenebilmesi, gerek biyodavranışsal analiz olanakları bağımlılıkta hayvan modellerinden çok yararlı veriler sağlanmasını mümkün kılar. Bir hayvanın bağımlı olduğunu söyleyebilmek için söz konusu maddenin hayvan tarafından tercih edildiğinin ve ödül etkisi oluşturduğunun gösterilmesi gerekir. Bu amaçla geliştirilmiş, genel kabul gören bazı modeller aşağıda özetlenmektedir.

2.8.1 Kendi kendine madde uygulaması (Drug self administration)

Uygun koşullar altında su ve besin gibi doğal ödülleri ve bağımlılığa neden olan maddeler pozitif pekiştirici olarak etki eder. Örneğin, aç bırakılmış olan hayvanda besinin pekiştirici etkisini incelemek için ışık uyararı ile basınca yiyecek çıkan bir levye eşleştirilir. Hayvan ışığı görünce pedala basar ve yiyeceğini alır. Bir sonraki aşamada iki levye kullanılır, birinin üzerinde ışık vardır ve yemek sadece ışık olan levyeyle basıldığında çıkar. Bir süre sonra hayvan ışık ile yiyecek levyesini eşleştirir ve bu levyeyle basma frekansı pasif levyeyle oranla artar. Bahsedilen bu koşullar altında besin pozitif pekiştirici olarak görev almaktadır. Aynı yöntem bağımlılık yapıcı maddeler için de uygulanmaktadır. İntra-venöz madde uygulama prosedüründe bir katater hayvanın juguler venine yerleştirilir. Bir programlama devresi ile hayvanın levyeyle basıp kendine araştırılmak istenen maddeden küçük miktarlarda uygulaması sağlanır. Bu nedenle yöntem kendine madde uygulaması (drug self-administration) denir (Şekil 17). Eğer hayvan kendine uyguladığı maddeden keyif alıyorsa aktif levyeyle basma frekansı artar ve hayvan pozitif pekiştirici etkiyle, giderek maddeye bağımlı hale gelir. Bağımlılık oluşturmeyen bir madde bu tür biretkei oluşturmaz, aktif levyeyle basma frekansını arttırmaz. Bu davranışsal prosedürlerde genellikle ışık veya ses gibi uyarılar pekiştirici ile eşleştirilir. Son yıllardaki araştırmalar bu tür uyarıları nötr olmadığını, hayvanın hoşuna gittiğini belirtmektedir ancak bu uyarılar kendi başına zayıf pekiştirici etkiler oluşturmaktadır ve elde edilen bulgulara göre nikotin uygulaması bahsedilen uyarıların motivasyon değerini (daha etkili pekiştirici durumuna gelmesine neden olur) arttırdığına işaret eder (Chaudhri, Caggiula et al. 2005). Uyarılar veya ipuçları Pavlov şartlaması veya asosiyatif öğrenme süreçleri ile giderek davranışlı pekiştirir. Her iki durumda da çevresel uyarı

madde arama ve madde alma davranışının sürdürülmesini kolaylaştırmaktadır ve yoksunluktan sonra madde arama davranışını tekrar ortaya çıkmasında da ol alır.

İntavenöz madde enjeksiyonunda farklı programlama protokolleri ullanılabilir. Sabit oran programı altında denek hayvanı maddeden belli dozda bir enjeksiyonu elde edebilmek amacıyla belli sayıda levyeye basmalıdır (levyeye basma, itme veya burnu ile dokunarak). Örneğin sabit oran bir ise, bir kere levyeye bastığında bir enjeksiyon alır. Bu durumdan farklı olarak progresif oran programında ise, deneğin aynı miktarda madde enjekteedebilmesi için giderek artan oranlarda levyeye basması gerekmektedir (Hodos 1961). Bu tür uygulamalarda belli bir seviyenin üzerinde artık hayvan yanıt veremez duruma gelebilir. İntravenöz kedine madde uygulama çalışmaları pek çok maddenin pozitif pekiştirici olarak insanlara benzer şekilde sıçanlarda ve maymunlarda da etkili olduğunu ortaya koymuştur. Bağımlılık oluşturmayan maddeler ise birçok çalışmada negatif sonuçlar oluşturmuştur (Balster, Grech et al. 1992). Hayvan, kendine intravenöz madde uygulamasını öğrendiği zaman maddenin etkileri başlamakta ve bağımlılıkta etken olan faktörler (stres, yoksunluk, hormonlar, v.b.) araştırılabilmektedir. Örneğin bu yolla nükse ilişkin önemli bulgular elde edilmiştir (Shalev, Grimm et al. 2002).



Şekil 17: Kendi kendine madde uygulaması

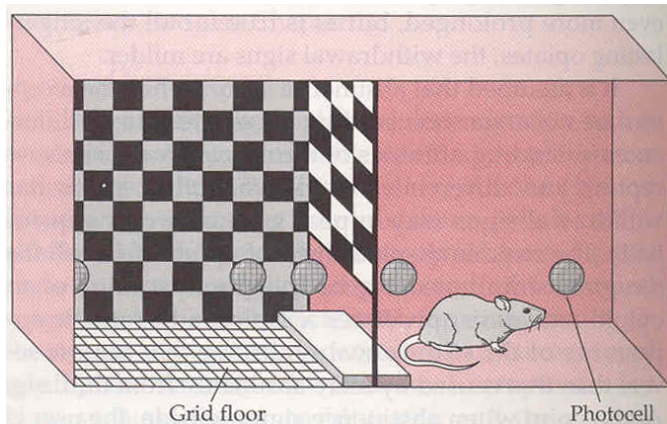
2.8.2 Şartlı yer tercihi

Şartlı yer tercihi (Conditioned Place Preference: CPP) Pavlov şartlanması esasına dayanan bir metoddur ve bağımlılık yapıcı madde etkisi ile ortam arasında kurulan etkileşimi inceler. Burada şartsız uyaran ilacın yarattığı etkidir. Şartlı uyaran ilaç uygulaması sonrası hayvanın belirli bir süre geçirmesi için bırakıldığı kutu yani seçilmiş ortamdır.

Kemirgenlerde madde (örneğin nikotin veya kokain) veya doğal (örneğin yemek) ödüllerin etkinliklerinin araştırılması amacıyla, Pavlov tipi bir öğrenme modeli olan CPP sıklıkla kullanılmaktadır(Biala and Budzynska 2006). CPP paradigması sıçanlarda nikotin ile oluşturulan yer şartlamasının oluşturulmasını, sönmesini, tekrar kazandırılmasını ve diğer ilaçlarla etkileşimini araştırmak için kullanılabilir. Ayrıca CPP laboratuvar ortamında bağımlılıkta rölaps çalışmaları

için de uygun bir modeldir (Biala and Budzynska 2006). Nikotin veya sigara ile ilişkilendirilen çevresel ipuçları nikotin alımının veya sigara içmenin sürdürülmesinde önemli bir etkidir. Bu etkileşim özellikle sigara içme arzusu ve rölaps (tekrar sigaraya başlama) boyutunda önemlidir (Brody, Mandelkern et al. 2002)

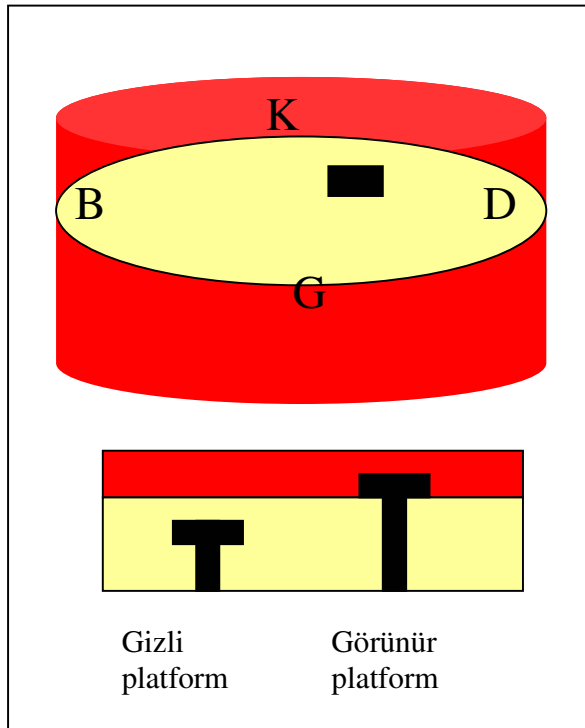
CPP düzenekleri planlanırken farklı uygulamalar yapılabilmektedir. İkili veya üçlü kutular, farklı taban yapıları kullanılabilmektedir. Temelde amaç nikotin ile bir ortamın eşleştirilmesidir. Önce deney hayvanının düzeneğin tüm bölmelerinde serbestçe dolaşmasına izin verilir. Daha sonra bölmeler arasındaki kapılar kapatılır ve serum fizyolojik enjeksiyonunu takiben hayvan bir bölme, daha sonra nikotin enjeksiyonu yapılarak diğer bölme koyulur. Yaklaşık 4-5 nikotin uygulamasından sonra hayvanın nikotin ile belli bir bölme eşleştirdiği kabul edilir ve deney sonunda tekrar tüm kapılar açılarak hayvanın serbest dolaşımına olanak sağlanır. Bu sırada her bölmede geçirilen zaman tesbit edilir. Eğer hayvan nikotin ile eşleştirilen bölmede daha fazla zaman geçiriyorsa, hayvanın bu bölmedeki duygudurumundan hoşlanmış olduğu varsayılır. Özetle CPP’de nikotinin kontekste bağlı şatlanma etkileri araştırılır. (Şekil 18)



Şekil 18: Şartlı yer tercihi düzeneği

2.8.3 Bir öğrenme ve bellek değerlendirme yöntemi olarak Morris su tankı

Morris su tankı 1981 yılında Morris tarafından geliştirilen sıçan ve diğer küçük kemiricilerde kullanılan spasyal bir yer öğrenme düzeneğidir. Morris su tankı deneyindeki spasyal öğrenme sıçanlarda bilişsel fonksiyonların test edilmesinde sıkça kullanılmaktadır (Morris 1984). Klasik şekliyle Morris su tankı deneylerinde önce hayvanlar spasyal ipuçları ile gizli bir platformun yerini öğrenirler ve bir öğrenme eğrisi elde edilir; daha sonra platform kaldırılır ve hayvanın eskiden platformun bulunduğu kadranda platformu arama davranışları kaydedilir (Şekil 19). Hayvan bu kadranda ne kadar fazla zaman geciriyorsa platforma ilişkin belleğin o kadar iyi gelişmiş olduğu düşünülür.



Şekil 19: Morris Su Tankı

İlk kez Morris tarafından geliştirilmiş olan yöntem daha sonra farklı amaçlar için modifiye edilerek kullanılmıştır. Her ne kadar Morris su tankı bağımlılık çalışmaları için geliştirilmemiş ise de, nikotin bilişsel stratejilere etkilerini ve bu bağlamda cinsiyet farklarını araştırmak için kullanılmıştır (Kanit, Taskiran et al. 1998). Bu çalışmada performansta değil, kullanılan stratejide cinsiyet farkı saptanmış ve nikotin uygulaması bu cinsel dimorfik stratejiyi değiştirmiştir; nikotin uygulanan dişi sıçanlar erkeklerin kullandığı stratejiyi kullanmaya başlamışlardır.

Morris su tankında yer bulma probleminin çözümünde farklı stratejiler kullanılabilir. Sıçanlar, yuvarlak bir tankın içinde bulunan platformu görsel ip uçları, spasyal ipuçları, yönlenme (response learning) ve tigmotaksis gibi farklı stratejiler kullanarak bulabilmektedirler. Su tankı çalışmalarında uygulanan prosedür, araştırılması amaçlanan strateji ile bağlantılı olarak modifiye edilebilmektedir. Klasik şekliyle Morris su tankı testi hayvanın sadece spasyal strateji kullanarak platformu bulmasına olanak sağlar. Oysa modifiye versiyonlarda farklı stratejiler araştırılabilmektedir. Örneğin; platform görünür durumda ise su tankına bırakılan hayvan direkt görsel ipuçlarını kullanarak platforma çıkmaktadır ancak platform suyun altında gizli ise “görsel ip ucu” stratejisi etkinliğini kaybetmekte ve hayvan navigasyon sağlamak için spasyal ip uçları gibi farklı yaklaşımları kullanarak platformu bulmaktadır. Yapılan değerlendirmeler, sıçanların bilişsel fonksiyonları ile motor kapasiteleri arasındaki farklılığı göstermekte ve uygulamadaki motivasyonel değişimleri ortaya çıkarmaktadır. Yer öğrenme deneylerinde birden fazla strateji kullanma olanağı sunulursa, hayvanın strateji tercihi yapması da izlenebilir. Örneğin, Kanit ve arkadaşları spasyal ve görsel ipuçları arasında tercihi belirleyen düzenekler geliştirmişler sıçanlarda dişilerde görsel, erkeklerde spasyal ipuçlarının problem çözmede daha etkin olduğunu kanıtlamışlardır (Kanyt, Stoleran et al. 1999). Aynı grup prepubertal dönemde strateji tercihinde

anlamlı bir cinsiyet farkı olmadığını, cinsiyet farkının püberteden sonra oluştuğunu (Kanit, Taskiran et al. 2000) ve erişkinlikte ortaya çıkan strateji tercihinin erişkinlikteki ovaryum hormonlarından etkilenmediğini ortaya koymuştur(Kanit, Yılmaz et al.200b). Son yıllarda yine Kanit ve arkadaşları su tankı düzeneğinde yönelme ve görsel ipuçları arasındaki tercihi lateralite boyutunu da içermek üzere araştırmışlar ve bu bağlamda nikotinin performansa etkisini incelemişlerdir (Kanit, Koylu et al. 2005). Bilişsel strateji; farmakolojik manüplasyonlar, yaş, hormonlar ve cinsiyet faktörlerinden etkilenmektedir. Sonuç olarak Morris su tankı, kemirgenlerde farklı stratejilerle yer öğrenme ve bellek testlerinde önemli bir konuma sahiptir.

Sunulan tez çalışmasında, nikotinin bilişsel etkilerinde dikkat boyutunun önemi değerlendirilmiş ve su tankı modeli dikkati ölçmek üzere modifiye edilmiştir. Yöntem bölümünde detayları anlatılacak olan bu modifiye yöntem özgün bir model olup bu çalışmada ilk kez uygulanmaktadır.

3. YÖNTEM

Çalışma iki ayrı bölümden oluşmaktadır. İlk bölümde doğumlardan bir ay sonra annelerinden ayrılan ve tek tek kafeslere yerleştirilen dişi ve erkek sıçanlara adölesans dönemlerinden başlamak üzere altı hafta süresince “çift şişeli serbest erişimli tercih” metodu kullanılarak kendi kendine nikotin uygulamasına başlanmıştır. Bu sürenin sonunda sıçanlara nikotin uygulaması kesilmiştir. Erişkinliğe ulaşan sıçanlar dört aylık olduklarında nikotin alım patterninin belirlenebilmesi için tekrar aynı metot kullanılarak nikotin uygulamasına devam edilmiştir. Bu sürenin sonunda sıçanlar arasındaki bireysel farklılıkları saptamak üzere Ward testi uygulanmış ve sıçanların hem adölesans, hem de erişkinlik dönemlerinde farklı üç grupta (maksimum, median, minimum) toplandığı belirlenmiştir. İkinci bölümde ise dişi ve erkek sıçanların erişkinliklerindeki son iki hafta nikotin tercihinine göre “en az” ve “en çok” nikotin tüketenleri belirlenmiş ve kontrol grupları ile birlikte tarafımızdan geliştirilmiş modifiye su tankı (Morris Water Maze) testi ile nikotinin dikkat ve cinsiyet farklılıkları üzerindeki etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir.

3.1 Deney hayvanları

Deneylerde Ege Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi’nden temin edilen Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Denemenin ilk bölümünde hayvanlar laboratuvarımızda çiftleştirilmiş ve gebe kalan sıçanlardan elde edilen yavrulardan uygun kiloya sahip 90 tanesi kullanılmıştır. Hayvanlar 20-22 °C oda sıcaklığında 12 saat ı ışık, 12 saat karanlık döngüsünde tutulmuşlardır ve şeffaf kafesler içine tek tek yerleştirilmişlerdir. Araştırmanın ikinci bölümünde ise yine aynı koşullarda

bulundurulan toplam 90 hayvandan 55 adedi su tankı çalışmasına alınmıştır. Tüm uygulamalar Ege Üniversitesi Hayvan Etik Kurulundan izin alınılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2 Kimyasallar

Nikotin, Sigma'dan (-) nikotin hidrojen tartarat tuzu olarak temin edilmiştir. Sıçanlara su/nikotin tercihi sunulurken nikotinin acı tadını maskelemek üzere sıçanların aldığı tüm sıvılar sakarin ile tatlandırılmıştır. Bu amaçla 20 mg'lık sakarin sodyum (Münir Şahin Tic. A.Ş) içeren tabletler kullanılmıştır. Nikotin ve sakarin musluk suyunda çözülerek farklı nikotin konsantrasyonları sağlanmıştır. 20 mg sakarin sodyumun bir litre musluk suyunda çözündürülmüştür. Nikotinin 10 mg/L ve 20 mg/L dozları nikotin baza göre hesaplanarak hazırlanmıştır.

3.3 Deney Prosedürü

Deneyin birinci aşamasını gerçekleştirmek amacıyla adölesan sıçanlar 30. günde annelerinden ayrılarak, kiloları tartılıp şeffaf kafeslere yerleştirilmiştir. Her kafese nikotinli ve nikotinsiz su konularak sıçanların “çift şişeli serbest erişimli tercih” motodu ile sıçanların bireysel tercihlerine göre nikotin alması sağlanmıştır. Kontrol grubundaki hayvanlara her iki şişede de sakarinli su verilmiştir. Bu aşama altı haftalık bir periyot olarak tasarlanmıştır. Her hafta belirli bir gün ve saatte hayvanlar tartılarak vücut ağırlıkları saptanmış, her iki şişeden tükettikleri sıvı miktarları ölçülmüş ve şişelerdeki solüsyonlar yenilenmiştir. Belirlenen çalışma süresinin ilk iki haftasında 10 mg/kg 3-6. haftalarda ise 20mg/kg dozunda nikotin uygulanmıştır. Sıçanlarda bir taraftan su içme şeklinde belirebilecek olası bir

lateralizasyon etkisini önlemek üzere nikotin içeren şişeler sağda ve solda olacak şekilde nikotin grubundaki hayvanlarda eşit sayıda yerleştirilmiştir. Altıncı haftanın sonunda elde edilen kilo ve solüsyon tüketim değerleri istatistiksel olarak incelenerek hayvanlar maksimum, minimum ve median olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Daha sonra ise sığanlar erişkinlik dönemine ulaşana kadar nikotin uygulamasına ara verilmiştir. Bu dönemde de çift suluk yöntemiyle sakarinli su almaları sağlanmıştır.

Uygulama	
ADÖLESANS	
1. Hafta	Sakarinli su ve 10 mg/kg nikotinli su tercihi
2. Hafta	Sakarinli su ve 10 mg/kg nikotinli su tercihi
3. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi
4. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi
5. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi
6. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi
ERİŞKİNLİK	
1. Hafta	Sakarinli su ve 10 mg/kg nikotinli su tercihi
2. Hafta	Sakarinli su ve 10 mg/kg nikotinli su tercihi
3. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi
4. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi
5. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi (3 saat)
6. Hafta	Sakarinli su ve 20 mg/kg nikotinli su tercihi (3 saat)

Tablo 4: “Çift şişeli serbest erişimli tercih” protokolü

Erken erişkinlik dönemine ulaşan hayvanlara (4 ay) aynı adölesan dönemde olduğu gibi altı haftalık nikotin uygulaması yapılmıştır. Altı haftalık uygulamanın ilk iki haftası 10 mg/kg, ikinci iki haftası 20 mg/kg

dozunda nikotin uygulanmış, son iki hafta 20 mg/kg doz uygulanmış, ayrıca nikotin ve sakarin solüsyonları su kısıtlaması yapılarak hayvanlara verilmiştir. Hayvanlara sabah bir saat, öğleden sonra iki saat olmak üzere toplamda üç saat serbest sıvı alma olanağı sağlanmıştır. Kontrol grubundaki hayvanlara aynı düzen içinde, iki şişeden de sakarinli su verilmiştir. Gerek adölesans, gerek erişkinlik dönemlerinde son iki haftalık nikotin tüketimine göre sıçanlar gruplandırılmışlardır. Erişkin hayvanların en az ve en çok nikotin tüketenleri kontrolleri ile birlikte su tankında dikkat çalışmalarına alınmıştır.

3.4Su Tankında dikkat deneyleri

3.4.1 Su Tankı Düzenegi

Silindirik tank (130 cm çapında ve 75 cm yüksekliğinde) 45 cm yüksekliğe kadar suyla doldurulmuş ve su opak, koyu sarı renkli, toksik olmayan ve suda çözünebilen bir boya ile renklendirilmiş (platformu gizlemek için) ve sıcaklık 22⁰C olacak şekilde ısıtılmıştır. İçinde ışık yanan 19 x 19 cm boyutlarındaki cam platform suyun 2 cm altına yerleştirilmiştir. Su tankının bulunduğu oda 4m x 3m boyutlarında olup gösel ipuçları içermektedir.

Denemeler bir kamera ve VCR kullanılarak kayıt edilmiş ve monitörden izlenmiştir. Kamera çıkışı, “tracker” (HVS, Image, UK) tarafından kaydedilmiş ve “HVS- Water software” kullanılarak bilgisiyarda analiz edilmiştir. Performansın değerlendirilmesinde sıçanların platforma kaçış süreleri kullanılmıştır.

3.4.2 Su tankında ışık ipuçlu dikkat deneyleri

Sunulan tez çalışmasında, öğrenme ve bellek gibi bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılan Morris su tankı testi, erkek ve dişi sıçanlardaki kronik nikotin uygulamasının dikkat üzerine etkilerini inceleyebilmek üzere modifiye edilmiştir. Işık ipuçlu Morris su tankı testi için normal platform değiştirilerek, yerine tarafımızdan geliştirilip üretilmiş olan camdan yapılmış ve içine ışık sistemi döşenmiş olan yeni bir platform yerleştirilmiştir. Dikkat denemelerine başlamadan önce hayvanların kiloları, o hafta içinde tükettikleri nikotin ve sakarin solüsyonları değerlendirilmiştir. Deney toplamda 8 gün devam etmiştir. Deney süresince her gün yapılan deneylerde sıçanlar, 15 dk aralıklı olarak, dört kez aynı noktadan tanka bırakılmış, sadece platformun yeri değiştirilmiştir. Bir gün içerisinde platform 4 farklı yere konularak spasyal öğrenme dışalanmıştır ve yedi gün boyunca sıçanların ışıklı platforma çıkmaları öğretilmiştir. Yedi gün süren öğrenme denemeleri sırasında platformun içindeki ışık sürekli olarak yanar konumda bulundurulmuştur. Denemenin ilk gününde ilk salısta hayvanlara 40 saniye platforma çıkış süresi tanılır iken diğer 3 salı ve diğer günlerdeki tüm salıslarda hayvanlara platformu bulmaları için 30 saniye verilmiştir. İlk yedi gün boyunca sürekli yanan ışığın hayvanlarda ışıkla platformun yerinin bulunabileceği bilgisinin pekiştirilebilmesinde yardımcı olacağı varsayılmıştır. Bahsedilen zaman dilimi içinde platforma çıkamayan sıçanlar ise elle alınarak ışıklı platformun üzerine konulup, 10 saniye bekledikten sonra kafeslerine bırakılmışlardır. Denemenin son gününde ise (prob deneme) sıçanlar suya bırakıldıktan hemen sonra ışık kapatılmış böylece ışığın bulunduğu yere dikkat eden sıçanların platformun yerini bulacağı düşünülmüş ve platformu bulma oranı da dikkatin göstergesi olarak kabul edilmiştir.

3.5 İstatistiksel Analiz

Çalışmanın bulguları Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalından yardım alınarak ve/veya kendi olanaklarımızla SPSS paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Farklı deneyler için kullanılan istatistiksel analiz yöntemleri “Bulgular” bölümünde detaylı olarak anlatılmaktadır. Özetle faktörlerin anlamlı etkileri ve etkileşimlerini saptamak üzere, varyans analizleri kullanılmıştır (tek yönlü, multi-faktöriyel, tekrarlı ölçümler). Grupların içindeki bireysel farklara göre olan anlamlı dağılımlar Ward yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bazı durumlarda (örneğin %50’den sapmanın anlamlılığı) t-testleri uygulanmıştır. Ayrıca nonparametrik analizler için Wilcoxon “signed ranks” ve χ^2 testleri kullanılmıştır. Farklı parametreler arasındaki korelasyonlar için Pearson korelasyon analizleri uygulanmıştır. Tüm analizlerde anlamlılık derecesi 0.05 olarak belirlenmiştir.

4 BULGULAR

4.1 Adolesans ve erişkinlik dönemlerinde sıçanların nikotin tüketimine göre gruplandırılması

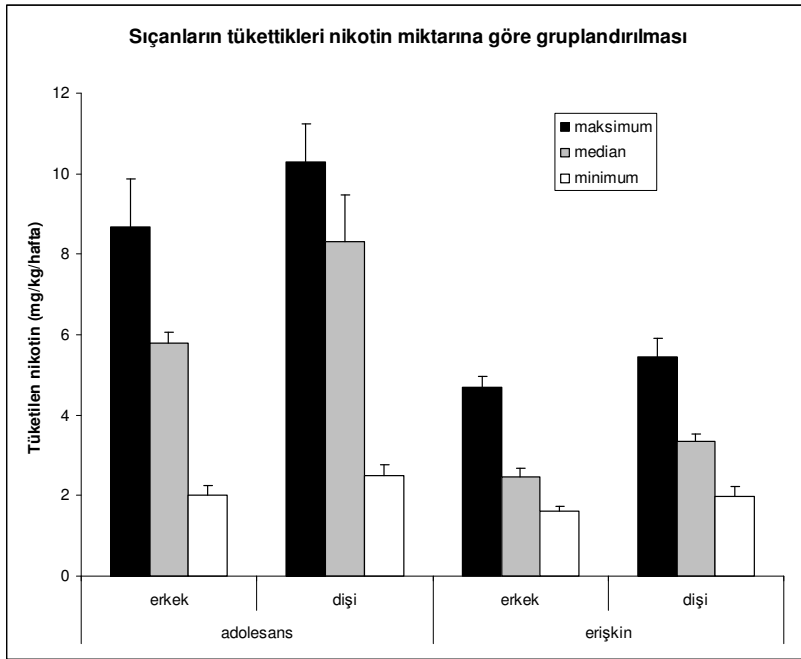
Sunulan tez çalışmasında temel amaç sıçanlara içme sularında nikotin tercihi sunulduğunda bireysel farklılıklar olup olmadığının anlaşılması olduğu için gerek adolesans, gerek erişkinlik dönemlerinde nikotin tercihi sunulan sıçanların tercih farklarının araştırılması amacıyla Ward testi uygulanmıştır. Söz konusu test, nikotin tercihinin en belirgin olarak gözlenmesinin beklendiği son iki hafta esas olarak gerçekleştirilmiştir. Ward testi sonuçlarına göre, her iki dönemde de (adolesans ve erişkinlik) sıçanların 3 grupta toplandığı belirlenmiştir: Maksimum, Median ve Minimum. Bu gruplandırmaya ilişkin hayvan sayıları Tablo 4 'de verilmiştir. Erişkinlik dönemlerinde tükettikleri nikotin miktarlarına göre gruplandırılmış olan sıçanların adolesans dönemindeki tercihleri ise % olarak Tablo 5 'de belirtilmiştir. Bu tabloda erişkinliklerinde maksimum, median veya minimum nikotin tüketen sıçanların % kaçının adolesans dönemlerinde hangi grupta yer almış oldukları ifade edilmektedir. Şekil 20 'de ise her iki yaş döneminde tüketilen nikotin miktarları g/kg olarak haftalık ortalama değerler olarak verilmektedir. Şekil 21'de gerek adolesans, gerek erişkinlik dönemlerindeki nikotin tercihi orantısal olarak gösterilmiştir. Bu bulgular sıçanlara serbest erişimli nikotin tercihi sunulduğunda tükettikleri nikotin miktarının bireysel farklılık gösterdiğini belirtmektedir. Ancak adolesans dönemindeki tercih düzeyi erişkinlik ile tamamen örtüşmemektedir; diğer bir deyişle adolesans ve erişkinlik dönemlerinde serbest ulaşılan nikotini tüketme miktarları, aynı hayvan için farklı olabilmektedir.

		Adölesans	Erişkinlik
Erkek	Maksimum	6	7
	Median	5	3
	Minimum	13	14
Dişi	Max	5	14
	Med	13	16
	Min	25	13

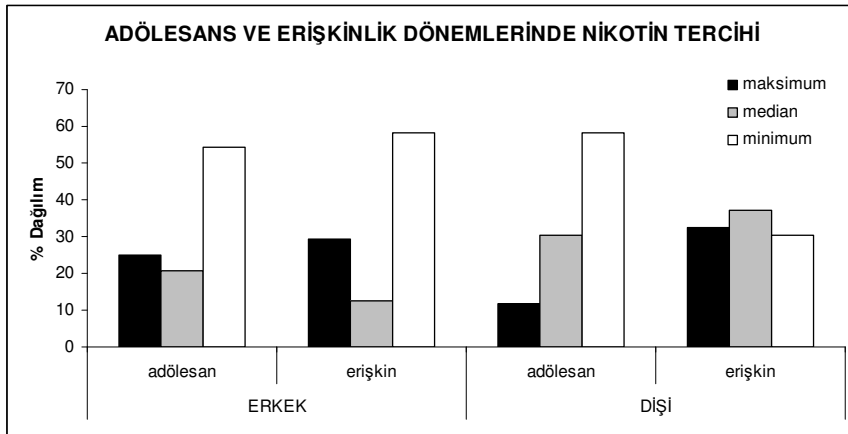
Tablo 4: Ward metoduna göre yapılan gruptandırma her iki yaş grubunda maksimum, median ve minimum nikotin alan gruplara düşen hayvan sayıları.

			Adölesans		
			Maksimum	Median	Minimum
Erişkinlik	Erkek	Maksimum	28,57	42,86	28,57
		Median	0,00	33,33	66,67
		Minimum	28,57	7,14	64,29
	Dişi	Max	21,43	50,00	28,57
		Med	0,00	18,75	81,25
		Min	11,44	44,28	44,28

Tablo 5: Erişkinliklerindeki gruptandırma içinde gösterilen sıçanların adölesans dönemindeki nikotin tercihlerinin grup %si olarak ifadesi.

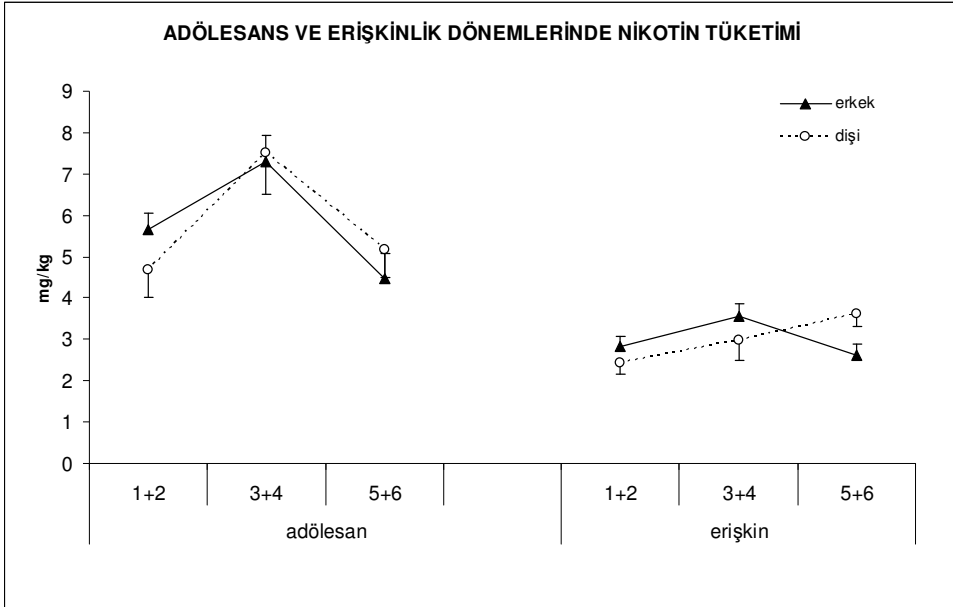


Şekil 20: Ward metoduna göre gruplandırılan sıçanların son iki hafta ortalama nikotin tüketimleri ($\pm$ standart hata).



Şekil 21: Adölesans ve erişkinlik dönemlerinde deney gruplarındaki sıçanların 3 grup arasındaki orantısal dağılımı.

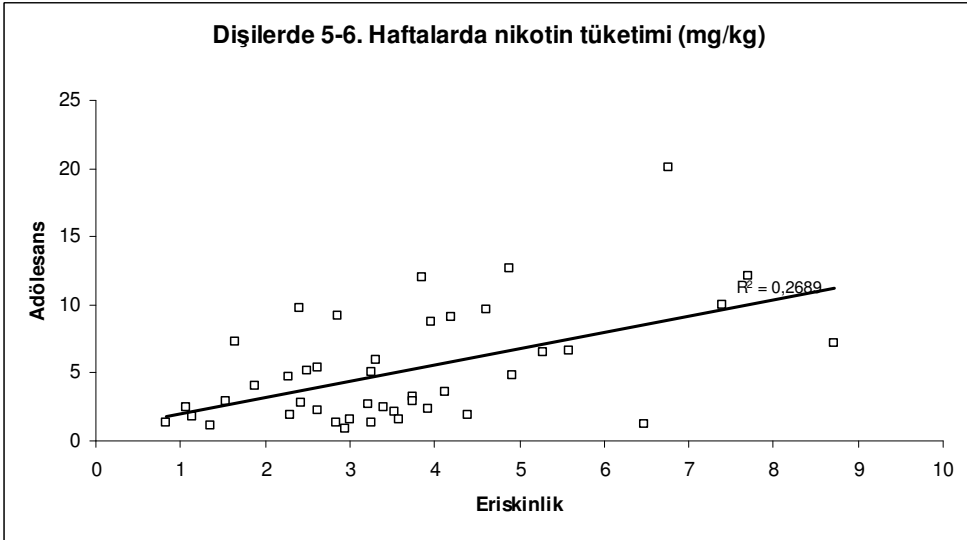
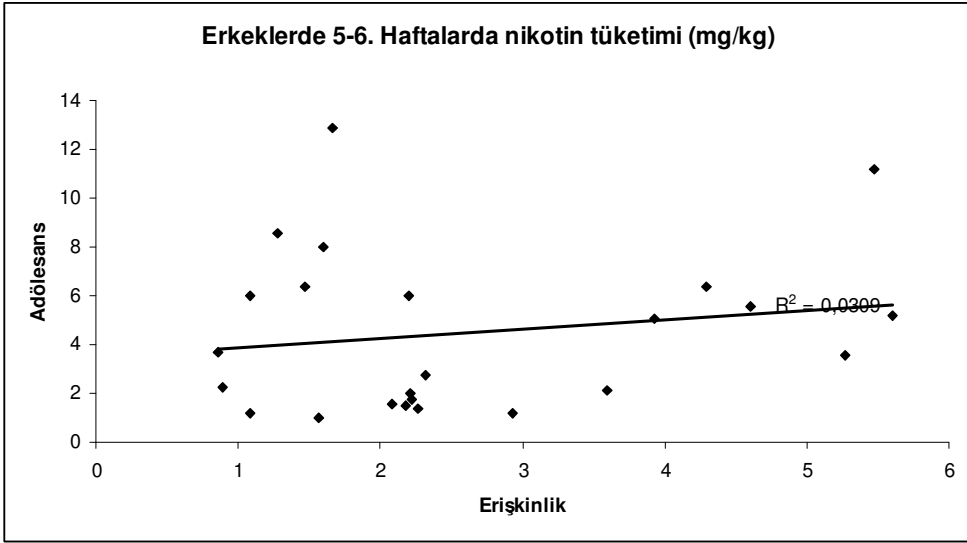
Ayrıca, gerek adölesans, gerek erişkinlik dönemlerinde ikişer haftalık nikotin tüketimi Şekil 22’de gösterilmektedir.



Şekil 22: Erkek ve dişi sıçanlarda adölesans ve erişkinlik dönemlerinde iki haftalık dönemlerde ortalama nikotin tüketimi (mg/kg/hafta).

Genel olarak bakıldığında, dişilerde adölesans döneminde daha az nikotin tüketen sıçanlar erişkinlikte aldıkları nikotini arttırmaktadırlar. Adölesans dönemindeki nikotin tüketimi ile erişkinlik dönemi nikotin tüketimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı Wilcoxon “signed ranks” testinde dişilerde nikotin tüketiminin artışı anlamlı olarak bulunduğu halde ($p=0.012$) erkeklerde bu tür bir ilişki saptanmamıştır ($p=0.840$). Ayrıca, son iki hafta nikotin tüketimi açısından dişilerde adölesans ve erişkinlik dönemi arasında

anamlı bir korelasyon olduğu halde (Pearson korelasyon katsayısı= 0.519, $p<0.001$) erkeklerde böyle bir korelasyon bulunmamıştır (Şekil 23).



Şekil 23: Adolesans ve erişkinlik dönemlerinde 5-6. haftalarda tüketilen nikotin miktarları (mg/kg/hafta).

4.2 Nikotinin sudan ayırdedilmesi ve bireysel farklılık gösteren tüketimi.

Tüm sıçanlar teker teker, herbirinde iki suluk olan kafeslerde barındırılmışlardır. Deney grubu sıçanlara bir suluktan nikotinli su diğerinden su, kontrol grubundakilere is her iki suluktan da su verilmiştir. Kontrol grubu sıçanlarda da her iki suluktan içilen su miktarı deney gruplarına paralel şekilde hesaplanmıştır.

4.2.1 Adolesan sıçanlarda

Altı hafta boyunca deney grubunda nikotinin ve kontrol grubunda nikotinin bulunduğu taraftaki sudan sıvı alma yüzdesi (alınan toplam sıvının %si olarak) Şekil 24’de gösterilmektedir.

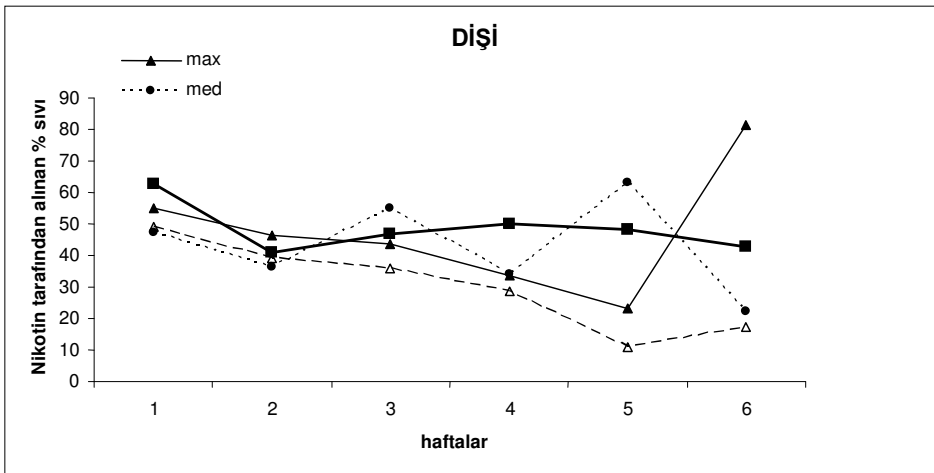
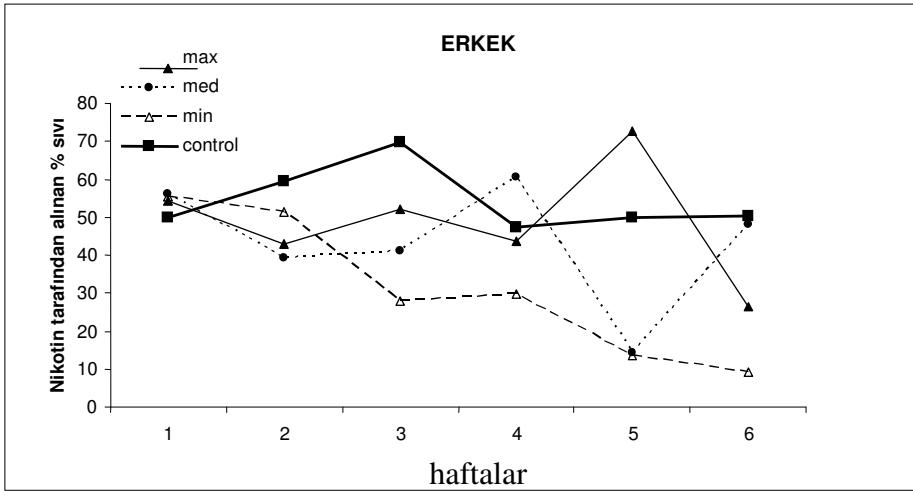
Cinsiyet (erkek, dişi) ve gruplar (Maksimum, Median, Minimum, Kontrol) denekler arası, haftalar (1-6) denek içi faktör ve nikotin bulunan şişeden (veya kontrol gruplarında aynı konumdaki su bulunan şişeden) içilen % sıvı miktarı bağımlı değişken olarak alınarak yapılan tekrarlı ölçümler ANOVA testleri sonucunda aşağıdaki önemli etki ve etkileşimler saptanmıştır:

Haftalar: $F(5,400) = 4.272, p < 0.001$

Gruplar: $F(3,80) = 15.486, p < 0.001$

Haftalar x gruplar = $F(15,400) = 2.370, p < 0.005$

Haftalar x gruplar x cinsiyet = $F(15,400) = 3.637, p < 0.001$



Şekil 24: .Adolesans döneminde erkek ve dişi sıçanların nikotin bulunan şişeden (veya kontrol gruplarında aynı taraftaki su bulunan şişeden içtikleri sıvının toplam sıvı miktarına göre %si.

Bu sonuçlar, cinsiyet farkı olmaksızın gruplar arasında ve ilerleyen haftalarda anlamlı fark olduğunu, ve gruplar arası farkın haftalar boyunca

değiştiğini göstermektedir. Ayrıca, cinsiyet farkı olmamakla birlikte erkek ve dişilerin haftalar içindek tercihlerinin gruplar arasında aynı olmaması üçlü etkileşimle saptanmıştır. Her iki cinsiyet için 6 haftalık nikotin veya aynı taraftaki suluktan alınan sıvı oranı aşağıda, Tablo 6'da belirtilmiştir:

Ayrıca sadece kontrol grubu için %50'den farkı saptamak üzere yapılan t-testlerinde kontrol gruplarında tüketilen sıvının %50'den farklı olmadığı belirlenmiştir; diğer bir deyişle kontrol grubundaki sıçanlar iki şişeden birini tercih etmemişler, her iki şişeden eşit miktarlarda sıvı almışlardır.

GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Kontrol	51,492	± 2,588
Maksimum	47,985	± 3,586
Median	43,123	± 3,117
Minimum	30,710	± 2,025

Tablo 6: Deney gruplarında nikotinli su, kontrol grubunda deney gruplarında nikotin sunulan taraftaki su şişesinden içilen sıvı miktarının oranı. Cinsiyet farkı saptanmadığı için erkek ve dişiler birlikte gösterilmektedir.

Altı haftanın ve iki cinsiyetin birlikte değerlendirildiği “Post-Hoc” Bonferoni testi sonuçlarına göre: Kontrol grubu Minimum grubundan ($p < 0.001$), Minimum grup ise Maksimum ve Median'dan (sırayla $p < 0.001$ ve $p < 0.005$) farklı bulunmuştur.

Bu sonuçlar, kontrol grubundaki sıçanların taraf ayırdetmeksizin her iki şişeden eşit miktarda su içtiklerini, deney grubundakilerin ise, nikotin tercihlerine göre nikotinli sudan farklı miktarlarda içtiklerini göstermekte,

sıçanların nikotini ayırdedebildiklerini ve tercihlerinin bireysel farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

4.2.2 Erişkin sıçanlarda

Bağımlı değişken nikotin tüketimi (g/kg), cinsiyet (erkek, dişi) ve gruplar (Maksimum, Median, Minimum, Kontrol) denekler arası, haftalar (1-6) denek içi faktör olarak yapılan tekrarlı ölçümler ANOVA testleri sonucunda aşağıdaki önemli etki ve etkileşimler saptanmıştır:

Haftalar: $F(5,400) = 3.369$, $p < 0.005$

Gruplar: $F(3,80) = 21.817$, $p < 0.001$

Haftalar x gruplar = $F(15,400) = 3.429$, $p < 0.001$

Bu sonuçlar, cinsiyet farkı olmaksızın gruplar arasında ve ilerleyen haftalarda anlamlı fark olduğunu, ve gruplar arası farkın haftalar boyunca değiştiğini göstermektedir. Her iki cinsiyet için 6 hafta için toplan tercih aşağıda, Tablo 7’de belirtilmiştir:

GRUP	Ortalama	Standart Sapma
Kontrol	49,396	$\pm 2,600$
Maksimum	41,309	$\pm 2,755$
Median	30,846	$\pm 3,744$
Minimum	22,756	$\pm 2,292$

Tablo 7: Deney gruplarında nikotinli su, kontrol grubunda deney gruplarında nikotin sunulan taraftaki su şişesinden içilen sıvı miktarının oranı. Cinsiyet farkı saptanmadığı için erkek ve dişiler birlikte değerlendirilmiştir.

Altı haftanın ve iki cinsiyetin birlikte değerlendirildiği “Post-Hoc” Bonferoni testi sonuçlarına göre: Kontrol grubu Median ve Minimum gruplarından (her ikisi için de $p < 0.001$), Maksimum grup Minimum’dan ($p < 0.001$) farklı bulunmuştur. Kontrol-Maksimum ve Maksimum-Median gruplar arasındaki farkın anlamlılığı $p < 0.1$ (sırayla, $p = 0.091$ ve $p = 0.083$) düzeyinde kalmıştır.

Adolesan sıçanlar için belirtildiği şekilde, sadece kontrol grubu için %50’den farkı saptamak üzere yapılan t-testlerinde kontrol gruplarında tüketilen sıvının %50’den farklı olmadığı belirlenmiştir; diğer bir deyişle kontrol grubundaki sıçanlar erişkinliklerinde de iki şişeden birini tercih etmemişler, her iki şişeden eşit miktarda sıvı almışlardır.

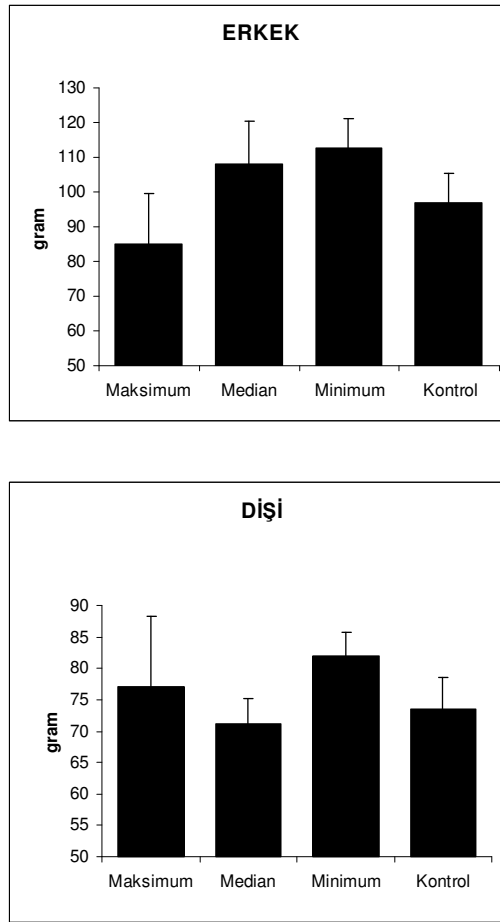
Bu sonuçlar, kontrol grubundaki sıçanların taraf ayırdetmeksizin her iki şişeden eşit miktarda su içtiklerini, deney grubundakilerin ise, nikotin tercihlerine göre nikotinli sudan farklı miktarlarda içtiklerini göstermekte, sıçanların nikotini ayırdedebildiklerini ve tercihlerinin bireysel farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

4.3 Vücut ağırlığındaki artış

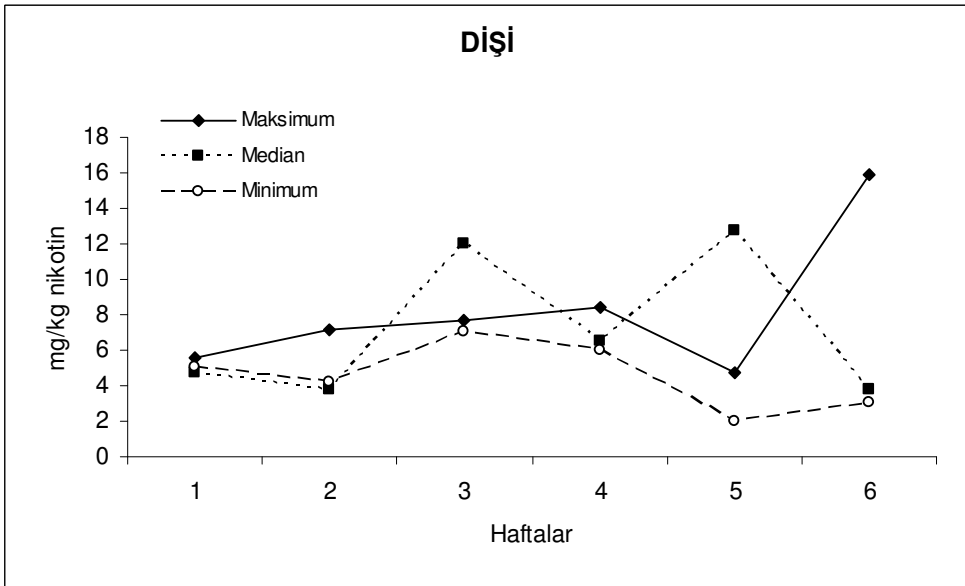
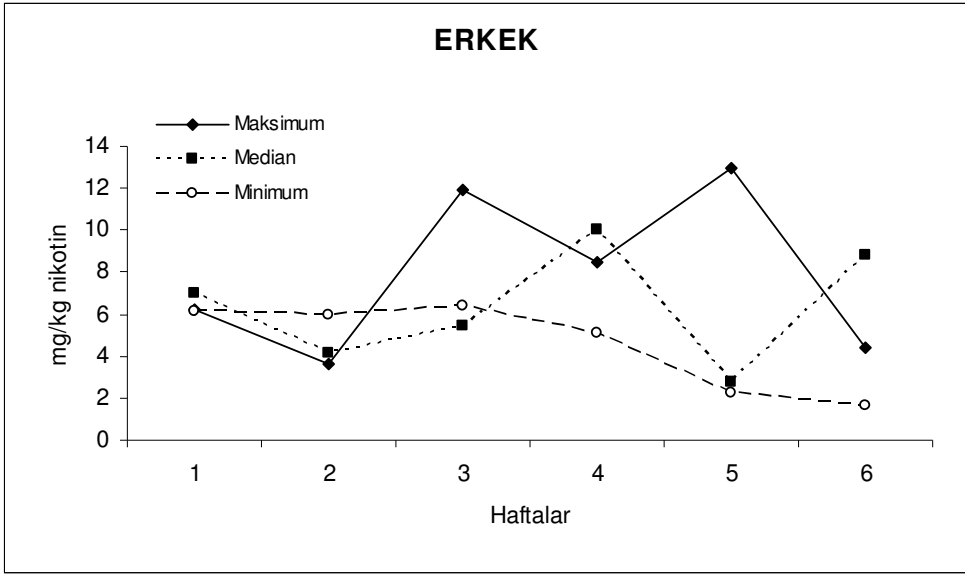
Nikotinin vücut ağırlığındaki değişime olası etkilerini araştırmak üzere deney süresince her hafta sıçanların vücut ağırlığı saptanmıştır. Altıncı hafta sonundaki vücut ağırlığından deneye başlarkenki vücut ağırlığı arasındaki farktan, altı hafta süresince vücut ağırlıklarındaki değişim elde edilmiştir.

4.3.1 Adolesan sıçanlarda

Altı haftada vücut ağırlığı, gelişmekte olan adolesans dönemindeki sıçanlarda kontrol, ve deney gruplarında Şekil 25’de belirtildiği şekilde değişim göstermiştir. Ancak Tek yönlü ANOVA testleri sonucunda gruplar arası fark bulunmamıştır. Şekil 26’da adolesan sıçanlarda 6 hafta süresince kilogram başına aldıkları nikotin değerlerini göstermektedir.



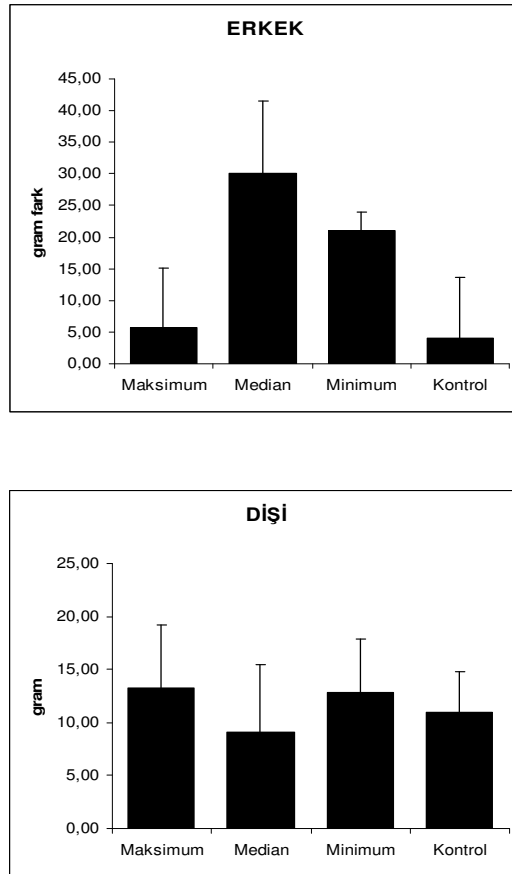
Şekil 25: Adolesans dönemindeki sıçanlarda altı hafta içindeki vücut ağırlığı değişimi (ortalama $\pm$ sem).



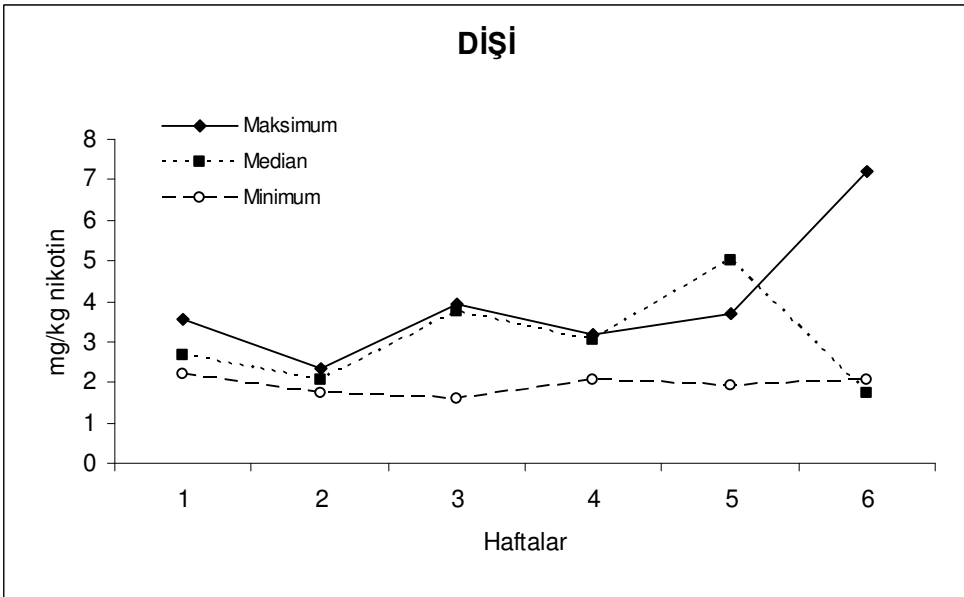
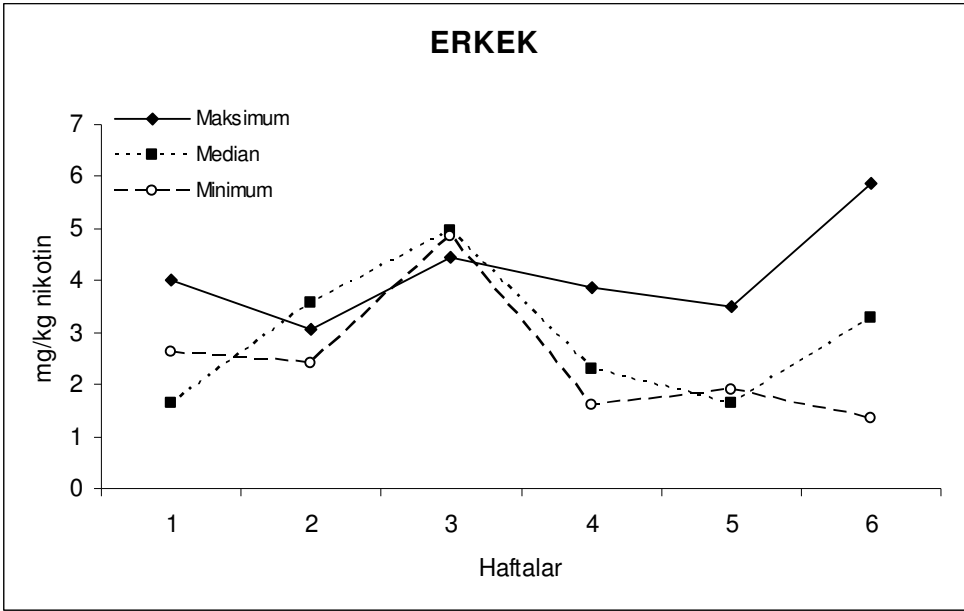
Şekil 26: Altı hafta boyunca adolesan sıçanların kilogram başına aldıkları nikotin.

4.3.2 Erişkin sıçanlarda

Erişkin sıçanlarda da vücut ağırlığındaki değişim altı hafta boyunca adolesans dönemindeki gibi tayin edilmiştir. Şekil 27’ de 6 haftalık farkı ve Şekil 28 altı hafta süresince kilogram başına aldıkları nikotini göstermektedir.. Tek yönlü ANOVA testleri sonucunda gruplar arası fark bulunmamıştır.



Şekil 27: Erişkinlikte sıçanlarda altı hafta içindeki vücut ağırlığı değişimi (ortalama $\pm$ sem).



Şekil 28: Altı hafta boyunca erişkin sıçanların kilogram başına aldıkları nikotin

4.4Yaş ve Cinsiyetin altı hafta boyunca nikotin tüketimine etkilerinin araştırılması

Nikotin tercihi sunulan sıçanlarda Cinsiyetin (erkek, dişi) denekler arası, Yaş (adölesans, erişkinlik), ve haftaların (1-6) denek içi faktör, tüketilen nikotinin (mg/vücut ağırlığı) bağımlı değişken olarak alınmasıyla yapılan tekrarlı ölçümler ANOVA testleri sonucunda aşağıdaki önemli etki ve etkileşimler saptanmıştır:

Yaş: $F(1,325) = 81.525, p < 0.001$

Haftalar: $F(3,325) = 96.185, p < 0.001$

Haftalar x Yaş = $F(5,325) = 2.803, p < 0.05$

4.5Alınan toplam sıvı, Vücut ağırlığı ve Tüketilen nikotin arasında korelasyonların araştırılması:

Nikotin tüketimi ile etkileşmesi olası faktörler adolesans ve erişkinlik dönemleri için ayrı ayrı yapılan Pearson korelasyon testleri ile araştırılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olan korelasyonlar, erkek ve dişi için ayrı ayrı olmak üzere adolesanlar için Tablo 8’de, erişkinler için Tablo 9’de verilmektedir. Tüm gruplarda, beklendiği gibi gerek erkek gerek dişi sıçanlarda vücutağırlığı ile alınan toplam sıvı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Tüm gruplarda sadece dişi sıçanlarda tüketilen nikotin ile diğer parametrelerde bazı anlamlı ilişkiler olduğu halde erkeklerde bu tür ilişkiler gözlenmemiştir.

ADÖLESAN ERKEK SIÇANLAR		Alınan toplam sıvı (ml)	Tüketilen nikotin(mg/kg)
1.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
2.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
3.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
4.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
5.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
6.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		

ADÖLESAN DIŞI SIÇANLAR		Alınan toplam sıvı (ml)	Tüketilen nikotin(mg/kg)
1.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	0.005**
	Alınan toplam sıvı (ml)		0.001**
2.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		0.05*
3.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
4.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.005**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
5.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.05*	0.01** (-)
	Alınan toplam sıvı (ml)		
6.HAFTA	Vücut ağırlığı		
	Alınan toplam sıvı (ml)		

Tablo 8: Adolesan sıçanlardaki anlamlı korelasyonlar (p değerleri)

ERİŞKİN ERKEK SIÇANLAR		Alınan toplam sıvı (ml)	Tüketilen nikotin(mg/kg)
1.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
2.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
3.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.05*	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
4.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
5.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.05*	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
6.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.005**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		

ERİŞKİN DIŞI SIÇANLAR		Alınan toplam sıvı (ml)	Tüketilen nikotin(mg/kg)
1.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.01*	0.01** (-)
	Alınan toplam sıvı (ml)		
2.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.005**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
3.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		0.05* (-)
4.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
5.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		
6.HAFTA	Vücut ağırlığı	0.001**	
	Alınan toplam sıvı (ml)		

Tablo 9 : Erişkin sıçanlardaki anlamlı korelasyonlar (p değerleri)

4.6Işıklı ipucu kullanılarak gerçekleştirilen, su tankında dikkat çalışmaları

Erişkinlik dönemindeki nikotin tüketimleri saptandıktan sonra erkek ve dişi sıçanlar son iki hafta nikotin tercihlerine göre sıralanmış ve en çok ve en az nikotin tüketen sıçanlardan 8-10 adet ayrılarak ışık ipucu ile platformun yerinin öğretileceği ve daha sonra dikkatin değerlendirileceği su tankı denemelerine alınmışlardır. Kontrol gruplarından da onar sıçan bu çalışmaya dahil edilmiştir. Sayıların dengeli olması amaçlandığı için bu deneyde median grup yoktur.

Sıçanlar 7 gün boyunca yeri değiştirilen ve içinde sürekli ışık yanan bir platformu bulmak üzere eğitilmişlerdir. Ancak ilk kez uygulanan bu yöntemde başarı klasik su tanku denemelerinden daha düşük olmuş, her grupta bazı sıçanlar verilen süre içinde platformu bulamamışlardır. Öğrenme denemeleri her gün dört kez uygulanmış ve sonuçlar bu dört denemenin ortalaması olarak belirtilmiştir. Değerlendirilen parametre, sıçanların platformu kaç saniyede bulduklarıdır. Yedi günlük öğrenme denemelerinin sonunda prob denemesi de dört kez uygulanmış, ancak dört deneme ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Prob denemenin öğrenme denemelerinden farkı, ışığın sıçan suya bırakılırken söndürülmüş olmasıdır. Bu durumda sadece ışığa dikkat eden sıçanlar platformun yerini bulabileceklerdir. Prob denemelerinde de platformun yeri her denemede değiştirilmiştir.

4.6.1 Erkek ve dişi sıçanların 7 gün boyunca ışık ipucu ile platformu bulma süreleri.

Bağımlı değişken Platformu bulma süresi, Cinsiyet (erkek, dişi) ve Gruplar (Maksimum, Minimum, Kontrol) denekler arası, günler (1-7) denek içi faktör alınarak yapılan tekrarlı ölçümler ANOVA testleri sonucunda aşağıdaki önemli etki ve etkileşimler saptanmıştır:

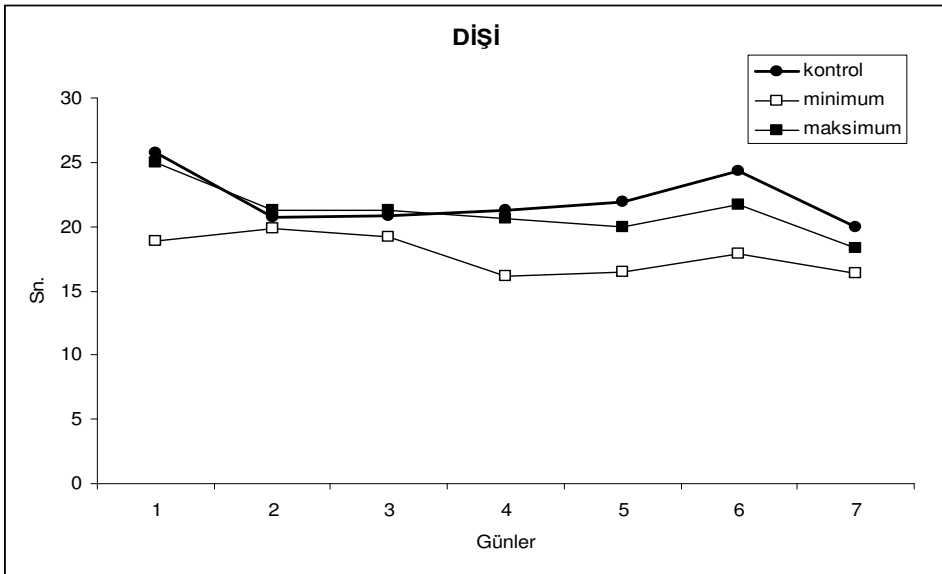
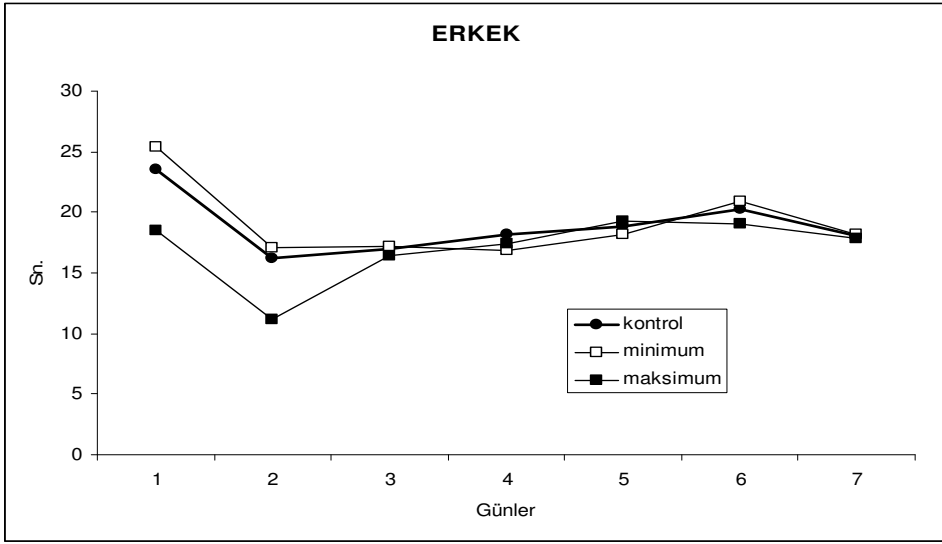
Günler: $F(6,294) = 6.905, p < 0.001$

Günler x gruplar = $F(6,294) = 3.429, p < 0.057^*$

* p değeri 0.05'in üzerinde olmakla birlikte eğilimi ortaya koymaktadır.

Bu sonuçlar, ışıklı platformu bulmada gruplar ve cinsiyet açısından fark olmadığı halde günler içinde öğrenme profillerinde gruplar arası fark olabileceğini ortaya koymaktadır.

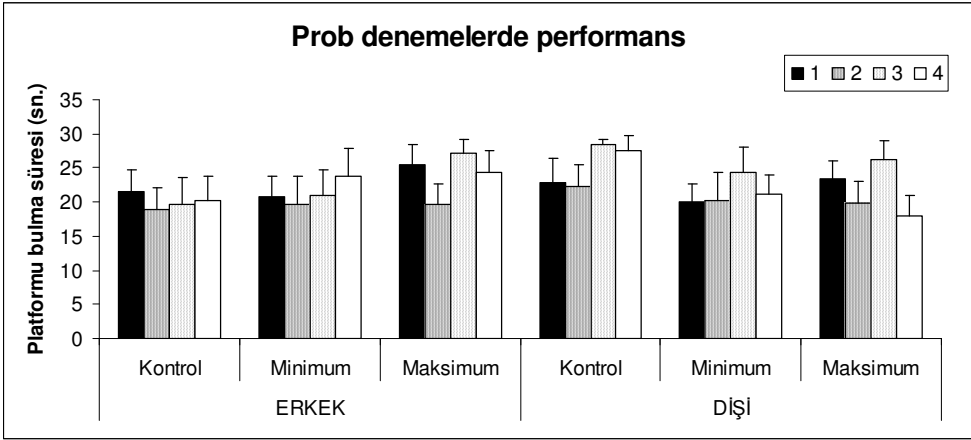
Öğrenme denemeleri sırasındaki performans Şekil 29'da yedi gün için dört denemenin ortalaması olarak gösterilmektedir.



Şekil 29: Erkek ve dişi sıçanların 7 günlük öğrenme denemeleri sırasında ortalama performansları. Performans ışıklı ipucu ile platformun kaç saniyede bulunduğu şeklinde belirlenmiştir.

4.6.2 Dikatin değerlendirildiği Prob denemeleri sırasındaki performans

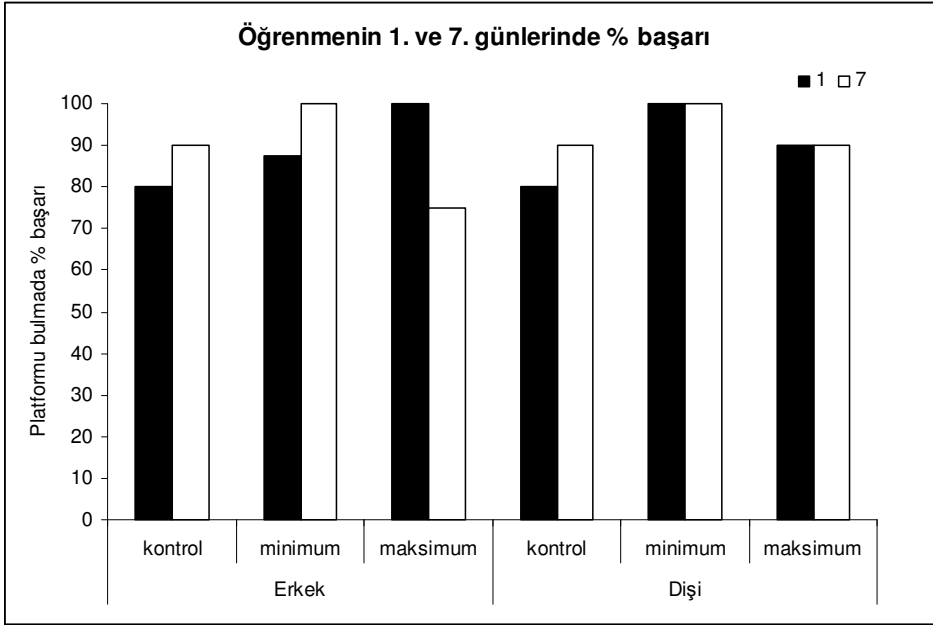
Yukarıda belirtilen kritere göre elde edilen Prob denemedeki başarı Şekil 30’da grafik halinde sunulmaktadır. Her deneme için cinsiyet (erkek, dişi) ve grupların (Kontrol, Maksimum, Minimum) faktör, platformu bulma süresinin bağımlı değişken olarak alındığı ANOVA testlerinde herhangi bir faktör veya etkileşim anlamlı bulunmamıştır. Şekil 31’de erkek ve dişi gruplarında dört denemedeki performansı göstermektedir.



Şekil 30: Prob denemeler sırasındaki başarı (ortalama $\pm$ sem)

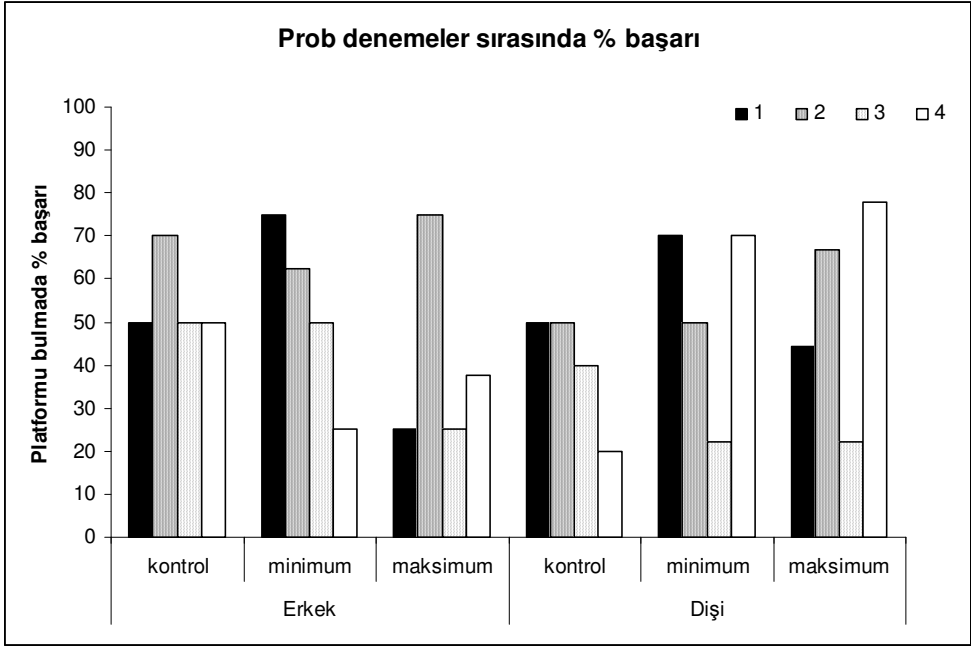
Su tankında dikkat deneylerinde bazı sıçanlar öğrenme veya prob denemeler sırasında platformu verilen süre içinde (30 sn.) bulamamışlardır. Bu nedenle süre dikkate alınmaksızın platformu bulanlar başarılı, bulamayanlar başarısız olarak nitelendirilmiş ve bu değerlendirme kriteri üzerinden χ^2 testi uygulanmıştır.

Süreye bakılmaksızın, platformu bulabilen “başarılı” sıçanların %si, öğrenmenin 1. ve 7. günlerinde Şekil 31’de, Prob denemelerde ise Şekil 32’de gösterilmektedir.



Şekil 31: Öğrenme çalışmalarının 1 ve 7. günlerinde, süreye bakılmaksızın, platformu bulabilen sıçanların grup içindeki oranı

Öğrenmenin 1. ve 7. günleri için yapılan χ^2 testleri gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Diğer yandan, prob denemelerinin 4.sünde anlamlı farkları saptanmıştır. Dişilerde gruplar arası fark kontrol grubuna göre nikotin alan sıçanların daha başarılı olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0.05$). Ayrıca yine 4. prob denemede minimum nikotin tüketen gruplar arasında cinsiyet farkı saptanmıştır ($p < 0.05$); dişilerde başarı erkeklerden daha yüksektir. Bu bulgular nikotin tüketiminin erkek sıçanlarda dikkati etkilemediği halde dişi sıçanlarda performansa olumlu etkisi olabileceğini ortaya koymaktadır.



Şekil 32: Prob denemeleri sırasında (4 deneme), süreye bakılmaksızın, platformu bulabilen sıçanların grup içindeki oranı

4.6.3 Nikotin tüketimi ve 7. gün öğrenme performansı ile prob denemelerde platformu bulma süreleri arasındaki korelasyonların araştırılması.

Su tankı deneylerine başlamadan önceki hafta g/kg vücut ağırlığı olarak hesaplanmış olan nikotin tüketimi (Nik. I) ve su tankı denemeleri sırasındaki bir haftalık nikotin tüketimi (Nik. II) ile su tankında performans arasındaki ve öğrenme denemelerinin son günü (Öğr. 7) ile prob denemeleri arasındaki ilişki korelasyon analizleri ile araştırılmıştır. Saptanan anlamlı ilişkiler Tablo 10'de belirtilmiştir.

	ERKEK		DIŞI	
	Nik. II	Öğr. 7	Nik. II	Öğr. 7
Nikotin I			0.05*	
Öğrenme 1.gün			0.05*	
Prob 1. deneme		0.05*		0.001**
Prob 2.deneme		0.001**		0.001**
Prob 3. deneme		0.001**		0.005**
Prob 4. deneme	0.05*	0.001**		0.05*

Tablo 10: Su tankı deneylerinde anlamlı korelasyonlar (p değerleri)

Dişilerde deneylerden önce ve sonra tüketilen nikotin arasında pozitif korelasyon saptandığı halde erkeklerde bu tür bir ilişki görülmemiştir. Bu bulgu, nikotin tüketimi paternlerine paralellik göstermektedir. Öğrenmenin birinci günündeki performans ile deney sırasında tüketilen nikotin arasında yine sadece dişî sıçanlarda anlamlı ilişki görülmüştür. Erkeklerde ise prob denemelerinin dördüncüsünde deney sırasındaki nikotin tüketimi arasında anlamlı ilişki bulunmuş, ancak dişilerde bu tür bir korelasyon gözlenmemiştir. Diğer taraftan her iki cinste de öğrenmenin son günündeki performans ile prob denemelerdeki başarı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu gözlem öğrenme başarısının dikkatin değerlendirildiği denemelerde belirleyici olduğunu vurgulamaktadır.

5 TARTIŞMA

Sunulan test çalışmasında sıçanlara gerek adölesans gerek erişkinlik dönemlerinde serbest erişimli, çift şişede su/nikotin tercihi sunulduğunda sıçanlar nikotini sudan ayırdetmişler ve nikotin tercihlerinde bireysel farklılık sergilemişlerdir. Her iki yaş grubunda da sıçanlar maksimum, median ve minimum nikotin tüketen sıçanlar olarak farklılaşmışlardır.

Kontrol grubundaki sıçanlara yine iki şişeden su verilmiş ve bu gruptaki sıçanlarda iki şişeden su içmenin dağılımı %50 olmuştur; lateralite gözlenmemiştir. Oysa nikotin sunulan sıçanlar bireysel tercihlerine göre 3 grupta toplanmışlar ve farklı düzeylerde nikotin tüketmişlerdir. Bu durum hem adölesan dönem hem de erişkinlik döneminde gözlenmiştir ve cinsiyet farkı bulunmamıştır. Elde edilen bu veri Stoleran ve arkadaşlarının nikotin ayırt edici uyaran etkisini araştırdıkları kendi kendine madde uygulama denemelerinden elde ettikleri bulgularla örtüşmektedir (Stoleran, Naylor et al. 1999). Bununla beraber hayvanlar arasında var olan içme pattern farklılıkları Vogel et al (2003) tarafından yapılan araştırmadan elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir (Dadmarz and Vogel 2003). Erkek Sprague-Dawley sıçanlarda yapılan istemli oral nikotin sunulan çalışmalarda “tercih davranışının” testin başlamasından 8 gün sonra ortaya çıktığı farklı nikotin konstrasyonları için gösterilmiş iken (Flynn et al., 1989) Adriani et al (2002) adölesan CD1 farelerde gerçekleştirdiği 12 günlük deneme süresince tercih oluşmadığını belirtmiştir. Bizim çalışmamızda ise hem erkek hem dişi sıçanlar uygulamanın birinci haftasında tercihleri göstermişlerdir. Çalışmamızda nikotine erişim altı hafta boyunca sürmüştür ve hem adölesanları hem de daha sonra yine altı hafta boyunca aynı hayvanların erişkinlik dönemlerini kapsamaktadır.

Çalışmamızda nikotinin tadını maskelemek amacıyla sakarin kullanılmıştır. Bu genelde oral nikotin uygulamalarında benimsenmiş bir yöntemdir. Bununla beraber denemeler sırasında nikotini maskelemek amacıyla kullanılan sakarinin farelerde yapılan bir çalışmada toplam tüketilen nikotin solüsyon değerlerini arttırdığı (Rowell et al.,1983) saptanmış olduğu halde Robinson (1996) %0,2 sakarinin erişkin erkek C57BL/6J farelerin nikotin solüsyon tüketimini belirgin bir biçimde arttırmadığını göstermiştir. Sunulan tez çalışmasında elde edilen verilerin sakarin ile açıklanması olası görülmemektedir.

Oral nikotin tüketimi hem dişi hem de erkek sıçanlarda çalışılmıştır (Glick, Visker & Maisonneuve, 1996; Dadmarz & Vogel 1998) ancak yapılan çalışmalarda kendi kendine nikotin uygulamasında adölesan dönem süresince alınan nikotin değerlerinde cinsiyet farklılıkları bulunmamıştır

Çalışmamızda adölesans dönemindeki nikotin tüketiminin erişkinlik dönemindeki nikotin tüketim paternlerini etkileyeceği hipotezinden yola çıkılmıştır. Ancak bulgular tüm grular birlikte değerlendirildiğinde böyle bir korelasyonu direkt olarak desteklememektedir. Ancak bu noktada önemli bir cinsiyet farkı dikkati çekmektedir ve bu bulgu özgün bir bulgudur. Dişi sıçanlar adölesans dönemlerinde aldıkları nikotin miktarını erişkinlik döneminde anlamlı düzeylerde arttırmışlardır, oysa erkeklerde bu tür bir ilişki saptanmamıştır. Yine benzer şekilde adölesans dönemindeki son iki hafta nikotin tüketimi ile erişkinlikteki son iki hafta nikotin tüketimi arasında dişilerde anlamlı bir korelasyon bulunduğu halde erkeklerde böyle bir korelasyon saptanmamıştır.

Klein ve arkadaşları, (Klein, Stine et al. 2004), L57BL/6J farelerde yapmış olduğu oral nikotin tüketim denemelerinde adölesan dişi farelerin erkeklere oranla daha fazla nikotin tükettiklerini ortaya koymuştur. Meydana gelen cinsiyet farklılıkları erişkinlik döneminde alınan nikotin değerleriyle de paralellik göstermektedir. Bu durum hem farelerdeki oral nikotin tüketim çalışmalarıyla (Meliska, Bartke et al. 1995) hem de sıçanlarda yapılan intra venöz kendi kendine nikotin uygulamalarıyla benzerlik göstermektedir (Donny, Caggiula et al. 2000). Çalışmamızda tüketilen nikotin açısından cinsiyet farkı saptanmamış olmakla birlikte, söz edildiği gibi adölesan dişi sıçanlar erişkinliklerinde de yüksek nikotin tüketim patternlerine devam ettiği halde aynı durum erkek nikotin gruplarında gözlenmemiştir. Bu durum dişilerin nikotine olan duyarlılığının daha fazla olduğuna ve maddeyi elde etmede yine daha fazla motive olduklarına işaret etmektedir (Laviola, Dell'Omo et al. 1992).

Çalışmanın önemli bir diğer bulgusu adölesans döneminde tüketilen nikotinin her iki cinste de erişkinlikte tüketilen nikotinden anlamlı derecede daha yüksek olmasıdır. Olasılıkla erken dönemde kendi kendine nikotin uygulamasına başlanması, nikotinin dozunu ayarlamakta uzun süreli bir etki oluşturuyor olabilir. Adölesans döneminde erişkinliğe oranla daha yüksek miktarlarda nikotin tüketiminin nedeni adölesanların nikotini katabolize edebilme hızının yüksek olması olabilir (Klein, Stine et al. 2004). Levin et al (2003) ise adölesanların, erişkinliklerinde de yüksek değerlerde nikotini kendi kendilerine uyguladıklarını belirtmiştir. İleriki çalışmalarda sadece erişkinlik döneminde nikotin tercihi sunulan sıçan gruplarının da kapsanacağı çalışmalar planlanmaktadır.

Adölesans ve erişkinlik dönemlerinde uygulanan varyans analizlerinde nikotin tüketimi açısından cinsiyet farkı olmaksızın gruplar arasında ve ilerleyen haftalarda anlamlı fark olduğunu, ve gruplar arası farkın haftalar boyunca değiştiğini göstermektedir.

Genelde nikotin tüketimi ile ilişkilendirilen bir parametre olan vücut ağırlığındaki değişim hem adölesans hem erişkinlik dönemlerinde incelenmiştir. Ancak yapılan varyans analizleri gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymaktadır. Her iki yaş döneminde de maksimum nikotin tüketen erkek sıçanlarda vücut ağırlığındaki artışın diğer gruplardan daha az olduğu yönünde bir eğilim olmakla birlikte bu fark istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır.

Nikotinin vücut ağırlığına olan etkisi hem adölesan (Klein 2001) hem de erişkin sıçanlarda kendine kendine nikotin uygulamasında (Grunberg,1982) gösterilmiştir. Ancak Klein ve arkadaşları tarafından yapılan benzer çalışmada ise (2004) farelerde adölesan dönemde nikotin uygulaması süresince nikotin alan erkek farelerin nikotin dişi farelere oranla daha fazla kilo kazandığını belirtmektedir. Çalışmamızda fazla nikotin tüketen sıçan sayılarının kontrol ve minimum nikotin tüketenlerden daha az olması ve nikotinin oral yolla ve tercih esasında sunulması vücut ağırlığı üzerindeki etkisinin anlamlı düzeylere ulaşmamış olmasında etkili olmuş olabilir.

Vücut ağırlığı ile alınan toplam sıvı arasında her iki yaş döneminde de tüm gruplarda korelasyon bulunmaktadır. Bu doğal olarak beklenen bir sonuçtur; vücut ağırlığı gereksinilen sıvı miktarında belirleyici olacaktır. Ancak vücut ağırlığı ve alınan sıvı miktarı ile tüketilen nikotin arasında anlamlı ilişkiler sadece dişi sıçanlarda gözlenmiştir. Bu durum hem adölesan

dönem hem de erişkinlik döneminde belirgindir. Oluşan cinsiyet farklılığı aynı yöntem kullanılarak farelerdeki kokain, morfin ve eroïn denemelerinde önceden gösterilmiştir. (Campbell, Morgan et al. 2002) Bu bulgu dişilerin erkeklere oranla nikotini daha hızlı metabolize etmekte olmaları veya nikotinin metaboliti olan kotinini erkeklere oranla daha elimine etmeleri ile açıklanabilir. Bu şekilde dişî sıçanlar daha stabil plazma nikotin değerlerini ayarlayabilmektedirler (Collins et al., 1980).

Nikotinin bilişsel fonksiyonlar üzerindeki yararlı etkileri bağlamında dikkati destekleyici özelliğı vurgulanmaktadır (Stolerman and White 1996). Pek çok hayvan denemesinde nikotin, agonistler ve antagonistlerinin öğrenme, bellek üzerine etkileri detaylı bir şekilde çalışılmış olmakla birlikte son yıllarda dikkat ile ilişkili buyutların araştırılması gündemde olup, olasılıkla bilişsel performans üzerindeki etkilerde dikkat komponentinin ön planda olduğu vurgulanmaktadır. Yapılan çalışmalarında nikotinin dikkati arttırdığı tespit edilmiştir. Hahn ve Stolerman (2004) nikotinin dikkati arttırdığını 5-CSRTT testinde göstermişlerdir (Hahn and Stolerman 2005). Bu çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi görsel uyaran olarak “ışık” kullanılarak nikotin uygulaması yapılan sıçanlardaki dikkat performansı değerlendirilmiştir. Ayrıca aynı parametreler agonist ve antagonistlerle de araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, uygulanan nikotin antagonistlerinin sıçanlarda nikotin ile oluşturulan dikkat artışının zayıflatıldığı gösterilmiştir.

Sunulan test çalışmasında su tankında yer bulma çalışmalarında kullanılan yöntem dikkati değerlendirecek biçimde modifiye edilmiştir. Çalışmanın öğrenme fazındaki performans açısından nikotin tüketimi ve cinsiyet açısından anlamlı bir farklılaşma fark olmadığı halde günler içinde öğrenme profillerinde gruplar arası fark yönünde bir eğilim saptanmıştır.

Dikkatin değerlendirildiği prob denemeler sırasında (özellikle 4. deneme)) ise dişilerde nikotin tüketen sıçanlar kontrol grubundakilerden daha başarılı olmuşlardır. Ayrıca yine 4. prob denemede minimum nikotin tüketen gruplar arasında dişiler erkeklerden daha başarılıdır. Bu bulguların ışığında nikotin tüketiminin erkek sıçanlarda dikkati etkilemediği oyssa dişisiçanlarda performansa olumlu etkisi olabileceği söylenebilir.

Morris su tankında yapılan bir araştırmada davranış çalışmalarının başlangıcından üç gün önce yapılan IP 0.2 mg/kg nikotin dozunun genç (2-3 ay) ve yaşlı (25-26 ay) erkek sıçanlarda Morris su tankı performansını arttırdığı gözlenmiştir (Arendash, Sanberg et al. 1995). Morris su tankı denemelerinde navigasyonda saklı platformun bulunmasında erkekler dişilere oranla daha başarılıdır. Ancak nikotinin dişilerdeki problem çözme patternini erkek patternine benzeyecek şekilde değiştirdiği gösterilmiştir (Kanit, Taskiran et al. 1998).

Çalışmamızda tüketilen nikotin ile dikkat arasındaki korelasyon araştırıldığında her iki cinste de prob denemelerdeki başarı ile öğrenme çalışmalarının son günündeki performans arasında korelasyon bulunmuştur. Bu öğrenmede daha başarılı olan sıçanların dikkat çalışmalarında da daha başarılı olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer yandan öğrenme ve dikkat çalışmalarındaki performans ile tüketilen nikotin düzeyleri arasındaki ilişki dişilerde öğrenmenin başında, erkeklerde ise prob denemelerinin sonunda saptanmıştır.

Sonuç olarak; yapılan bu tez çalışmasında adölesans döneminde sigara kullanmaya başlayan bireylerin erişkin dönemdeki sigara kullanım davranışı üzerindeki etkilerinin araştırılması, ve bu bağlamda olası cinsiyet farklarının

irdelenmesi amaçlanmıştır. Tezin aynı sıçanların hem adölesans hem de erişkinlikteki davranışını irdeleyen longitudinal bir çalışma olması özgün ve bireysel farkların saptanması açısından önemlidir. Nikotinin bilişsel fonksiyonlar ve bu bağlamda dikkat üzerindeki etkilerinin bağımlılık davranışının sürdürülmesindeki önemi bilindiği için, çalışmanın ikinci bölümünde nikotin tüketen sıçanların kontrol grupları ile karşılaştırmalı olarak dikkatlerinde bir farklılaşma olup olmadığı kendi geliştirdiğimiz bir yöntemle araştırılmıştır. Bulgularımız özellikle dişi sıçanlarda adölesans döneminde nikotin kullanımının erişkinlikte daha ciddi sonuçlar doğurabileceğini ortaya koymuştur. Sunulan tez çalışmasının sonuçları adölesan dönemde başlanan ve erişkinlik dönemine yansıyan madde kullanım davranışının daha iyi anlaşılmasına ve bu dönem süresince gelişebilecek olan madde bağımlılığına karşı oluşturulabilecek olan bağımlılık tedavileri ile ileride meydana gelebilecek olan yaşam boyu bağımlılığın önüne geçilmesinde katlı sağlayabileceği düşünülmektedir.

6. REFERANS LİSTESİ

1. **Adams, D. J. and T. J. Nutter (1992).** "Calcium permeability and modulation of nicotinic acetylcholine receptor-channels in rat parasympathetic neurons." *J Physiol Paris* 86(1-3): 67-76.
2. **Albuquerque, E. X., M. Alkondon, E. F. Pereira, N. G. Castro, A. Schrattenholz, C. T. Barbosa, R. Bonfante-Cabarcas, Y. Aracava, H. M. Eisenberg and A. Maelicke (1997).** "Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological characterization and modulation of synaptic function." *J Pharmacol Exp Ther* 280(3): 1117-36.
3. **Alkondon, M., M. F. Braga, E. F. Pereira, A. Maelicke and E. X. Albuquerque (2000).** "alpha7 nicotinic acetylcholine receptors and modulation of gabaergic synaptic transmission in the hippocampus." *Eur J Pharmacol* 393(1-3): 59-67.
4. **Alkondon, M., E. F. Pereira, C. T. Barbosa and E. X. Albuquerque (1997).** "Neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation modulates gamma-aminobutyric acid release from CA1 neurons of rat hippocampal slices." *J Pharmacol Exp Ther* 283(3): 1396-411.
5. **Alkondon, M., E. F. Pereira, W. S. Cortes, A. Maelicke and E. X. Albuquerque (1997).** "Choline is a selective agonist of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors in the rat brain neurons." *Eur J Neurosci* 9(12): 2734-42.
6. **Algan, O., J. J. Furedy, S. Demircoren, A. Vincent and S. Pogun (1997).** "Effects of tobacco smoking and gender on interhemispheric cognitive function: performance and confidence measures." *Behav Pharmacol* 8(5): 416-28.
7. **Aramakis, V. B. and R. Metherate (1998).** "Nicotine selectively enhances NMDA receptor-mediated synaptic transmission during postnatal development in sensory neocortex." *J Neurosci* 18(20): 8485-95.
8. **Arendash, G. W., P. R. Sanberg and G. J. Sengstock (1995).** "Nicotine enhances the learning and memory of aged rats." *Pharmacol Biochem Behav* 52(3): 517-23.
9. **Balfour, D. J. and K. O. Fagerstrom (1996).** "Pharmacology of nicotine and its therapeutic use in smoking cessation and neurodegenerative disorders." *Pharmacol Ther* 72(1): 51-81.
10. **Balfour, D. J. and D. L. Ridley (2000).** "The effects of nicotine on neural pathways implicated in depression: a factor in nicotine addiction?" *Pharmacol Biochem Behav* 66(1): 79-85.

11. **Balfour, D. J. (2002).** "Neuroplasticity within the mesoaccumbens dopamine system and its role in tobacco dependence." *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1(4): 413-21.
12. **Balster, R. L., D. M. Grech and D. J. Bobelis (1992).** "Drug discrimination analysis of ethanol as an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist." *Eur J Pharmacol* 222(1): 39-42.
13. **Becker, H. C. (1994).** "Positive relationship between the number of prior ethanol withdrawal episodes and the severity of subsequent withdrawal seizures." *Psychopharmacology (Berl)* 116(1): 26-32.
14. **Becker, H. C. and M. F. Jarvis (1996).** "Chronic ethanol exposure selectively increases diazepam-insensitive [3H]RO15-4513 binding in mouse cerebellum." *Eur J Pharmacol* 296(1): 43-6.
15. **Bellivier, F., J. L. Laplanche, M. Leboyer, J. Feingold, C. Bottos, J. F. Allilaire and J. M. Launay (1997).** "Serotonin transporter gene and manic depressive illness: an association study." *Biol Psychiatry* 41(6): 750-2.
16. **Belluzzi, J. D., A. G. Lee, H. S. Oliff and F. M. Leslie (2004).** "Age-dependent effects of nicotine on locomotor activity and conditioned place preference in rats." *Psychopharmacology (Berl)* 174(3): 389-95.
17. **Benowitz, N. L. (1999).** "Nicotine addiction." *Prim Care* 26(3): 611-31.
18. **Benowitz, N. L., H. Porchet and P. Jacob, 3rd (1989).** "Nicotine dependence and tolerance in man: pharmacokinetic and pharmacodynamic investigations." *Prog Brain Res* 79: 279-87.
19. **Benwell, M. E. and D. J. Balfour (1992).** "The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity." *Br J Pharmacol* 105(4): 849-56.
20. **Benwell, M. E., D. J. Balfour and C. E. Birrell (1995).** "Desensitization of the nicotine-induced mesolimbic dopamine responses during constant infusion with nicotine." *Br J Pharmacol* 114(2): 454-60.
21. **Berg, D. K. and W. G. Conroy (2002).** "Nicotinic alpha 7 receptors: synaptic options and downstream signaling in neurons." *J Neurobiol* 53(4): 512-23.
22. **Berger, F., F. H. Gage and S. Vijayaraghavan (1998).** "Nicotinic receptor-induced apoptotic cell death of hippocampal progenitor cells." *J Neurosci* 18(17): 6871-81.

23. **Biala, G. and B. Budzynska (2006).** "Reinstatement of nicotine-conditioned place preference by drug priming: effects of calcium channel antagonists." *Eur J Pharmacol* 537(1-3): 85-93.
24. **Blaha, C. D., L. F. Allen, S. Das, W. L. Inglis, M. P. Latimer, S. R. Vincent and P. Winn (1996).** "Modulation of dopamine efflux in the nucleus accumbens after cholinergic stimulation of the ventral tegmental area in intact, pedunculo-pontine tegmental nucleus-lesioned, and laterodorsal tegmental nucleus-lesioned rats." *J Neurosci* 16(2): 714-22.
25. **Bonci, A. and R. C. Malenka (1999).** "Properties and plasticity of excitatory synapses on dopaminergic and GABAergic cells in the ventral tegmental area." *J Neurosci* 19(10): 3723-30.
26. **Bonfante-Cabarcas, R., K. L. Swanson, M. Alkondon and E. X. Albuquerque (1996).** "Diversity of nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal neurons. IV. Regulation by external Ca^{++} of α -bungarotoxin-sensitive receptor function and of rectification induced by internal Mg^{++} ." *J Pharmacol Exp Ther* 277(1): 432-44.
27. **Booze, R. M., M. A. Welch, M. L. Wood, K. A. Billings, S. R. Apple and C. F. Mactutus (1999).** "Behavioral sensitization following repeated intravenous nicotine administration: gender differences and gonadal hormones." *Pharmacol Biochem Behav* 64(4): 827-39.
28. **Brejci, K., W. J. van Dijk, R. V. Klaassen, M. Schuurmans, J. van Der Oost, A. B. Smit and T. K. Sixma (2001).** "Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors." *Nature* 411(6835): 269-76.
29. **Brody, A. L., M. A. Mandelkern, E. D. London, A. R. Childress, G. S. Lee, R. G. Bota, M. L. Ho, S. Saxena, L. R. Baxter, Jr., D. Madsen and M. E. Jarvik (2002).** "Brain metabolic changes during cigarette craving." *Arch Gen Psychiatry* 59(12): 1162-72.
30. **Broide, R. S. and F. M. Leslie (1999).** "The $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in neuronal plasticity." *Mol Neurobiol* 20(1): 1-16.
31. **Buisson, B. and D. Bertrand (1998).** "Allosteric modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors." *J Physiol Paris* 92(2): 89-100.
32. **Buisson, B. and D. Bertrand (2001).** "Chronic exposure to nicotine upregulates the human $(\alpha 4)(\beta 2)$ nicotinic acetylcholine receptor function." *J Neurosci* 21(6): 1819-29.
33. **Campbell, U. C., A. D. Morgan and M. E. Carroll (2002).** "Sex differences in the effects of baclofen on the acquisition of intravenous cocaine self-administration in rats." *Drug Alcohol Depend* 66(1): 61-9.

34. **Carlezon, W. A., Jr., R. S. Duman and E. J. Nestler (2005).** "The many faces of CREB." *Trends Neurosci* 28(8): 436-45.
35. **Castro, N. G. and E. X. Albuquerque (1995).** "alpha-Bungarotoxin-sensitive hippocampal nicotinic receptor channel has a high calcium permeability." *Biophys J* 68(2): 516-24.
36. **Changeux, J. P., D. Bertrand, P. J. Corringer, S. Dehaene, S. Edelstein, C. Lena, N. Le Novère, L. Marubio, M. Picciotto and M. Zoli (1998).** "Brain nicotinic receptors: structure and regulation, role in learning and reinforcement." *Brain Res Brain Res Rev* 26(2-3): 198-216.
37. **Changeux, J. P. and S. J. Edelstein (1998).** "Allosteric receptors after 30 years." *Neuron* 21(5): 959-80.
38. **Charpantier, E., P. Barneoud, P. Moser, F. Besnard and F. Sgard (1998).** "Nicotinic acetylcholine subunit mRNA expression in dopaminergic neurons of the rat substantia nigra and ventral tegmental area." *Neuroreport* 9(13): 3097-101.
39. **Chassin, L., C. C. Presson, S. J. Sherman and D. A. Edwards (1990).** "The natural history of cigarette smoking: predicting young-adult smoking outcomes from adolescent smoking patterns." *Health Psychol* 9(6): 701-16.
40. **Chaudhri, N., A. R. Caggiula, E. C. Donny, S. Booth, M. Gharib, L. Craven, M. I. Palmatier, X. Liu and A. F. Sved (2006).** "Self-administered and noncontingent nicotine enhance reinforced operant responding in rats: impact of nicotine dose and reinforcement schedule." *Psychopharmacology (Berl)*.
41. **Chaudhri, N., A. R. Caggiula, E. C. Donny, S. Booth, M. A. Gharib, L. A. Craven, S. S. Allen, A. F. Sved and K. A. Perkins (2005).** "Sex differences in the contribution of nicotine and nonpharmacological stimuli to nicotine self-administration in rats." *Psychopharmacology (Berl)* 180(2): 258-66.
42. **Chiappinelli, V. A. (1983).** "Kappa-bungarotoxin: a probe for the neuronal nicotinic receptor in the avian ciliary ganglion." *Brain Res* 277(1): 9-22.
43. **Collins, A. C., Y. Luo, S. Selvaag and M. J. Marks (1994).** "Sensitivity to nicotine and brain nicotinic receptors are altered by chronic nicotine and mecamylamine infusion." *J Pharmacol Exp Ther* 271(1): 125-33.
44. **Conroy, W. G. and D. K. Berg (1995).** "Neurons can maintain multiple classes of nicotinic acetylcholine receptors distinguished by different subunit compositions." *J Biol Chem* 270(9): 4424-31.

45. **Conroy, W. G., A. B. Vernallis and D. K. Berg (1992).** "The alpha 5 gene product assembles with multiple acetylcholine receptor subunits to form distinctive receptor subtypes in brain." *Neuron* 9(4): 679-91.
46. **Corrigall, W. A. and K. M. Coen (1994).** "Nicotine self-administration and locomotor activity are not modified by the 5-HT3 antagonists ICS 205-930 and MDL 72222." *Pharmacol Biochem Behav* 49(1): 67-71.
47. **Corringer, P. J., N. Le Novère and J. P. Changeux (2000).** "Nicotinic receptors at the amino acid level." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40: 431-58
48. **Court, J. and F. Clementi (1995).** "Distribution of nicotinic subtypes in human brain." *Alzheimer Dis Assoc Disord* 9 Suppl 2: 6-14
49. **Dajas-Bailador, F. and S. Wonnacott (2004).** "Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling." *Trends Pharmacol Sci* 25(6): 317-24
50. **Dani, J. A. (2001).** "Overview of nicotinic receptors and their roles in the central nervous system." *Biol Psychiatry* 49(3): 166-74.
51. **Dani, J. A., D. Ji and F. M. Zhou (2001).** "Synaptic plasticity and nicotine addiction." *Neuron* 31(3): 349-52.
52. **Dani, J. A. and M. L. Mayer (1995).** "Structure and function of glutamate and nicotinic acetylcholine receptors." *Curr Opin Neurobiol* 5(3): 310-7.
53. **Dani, J. A., K. A. Radcliffe and V. I. Pidoplichko (2000).** "Variations in desensitization of nicotinic acetylcholine receptors from hippocampus and midbrain dopamine areas." *Eur J Pharmacol* 393(1-3): 31-8.
54. **de la Garza, R., P. C. Bickford-Wimer, B. J. Hoffer and R. Freedman (1987).** "Heterogeneity of nicotine actions in the rat cerebellum: an in vivo electrophysiologic study." *J Pharmacol Exp Ther* 240(2): 689-95.
55. **Del Signore, A., C. Gotti, M. E. De Stefano, M. Moretti and P. Paggi (2002).** "Dystrophin stabilizes alpha 3- but not alpha 7-containing nicotinic acetylcholine receptor subtypes at the postsynaptic apparatus in the mouse superior cervical ganglion." *Neurobiol Dis* 10(1): 54-66.
56. **Del Signore, A., C. Gotti, A. Rizzo, M. Moretti and P. Paggi (2004).** "Nicotinic acetylcholine receptor subtypes in the rat sympathetic ganglion: pharmacological characterization, subcellular distribution and effect of pre- and postganglionic nerve crush." *J Neuropathol Exp Neurol* 63(2): 138-50.

57. **DiFranza, J. R., N. A. Rigotti, A. D. McNeill, J. K. Ockene, J. A. Savageau, D. St Cyr and M. Coleman (2000).** "Initial symptoms of nicotine dependence in adolescents." *Tob Control* 9(3): 313-9.
58. **DiFranza, J. R., R. J. Wellman, J. D. Sargent, M. Weitzman, B. J. Hipple and J. P. Winickoff (2006).** "Tobacco promotion and the initiation of tobacco use: assessing the evidence for causality." *Pediatrics* 117(6): e1237-48.
59. **DiFranza, J. R., N. A. Rigotti, A. D. McNeill, J. K. Ockene, J. A. Savageau, D. St Cyr and M. Coleman (2000).** "Initial symptoms of nicotine dependence in adolescents." *Tob Control* 9(3): 313-9.
60. **Dluzen, D. E. and V. D. Ramirez (1990).** "In vitro progesterone modulation of amphetamine-stimulated dopamine release from the corpus striatum of ovariectomized estrogen-treated female rats: response characteristics." *Brain Res* 517(1-2): 117-22.
61. **Donny, E. C., G. E. Bigelow and S. L. Walsh (2004).** "Assessing the initiation of cocaine self-administration in humans during abstinence: effects of dose, alternative reinforcement, and priming." *Psychopharmacology (Berl)* 172(3): 316-23.
62. **Donny, E. C., A. R. Caggiula, C. Rose, K. S. Jacobs, M. M. Mielke and A. F. Sved (2000).** "Differential effects of response-contingent and response-independent nicotine in rats." *Eur J Pharmacol* 402(3): 231-40.
63. **Donny, E. C., A. R. Caggiula, P. P. Rowell, M. A. Gharib, V. Maldovan, S. Booth, M. M. Mielke, A. Hoffman and S. McCallum (2000).** "Nicotine self-administration in rats: estrous cycle effects, sex differences and nicotinic receptor binding." *Psychopharmacology (Berl)* 151(4): 392-405.
64. **Dorce, V. A. and J. Palermo-Neto (1994).** "Behavioral and neurochemical changes induced by aging in dopaminergic systems of male and female rats." *Physiol Behav* 56(5): 1015-9.
65. **Elliott, B. M., M. M. Faraday, J. M. Phillips and N. E. Grunberg (2004).** "Effects of nicotine on elevated plus maze and locomotor activity in male and female adolescent and adult rats." *Pharmacol Biochem Behav* 77(1): 21-8.
66. **Faraday, M. M., B. M. Elliott and N. E. Grunberg (2001).** "Adult vs. adolescent rats differ in biobehavioral responses to chronic nicotine administration." *Pharmacol Biochem Behav* 70(4): 475-89.
67. **Fiore, M. C., D. E. Jorenby, T. B. Baker and S. L. Kenford (1992).** "Tobacco dependence and the nicotine patch. Clinical guidelines for effective use." *Jama* 268(19): 2687-94.

68. **Fiorillo, C. D. and J. T. Williams (2000).** "Cholinergic inhibition of ventral midbrain dopamine neurons." *J Neurosci* 20(20): 7855-60.
69. **Frazier, C. J., A. V. Buhler, J. L. Weiner and T. V. Dunwiddie (1998).** "Synaptic potentials mediated via alpha-bungarotoxin-sensitive nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal interneurons." *J Neurosci* 18(20): 8228-35
70. **Fujii, S., Y. Jia, A. Yang and K. Sumikawa (2000).** "Nicotine reverses GABAergic inhibition of long-term potentiation induction in the hippocampal CA1 region." *Brain Res* 863(1-2): 259-65.
71. **Galzi, J. L. and J. P. Changeux (1995).** "Neuronal nicotinic receptors: molecular organization and regulations." *Neuropharmacology* 34(6): 563-82.
72. **Garzon, M., R. A. Vaughan, G. R. Uhl, M. J. Kuhar and V. M. Pickel (1999).** "Cholinergic axon terminals in the ventral tegmental area target a subpopulation of neurons expressing low levels of the dopamine transporter." *J Comp Neurol* 410(2): 197-210.
73. **Gerzanich, V., A. Kuryatov, R. Anand and J. Lindstrom (1997).** ""Orphan" alpha6 nicotinic AChR subunit can form a functional heteromeric acetylcholine receptor." *Mol Pharmacol* 51(2): 320-7.
74. **Gilpin, E. A., L. Lee, N. Evans and J. P. Pierce (1994).** "Smoking initiation rates in adults and minors: United States, 1944-1988." *Am J Epidemiol* 140(6): 535-43.
75. **Giovino, G. A., J. E. Henningfield, S. L. Tomar, L. G. Escobedo and J. Slade (1995).** "Epidemiology of tobacco use and dependence." *Epidemiol Rev* 17(1): 48-65.
76. **Girod, R., G. Crabtree, G. Ernstom, J. Ramirez-Latorre, D. McGehee, J. Turner and L. Role (1999).** "Heteromeric complexes of alpha 5 and/or alpha 7 subunits. Effects of calcium and potential role in nicotine-induced presynaptic facilitation." *Ann N Y Acad Sci* 868: 578-90.
77. **Glick, S. D. and J. I. Badalamenti (1986).** "Sex difference in reward asymmetry and effects of cocaine." *Neuropharmacology* 25(6): 633-7.
78. **Gotti, C., D. Fornasari and F. Clementi (1997).** "Human neuronal nicotinic receptors." *Prog Neurobiol* 53(2): 199-237.
79. **Gotti, C., M. Moretti, R. Maggi, R. Longhi, W. Hanke, N. Klink and F. Clementi (1997).** "Alpha7 and alpha8 nicotinic receptor subtypes immunopurified from chick retina have different immunological, pharmacological and functional properties." *Eur J Neurosci* 9(6): 1201-11.

80. **Gourlay, S. G. and N. L. Benowitz (1997).** "Arteriovenous differences in plasma concentration of nicotine and catecholamines and related cardiovascular effects after smoking, nicotine nasal spray, and intravenous nicotine." *Clin Pharmacol Ther* 62(4): 453-63.
81. **Gray, R., A. S. Rajan, K. A. Radcliffe, M. Yakehiro and J. A. Dani (1996).** "Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine." *Nature* 383(6602): 713-6.
82. **Grottick, A. J. and G. A. Higgins (2000).** "Effect of subtype selective nicotinic compounds on attention as assessed by the five-choice serial reaction time task." *Behav Brain Res* 117(1-2): 197-208.
83. **Halbreich, U., F. Petty, K. Yonkers, G. L. Kramer, A. J. Rush and K. W. Bibi (1996).** "Low plasma gamma-aminobutyric acid levels during the late luteal phase of women with premenstrual dysphoric disorder." *Am J Psychiatry* 153(5): 718-20.
84. **Hamid, S., G. S. Dawe, J. A. Gray and J. D. Stephenson (1997).** "Nicotine induces long-lasting potentiation in the dentate gyrus of nicotine-primed rats." *Neurosci Res* 29(1): 81-5.
85. **Hahn, B. and I. P. Stolerman (2005).** "Modulation of nicotine-induced attentional enhancement in rats by adrenoceptor antagonists." *Psychopharmacology (Berl)* 177(4): 438-47.
86. **Hefft, S., S. Hulo, D. Bertrand and D. Muller (1999).** "Synaptic transmission at nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal organotypic cultures and slices." *J Physiol* 515 (Pt 3): 769-76.
87. **Hogg, R. C. and D. Bertrand (2006).** "Partial agonists as therapeutic agents at neuronal nicotinic acetylcholine receptors." *Biochem Pharmacol*.
88. **Hogg, R. C., M. Raggenbass and D. Bertrand (2003).** "Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function." *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 147: 1-46.
89. **Howlett, A. C., C. S. Breivogel, S. R. Childers, S. A. Deadwyler, R. E. Hampson and L. J. Porrino (2004).** "Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress." *Neuropharmacology* 47 Suppl 1: 345-58.
90. **Ikemoto, S., R. R. Kohl and W. J. McBride (1997).** "GABA(A) receptor blockade in the anterior ventral tegmental area increases extracellular levels of dopamine in the nucleus accumbens of rats." *J Neurochem* 69(1): 137-43.

91. **Ji, D. and J. A. Dani (2000).** "Inhibition and disinhibition of pyramidal neurons by activation of nicotinic receptors on hippocampal interneurons." *J Neurophysiol* 83(5): 2682-90.
92. **Ji, D., R. Lape and J. A. Dani (2001).** "Timing and location of nicotinic activity enhances or depresses hippocampal synaptic plasticity." *Neuron* 31(1): 131-41.
93. **Kalivas, P. W., L. Churchill and M. A. Klitenick (1993).** "GABA and enkephalin projection from the nucleus accumbens and ventral pallidum to the ventral tegmental area." *Neuroscience* 57(4): 1047-60.
94. **Kalivas, P. W., P. Duffy and J. Barrow (1989).** "Regulation of the mesocorticolimbic dopamine system by glutamic acid receptor subtypes." *J Pharmacol Exp Ther* 251(1): 378-87
95. **Kaneko, S., T. Maeda, T. Kume, H. Kochiyama, A. Akaike, S. Shimohama and J. Kimura (1997).** "Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via $\alpha 7$ -neuronal receptors and neuronal CNS receptors." *Brain Res* 765(1): 135-40.
96. **Kanit, L., E. O. Koylu, O. Erdogan and S. Pogun (2005).** "Effects of laterality and sex on cognitive strategy in a water maze place learning task and modification by nicotine and nitric oxide synthase inhibition in rats." *Brain Res Bull* 66(3): 189-202.
97. **Kanit, L., Taskiran, D., Yilmaz, O. et al., 2000a.** Sexually dimorphic cognitive style in rats emerges after puberty. *Brain Res. Bull.* 52 Ž4., 243_248.
98. **Kanit, L., Yilmaz, O., Taskiran, D. et al., 2000b.** Sexually dimorphic cognitive style, female sex hormones and cortical nitric oxide. *Physiol. Behav.* 71, 277_287.
99. **Kanyt, L., I. P. Stoleran, C. J. Chandler, T. Saigusa and S. Pogun (1999).** "Influence of sex and female hormones on nicotine-induced changes in locomotor activity in rats." *Pharmacol Biochem Behav* 62(1): 179-87
100. **Kanit, L., O. Yilmaz, D. Taskiran, B. Balkan, J. J. Furedy and S. Pogun (1998).** "Intersession interval affects performance in the Morris Water Maze." *Int J Neurosci* 96(3-4): 197-204.
101. **Kanit, L., D. Taskiran, J. J. Furedy, B. Kulali, R. McDonald and S. Pogun (1998).** "Nicotine interacts with sex in affecting rat choice between "look-out" and "navigational" cognitive styles in the Morris water maze place learning task." *Brain Res Bull* 46(5): 441-5.

102. **Kelley, B. M. and L. D. Middaugh (1999).** "Periadolescent nicotine exposure reduces cocaine reward in adult mice." *J Addict Dis* 18(3): 27-39.
103. **Klein, L. C. (2001).** "Effects of adolescent nicotine exposure on opioid consumption and neuroendocrine responses in adult male and female rats." *Exp Clin Psychopharmacol* 9(3): 251-61.
104. **Klein, L. C., M. M. Stine, D. J. Vandenberg, C. A. Whetzel and H. M. Kamens (2004).** "Sex differences in voluntary oral nicotine consumption by adolescent mice: a dose-response experiment." *Pharmacol Biochem Behav* 78(1): 13-25.
105. **Koob, G. F. and M. Le Moal (1997).** "Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation." *Science* 278(5335): 52-8.
106. **Koylu, E.O., Demircoren, S., London, E.D., Pogun, S., 1997.** Sex difference in up-regulation of nicotinic acetylcholine receptors in rat brain. *Life Sci.* 61ZPL., 185_190.
107. **Kreek, M. J. (2001).** "Drug addictions. Molecular and cellular endpoints." *Ann N Y Acad Sci* 937: 27-49.
108. **Kumari, V., J. A. Gray, D. H. ffytche, M. T. Mitterschiffthaler, M. Das, E. Zachariah, G. N. Vythelingum, S. C. Williams, A. Simmons and T. Sharma (2003).** "Cognitive effects of nicotine in humans: an fMRI study." *Neuroimage* 19(3): 1002-13.
109. **Laviola, G., G. Dell'Omo, E. Alleva and G. Bignami (1992).** "Ontogeny of cocaine hyperactivity and conditioned place preference in mice." *Psychopharmacology (Berl)* 107(2-3): 221-8.
110. **Lawrence, N. S., T. J. Ross and E. A. Stein (2002).** "Cognitive mechanisms of nicotine on visual attention." *Neuron* 36(3): 539-48.
111. **Le Novère, N. and J. P. Changeux (1995).** "Molecular evolution of the nicotinic acetylcholine receptor: an example of multigene family in excitable cells." *J Mol Evol* 40(2): 155-72.
112. **Lena, C. and J. P. Changeux (1993).** "Allosteric modulations of the nicotinic acetylcholine receptor." *Trends Neurosci* 16(5): 181-6.
113. **Lena, C., J. P. Changeux and C. Mulle (1993).** "Evidence for "preterminal" nicotinic receptors on GABAergic axons in the rat interpeduncular nucleus." *J Neurosci* 13(6): 2680-8.

114. **Leshner, A. I. (2000).** "National Institute on Drug Abuse's behavioral research agenda." *Exp Clin Psychopharmacol* 8(3): 273-5.
115. **Lester, R. A. and J. A. Dani (1994).** "Time-dependent changes in central nicotinic acetylcholine channel kinetics in excised patches." *Neuropharmacology* 33(1): 27-34.
116. **Levin, E. D., C. K. Connors, D. Silva, S. C. Hinton, W. H. Meck, J. March and J. E. Rose (1998).** "Transdermal nicotine effects on attention." *Psychopharmacology (Berl)* 140(2): 135-41.
117. **Levin, E. D., A. H. Rezvani, D. Montoya, J. E. Rose and H. S. Swartzwelder (2003).** "Adolescent-onset nicotine self-administration modeled in female rats." *Psychopharmacology (Berl)* 169(2): 141-9.
118. **Lewis, T. M., P. C. Harkness, L. G. Sivilotti, D. Colquhoun and N. S. Millar (1997).** "The ion channel properties of a rat recombinant neuronal nicotinic receptor are dependent on the host cell type." *J Physiol* 505 (Pt 2): 299-306.
119. **Lindstrom, J. M. (2000).** "Acetylcholine receptors and myasthenia." *Muscle Nerve* 23(4): 453-77.
120. **MacDermott, A. B., L. W. Role and S. A. Siegelbaum (1999).** "Presynaptic ionotropic receptors and the control of transmitter release." *Annu Rev Neurosci* 22: 443-85.
121. **McQuiston, A. R. and D. V. Madison (1999).** "Nicotinic receptor activation excites distinct subtypes of interneurons in the rat hippocampus." *J Neurosci* 19(8): 2887-96
122. **Mancuso, G., D. M. Warburton, M. Melen, N. Sherwood and E. Tirelli (1999).** "Selective effects of nicotine on attentional processes." *Psychopharmacology (Berl)* 146(2): 199-204.
123. **Mansvelder, H. D. and D. S. McGehee (2002).** "Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction." *J Neurobiol* 53(4): 606-17.
124. **Mansvelder, H. D. and D. S. McGehee (2000).** "Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine." *Neuron* 27(2): 349-57.
125. **Markwiese, B. J., S. K. Acheson, E. D. Levin, W. A. Wilson and H. S. Swartzwelder (1998).** "Differential effects of ethanol on memory in adolescent and adult rats." *Alcohol Clin Exp Res* 22(2): 416-21.
126. **McClung, C. A. and E. J. Nestler (2003).** "Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and DeltaFosB." *Nat Neurosci* 6(11): 1208-15.

127. **McDermott, J. L., J. D. Kreutzberg, B. Liu and D. E. Dluzen (1994).** "Effects of estrogen treatment on sensorimotor task performance and brain dopamine concentrations in gonadectomized male and female CD-1 mice." *Horm Behav* 28(1): 16-28.
128. **McGaughy, J., M. W. Decker and M. Sarter (1999).** "Enhancement of sustained attention performance by the nicotinic acetylcholine receptor agonist ABT-418 in intact but not basal forebrain-lesioned rats." *Psychopharmacology (Berl)* 144(2): 175-82.
129. **McGehee, D. S. (2002).** "Nicotinic receptors and hippocampal synaptic plasticity. it's all in the timing." *Trends Neurosci* 25(4): 171-2.
130. **McGehee, D. S. and L. W. Role (1995).** "Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons." *Annu Rev Physiol* 57: 521-46.
131. **Meliska, C. J., A. Bartke, G. McGlacken and R. A. Jensen (1995).** "Ethanol, nicotine, amphetamine, and aspartame consumption and preferences in C57BL/6 and DBA/2 mice." *Pharmacol Biochem Behav* 50(4): 619-26.
132. **Messi, M. L., M. Renganathan, E. Grigorenko and O. Delbono (1997).** "Activation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor promotes survival of spinal cord motoneurons." *FEBS Lett* 411(1): 32-8.
133. **Mirza, N. R. and J. L. Bright (2001).** "Nicotine-induced enhancements in the five-choice serial reaction time task in rats are strain-dependent." *Psychopharmacology (Berl)* 154(1): 8-12.
134. **Morris, R. (1984).** "Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat." *J Neurosci Methods* 11(1): 47-60.
135. **Mulle, C., C. Vidal, P. Benoit and J. P. Changeux (1991).** "Existence of different subtypes of nicotinic acetylcholine receptors in the rat habenulo-interpeduncular system." *J Neurosci* 11(8): 2588-97.
136. **Murase, S., J. Grenhoff, G. Chouvet, F. G. Gonon and T. H. Svensson (1993).** "Prefrontal cortex regulates burst firing and transmitter release in rat mesolimbic dopamine neurons studied in vivo." *Neurosci Lett* 157(1): 53-6.
137. **Nestler, E. J. (2001).** "Molecular neurobiology of addiction." *Am J Addict* 10(3): 201-17.
138. **Nestler, E. J. and G. K. Aghajanian (1997).** "Molecular and cellular basis of addiction." *Science* 278(5335): 58-63.

139. **Oakman, S. A., P. L. Faris, P. E. Kerr, C. Cozzari and B. K. Hartman (1995).** "Distribution of pontomesencephalic cholinergic neurons projecting to substantia nigra differs significantly from those projecting to ventral tegmental area." *J Neurosci* 15(9): 5859-69.
140. **O'Malley, P. M., L. D. Johnston and J. G. Bachman (1998).** "Alcohol use among adolescents." *Alcohol Health Res World* 22(2): 85-93.
141. **Oh, J. D., N. J. Woolf, A. Roghani, R. H. Edwards and L. L. Butcher (1992).** "Cholinergic neurons in the rat central nervous system demonstrated by in situ hybridization of choline acetyltransferase mRNA." *Neuroscience* 47(4): 807-22.
142. **Olson, V. G., C. P. Zabetian, C. A. Bolanos, S. Edwards, M. Barrot, A. J. Eisch, T. Hughes, D. W. Self, R. L. Neve and E. J. Nestler (2005).** "Regulation of drug reward by cAMP response element-binding protein: evidence for two functionally distinct subregions of the ventral tegmental area." *J Neurosci* 25(23): 5553-62.
143. **Orr-Urtreger, A., F. M. Goldner, M. Saeki, I. Lorenzo, L. Goldberg, M. De Biasi, J. A. Dani, J. W. Patrick and A. L. Beaudet (1997).** "Mice deficient in the $\alpha 7$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor lack α -bungarotoxin binding sites and hippocampal fast nicotinic currents." *J Neurosci* 17(23): 9165-71.
144. **Papke, R. L. (1993).** "The kinetic properties of neuronal nicotinic receptors: genetic basis of functional diversity." *Prog Neurobiol* 41(4): 509-31.
145. **Paterson, N. E. and A. Markou (2005).** "The metabotropic glutamate receptor 5 antagonist MPEP decreased break points for nicotine, cocaine and food in rats." *Psychopharmacology (Berl)* 179(1): 255-61.
146. **Patrick, J., P. Sequela, S. Vernino, M. Amador, C. Luetje and J. A. Dani (1993).** "Functional diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors." *Prog Brain Res* 98: 113-20.
147. **Paul, R. H., A. M. Brickman, R. A. Cohen, L. M. Williams, R. Niaura, S. Pogun, C. R. Clark, J. Gunstad and E. Gordon (2006).** "Cognitive status of young and older cigarette smokers: data from the international brain database." *J Clin Neurosci* 13(4): 457-65.
148. **Pauly, J. R., M. J. Marks, S. F. Robinson, J. L. van de Kamp and A. C. Collins (1996).** "Chronic nicotine and mecamylamine treatment increase brain nicotinic receptor binding without changing $\alpha 4$ or $\beta 2$ mRNA levels." *J Pharmacol Exp Ther* 278(1): 361-9.
149. **Perkins, K. A. (1999).** "Nicotine discrimination in men and women." *Pharmacol Biochem Behav* 64(2): 295-9.

150. **Perkins, K. A., N. Benowitz, J. Henningfield, P. Newhouse, O. Pomerleau and G. Swan (1996).** "Society for Research on Nicotine and Tobacco." *Addiction* 91(1): 129-44.
151. **Perkins, K. A., J. E. Grobe, S. L. Mitchell, J. Goettler, A. Caggiula, R. L. Stiller and A. Scierka (1995).** "Acute tolerance to nicotine in smokers: lack of dissipation within 2 hours." *Psychopharmacology (Berl)* 118(2): 164-70.
152. **Peto, R., A. D. Lopez, J. Boreham, M. Thun and C. Heath, Jr. (1992).** "Mortality from tobacco in developed countries: indirect estimation from national vital statistics." *Lancet* 339(8804): 1268-78.
153. **Peto, R., A. D. Lopez, J. Boreham, M. Thun, C. Heath, Jr. and R. Doll (1996).** "Mortality from smoking worldwide." *Br Med Bull* 52(1): 12-21.
154. **Picciotto, M. R., M. Zoli, R. Rimondini, C. Lena, L. M. Marubio, E. M. Pich, K. Fuxe and J. P. Changeux (1998).** "Acetylcholine receptors containing the beta2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine." *Nature* 391(6663): 173-7.
155. **Pidoplichko, V. I., M. DeBiasi, J. T. Williams and J. A. Dani (1997).** "Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons." *Nature* 390(6658): 401-4.
156. **Pidoplichko, V. I., J. Noguchi, O. O. Areola, Y. Liang, J. Peterson, T. Zhang and J. A. Dani (2004).** "Nicotinic cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction." *Learn Mem* 11(1): 60-9.
157. **Pogun, S. (2001).** "Sex differences in brain and behavior: emphasis on nicotine, nitric oxide and place learning." *Int J Psychophysiol* 42(2): 195-208.
158. **Pogun, S., L. Kanit and B. E. Okur (1992).** "Learning-induced changes in D2 receptors of rat brain are sexually dimorphic." *Pharmacol Biochem Behav* 43(1): 71-5.
159. **Pontieri, F. E., G. Tanda, F. Orzi and G. Di Chiara (1996).** "Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs." *Nature* 382(6588): 255-7.
160. **Popke, E. J., A. J. Mayorga, C. M. Fogle and M. G. Paule (2000).** "Effects of acute nicotine on several operant behaviors in rats." *Pharmacol Biochem Behav* 65(2): 247-54.
161. **Quick, M. W., R. M. Ceballos, M. Kasten, J. M. McIntosh and R. A. Lester (1999).** "Alpha3beta4 subunit-containing nicotinic receptors dominate function in rat medial habenula neurons." *Neuropharmacology* 38(6): 769-83.

162. **Radcliffe, K. A., J. L. Fisher, R. Gray and J. A. Dani (1999).** "Nicotinic modulation of glutamate and GABA synaptic transmission of hippocampal neurons." *Ann N Y Acad Sci* 868: 591-610.
163. **Ramirez-Latorre, J., C. R. Yu, X. Qu, F. Perin, A. Karlin and L. Role (1996).** "Functional contributions of alpha5 subunit to neuronal acetylcholine receptor channels." *Nature* 380(6572): 347-51.
164. **Rezvani, A. H. and E. D. Levin (2004).** "Adolescent and adult rats respond differently to nicotine and alcohol: motor activity and body temperature." *Int J Dev Neurosci* 22(5-6): 349-54.
165. **Robbins, T. W. (2002).** "The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry." *Psychopharmacology (Berl)* 163(3-4): 362-80.
166. **Romanelli, L., B. Ohman, A. Adem and A. Nordberg (1988).** "Subchronic treatment of rats with nicotine: interconversion of nicotinic receptor subtypes in brain." *Eur J Pharmacol* 148(2): 289-91.
167. **Rose, J. E., F. M. Behm, E. C. Westman and J. E. Bates (2003).** "Mecamylamine acutely increases human intravenous nicotine self-administration." *Pharmacol Biochem Behav* 76(2): 307-13.
168. **Rowell, P. P. and M. Li (1997).** "Dose-response relationship for nicotine-induced up-regulation of rat brain nicotinic receptors." *J Neurochem* 68(5): 1982-9.
169. **Ruotsalainen, S., R. Miettinen, E. MacDonald, E. Koivisto and J. Sirvio (2000).** "Blockade of muscarinic, rather than nicotinic, receptors impairs attention, but does not interact with serotonin depletion." *Psychopharmacology (Berl)* 148(2): 111-23.
170. **Russell, M. A. (1990).** "The nicotine addiction trap: a 40-year sentence for four cigarettes." *Br J Addict* 85(2): 293-300.
171. **Saal, D., Y. Dong, A. Bonci and R. C. Malenka (2003).** "Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons." *Neuron* 37(4): 577-82.
172. **Salminen, O., T. Seppa, H. Gaddnas and L. Ahtee (2000).** "Effect of acute nicotine on Fos protein expression in rat brain during chronic nicotine and its withdrawal." *Pharmacol Biochem Behav* 66(1): 87-93.
173. **Salokangas, R. K., H. Vilkmann, T. Ilonen, T. Taiminen, J. Bergman, M. Haaparanta, O. Solin, A. Alanen, E. Syvalahti and J. Hietala (2000).** "High levels of dopamine activity in the basal ganglia of cigarette smokers." *Am J Psychiatry* 157(4): 632-4.

174. **Sargent, P. B. (1993).** "The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors." *Annu Rev Neurosci* 16: 403-43.
175. **Schelling, T. C. (1992).** "Addictive drugs: the cigarette experience." *Science* 255(5043): 430-3.
176. **Schilstrom, B., G. G. Nomikos, M. Nisell, P. Hertel and T. H. Svensson (1998).** "N-methyl-D-aspartate receptor antagonism in the ventral tegmental area diminishes the systemic nicotine-induced dopamine release in the nucleus accumbens." *Neuroscience* 82(3): 781-9.
177. **Seguela, P., J. Wadiche, K. Dineley-Miller, J. A. Dani and J. W. Patrick (1993).** "Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium." *J Neurosci* 13(2): 596-604.
178. **Sesack, S. R. and V. M. Pickel (1992).** "Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area." *J Comp Neurol* 320(2): 145-60.
179. **Shalev, U., J. W. Grimm and Y. Shaham (2002).** "Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review." *Pharmacol Rev* 54(1): 1-42.
180. **Shoaib, M., C. W. Schindler and S. R. Goldberg (1997).** "Nicotine self-administration in rats: strain and nicotine pre-exposure effects on acquisition." *Psychopharmacology (Berl)* 129(1): 35-43.
181. **Slotkin, T. A. (2002).** "Nicotine and the adolescent brain: insights from an animal model." *Neurotoxicol Teratol* 24(3): 369-84.
182. **Slotkin, T. A. (1998).** "Fetal nicotine or cocaine exposure: which one is worse?" *J Pharmacol Exp Ther* 285(3): 931-45.
183. **Slotkin, T. A. (2002).** "Nicotine and the adolescent brain: insights from an animal model." *Neurotoxicol Teratol* 24(3): 369-84.
184. **Slotkin, T. A., K. E. Pinkerton, M. C. Garofolo, J. T. Auman, E. C. McCook and F. J. Seidler (2001).** "Perinatal exposure to environmental tobacco smoke induces adenylyl cyclase and alters receptor-mediated cell signaling in brain and heart of neonatal rats." *Brain Res* 898(1): 73-81.
185. **Spielberg, S. P. (1986).** "In vitro analysis of idiosyncratic drug reactions." *Clin Biochem* 19(2): 142-4.

186. **Steffensen, G. K., A. Pachai and S. E. Pedersen (1998).** "[Peroral drug administration to children--are there any problems?]." *Ugeskr Laeger* 160(15): 2249-52.
187. **Stanton, W., P. Baade and J. Moffatt (2006).** "Predictors of Smoking Cessation Processes Among Secondary School Students." *Subst Use Misuse* 41(13): 1683-1694.
188. **Stolerman, I. P. and K. S. Olufsen (2000).** "Influence of training history on ethanol discrimination in rats." *Behav Pharmacol* 11(7-8): 603-12.
189. **Stolerman, I. P., C. Naylor, G. I. Elmer and S. R. Goldberg (1999).** "Discrimination and self-administration of nicotine by inbred strains of mice." *Psychopharmacology (Berl)* 141(3): 297-306.
190. **Stolerman, I. P. and J. A. White (1996).** "Impact of training history on discrimination of a drug mixture by rats." *Behav Pharmacol* 7(5): 483-494.
191. **Stolerman, I. P. and K. S. Olufsen (2000).** "Influence of training history on ethanol discrimination in rats." *Behav Pharmacol* 11(7-8): 603-12.
192. **Tanapat, P., N. B. Hastings, A. J. Reeves and E. Gould (1999).** "Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat." *J Neurosci* 19(14): 5792-801.
193. **Taylor, R. B., O. Shakoor and R. H. Behrens (1995).** "Drug quality, a contributor to drug resistance?" *Lancet* 346(8967): 122.
194. **Thomas, M. J. and R. C. Malenka (2003).** "Synaptic plasticity in the mesolimbic dopamine system." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358(1432): 815-9.
195. **Trauth, J. A., F. J. Seidler, E. C. McCook and T. A. Slotkin (1999).** "Persistent c-fos induction by nicotine in developing rat brain regions: interaction with hypoxia." *Pediatr Res* 45(1): 38-45.
196. **Trauth, J. A., F. J. Seidler and T. A. Slotkin (2000).** "An animal model of adolescent nicotine exposure: effects on gene expression and macromolecular constituents in rat brain regions." *Brain Res* 867(1-2): 29-39.
197. **Tzschentke, T. M. (2001).** "Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system." *Prog Neurobiol* 63(3): 241-320.
198. **Ungless, M. A., J. L. Whistler, R. C. Malenka and A. Bonci (2001).** "Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons." *Nature* 411(6837): 583-7.

199. **Vanderschuren, L. J., A. N. Schoffelmeer, A. H. Mulder and T. J. De Vries (1999).** "Dopaminergic mechanisms mediating the long-term expression of locomotor sensitization following pre-exposure to morphine or amphetamine." *Psychopharmacology (Berl)* 143(3): 244-53.
200. **Vastola, B. J., L. A. Douglas, E. I. Varlinskaya and L. P. Spear (2002).** "Nicotine-induced conditioned place preference in adolescent and adult rats." *Physiol Behav* 77(1): 107-14.
201. **Westerink, B. H., H. F. Kwint and J. B. deVries (1996).** "The pharmacology of mesolimbic dopamine neurons: a dual-probe microdialysis study in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of the rat brain." *J Neurosci* 16(8): 2605-11.
202. **Wiest, M. C., D. M. Eagleman, R. D. King and P. R. Montague (2000).** "Dendritic spikes and their influence on extracellular calcium signaling." *J Neurophysiol* 83(3): 1329-37.
203. **Wilkie, G. I., P. H. Hutson, M. W. Stephens, P. Whiting and S. Wonnacott (1993).** "Hippocampal nicotinic autoreceptors modulate acetylcholine release." *Biochem Soc Trans* 21(2): 429-31.
204. **Wilmouth, C. E. and L. P. Spear (2004).** "Adolescent and adult rats' aversion to flavors previously paired with nicotine." *Ann N Y Acad Sci* 1021: 462-4.
205. **Wilson, A. L., L. K. Langley, J. Monley, T. Bauer, S. Rottunda, E. McFalls, C. Kovera and J. R. McCarten (1995).** "Nicotine patches in Alzheimer's disease: pilot study on learning, memory, and safety." *Pharmacol Biochem Behav* 51(2-3): 509-14.
206. **Wise, R. A. (2004).** "Dopamine, learning and motivation." *Nat Rev Neurosci* 5(6): 483-94.
207. **Wonnacott, S. (1990).** "The paradox of nicotinic acetylcholine receptor upregulation by nicotine." *Trends Pharmacol Sci* 11(6): 216-9.
208. **Wonnacott, S. (1997).** "Presynaptic nicotinic ACh receptors." *Trends Neurosci* 20(2): 92-8.
209. **Wonnacott, S., N. Sidhpura and D. J. Balfour (2005).** "Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour." *Curr Opin Pharmacol* 5(1): 53-9.
210. **Yang, X., H. E. Criswell and G. R. Breese (1996).** "Nicotine-induced inhibition in medial septum involves activation of presynaptic nicotinic cholinergic receptors on gamma-aminobutyric acid-containing neurons." *J Pharmacol Exp Ther* 276(2): 482-9.

211. **Yin, R. and E. D. French (2000).** "A comparison of the effects of nicotine on dopamine and non-dopamine neurons in the rat ventral tegmental area: an in vitro electrophysiological study." *Brain Res Bull* 51(6): 507-14.
212. **Zahalka, E. A., F. J. Seidler, S. E. Lappi, E. C. McCook, J. Yanai and T. A. Slotkin (1992).** "Deficits in development of central cholinergic pathways caused by fetal nicotine exposure: differential effects on choline acetyltransferase activity and [3H]hemicholinium-3 binding." *Neurotoxicol Teratol* 14(6): 375-82.
213. **Zarei, M. M., K. A. Radcliffe, D. Chen, J. W. Patrick and J. A. Dani (1999).** "Distributions of nicotinic acetylcholine receptor alpha7 and beta2 subunits on cultured hippocampal neurons." *Neuroscience* 88(3): 755-64.
214. **Zarrindast, M. R., M. Sadegh and B. Shafaghi (1996).** "Effects of nicotine on memory retrieval in mice." *Eur J Pharmacol* 295(1): 1-6.
215. **Zoli, M., M. Moretti, A. Zanardi, J. M. McIntosh, F. Clementi and C. Gotti (2002).** "Identification of the nicotinic receptor subtypes expressed on dopaminergic terminals in the rat striatum." *J Neurosci* 22(20): 8785-9.
216. **Zoli, M., C. Lena, M. R. Picciotto and J. P. Changeux (1998).** "Identification of four classes of brain nicotinic receptors using beta2 mutant mice." *J Neurosci* 18(12): 4461-72.
217. **Zoli, M., N. Le Novere, J. A. Hill, Jr. and J. P. Changeux (1995).** "Developmental regulation of nicotinic ACh receptor subunit mRNAs in the rat central and peripheral nervous systems." *J Neurosci* 15(3 Pt 1): 1912-39.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad: Tanseli
Soyad: NESİL
Doğum Tarihi: 29.05.1981
Doğum Yeri: Zonguldak
Adres: Fevzi Çakmak Caddesi No:19/2 Kuyucuoğlu Apartmanı
 Bornova/ İZMİR
Telefon: (505) 584-4551
 (232) 373-0075
E-mail: tanselinesil@gmail.com

EĞİTİM

İlk-Orta-Lise: (1987-1999)
 TED Zonguldak Koleji

Üniversite: (2000-2005)
 Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Bornova İzmir
 35100/Türkiye

Yüksek Lisans: (2005-2006)
 Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı

YABANCI DİL: İngilizce

KATILDIĞI BİLİMSEL TOPLANTILAR

- Biyolojik Bilimlerde Araştırma Yöntemleri Yaz Okulu (Organizasyon) (2002/İzmir Türkiye)
- Nörobiyoloji Kiş Okulu (Organizasyon) (2003/İzmir Türkiye)
- Ulusal Biyoloji Kongresi (2003/Bolu-Türkiye)
- International Brain Research Organization (IBRO) Summer School (2003)
- Deney Hayvanları Kursu (2004/Denizli-Türkiye)

-III. Ulusal Sinirbilim Kongresi (2004 Denizli/Türkiye)

-Salamanca Üniversitesi Tıp Fakültesi Sinirbilim Laboratuari Stajyer Öğrenci (2004 Yaz Dönemi/ İspanya)

-V. Ulusal Sinirbilim Kongresi (2006/ Zonguldak-Türkiye)

-8th Annual Conference ff The SRNT Europe (2006/ Kusadasi-Turkey)

ARAŞTIRMA ALANLARI

Nikotinin Santral Etkileri

Bağımlılık

Öğrenme ve Bellek

Stres

Nörotransmisyon

MESLEKİ DERNEKLERE ÜYELİK

Türkiye Beyin Araştırmaları ve Sinirbilimleri Derneği (TÜBAS)

YAYINLAR (SCI)

Taşkıran D., Nesil T., Alkan K (2007) Mitochondrial oxidative stress in female and male rat brain after ex vivo carbon monoxide treatment, Human & Experimental Toxicology (Baskıda)

BİLDİRİLER (YURTİÇİ)

Sıçan beyinde karbon monoksit uygulaması sonrasında mitokondriyal oksidatif stres gelişimi (Taşkıran D., Nesil T., Alkan K)-V. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Zonguldak 2006

KATILDIĞI ARAŞTIRMA PROJELERİ

Karbonmonoksit toksisitesinin mitokondri solunum zincirine ve oksidan stress gelişimine etkisi (03-TIP-005)

Adölesan dönemi nikotine maruz kalan sıçanlarda erişkinlikte beyin nitrit/nitrat düzeyleri ve bilişsel performans (001-BAM-2006)

