

T.C. EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ



FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**NİKOTİN TERCİH EDEN VE ETMEYEN SIÇAN SOYLARINDA
LOKOMOTOR AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. RAMAZAN CAN GÖKMEN

DANIŞMAN

PROF. DR. LÜTFİYE KANIT

İZMİR 2021

T.C. EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**NİKOTİN TERCİH EDEN VE ETMEYEN SIÇAN SOYLARINDA
LOKOMOTOR AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. RAMAZAN CAN GÖKMEN

DANIŞMAN

PROF. DR. LÜTFİYE KANIT

İZMİR 2021

Canım annem Ayşe ve biricik eşim Burcu'ya...



TEZ RAPORU

Fizyoloji Anabilim Dalında tıpta uzmanlık öğrencisi (TUS) olarak görev yapan Dr. Ramazan Can GÖKMEN 29.12.2021 tarihinde saat: 10:00'da yapılan tez savunmasında "Nikotin tercih eden ve etmeyen sıçan soylarında lokomotor aktivitenin araştırılması" konulu tezini sunmuş, başarılı olmuştur.

Prof. Dr. Lütfiye KANIT

E.Ü.T. F. Fizyoloji AbD

Danışmanı

Prof. Dr. Dilek TAŞKIRAN

E.Ü.T. F. Fizyoloji AbD Başkanı

Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER

İzmir Tınaztepe Üniv. Tıp Fak. Fizyoloji AbD

ÖN SÖZ

Nikotin bağımlılığı ya da bildiğimiz anlamda sigara kullanımı, dünyada şu anda en önlenebilir ölüm nedenidir. Bu duruma yol açan sebeplerin ortadan kaldırılması ülkeler genelinde ve bireyler özelinde oldukça önemlidir. Bu sebeple nikotin bağımlılığının doğasını anlamak için atılacak her adım, geliştirilecek tedavi protokollerinin başarıya ulaşma şansını oldukça arttıracaktır.

Bağımlılık yapıcı ajanlar farklı yollar üzerinden nukleus akumbenste dopamin miktarında artışa neden olurlar. Bu artışın bağımlılığın temel nedenlerinden biri olduğu kabul edilmektedir. Nikotinle uyarılmış lokomotor aktivite seviyesi nukleus akumbensteki dopamin miktarındaki artışın davranışsal bir göstergesidir. Bu sebeple nikotinle uyarılan hayvanlarda lokomotor aktivitenin ölçülmesi, bize bağımlılığın temel yolağı olan nukleus akumbensteki dopamin seviyeleri hakkında çok önemli ipuçları verebilecektir.

Tıpta uzmanlık eğitimi tez çalışmamın her aşamasında, benden bilgi, yorum ve vaktini hiçbir zaman esirgemeyen, tez çalışmam ve uzmanlık eğitimim boyunca karşılaştığım sorunlar karşısında hayat tecrübesi ve engin kişiliğiyle her zaman bana destek olan sevgili ve değerli danışman hocam Prof. Dr. Lütfiye Kanıt'a ne kadar teşekkür etsem azdır. Projemin kurulma aşamasında ve çalışmalarımın devam ettiği süreçte benden desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Oğuz Gözen'e de teşekkürü bir borç bilirim. Tez çalışmamda vermiş olduğu destekten dolayı sevgili Uzm. Dr. Fulya Tuzcu'ya da minnettar olduğumu belirtmek isterim. Ayrıca Fizyoloji bölümümüzdeki tüm değerli hocalarıma, uzmanlık eğitimim boyunca bana vermiş oldukları destek ve benimle paylaştıkları bilgi ve deneyimleri için sonsuz şükranlarımı sunarım. Anabilim dalımızda görevli iş arkadaşlarıma ve çalışanlarına da tek tek teşekkür ederim.

Çalışmamız Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğü tarafından BAP-TTU-2020-22050 no'lu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Ege Üniversitesi Rektörlüğü BAP koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Son olarak her zaman yanımda olan, varlıklarıyla bana güç veren, hayatıma anlam katan değerli ailemin fertleri olan sevgili eşim Burcu'ya, oğullarım Arif Eren ve Erol Mete'ye, kızım Ayşegül Elif'e teşekkür ederim. İyi ki varsınız.

İZMİR, Aralık 2021

Saygılarımla
RAMAZAN CAN GÖKMEN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	III
ABSTRACT	V
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR	IX
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	7
2.1 Nikotin	7
2.1.1 Nikotinin Adlandırılması.....	8
2.1.2 Nikotinin Yapısı	8
2.1.3 Nikotinik Reseptörler	9
2.1.4 Nikotinik Reseptörlerin Merkezi Sinir Sisteminde Dağılımı.....	11
2.1.5 Nikotinin Etkileri	12
2.2 Mezokortikokortikolimbik Sistem	14
2.2.1 Mezokortikolimbik Sistem ve Nikotin	16
2.3 Seçici Tohumlama Yöntemi	17
2.4 Lokomotor Aktivite.....	18
3 GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Deney Hayvanları	20
3.1.1 T ve nT Soyu:.....	20
3.1.2 Deney Grupları.....	21
3.2 Uygulanacak Maddeler	22
3.3 Çalışma Deseni.....	22
3.4 Lokomotor Aktivite Ölçümü	24
3.5 İstatistiksel Analiz.....	25

4 SONUÇLAR.....	26
4.1 0,1 mg/kg Akut Nikotin Uygulaması	27
4.1.1 Toplam Alınan Yol - 10 Dakika	27
4.1.2 Toplam Alınan Yol - 60 Dakika	28
4.1.3 Kafes Geçiş Sayısı - 10 Dakika	29
4.1.4 Kafes Geçiş Sayısı - 60 Dakika	31
4.1.5 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 10 Dakika	32
4.1.6 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 60 Dakika	33
4.2 Kronik Nikotin Uygulaması	34
4.2.1 Toplam Alınan Yol - 10 Dakika	34
4.2.2 Toplam Alınan Yol - 60 Dakika	37
4.2.3 Kafes Geçiş Sayısı - 10 Dakika	41
4.2.4 Kafes Geçiş Sayısı - 60 Dakika	44
4.2.5 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 10 Dakika	47
4.2.6 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 60 Dakika	50
5 TARTIŞMA.....	53
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	66
EKLER.....	67
KAYNAKÇA.....	68

ÖZET

NİKOTİN TERCİH EDEN VE ETMEYEN SIÇAN SOYLARINDA LOKOMOTOR AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI

GİRİŞ ve AMAÇ : Nikotin bağımlılığına yol açan temel yollar ile lokomotor aktiviteyi oluşturan mekanizmalar benzerdir. Laboratuvarımızda seçici tohumlama yöntemi ile nikotin tercih eden (T) ve nikotini tercih etmeyen (nT) sıçan soyları oluşturulmuştur. Kronik nikotin uygulaması ile uyarılan lokomotor aktivite, nukleus akumbenste artmış dopamin salgısının davranışsal bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada amacımız T (nikotin tercih eden) ve nT (nikotin tercih etmeyen) sıçan soylarında, akut ve kronik nikotin uygulamasının lokomotor aktivite üzerine etkisini, cinsiyet farkını da göz önünde bulundurarak incelenmektir.

YÖNTEM: Tez çalışmasında T, nT ve kontrol grubu sıçanlar, dişi/erkek, nikotin/serum fizyolojik (SF) olmak üzere 12 grup (n=9) Sprague Dawley sıçanları kullanılmıştır. Nikotin alan gruplarda subkutan enjeksiyonlar en düşük dozdan başlayıp giderek artan 4 doz şeklinde (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6 mg/kg/ml serbest baz) ve her doz 14 gün süreyle uygulanmıştır. Her iki haftalık uygulamanın 1., 4., 8. ve 12. günlerinde 60 dakikalık lokomotor aktivite ölçümleri (toplam alınan yol, kafes geçiş sayısı, tekrarlayan hareketler) yapılmış, 10 dakika ve 60 dakika verileri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. 0,1 mg/kg/ml'lik nikotin enjeksiyonunun ilk uygulamasının sonuçları akut nikotin etkisini araştırmak için kullanıldığından tek yönlü ve tek değişkenli ANOVA kullanılarak analiz edilmiştir.

Kronik nikotin uygulaması verilerinin analizinde ise tekrarlayan ölçümler için ANOVA kullanılmıştır. Analiz sonucu anlamlı çıkan veriler ise post hoc Duncan testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR : 0,1 mg/kg akut nikotin uygulaması, dişilerde daha fazla olmak koşuluyla özellikle ilk 10 dakikada tüm hayvanlarda lokomotor aktivite üzerine depresan etkiler göstermiştir. T soyu bu dozdaki nikotinin lokomasyonu baskılayıcı etkisine en dirençli grup olarak saptanmıştır. 60 dakika verilerinde ise hiç bir grupta anlamlı baskılanma gözlenmemiştir.

Kronik uygulamada üç parametrenin (toplam alınan yol, kafes geçiş sayısı, tekrarlayan hareketler) istatistiksel değerlendirmesi paralel olduğu için özetinde sadece toplam alınan yol

sonuçları aktarılmıştır. Uygulanan tüm dozlar ($p<0,001$) ve her dozun ardışık uygulama günleri ($p<0,001$) hareketi artırmıştır. Sıçan soylarında nikotin ya da serum fizyolojik alımı farklı etkilere ($p<0,001$) neden olmuş, farklı nikotin dozlarına ($p=0,035$) verilen yanıtlar farklılık göstermiştir. Tüm nikotin dozları toplam alınan yolu artırmıştır ($p<0,001$). Soylar, nikotin dozu ve cinsiyet arasında etkileşim ($p=0,022$) bulunmuştur. Dişilerde toplam alınan yol miktarı daha fazladır ($p=0,025$). Cinsiyet farkı kontrol grubu hayvanlarda oldukça belirgin olduğu halde soy gruplarında bu fark ortadan kaybolmuştur. Toplamda nT grubu en az hareket eden grup iken kontrol grubu en hareketli gruptur. Düşük nikotin dozlarına (0,1 - 0,2 mg/kg) en duyarlı olan grup T grubudur ($p<0,001$). Nikotin dozu ve uygulama süresi arttıkça kontrol grubunun aldığı yol artmış ve en hareketli grup haline gelmiştir ($p<0,001$).

SONUÇ: Nikotin, tüm dozlarda ve tüm soylarda spontan lokomotor aktiviteyi artırmıştır. Bağımlılığa yatkın soydan gelmek cinsiyet farkını ortadan kaldırır ve düşük doz nikotin akut etkisine direnç sağlar. Kronik nikotin uygulamasının düşük dozlarına en duyarlı grup bağımlılığa yatkın olan soy sıçanlarıyken, yüksek nikotin dozlarına en duyarlı grup kontrol grubudur.

(Destek : BAP-TTU-2020-22050 Etik onay : HADYEK-2020-025)

Anahtar Kelimeler : Kronik nikotin uygulaması; Locomotor aktivite; Nikotin; nT; T

ABSTRACT

Investigation of Locomotor Activity in Nicotine Preferring and Non-Preferring Rat Lines

AIM: Main pathways that lead to nicotine addiction and mechanisms that regulate locomotor activity are similar. In our laboratory, nicotine-preferring (P) and non-preferring (nP) rat lines were produced by selective-breeding. Chronic nicotine-induced locomotor activity is considered as the behavioral indicator of increased dopamine secretion in nucleus accumbens. In this study, our aim is to examine the effect of acute and chronic nicotine administration on locomotor activity in T (nicotine-preferring) and nT (nicotine-preferring) rat lines, taking into account the gender difference.

METHOD: In the thesis study, 12 groups (n=9) Sprague Dawley rats were used: T, nT and control rats, female/male, nicotine/saline (SF) rats. In the groups receiving nicotine, subcutaneous injections were administered in 4 doses (0.1 - 0.2 - 0.4 - 0.6 mg/kg/ml free base) starting from the lowest dose and increasing gradually, and each dose was administered for 14 days. On the 1st, 4th, 8th and 12th days of each two-week application, 60-minute locomotor activity measurements (total distance traveled, number of cage passes, repetitive movements) were made, and the 10-minute and 60-minute data were evaluated separately. The results of the first administration of 0.1 mg/kg/ml nicotine injection were analyzed using one-way and univariate ANOVA as it was used to investigate the acute nicotine effect.

In the analysis of chronic nicotine administration data, ANOVA was used for repeated measures. The data that were significant as a result of the analysis were evaluated with the post hoc Duncan test.

RESULTS: Acute nicotine administration of 0.1 mg/kg showed depressant effects on locomotor activity in all animals, especially in the first 10 minutes, provided that it is more in females. T strain was determined as the most resistant group to the locomotion suppressive effect of nicotine at this dose. In the 60-minute data, no significant suppression was observed in any group.

Since the statistical evaluation of three parameters was parallel, only total path results were presented. All doses ($p < 0.001$) and consecutive administration days of each dose ($p < 0.001$)

increased the movement. Nicotine or saline caused different effects ($p < 0.001$) in rat lines and the responses to four nicotine doses differed ($p = 0.035$). All nicotine doses increased the total path ($p < 0.001$). There was a significant interaction between line, dose, and sex ($p = 0.022$). Total path is higher in females ($p = 0.025$). Although sex difference was evident in controls, it disappeared in selectively-bred lines. Overall, locomotor activity was lowest in nP and highest in controls. P group has the highest sensitivity ($p < 0.001$) to low nicotine doses (0.1 - 0.2 mg/kg). As the nicotine dose and exposure duration increased, controls increased their activity and became the most active group ($p < 0.001$).

CONCLUSION: Nicotine increased locomotor activity at all doses and in all rat lines. Addiction-prone lineage eliminates sex difference and provides resistance to the acute effects of low-dose nicotine. While the group most susceptible to low doses of chronic nicotine administration is addiction-prone lineage rats, the group most susceptible to high doses of nicotine is the control group.

(Funding : BAP-TTU-2020-22050; Ethical approval : HADYEK-2020-025)

Keywords: Chronic nicotine administration, Locomotor activity, Nicotine, nP, P

TABLÖLER LİSTESİ

- Tablo 1: Bazı Beyin Bölgelerinde Nikotinik Reseptörlerin Bağlanmaları ve mRNA Altünitlerinin Dağılımı..... 8
- Tablo 2. Deney Grupları ve Sıçan Sayısı 13
- Tablo 3: Toplam Alınan Yol İlk 10 dk Sonuçları.....13
- Tablo 4: Toplam Alınan Yol 60 dk Sonuçları.....38
- Tablo 5: Kafes Geçiş Sayısı İlk 10 dk Sonuçları.....41
- Tablo 6: Kafes Geçiş Sayısı 60 dk Sonuçları 45
- Tablo 7: Tekrarlayan Hareket Sayısı İlk 10 dk Sonuçları 48
- Tablo 8: Tekrarlayan Hareket Sayısı 60 dk Sonuçları 51

ŞEKİLLER LİSTESİ

1. Şekil 1 : Nikotinin Moleküler Yapısı.....	7
2. Şekil 2 : Nikotinik Asetilkolin Reseptörünün Şematik Görünümü	8
3. Şekil 3 : nAChR Alt Birimlerinin Pentamerik Düzenlenişi.....	10
4. Şekil 4 : Beyindeki Dopaminerjik Yolların Şematik Görünümü	13
5. Şekil 5 : Çalışma Deseni.....	13
6. Şekil 6 : 0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 10 Dakikalık Sürede Ölçülen Toplam Alınan Yol.....	24
7. Şekil 7 : 0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 60 Dakikalık Sürede Ölçülen Toplam Alınan Yol	25
8. Şekil 8 :0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 10 Dakikalık Sürede Ölçülen Toplam Kafes Geçiş Sayısı	26
9. Şekil 9 :0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 60 Dakikalık Sürede Ölçülen Toplam Kafes Geçiş Sayısı	27
10. Şekil 10 :0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 10 Dakikalık Sürede Ölçülen Tekrarlayan Hareket Sayısı	28
11. Şekil 11 :0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 60 Dakikalık Sürede Ölçülen Tekrarlayan Hareket Sayısı	29
12. Şekil 12. Tüm Sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg Subkutan Nikotin Enjeksiyonu Sonrasında 10 Dakikalık Toplam Alınan Yol Miktarı.....	30
13. Şekil 13. Tüm Sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg Subkutan Nikotin Enjeksiyonu Sonrasında 60 Dakikalık Toplam Alınan Yol Miktarı	31
14. Şekil 14. Tüm Sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg Subkutan Nikotin Enjeksiyonu Sonrasında 10 Dakikalık Kafes Geçiş Sayıları	32
15. Şekil 15. Tüm Sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg Subkutan Nikotin Enjeksiyonu Sonrasında 60 dakikalık Kafes Geçiş Sayıları	33
16. Şekil 16. Tüm Sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg Subkutan Nikotin Enjeksiyonu Sonrasında 10 Dakikalık Tekrarlayan Hareket Sayısı	34
17. Şekil 17. Tüm Sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg Subkutan Nikotin Enjeksiyonu Sonrasında 60 Dakikalık Tekrarlayan Hareket Sayısı	35

KISALTMALAR

Ach	: Asetilkolin
AMG	: Amigdala
C	: Cinsiyet
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Kolin Asetil Transferaz,
D	: Dişi
DA	: Dopamin
DOPAC	: Dopamin Prekürsörü
E	: Erkek
G	: Günler
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
K	: Kontrol Grubu (naif hayvanlar)
Kg	: Kilogram
mAChR	: Muskarinik Asetilkolin Reseptörü
MR	: Manyetik Rezonans
Mg	: Miligram
MPTP	: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
N	: Nikotin
Na	: Sodyum
Nac	: Nukleus Akumbens
nAChR	: Nikotinik Asetilkolin Reseptörü
Nic	: Nikotin
nT	: Nikotini Tercih Etmeyen Soy
NU	: Nikotin Uygulaması
PFC	: Prefrontal Korteks
S	: Serum Fizyolojik
SF	: Serum Fizyolojik
T	: Nikotini Tercih Eden Soy
UG	: Uygulama Günleri
VTA	: Ventral Tegmental Alan

1 GİRİŞ

Tütün ve tütün yapraklarından elde edilen tütün ürünleri, emilerek, çiğnenerek ve en çok da dumanını inhale ederek tüketilen maddelerdir. İnhalasyonla alımda sigara birinci sırada yer almaktadır(1). Tütün ve tütün ürünlerinin kullanımı sağlıktan ekonomiye kadar birçok alanda hem bireyler bazında hem de toplumsal düzeyde birçok olumsuzluğa neden olmaktadır. Her yıl tüm dünyada 10 milyondan fazla ölüme ve milyarlarca lira ekonomik zarara sebep olmaktadır. Akciğer kanseri de dahil pek çok akciğer rahatsızlığına, kardivasküler problemlere, solunum yolunun neredeyse her türden rahatsızlıklarına, vücudun çeşitli yerlerinde oluşan birçok kanser türüne ve bazı sindirim problemlerine sebep olmakta ve bu rahatsızlıkların önemli bir bölümü de maalesef ölüme sonuçlanmaktadır(2, 3). Tütün ve tütün ürünlerinin kullanılmasının insan ömrünü 10-15 yıl kadar azalttığına dair bulgular bulunmaktadır(4).

Sigara bağımlılığı dünya çapında tıbbi,sosyo-kültürel ve ekonomik problemlere neden olan, çok sık görülen bir toplumsal sorundur. Sigaranın içindeki temel bağımlılık yapıcı madde nikotindir. Sigaranın kronik tüketimi akciğer hastalıkları, mesane kanseri, kardiyovasküler hastalıklar vb. gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olur. Dünyada ve ülkemizde bağımlılık alanında yapılan araştırmalar, madde bağımlılığına yol açan mekanizmaların saptanmasına ve bu sorunun önlenmesi/ortadan kalkması için etkin tedavi stratejilerinin gelişmesine katkı sağlayacaktır.

Sigara bağımlısı olan bireylerin sigaranın zararlarını biliyor olmalarına rağmen hala kullanmaya devam etme istekleri bağımlılıktaki ana parçalardan biridir(5). Bağımlılık çalışmalarında bağımlılığın mezokortikolimbik dopaminerjik sistemde bir uyarılma ile tetiklendiği kabul edilmektedir. Bu sistem ödül yolağı olarak bilinir. Önceki yıllarda, dopaminin madde alımı sonrasında ödül ile ilişkili hoş giden duyguları yarattığı düşünülmekteydi. Ancak günümüzde dopaminin, çevresel uyaranlar varlığında bağımlılık yapan maddeye karşı beklenti durumunun ve isteğin oluşmasındaki rolü daha çok vurgulanmaktadır. Dopaminin bağımlılık süreçleri sırasındaki işlevlerine bakış açımız zaman içinde değişmekle birlikte bağımlılıkta rol oynayan temel sinirsel ileticinin hala dopamin olduğu kabul edilmektedir(6).

Nikotinin lokomotor aktivite üzerine olan etkisi karmaşıktır. Akut olarak uygulanan nikotin lokomotor aktivitede azalmaya, kronik nikotin uygulamaları ise lokomotor aktivitede artışa yol açmaktadır(7). Ayrıca, daha önce nikotine maruz kalmış sıçanlarda nikotinin

lokomosyonu baskılayıcı etkisine karşı hızlı bir tolerans geliştiği ve lokomotor aktiviteyi uyarıcı etkinin daha da belirginleştiği pek çok yayında gösterilmiştir(8, 9).

Nikotin beyindeki temel hedefi bağımlılıkla yakından ilişkili olan mezostratial dopaminerjik yoldur. Mezostratial dopaminerjik yolağın iki bileşeni bulunur: mezokortikolimbik ve nigrostratial dopaminerjik yollar. Ventral tegmental alandaki dopaminerjik nöronların nukleus akumbens (ventral striatum) ve prefrontal kortekse uzanan aksonları mezokortikolimbik yolağı oluştururken substansiya nigradaki dopaminerjik nöronların kaudat-putamen çekirdeklerine (dorsal striatum) uzanan aksonları nigrostratial yolağı oluşturur(10). Her iki yolak üzerinde yer alan beyin bölgelerinde çok fazla sayıda nAChR'leri bulunur. Bu reseptörler nikotin hem ödülü hem de lokomotor aktiviteyi arttırıcı etkilerinden sorumludur. Nikotin ventral tegmental alandaki $\alpha 4\beta 2^*$ ve $\alpha 7$ nAChR'lerine bağlanarak dopaminerjik nöronların uyarılmasına neden olur(10). Ventral tegmental alandaki dopaminerjik nöronların uyarılması nukleus akumbens ve prefrontal korteks de dahil olmak üzere beynin birçok bölgesinde dopamin salgısını artırır(11). Dopamin seviyelerindeki bu artış madde bağımlılığının gelişiminde önemli rol oynar. Mezokortikolimbik bölgelerde dopamin salgısının artışının sonuçlarından biri de lokomotor aktivitenin artışıdır. Nikotin lokomotor aktivatör etkilerini özellikle VTA'daki $\alpha 6\beta 2$ alt-birimleri içeren nAChR'lerine bağlanarak gösterir(12). Yapılan araştırmalar, ventral tegmental bölge içine nikotin infüzyonlarının lokomotor aktiviteyi arttırdığını ve mezokortikolimbik dopaminerjik yolağı hedefleyen lezyonların sistemik olarak uygulanan nikotin lokomotor aktiviteyi uyarıcı etkisini zayıflatmış olduğunu göstermektedir(13). Bu sonuçlar nikotin lokomotor aktivite üzerine olan etkisine daha çok mezokortikolimbik dopaminerjik sistemin aracılık ettiğini göstermektedir.

Balfour ve grubu yaptıkları çalışmalarda lokomotor aktivite ölçümü ile in vivo mikrodializ yöntemini eş-zamanlı gerçekleştirerek nikotin-lokomotor aktivite bağlantısını net bir biçimde ortaya koymuşlardır. Akut nikotin lokomotor baskılayıcı etkisi sırasında nukleus akumbensde dopamin ve metaboliti olan DOPAC miktarlarında azalma gösterilirken kronik nikotine maruz kalan sıçanların nukleus akumbenslerinde dopamin miktarında artış saptanmıştır. Sinirbilim dünyasında 1990'lı yıllarda çok ses getiren bu çalışmalardan elde edilen bulgular nikotin lokomotor aktiviteyi arttırıcı etkisinin nukleus akumbensteki dopamin miktarı ile paralel olduğunun kabul edilmesini sağlamıştır. Günümüzde nikotinle uyarılmış lokomotor aktivite artışı nukleus akumbensteki dopamin miktarının davranışsal bir göstergesi olarak kabul edilmektedir(14-16).

Duyarlanma (sensitizasyon), bağımlılık yapıcı maddelere kronik maruziyet sırasında, öncekiler ile karşılaştırıldığında, ilerleyen dozlarda artmış yanıtın ortaya çıkması olarak tanımlanır. Bu durum yoksunluk evresi sonrasında maddenin tekrar alınması ile de gözlenebilir. Duyarlanmayı ortaya çıkaran nörokimyasal süreçlerin madde tüketimi konusundaki isteğin (motivasyonun) artışına yol açtığı ve böylece madde bağımlılığının gelişiminde önemli rol oynadığı pek çok yayında bildirilmektedir(17, 18). Duyarlanma davranışsal olarak en sık lokomotor aktivite ölçümleri ile gösterilir. Kronik madde kullanımı sırasında tekrarlayan dozlar lokomotor aktiviteyi giderek artırır. Duyarlanma özelliği çok sayıda bağımlılık yapıcı madde gibi nikotin için de gösterilmiştir. Kronik nikotin uygulamaları sırasında lokomotor aktivite günler içerisinde artar(15). Bununla paralel şekilde, nikotinin tekrarlayan dozlarının dopaminerjik akson sonlanmalarının bulunduğu nukleus akumbens, dorsal striatum ve prefrontal korteks gibi bölgelerde dopamin salgısını da giderek artırdığı gösterilmiştir(11, 15, 19, 20).

Nikotinin lokomotor aktivatör etkileri türe, uygulama dozuna ve şekline (infüzyon ya da tek uygulama) göre değişim gösterir(21). Sıçanlarda nikotin uygulaması ile lokomotor aktivitede artışı kolay elde edilebilirken fareler nikotinin bu etkilerine daha dirençlidirler(22, 23). Bazı fare soyları (C3H/2 ve BUB) lokomotor duyarlanmaya kısmen dirençlidir; sadece yüksek dozlar kronik olarak verildiğinde lokomotor aktivitede artış saptanabilir.

Nikotin bağımlılığı ile ilgili yayınlar cinsiyet farkının çok önemli olduğunu göstermektedir(24, 25). Klinik araştırmalar, kadınların erkeklerden daha hızlı nikotin bağımlısı haline geldiklerini, nikotin bağımlılığının tedavilerinden daha az yararlandıklarını ve bu nedenle sigarayı bırakma oranlarının daha düşük olduğunu bildirmektedir(26, 27). Kadınlar, erkeklerle karşılaştırıldığında, nikotinin ödül ile ilişkili etkilerine daha duyarlıdır, tütün ürünlerini daha fazla tüketirler, sigara kullanımı sonrasında pozitif afekt gelişimi daha fazla bildirmektedirler ve nikotin yoksunluğunun ortaya çıkardığı negatif afektif duruma daha duyarlıdırlar(24, 27, 28). Cinsiyet farklarına dair bulgular hayvan çalışmalarında da elde edilmektedir. Örneğin, dişi sıçanlar, erkeklerle karşılaştırıldığında, daha düşük nikotin dozlarını kendilerine uygulamayı (“self-administration”) hızlı bir biçimde öğrenirler(29). Nikotin yoksunluğu sırasında yoksunluğun fiziksel bulgularını daha fazla sergilerler(30). Kronik nikotin uygulamaları ile ortaya çıkan ve bağımlılıkla yakından ilişkili olduğu düşünülen nikotinik reseptörlerdeki “up-regülasyon” sadece erkek deney hayvanlarında oluşmaktadır. Dişiler de “up-regülasyon” gösterilememiştir(31). Nikotinin ödül etkisini gösteren şartlı yer tercihi dişilerde ve erkeklerde farklı şart ve dozlarda oluşabilmektedir(32, 33). Yer öğrenme deneyleri dahil nikotinin daha pek

çok etkisinde cinsiyet farkı olduğu bilinmektedir(25, 34, 35). Günümüzde sigara bırakma tedavilerinde kadınlardaki başarı oranı çok daha düşüktür. Çünkü cinsiyet farkları gözlemlenmeden yapılan çalışmalar sonucu üretilen ilaçlar ve stratejiler erkeklerde daha etkili olmakta ve kadınlarda yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle nikotin bağımlılığı ile ilgili yapılacak çalışmaların sonuçlarının toplumun tamamına yarar sağlayabilmesi için cinsiyet farklarının da göz önünde bulundurulması zorunludur.

Seçici tohumlama yöntemi, toplumda görülen bir özelliği taşıyan bireylerin seçilerek çiftleştirilmesi ile oluşan yeni toplumda bu özelliği taşıyan bireylerin görülme sıklığının artırılması mantığına dayanır. Bu yöntem bin dokuz yüzlü yılların başlarında ortaya atılmış, sonlarında yoğun kullanılmaya başlanmıştır ve hala çok farklı alanlarda kullanılmaktadır. Örneğin eritrositlerinde düşük ve yüksek lösin transportuna sahip civciv soylarının üretilmesi, düşük ve yüksek antikor yanıtlılığına sahip kobay soylarının oluşturulması, strese mide lezyonu ile yanıt veren fare soylarının oluşturulması gibi amaçlarla kullanılmaktadır(36, 37). Yöntemin mantığı seçilen özelliği üyelerinin çoğunda gösteren bir topluluk oluşturulması ile bu özelliğin yapı taşlarını, faydalarını, zararlarını ya da bundan korunma yollarını daha kolay saptayabilmektir. 1980'lerden itibaren bu yöntem alkol bağımlı sıçan ve fare soylarının üretiminde de kullanılmaya başlanmıştır(38).

Araştırmalar sigaraya başlama, bağımlı olma ve sigarayı bırakma açısından genetik yatkınlığın çok önemli olduğunu göstermektedir(39). Hayvanlar seçici tohumlama sırasında bağımlılık yapıcı maddelerin belirli etkilerine olan duyarlılıklarına göre seçilir ve üretilirler. Bu nedenle seçici tohumlama bağımlılık hayvan modeli oluşturulmasına uygun bir yöntemdir ve bağımlılığa genetik yatkınlığın araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Grubumuzun 2011 yılında yaptığı bir çalışmada naif Sprague Dawley cinsi sıçanlara nikotine serbest erişim sağlandığında (çift suluk yöntemi) sıçanların üçte birinin nikotinli suyu daha çok içtiği, üçte birinin içmekten kaçındığı üçte birinin ise kararsız davrandığı gösterilmiştir(32). Bu sonuç insanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalara benzerdir yani insanlarda da sigaraya bağımlı olma potansiyeli %33, sigara bağımlılığına dirençli olma da %33 civarındadır. Bu araştırma sonrasında laboratuvarımızda Sprague Dawley sıçanlar oral nikotin tercihlerine göre sınıflandırılıp seçici tohumlama ile üretilmeye başlanmıştır(40-42).

Literatürde alkol tercih eden sıçan soyları bulunmasına rağmen nikotin tercih eden sıçan ya da fare soyu bulunmamaktadır(43-45). Az sayıda çalışmada nikotinin lokomotor aktiviteyi arttırıcı, hipotermik veya konvülsif etkilerine olan duyarlılıklarına göre seçilerek üretilmiş

hayvanların kullanıldığı da bilinmektedir(46-49). Nikotin tercih eden soy olarak literatür taraması yapıldığında bizim çalışmalarımız dışında sadece birkaç yayına ulaşılmaktadır. Bu yayınlar genellikle bir ya da iki nesil nikotin alan sıçanlardan elde edilen sonuçlardır. Nikotin tercih eden ve etmeyen soy oluşumu bizim grubumuz dışında literatürde bulunmamaktadır.

Daha önceki yayınlarımızda, grubumuzun ürettiği T ve nT sıçanların 8. ve 9. nesillerde nikotin tercihlerinin arttığını gösterdik(40, 41). Bu yayınlarda T sıçanların hem toplam tükettikleri nikotin miktarının arttığını hem de nikotin tercih eden anne ve babandan doğan yavrular arasında nikotin tercih etmeyen ve kararsız yavruların sayısının azaldığını da gösterdik. Sekizinci nesilde gerçekleştirilen bu çalışmamızda 6 hafta oral nikotin uygulamasının son haftasında lokomotor aktivitenin, nikotin tercih eden grupta, tercih etmeyen gruba oranla, daha yüksek olduğunu gösterdik(41). Kronik oral nikotin uygulaması sonrasında hayvanlar yoksunluğa sokulduğunda her iki grupta da lokomotor aktivite azalmıştı ancak azalma nikotini tercih eden grupta daha belirgindi. Sekizinci jenerasyonda yoksunluk ile tetiklenen somatik bulgular her iki grupta da artarken, kaçma tipi davranışların sadece nikotini tercih eden grupta azaldığı gösterilmiş.

Ayrıca 18. nesilde alkol ve nikotin tüketimlerinin paralel olarak arttığını gösteren bir yayın daha literatüre girmiştir(42). Bu yayında, T soyundan gelen sıçanların kontrollere göre hem daha fazla alkol tükettiği hem de denedikleri ilk günden itibaren nikotini en üst düzeyde tükettikleri gösterilmiştir.

Literatürde farklı nikotin uygulamaları kullanılarak ortaya çıkan lokomotor aktivite değişikliklerini araştıran birçok çalışma olmasına karşın nikotini tercih eden ve tercih etmeyen sıçan soylarında nikotinin lokomotor aktiviteye etkilerinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Grubumuz tarafından yapılan bir çalışmada (50) doğum sonrasında nikotinle hiç karşılaşmamış T ve nT sıçanların bazal lokomotor aktivite düzeyleri arasındaki farklar incelenmiştir. Bir başka araştırmada(41) ise 6 hafta kronik oral nikotin uygulamasının iki grubun lokomotor aktivitesine etkileri karşılaştırılmıştır. Ancak, yetiştirdiğimiz sıçan soylarının lokomotor duyarlılaşma açısından farklılıkları hiç araştırılmamıştır. Bu çalışmada T, nT ve naif sıçan gruplarına 8 hafta boyunca günde tek doz nikotin enjeksiyonu yapılarak ve nikotin dozu iki haftada bir arttırılarak günler içinde gelişmesi beklenen lokomotor duyarlılık açısından gruplar arası farklar incelenmiştir. Grupların arasındaki lokomotor duyarlılık farkları, nikotinin T, nT ve naif sıçanların mezokortikolimbik dopaminerjik sistemlerine etkilerindeki farkları yansıtacaktır. Grubumuzun ileriye dönük temel hedefi, bu sıçan soylarının nikotin bağımlılığının genetik ve

moleküler temellerinin çalışılabileceği ve nikotin bağımlılığında yeni tedavi stratejilerinin denenebileceği geçerli hayvan modelleri olduklarını kanıtlamaktır. Planladığımız bu araştırma, temel hedefimiz doğrultusunda bize çok önemli bilgiler sağlayacaktır. Ürettiğimiz T ve nT sıçan soylarının nikotin bağımlılığı açısından geçerli hayvan modelleri olduklarını kanıtladıktan sonra bu hayvanlarda farklı tedavi stratejileri çalışılmaya başlanacaktır. T ve nT sıçan soylarının, nikotin bağımlılığına yol açan genetik ve moleküler değişikliklerin gösterilmesinde ve bağımlılık alanında yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde önemli bilgiler sağlayacağına inanıyoruz.



2 GENEL BİLGİLER

2.1 Nikotin

Nikotin, sigaranın içerisinde bulunan radon, metanol, toluen, bütan, DDT, hidrojen siyanür, kadmiyum, aseton, naftalin, polonyum, arsenik, amonyak, karbon monoksit gibi toksik maddelerden biridir. Nikotinin esas kaynağı olan tütün bitkisi, patlıcangiller (solanacea) takımına ait bir bitki ailesi içinde bulunmaktadır; nikotin, bitkinin kökünde üretilmekte ve yapraklarında biriktirilmektedir(51). Endemik bazı bitki türlerinin yapraklarında bulunan bir alkaloid olan nikotinin esas kaynağı kurutulmuş tütün bitkisinin (Nicotinia tobacum) yapraklarıdır. Sigarada da bulunan temel psikoaktif madde olan nikotin, bağımlılığa yol açan ana pekiştirici özellikten sorumludur(52, 53).

Nikotin, tütün kullanımını motive ettiği gösterilen ana bileşiktir. Nikotinin olumlu pekiştirici etkileri, insanlarda ve çeşitli kemirgen ve primat türlerinde gösterilmiştir(54-57).

Tipik ve yaygın olarak kullanılan bir sigarada 6-11 mg nikotin bulunur ve sigara içildiğinde bunun 1-3 mg'ı kana geçmektedir. Hidrokarbonlardan meydana gelen katran, akciğerlere karsinojenik özelliği bulunan küçük parçacıklar şeklinde gelmektedir ve sigaranın tat ve kokusunu da önemli oranda bu parçacıklar sağlamaktadır. Sigara içine çekilerek içildiğinde tenis kortu kadar bir büyüklüğe sahip olan akciğerlerimizimizin emici yüzey alanı tarafından bu maddeler tutularak emilmektedirler. Tütün çiğnendiğinde ya da burna çekildiğinde ağız ve burun mukozalarından çok daha az absorbe edilir(58).

Nikotin, %70-80'i karaciğere özgül enzim olan sitokrom P450 2A6 (CYP2A6) ile kotinine dönüşmektedir ve daha sonra kotinin ve diğer nikotin metabolitleri idrarla atılmaktadır. CYP2A6 enzim aktivitesinin yüksek olması, nikotin bağımlılığıyla da ilişkilendirilmiştir(59). Genetik olarak CYP2A6 aktivitesi düşük olan bazı kişilerde nikotin metabolizması azalmıştır ve bu kişiler, ya sigara içicisi olmazlar ya da sigara bağımlısı olurlarsa çok daha az sigara içmektedirler. Bu da nikotin metabolizmasının yavaşlamasının sigara içiciliğine karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir(58).

Nikotinin yarı ömrü ortalama 2 saattir. Bu nedenle sigara tiryakileri kanlarındaki nikotin düzeylerinin düşmesine bağlı olarak, yoksunluk belirtilerini yaşamamak için tekrar sigara içme zorunluluğu hissetmektedir. Gün içinde tekrar tekrar sigara içilmesi kandaki nikotin düzeyinde artışa ve nikotin pikine neden olmaktadır. Ancak bu daha büyük bir etki yaratamaz çünkü aynı zamanda tolerans (reseptör down regülasyonu ve diğer mekanizmalar ile) gelişmektedir. Gece

uykusu sırasında kişide orta derecede yoksunluk oluşur ve böylece bir gün önce gelişen tolerans kısmi olarak giderilebilmektedir(58).

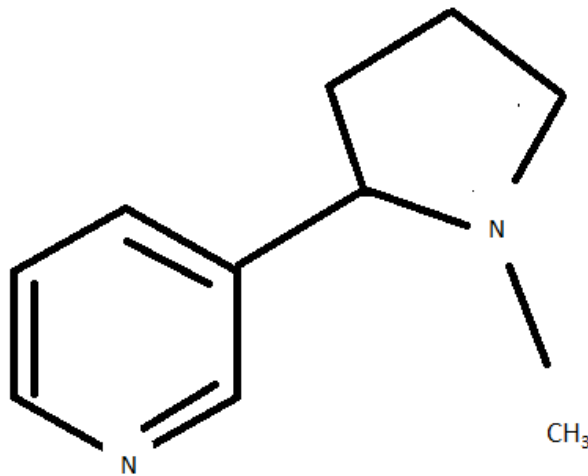
Nikotin, bağımlılık yapıcı etkilerini beyin ödül sistemini uyararak göstermektedir. Nikotin, eroin ve kokain ile birlikte en yüksek bağımlılık yapma potansiyeline sahip olan maddedir. Onları barbitüratlar ve alkol izlemektedir(60).

2.1.1 Nikotinin Adlandırılması

Eldeki veriler ışığında tütünün tarihte ilk üretildiği yer olarak Amerika kıtası düşünülmektedir, ilk kullanımı ise M.Ö 2000 yılına kadar gitmektedir. Tütün o zaman yerliler tarafından sarılarak solunmakta ve medikal amaçlı kullanılmaktaymış. Amerika'nın keşfinden sonra Kristof Kolomb ve yanındakiler tütünü gemilerle Portekiz'e taşımış, Portekiz'de bulunan Fransız Büyükelçisi Jean Nicot de Villemain de 16. Yüzyılda tütün tohumlarını Fransa'ya getirerek üretiminin burada yaygınlaşmasına aracılı olmuştur(61). Fransız bilim insanları tütün içindeki bağımlılık yapıcı maddeyi 1828 yılında izole ettiklerinde, Fransız diplomatın ismi anısına nikotin olarak adlandırmışlardır(51).

2.1.2 Nikotinin Yapısı

Nikotin, IUPAC (Uluslararası Temel Ve Uygulamalı Kimya Birliği) terminolojisine göre 3-(1-metil-2-pirolidin) piridin olarak adlandırılır. Piridin halkası ve pirolidin halkası içeren iki halkalı bir yapısı vardır (Şekil 1). Moleküler formülü $C_{10}H_{14}N_2$ şeklindedir(62). Saf haldeyken renksiz ve kötü kokulu bir sıvıdır. Yoğunluğu 1.009'dur. Molar kütlesi 162,23 g/mol'dür. Donma sıcaklığı $-79^{\circ}C$ ve kaynama sıcaklığı $247^{\circ}C$ 'dir.



ŞEKİL 1: Nikotinin Moleküler Yapısı

2.1.3 Nikotinik Reseptörler

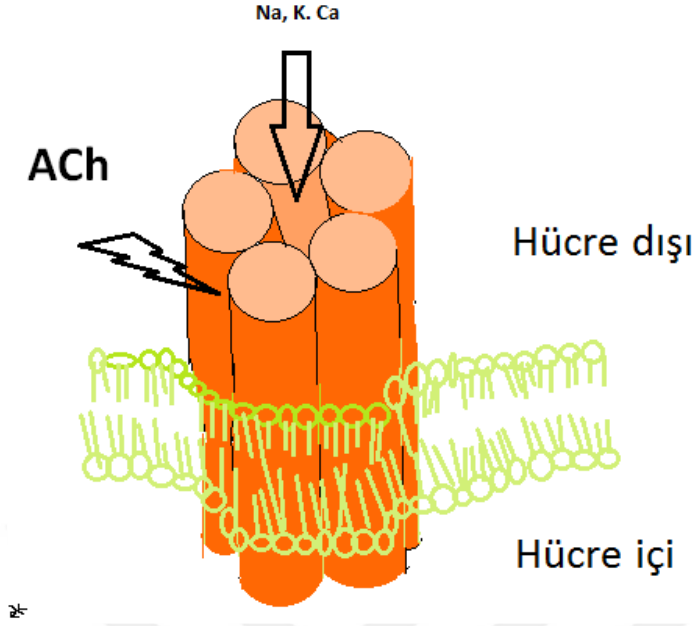
Asetilkolin (ACh), nikotinin de bağlanabildiği bir reseptör çeşidi olan nikotinik reseptörlerin doğal agonistidir. ACh vücutta asetilCoA ve kolinden sentezlenmektedir. Bu işlem kolin asetilaz (kolin asetil transferaz, CAT) ile yapılır. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) ve muskarinik asetilkolin reseptörü (mAChR) olmak üzere iki büyük grup ACh reseptörü (AChR) olduğu tespit edilmiştir. Muskarinik etki parasempatik son organ ve dokularda, nikotinik etki ise otonomik ganglion ve nöromusküler kavşakta gerçekleşen olaylardan sorumludur. Merkezi sinir sistemindeki kolinerjik etkiler hem nikotinik hemde muskarinik reseptörlerle ilişkili mekanizmaları içermektedir.

nAChRler nöronal ve kas tipi olmak üzere ikiye ayrılmaktadır(63). Nöronal olanlar vücutta merkezi sinir sistemindeki kolinerjik sinapslarda ve vücudun çeşitli yerlerindeki otonomik gangliyonlarda, kas tipi olanlar ise nöromusküler kavşakta bulunmaktadır. Özellikle nöronal nAChR, uyku-uyanıklık döngüsünde, ağrı duyusunun hissedilmesi ve değerlendirilmesi süreçlerinde, besin alımıyla ilgili temel yolaklarda, yorgunluk ve anksiyete gibi fiziksel ve bilişsel durumlarda önemli bir rol oynamaktadır.

Memelilerde bulunan sinir sisteminde sekiz α ($\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$) ve üç β alt biriminin kombinasyonları sonucunda farklı nöronal nAChRleri ortaya çıkmıştır. Nöronal nAChRlerde iki alt gruba ayrılmaktadır. İlk grup homomerik ya da heteromerik olabilen, $\alpha 7$, $\alpha 9$ ve $\alpha 10$ alt birimlerden oluşan α -bungaratoksin duyarlı alt tiplerdir. İkinci grup ise α -bungaratoksin duyarsız olan $\alpha 2$ -6 ve $\beta 2$ -4 alt birimlerin heteromerik kombinasyonlarından oluşan alt tiplerdir(64).

Nikotine yüksek afinite gösteren ve yavaş desentizite olma özelliği taşıyan $\alpha 4\beta 2$ hetero-oligomeri ve nikotine düşük afinite özelliği gösteren , hızlı aktive olan ve yüksek kalsiyum geçirgenliği özelliği bulunan $\alpha 7$ homo-oligomeri , beyinde en çok bulunan nAChR tipleridir(65).

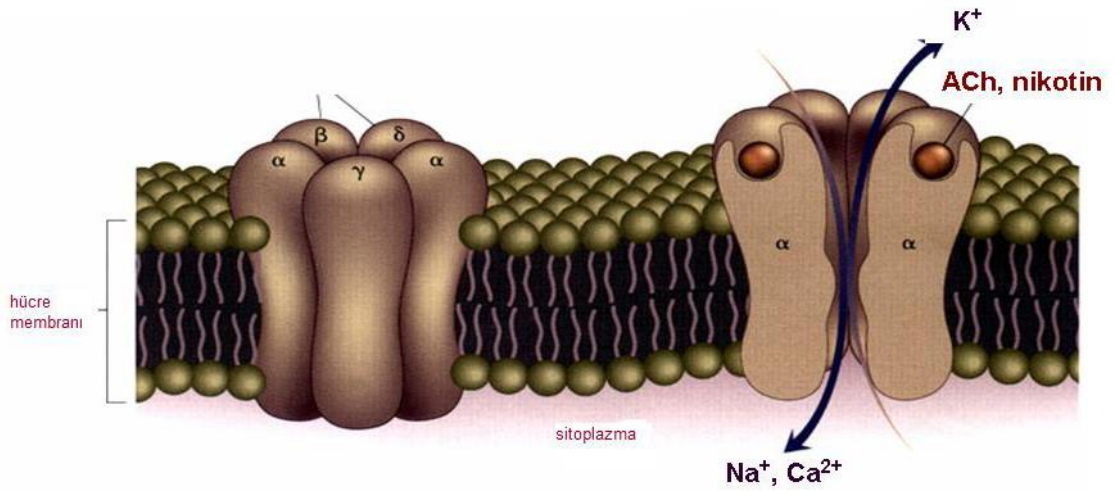
nAChR pentamerik özellikte (Şekil 2) ve ligand kapılı bir iyon kanalıdır, aynı zamanda bir katyon kanalı olma özelliği de mevcuttur. Tüm iyon kanallarının ortak özelliği olan merkezde iyonların geçebileceği bir por bölgesi içerir. Merkezin etrafında 5 adet alt birim, kanalın fonksiyonel bir reseptör özelliği kazanabilmesi için farklı ve uygun konbinasyonlarda birleşmesi ile oluşur(66-68).



ŞEKİL 2 : Nikotinik asetilkolin reseptörünün şematik görünümü

Her pentamer için bağlanma bölgesinin sayısı değişmektedir. Örneğin bir homopentamer olan $\alpha 7$ nAChR için 5 iken, bir heteropentamer olan $\alpha 4\beta 2$ nAChR için 2'dir(10, 63).

Nikotin nikotik reseptörlerin α alt ünitelerinde bulunan bağlanma bölgelerine bağlanarak etkisini gösterir (Şekil 3). Örneğin $\alpha 4\beta 2$ nAChR'ne 2 nikotin bağlanır kanal açılır ve Na geçişine izin verir.



ŞEKİL 3 : nAChR alt birimlerinin pentamerik düzenlenişi . Asetilkolin ve Nikotinin reseptörüne bağlanması sonucunda meydana gelen iyonik (katyonik) akış (53)

nAChR'nin lipid parçaları ve transmembran proteini arasındaki evrimsel olarak korunmuş yüzeyinin, reseptör fonksiyonlarının modülasyonunda görev aldığı düşünülmektedir(69, 70).

2.1.4 Nikotinik Reseptörlerin Merkezi Sinir Sisteminde Dağılımı

Nikotin nAChRlere bağlanarak etkilerini göstermektedir. nAChRlere bağlanıp onları aktive eden endojen nörotransmitter ise asetilkolindir (ACh). Birçok nAChR presinaptik bölgeye yerleşir ve nörotransmitter salımına aracılık eder(71). Nikotin, nAChRleri uyarak etkisini ortaya çıkarır ve nikotinin uygulanması merkezi sinir sistemindeki birçok nörotransmitterin salımını uyarmaktadır(72).

nAChRler VTA'da ve NAc'de oldukça yoğun bir şekilde bulunmaktadır. VTA'daki nAChRler dopaminerjik ve GABAerjik hücre gövdeleri üzerinde ve glutamaterjik ve GABAerjik sinir sonlanmaları üzerinde bulunmaktadır. VTA'da bulunan dopaminerjik hücre gövdeleri üzerinde bulunan nAChR tipleri $\alpha 4\alpha 5\beta 2$, $\alpha 4\alpha 6\alpha 5\beta 2$, $\alpha 7$; GABAerjik hücre gövdeleri üzerinde bulunan nAChR tipleri ise $\alpha 4\beta 2\alpha 5$, $\alpha 7$ 'dir. GABAerjik sinir sonlanmaları üzerinde bulunan nAChR tipleri ise $\alpha 4\beta 2$; glutamaterjik sinir sonlanmaları üzerinde bulunan nAChR tipi ise $\alpha 7$ 'dir(73-75).

Striatumda bulunan nAChR tipleri; dopaminerjik, GABAerjik ve glutamaterjik sinir sonlanmaları üzerinde bulunmaktadır. Striatumdaki dopaminerjik sinir sonlanmaları üzerinde bulunan nAChRler, $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 4\alpha 5\beta 2$, $\alpha 6\beta 2\beta 3$, $\alpha 4\alpha 6\beta 2, \beta 3$; GABAerjik sinir sonlanmaları ve glutamaterjik sinir sonlanmaları üzerinde bulunan nAChR'ler, $\alpha 4\beta 2$ 'dir(74-77).

PFC'de bulunan tabaka V'te piramidal nöronlar üzerinde $\alpha 7$ nAChRleri bulunmaktadır(76). Tabaka II-III ve VI'da bulunan GABAerjik ara nöronlarda ise $\beta 2$, tabaka V'te bulunan GABAerjik ara nöronlar ise $\alpha 4\alpha 5\beta 2$ nAChRler tespit edilmiştir(78). PFC'de dopaminerjik sinir sonlanmaları üzerinde de yine bazı nAChR alt tiplerinin varlığı kanıtlanmıştır(79).

Aynı zamanda amigdala, talamus, hipotalamus, parietal korteks gibi alanlarda da nAChR tiplerine rastlanmıştır(80). Bazı beyin bölgelerindeki nikotinik alt ünite ve bağlanma özellikleri tablo 1'de özetlenmiştir.

Beyin Bölgesi	mRNA subüniti	³ H-NIC ve ³ HACH bağlama	α Bgt- 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 Nukleus	$\alpha 2, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 7, \beta 2, \beta 4$	+	+
Superior kollikulus	$\alpha 4, \alpha 7, \beta 2$	+	+

TABLO 1: Bazı beyin bölgelerinde nikotinik reseptör bağlanmaları ve mRNA altünitlerinin dağılımı.

2.1.5 Nikotin Etkileri

Nikotin, tütün ve tütün ürünlerinde bulunan bağımlılık yapıcı maddelerin en önemlisidir. Nikotin bağımlısı kişide akut nikotin uygulaması, öfori, bilişsel fonksiyonlarda ve özellikle dikkatte artış ve kaygının azalması gibi psikoaktif etkiler oluşturur, iştahı ciddi anlamda azaltır ve miyorelaksan özellik gösterir. Subjektif olarak değerlendirilen bu etkiler, insanlarda, primatlarda, fare ve sıçanlarda yapılan nikotin uygulaması sonrası yapılan çeşitli davranış testleri ile gözlemlenmiştir(75, 81, 82). Bu etkilere ilaveten nikotin uygulaması fare ve sıçanlarda geçici iştahsızlığa ve kalıcı kilo kaybına yol açarken, yoksunluk durumunda ise aşırı yeme ve kilo alma görülür(83).

Nikotin, kan basıncını ve solunum hızını arttırmakta aynı zamanda taşikardiye sebep olmaktadır(84). Bu etkilerini adrenal medulladan salınan adrenalinin yapımını ve kana karışmasını arttırarak oluşturmaktadır. Nikotin ayrıca pankreastan insülin sentez ve salınım basamaklarını da baskılayarak hiperglisemiye sebep olmaktadır(85).

Kötüye kullanılan maddelerin en önemli özelliği ödül yollarını uyarmasıdır ve bağımlı kişi de bu yolları tekrar aktive etmeyi ister ki birkez daha haz duyabilsin. İşte bu durum bağımlılığın ana ögesidir ve bu mekanizmadaki temel nörotransmitter dopamindir(83). Nikotin, etkilerini nAChR'lerine bağlanarak gerçekleştirir. Mezokortikolimbik sistemde bulunan bu reseptörlere bağlanması sonucunda ödül sistemi aktifleşir. Nikotin VTA'daki dopaminerjik nöron gövdeleri üzerinde bulunan nAChRlerine bağlanarak doğrudan dopaminerjik nöronlarla sinaps yapan, GABAerjik ve glutamaterjik nöron gövdelerinde bulunan nAChRlere bağlanarak da dolaylı yoldan etkilerini ortaya çıkarmaktadır(81). Nikotin, nAChRlere bağlandığında, dopaminerjik nöronlardan dopamin salınımını uyarır(86). Nikotin uygulamasıyla uyarılan dopamin salınımının düzenlenmesinde VTA'da yerleşim gösteren nAChRler ana rolü oynasa da, striatumda bulunan dopaminerjik nöronlar üzerinde bulunan nAChRler de, NAc'de bulunan dopaminerjik nöronları etkileyerek dopamin salınımını düzenleme özelliğine sahiptir(53).

Nikotinin sistemik yolla uygulaması, NAc'den dopamin salınımını uyarmaktadır(87, 88). Aynı zamanda nikotini lokal olarak VTA'ya ve NAc'ye uygularsak da benzer şekilde dopamin salınımının arttığını görürüz(89). Lokal uygulamada NAc'de görülen dopamin salınımdaki artış, NAc'deki dopaminerjik sinir sonlanmaları üzerine yerleşmiş olan nAChRlerin direkt uyarılmasıyla olabileceği gibi, nikotinle uyarılan glutamat salınımdaki artışta bu süreçte rol oynar(77, 90). Nikotinin sistemik olarak uygulanması dopaminerjik nöronlardaki elektriksel aktiviteyi de arttırmaktadır(91).

Nikotinik reseptör antagonisti bir maddenin sistemik yolla verilmesiyle ya da doğrudan VTA'ya uygulanmasıyla NAc'den dopamin salınımı baskılanabilir(92). Hatta bu antagonist hem VTA'ya hem de NAc'ye uygulanırsa baskılama daha da artabilmektedir(93).

Nikotin, VTA'da glutamat ve GABA salınımının düzenlenmesinde de rol oynar(94). Nikotin alımı sonrası ödül mekanizmalarının tetiklenmesinde ve bağımlılık oluşumunda ve adaptasyon mekanizmalarının gelişiminde glutamat, GABA vb. nörotransmitterlerin de etkisi vardır(95). Kronik nikotin uygulaması VTA'da bulunan glutamaterjik akson terminalleri üzerindeki $\alpha 7$ reseptörlerini sensitize ederek aktive eder ve GABAerjik aktiviteyi arttırır(76). Artan GABAerjik aktivite, NAc'deki dopaminerjik nöronlar üzerine inhibisyon yapar ve dopamin seviyelerini azaltır. Dişilerde glutamat artışı erkeklere nazaran daha güçlü olduğu için artmış glutamat seviyeleri GABA seviyelerini arttırmak suretiyle daha fazla dopamin baskılanmasına sebep olur. Bu yüzden dişilerde yoksunluk esnasında erkeklere nazaran negatif afektif semptomlar çok daha şiddetli olarak görülür(96).

Parkinson hastalığı, nigrostriatal dopaminerjik yolaktaki nöronların yıkımıyla giden bir hastalıktır(97). Parkinson hastalığında dopamin eksikliği ön planladır ve kronik nikotin alımı

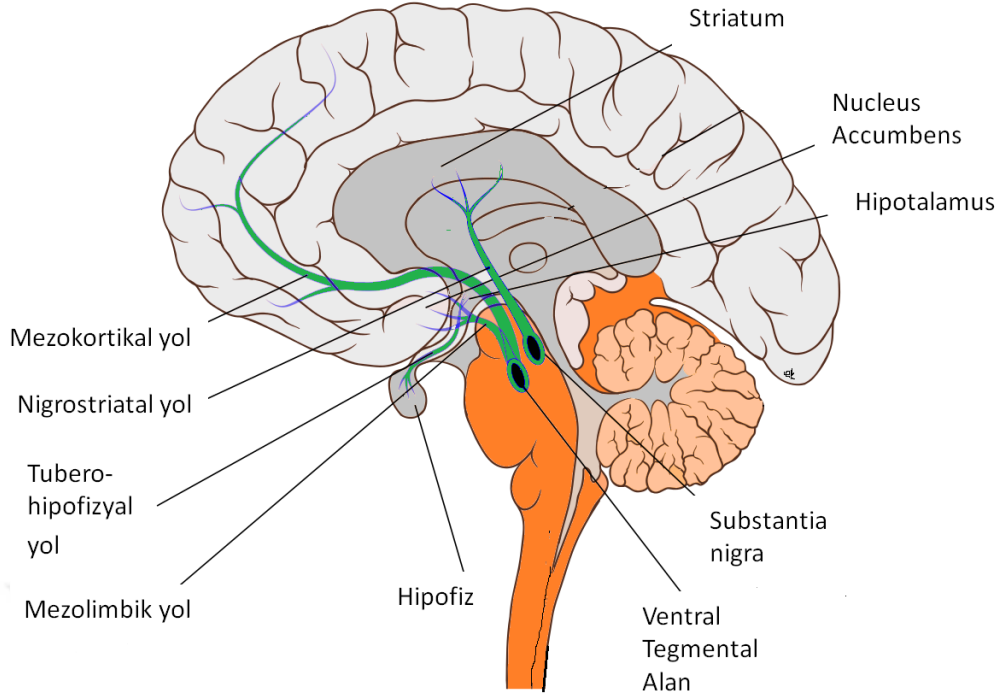
dopamin seviyesini arttırdığı için Parkinson içinde koruyucu bir etki göstermektedir. Nikotin alan bireylerde Parkinson oranı almayanlara kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur(98). Nikotin alımı ile tetiklenen dopaminerjik sinir sonlanmaları üzerinde bulunan nAChRler, dopaminerjik sistemdeki striatal aktivitenin ve dopamin salımının düzenlenmesinin esas sorumlusudur(99). Nikotin, deney hayvanlarıyla yapılan bir çalışmada, Parkinson modeli oluşturmada kullanılan bir ajan olan MPTP'nin (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) uygulanması sonrası oluşan striatal hasara karşı nöronları korumuş ve motor fonksiyonlarda iyileşme sağlamıştır(100).

2.2 Mezokortikolimbik Sistem

Mezokortikolimbik sistem, memelilerde orta beyinden köken alan, birbirleriyle bağlantı içerisinde bulunan beyin bölgelerinin oluşturduğu bir yapıdır(95). Bu sistemin en önemli bileşeni dopaminerjik sistemdir.

Merkezi sinir sisteminde dopaminerjik iletide görev yapan nöronlar üç temel yolak oluşturmaktadır (Şekil 4) :

- 1- Nigrostriatal yol
- 2- Mezokortikolimbik yol
- 3- Tuberohipofizyal yol



ŞEKİL 4 : Beyindeki dopaminerjik yolların şematik görünümü:
Mezokortikolimbik yol, Nigrostriatal yol, Tuberohipofizyal yol

Substantia nigranın zona compacta bölgesinde yer alan dopaminerjik nöron gövdelerinin uzantıları, diensefalonda medyal ön beyin demeti içinden geçer ve dorsal striatuma projeksiyon yaparak dopaminerjik nigrostriatal yolağı oluşturur. Motor hareketin kontrolünün sağlanması ve sürdürülmesinden esas olarak sorumlu olan bu yolaktır(101). Mezokortikolimbik yol , mezolimbik ve mezokortikal yolların birleşmesinden oluşmaktadır. Mezolimbik yol temel olarak VTA'daki dopaminerjik nöronlarda başlar ve NAc'ye uzanan projeksiyonları içerir. VTA'da bulunan dopaminerjik nöronların aksonları ayrıca AMG ve hipotalamusa da uzanmaktadır . Mezokortikal yol ise VTA'da yerleşen dopaminerjik nöronlardan başlar. Bu nöronların aksonları PFC'ye ulaşır(102-104). Tuberohipofizyal yol, hipotalamus ve hipofiz arasındaki dopaminerjik liflerden oluşmaktadır(105).

VTA'dan köken alan mezokortikolimbik sistem bağımlılık , ödül ve pekiştirme gibi süreçlerde rol oynayan en temel yolak olarak karşımıza çıkar(104, 106, 107). Bu sistem birçok kötüye kullanımı olan maddenin ödül etkilerine katkı sağlar ve bağımlılığın temel bileşenidir.

Mezokortikolimbik sistem projeksiyonlarının başladığı VTA iki ana hücre popülasyonunu

barındırmaktadır. VTA'daki hücrelerin yaklaşık %60'ı dopaminerjik nöronlardır. Geriye kalanlar ise GABAerjik, kolinerjik ve az miktarda da glutamaterjik nöron sonlanmalarıdır. VTA bulunan dopaminerjik nöronlar NAc, PFC ve AMG'ye projeksiyonlar göndermektedir. Buna ek olarak VTA, GABAerjik nöronları da içermektedir(76, 108, 109). Bu nöronlar PFC ve NAc'e projekte olmakta ve VTA'daki dopaminerjik nöronları inhibe etmek suretiyle dopamin salınımını baskılamaktadır. (109) VTA aynı zamanda PFC'den glutamaterjik girdiler de alır(110). Bu glutamaterjik girdiler dopamin salınımı üzerine önemli regülatör etkilerde bulunmaktadır.

2.2.1 Mezokortikolimbik Sistem Ve Nikotin

Birçok beyin bölgesi nAChR içerir ve nikotin bağımlılığında rol oynar. nAChRler mezokortikolimbik sisteme geniş bir şekilde dağılmıştır ve etkilerini çok geniş bir alanda gösterirler. VTA, NAc, PFC ve AMG gibi mezokortikolimbik alanlarda bol miktarda nAChR bulunmaktadır(74, 75, 77).

VTA'da bulunan dopaminerjik nöronlar, kolinerjik , glutamaterjik ve GABAerjik afferentlerle ilişki halindedir. Nikotin, kolinerjik, glutamaterjik, GABAerjik sinir sonlanmalarında, dopaminerjik ve GABAerjik nöron gövdelerinde bulunan AChRlerine bağlanarak VTA nöronlarının aktivitesini modüle eder(111, 112).

Yapılan fonksiyonel MR çalışmaları sonuçlarına göre, sıçanlarda akut nikotin uygulaması PFC, NAc, VTA, substansiya nigra ve talamus bölgelerinde aktivite artışına neden olabilmektedir(113).

Kronik olarak nikotine maruz kalmak, ödül sisteminde değişikliklere sebep olur ve NAc'de dopamin salınımını arttırır(114). İstemli olarak tüketimine imkan tanınan nikotinin, intrakraniyal self uygulama sonucunda elektriksel uyarma düzeneğinde eşik değeri düşürdüğü saptanmıştır(115).

2.3 Seçici Tohumlama Yöntemi

Seçici tohumlama yöntemi, belirli bir özelliği taşıyan ya da sonradan oluşturulan bir özelliği barındıran hayvanların seçilerek çiftleştirilmesi ile orijinal soyuna benzemeyen yepyeni bir soyun ortaya çıkmasını sağlayan, hayvan çalışmalarında kullanılmak üzere orijinal soylar ve hayvanlar üretilmesini sağlayan bir tekniktir.

Bu yöntem bin dokuz yüzlü yılların başlarında ortaya atılmış, sonlarında yoğun kullanılmaya başlanmıştır ve hala çok farklı alanlarda kullanılmaktadır. Bunların ilk örneklerinden birini Wimer ve ark. kullanmış olup öğrenme, alkol tercihi, aktivite gibi özellikleri barındıran soylar üretmiş bu hayvanların üzerinde birtakım incelemelerde bulunmuştur. Başka bir örnek de Robert Tryon'un yaptığı bu çalışmadır(116). Tryon bu çalışmasında, çok da karmaşık olmayan bir labirent düzeneğinde hayvanların öğrenme davranışını incelemiş, doğru yolu bulup bulmadıklarına göre, hayvanları labirentte yolunu bulanlar ve bulamayanlar olarak iki farklı gruba ayırmış, daha sonra bu grupları da kendi içinde çiftleştirerek labirentte yolunu bulan ve bulamayan hayvan soyları oluşturmuştur..

Seçici tohumlama, biyokimyasal parametre içeriklerine göre hayvanların analiz edilmesi ve buna uygun soy üretim çalışmalarında da kullanılmıştır. Literatürde en çok örneğine rastladığımız çalışmalardan bazıları şunlardır; eritrositlerinde düşük ve yüksek lösin transportuna sahip civciv soylarının üretilmesi, düşük ve yüksek antikor yanıtılılığına sahip kobay soylarının oluşturulması, strese mide lezyonu ile yanıt veren fare soylarının oluşturulması..

Bu teknik, davranış çalışmalarının önemli bir kolunu oluşturan depresyon çalışmalarında da kullanılmıştır(117). Bu çalışmada bilim insanları depresyonun olası sebeplerini araştırmış ve kolinerjik- noradrenerjik reseptörler arasındaki dengenin bozulması sonucunda depresyon görülme sıklığında artış olması hipotezini kurarak kolinerjik agonist maddelere artmış yanıtı olan soy sıçanları üretmişler. Bu sıçanlarda zorlu yüzme testi gibi depresyon ölçümünde kullanılan bazı testleri uygulayarak depresyonun bazı nörohistokimyasal belirteçlerini göstermeye çalışmışlardır.

Seçici tohumlama yöntemi, bağımlılık araştırmalarının gelişmesine büyük katkı sağlama potansiyeli olan bir yöntemdir. Bu bağlamda alkolizm ve diğer bağımlılık türleri için kullanım alanları gittikçe yaygınlaşmaktadır. Alkol tüketiminin ve kötü amaçlı kullanımının araştırılmasında kullanılmak üzere literatürde bulunan ilk alkol tüketimlerine göre ayrılmış olan az ve çok alkol tüketen sıçan soyları(118) oluşturulmuş ve tamamen kendi istekleri doğrultusunda alkol tüketen bu sıçan soylarında yapılan çalışmalarda etanol verilmesiyle

beklenen uyarıcı etkinin görülmediği ancak aversif ve sedatif özelliklerinde azalma görüldüğü belirtilmiştir.

Seçici tohumlama yöntemi ile Ege Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde(EGEHAYMER) Sprague-Dawley cinsi sıçan soyları nikotini tercih etmelerine göre 3 gruba ayrılmışlardır. Nikotini en çok tercih eden, orta yoğunluklu (kararsız) tercih eden ve en az tercih eden şeklinde. Nikotini en çok tercih eden ve en az tercih eden soylar kendi aralarında çiftleştirilmek suretiyle nikotin tercihinine göre farklı sıçan soyları oluşturulmuştur. Çalışmamızda kullandığımız nikotini tercih eden (T) ve nikotini tercih etmeyen (nT) sıçanlar soy çalışmasının 25.jenerasyonu mensuplarıdır.

2.4 Lokomotor Aktivite

Lokomotor aktivite ölçümü, deney hayvanlarının hem anksiyeteye bağlı gelişen duygularının hem de dopaminerjik sisteminin değerlendirilmesinde oldukça yaygın olarak kullanılan bir testtir(119, 120). Daire, kare veya dikdörtgen şeklinde, ortamı aydınlatılmış bir mekanda üstü açık ya da şeffaf bir kapakla kapatılmış olarak, yan duvarları saydam ya da opak malzemeden yapılmış çok değişik formları olan ortamlarda lokomotor aktivite ölçümü yapılabilir(121-124).

İlk olarak açık alan testi yapılan hayvanlarda ölçülen diğer parametrelerle birlikte lokomotor aktivite ölçümleri de yapılmaya başlanmıştır. 1934 yılında hayvanların emosyonel durumlarını test etmek amacıyla Hall ve ark. tarafından daire şeklinde bir alan tasarlanmıştır(121). Bu çalışmada Hall ve ark. sıçanın alana koyulması sonucunda oluşan dışkılama sayısı ve ürkeklik arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Daha sonra 1957'de Zimbardo ve ark.(124) dikdörtgen şeklinde bir aparat , 1971 yılında ise Soubrie(125) kare şeklinde bir aparat tasarlamıştır. Fare, domuz, koyun, tavşan, kedi, eşek, primat, tavuk, arı, ıstakoz gibi çok çeşitli türlerin lokomotor aktivite ölçümü açık alan testi aparatlarında yapılabilmektedir(119, 126). Deneklerin ölçüm esnasında grup ya da alışık olduğu kafesinden alınarak tek başına bilmediği bir ortama bırakılması ve geniş bir alanda yalnız başına kalması(agorafobi) anksiyete davranışı sergilemesine yol açmaktadır. Çünkü açık ve geniş ortam birçok hayvanda olduğu gibi kemirgenler içinde sıkıntı yaratan bir durumdur(119). Düzenegin içine açık alana bıraktığımız hayvan anksiyetenin artışına bağlı olarak periferik bölgelere kaçar ve orada zaman geçirmek ister. Alanın duvarına dokunarak kaçış yolu arar. Bu davranışa thigmotaksis denir(119). Alana koyulan hayvanlarda yeni çevre hem merak uyandırmakta hem de anksiyeteye yol açmaktadır.

Bu iki duygunun çatışması sonucunda anksiyete ağır basarsa hayvan hareketsiz kalacak böylece lokomotor aktivitesi de düşük bulunacaktır. Oysa merak duygusunun ağır basması durumunda çevreyi incelemek için hareket edecek ve kaçmak için yollar arayacaktır. Tabi bu davranışlar hayvana uygulanacak maddeler ya da başka etmenlerle değiştirilebilmektedir.

Açık alanda yapılan bu ölçümlerle elde edilen lokomotor aktivite anksiyeteyele değişebildiği için araştırmacılar spontan lokomotor aktiviteyi ölçebilmek adına yeni düzenekler geliştirmiştir. Bunların ilklerinden olan bu çalışmada(127) 27x27x27 cm ölçülerinde bir aparat kullanılmıştır. Yine 1970 yılında Stolerma'nın kullandığı düzenek de lokomotor aktivite ölçümünde sıklıkla kullanılan bir model olmuştur(128). Bu düzeneklerde açık alan testinin yapıldığı çeşitli hayvan gruplarının aksine daha sınırlı ve belli hayvan grupları kullanılmaktadır. Fare, sıçan, bazı balık türleri ve drosophila bunlardan bazılarıdır.

Ölçümlerin yapıldığı deney düzeneğinin köşelerinde fotoseller bulunmakta ve hayvanın hareketlerini algılayarak spontan lokomotor aktivite ölçümü yapılabilmektedir. Günümüzde daha gelişmiş versiyonları da bulunan bu düzeneğin temel mantığı hala geçerlidir. O da şudur ki, açık alan testinde hayvan boş bir alana koyulduğunda açık alan anksiyetesinden dolayı spontan lokomotor aktivitesini gösterememekte, dolayısıyla hayvanda dopaminerjik sistemi uyaran herhangi bir maddenin etkisini ya da doğrudan dopaminerjik sistemi değerlendirmek mümkün olmamaktaydı. Kendi kafesi boyutlarında ve benzer yapılanmada bir test aparatında ölçümlerin yapılması bu sorunun aşılmasını sağladı ve spontan lokomotor aktivite ölçüm teknikleri çok gelişmiş olsa da araştırmalarda hala aynı temel düzenek modeli kullanılmaktadır.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda nikotin ile lokomotor aktivite arasındaki ilişkiyi, cinsiyet farklarını da gözönünde bulundurarak irdeleyen bir çalışma modeli kullanılmıştır. Hayvanlar aşağıda anlatılacak olan süre ve miktarda nikotin ve serum fizyolojik uygulamasını enjeksiyon yolu ile almış ve spontan lokomotor aktiviteleri ölçülmüştür.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda hiç nikotinle karşılaşmamış, nikotin tercih eden ve etmeyen sıçan soyları ile naif sıçanlar yer almıştır. Naif Sprague Dawley erişkin sıçanlar, T (nikotin tercih eden) erişkin sıçan soyları ve nT (nikotin tercih etmeyen) erişkin sıçan soyları Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilmiştir. Nikotin tercih eden/etmeyen sıçan soylarının 25. nesli bu çalışmada kullanılmıştır. Çalışma, Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi Fizyoloji Çalışma Odasında gerçekleştirilmiştir. Çalışma için fizyoloji çalışma odasına getirilen sıçanlar standart deney hayvanları bakım şartları (20-22 derece ; 12-12 saat aydınlık-karanlık döngüsü, serbest su ve beslenme rejiminde) altında tutulmuşlardır.

3.1.1 T ve nT Soyu:

Çalışmamızda seçici tohumlama yöntemi ile oluşturulan T ve nT sıçan soyu kullanılmıştır. Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde Sprague Dawley cinsi dişi ve erkek sıçanlardan seçici tohumlama yöntemi ile T sıçan soyları oluşturulmuştur. Uygulama esnasında, sıçanlar nikotin tercihlerinin saptanacağı dönemde 6 hafta boyunca tekli kafeslere alınmışlardır. Tekli kafeslerde çift suluk yöntemi ile biri sakkarin ile tatlandırılmış nikotinli su (ilk 2 hafta 10 mg /L sonraki 4 hafta 20 mg / L nikotin baz ve 10 mg /L sakkarin) diğeri sakkarinli su (10 mg / L) olmak üzere sıçanların oral nikotin tercihi saptanmıştır. Bu sıçanların tükettikleri sıvı miktarları haftalık olarak sürekli ölçülmüş ve kaydedilmiştir. 6 haftanın sonunda sıçanların tükettikleri nikotin miktarları Ward analizine tabi tutularak gruplandırılmıştır. Analiz sonunda sıçanların yaklaşık %30'u nikotini maksimum düzeyde içerken %30'u minimum düzeyde tüketmiş, kalan %30 ise kararsız davranmıştır. Maksimum ve minimum nikotin tüketen sıçanlar kendi aralarında eşleştirilmiştir. Nikotin tüketiminde kararsız olan ara grup eşleştirilmeye dahil edilmemiştir. Doğan yavrular erişkin yaşlara gelince yeniden

nikotin tercihlerine bakılarak tekrar kendi aralarında eşleştirilmiştir. Eşleştirmeler sırasında olabildiğince kardeşler eşleştirilmemiş ve sıçanların inbred olmaları önlenmeye çalışılmıştır. 20 nesil boyunca bu işlem tekrarlanarak nikotin tercih eden ve etmeyen (kaçman) sıçan soyları üretilmiştir. Çalışmamızda, hala devam eden seçici tohumlama yönteminin 25. soyuna ait sıçanlardan 72 adet kullanılmıştır.

3.1.2 Deney Grupları

Klasik doz-yanıt çalışmalarında, her ilaç dozu farklı hayvan gruplarına uygulanır ve bu nedenle çok fazla deney hayvanı kullanımı gerekir. Fakat kronik nikotin enjeksiyonları sırasında artmış lokomotor aktivite yanıtının ortaya çıkarılabilmesi için her ilaç dozunun farklı bir hayvan grubuna uygulanması şart değildir. Bu araştırmada, aynı deney grubuna en düşük dozdan başlayarak tüm nikotin dozları ikişer hafta süre ile uygulanacaktır. Böylece araştırmamız, uygulanan tedavi açısından sadece iki grup (serum fizyolojik ve nikotin grubu) ile tamamlanabilecektir. Araştırmadaki deney grupları ile ilgili bilgiler aşağıda Tablo 2’de özetlenmiştir.

	Serum fizyolojik		Nikotin	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
K	9	9	9	9
nT	9	9	9	9
T	9	9	9	9

TABLO 2. Deney grupları ve sıçan sayısı.

K: Kontrol **T:** Nikotin tercih eden soy **nT:** Nikotin tercih etmeyen soy

3.2 Uygulanacak Maddeler

Nikotin ditartarat dihidrat (Acros Organic) serbest baza göre orantılandırılarak ml de 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mg serbest baz olacak şekilde hazırlanmış ve PH 7.4 e ayarlanmıştır. Enjeksiyonlar subkütan olarak sırt derisi altına, omurgaya paralel olacak şekilde her gün her sıçana aynı saatte olacak şekilde planlanarak yapılmıştır. Hafta sonu ve tatil günlerinde de enjeksiyonlara devam edilerek sıçanların yoksunluğa girmesine olanak verilmemiştir.

Serum fizyolojik: %0,9 NaCl steril solüsyonu kontrol gruplarına, her hayvana 1 ml/kg dozda ve subkütan enjeksiyonlar şeklinde uygulanmıştır. Zamanlama nikotinle paralel olarak hergün her hayvana aynı saatte olacak şekilde planlanmış ve uygulanmıştır.

3.3 Çalışma Deseni

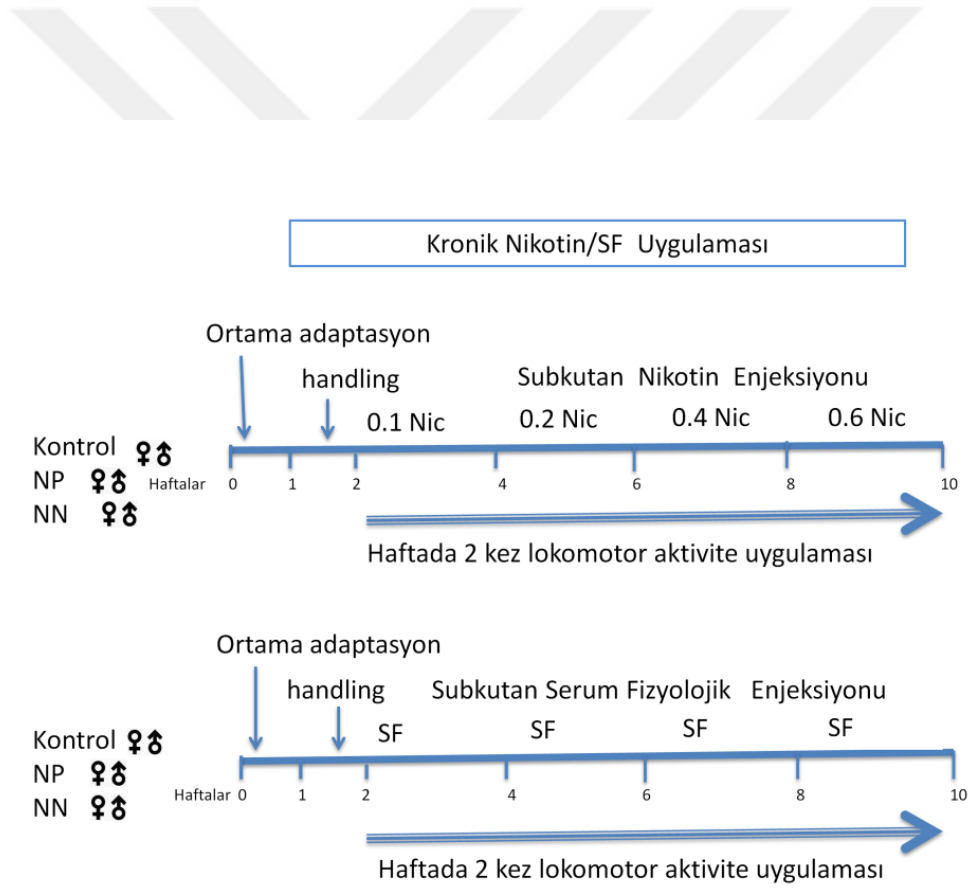
Çalışmamızda, akut ve kronik nikotin uygulaması sırasında farklı nikotin dozlarına yanıt olarak ortaya çıkan lokomotor aktivitenin ölçümü sayesinde kontrol (K), nikotini tercih eden (T) ve nikotini tercih etmeyen (nT) dişi ve erkek sıçanlarda doz-yanıt etkileri araştırılmıştır.

Çalışmanın başlangıcında ilk iki hafta sıçanların ortama ve araştırmacıya adaptasyonu sağlandı. İkinci haftanın sonunda enjeksiyonlara ve lokomotor aktivite testlerine başlandı. Toplamda 12 grubun olduğu (n=9) çalışmamızda sıçanların yarısına nikotin (N) (0,1-0,2, 0,4,0,6 mg/kg) enjeksiyonu yapılırken, diğer yarısına ise serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapılmıştır. Her nikotin dozundan her sıçana 14 gün boyunca enjeksiyon yapılırken uygulamanın 4 gününde (1-4-8-12.günler) lokomotor aktivite kayıtları alınmıştır. Haftanın altı günü (pazartesi-cumartesiye) lokomotor aktivite ölçümleri devam etmiş olup ölçüm yapılmayan pazar günlerinde de hayvanların yoksunluğa girmemeleri adına enjeksiyonlar yapılmaya devam edildi. Ancak Pazar günü lokomotor aktivite ölçümü yapılmadı.

İlk uygulama olan 0,1 mg/kg nikotinin ilk uygulaması akut nikotin etkisini saptamak için ayrıca istatistiğe alınmıştır. Hergün her gruptan 3 hayvana yani toplamda 36 hayvana lokomotor aktivite ölçümü yapılmıştır. Hayvanlara her gün, aynı saatte subkutan serum fizyolojik (SF) ya da nikotin enjeksiyonu yapıldı. Ölçüm yapılacağı günler, deneye tabi tutulacak olan 36 hayvan 6'şarlı gruplar halinde enjeksiyondan hemen sonra lokomotor aktivite kafeslerine alındı ve 1 saat süre ile burada tutuldu. Locomotor aktivite ölçümü hergün 6 saat sürecek şekilde planlandı ve uygulandı. Aynı gün lokomotor aktivite ölçümü yapılmayan

hayvanlara ise nikotin /serum fizyolojik enjeksiyonları aynı saatte hayvanların kendi kafeslerinde uygulanmaya devam edildi.

Üçüncü hafta, yani ilk iki haftalık habitüasyon süresinin hemen akabinde nikotin enjeksiyonlarına 0.1 mg/kg (serbest baz) doz ile başlandı. İki hafta (14 gün) süre ile nikotin her gün aynı dozda uygulandı; her sıçandan haftada 2 kere (iki haftada toplam 4) lokomotor aktivite kaydı alındı ve 5. hafta 0.2 mg/kg'lık doza geçildi. Bu düzen içinde 8 haftada tüm dozların (0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mg/kg) uygulanışı tamamlandı ve lokomotor aktiviteyi en fazla arttıran doz/dozlar saptandı.



ŞEKİL 5: Çalışma Deseni

3.4 Lokomotor Aktivite Ölçümü

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

Lokomotor aktivite ölçümü, havalandırma için delinmiş plastik kapağı olan akrilik bir kutu (40 cm x 40 cm x 30 cm) içinde ölçülmektedir. Kutunun kenarlarına fotoseller yerleştirilmiştir. Fotoseller zeminden 4 cm yüksekliktedir. Kutunun içinde, fotosele ulaşan ışınların kesilmesi ile lokomotor aktiviteyi tespit eden bir izleme sistemi yerleştirilmiştir. Bu sistemin sağladığı kafes geçişi ve tekrarlayan hareketlerle ilgili veriler Commat Ltd. şirketi tarafından hazırlanan lokomotor aktivite izleme sistemi tarafından kaydedilmektedir. Ayrıca kamera sistemi ile her kafesten video kaydı da alınmış olup alınan bu video kayıtları, Toxtrac (açık erişimli) isimli video analiz programıyla incelenmiş ve hayvanın 10 ve 60 dakikalardaki toplam katettiği yol, ölçümü yapılmıştır. Nikotin ya da serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan sıçanlar, enjeksiyondan hemen sonra deney kutusuna yerleştirilmiştir. Sistem hareketi algılayınca aktive olmakta, zaman sayımı ve hareketlerin kaydına başlamaktadır. Bu sayede her sıçan deney ortamında tam bir saat süre kalmaktadır.

Laboratuvarımızda 6 adet lokomotor aktivite düzeneği bulunmaktadır. Böylece 6 sıçana eş-zamanlı ölçüm yapılabilmesi mümkün olmuştur. Sistem ölçümleri istenen saat aralıklarına göre de veri verebilmektedir. Biz 10. ve 60. dakikalardaki verileri aldık. Bu nedenle istatistiklerde, her hayvana ait 10 ve 60 dakika boyunca ölçülen tekrarlayan hareket sayısı, kafes geçiş sayısı ve toplam alınan yol verileri kullanıldı. Lokomotor aktivite ölçümleri sabah 09:00 ile öğleden sonra 04:00 arasında 6 kez uygulanarak, 36 sıçanın bir saatlik ölçümleri bir gün içinde tamamlanmıştır. Her saat yapılan uygulama sırasında her gruptan deney hayvanı bulunmasına özen gösterilmiştir. Her hayvanın ölçümünden sonra kutular temizlenmiştir. Haftanın ilk ölçümleri Pazartesi, Salı ve Çarşamba alınırken, ikinci ölçümler Perşembe, Cuma ve Cumartesi alınmıştır. Pazar günleri lokomotor aktivite ölçümü yapılmamış ancak hayvanların yoksunluğa girmemeleri adına enjeksiyonlara ara verilmeden devam edilmiştir.

3.5 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 20.0 paket programı kullanılmıştır. 10. ve 60 . dakikalarda kayıt edilen kafes geçiş sayıları, tekrarlayan hareketler ve metre olarak toplam alınan yol bağımlı değişkenleri aşağıdaki yöntemlerle değerlendirilmiştir. Akut etkiyi saptamak için tedavi, cinsiyet ve soyun bağımsız değişken olarak alındığı tek yönlü (univariate) ANOVA kullanılmıştır. Aynı veriler bağımsız değişkenler yok sayılarak grup olarak istatistiğe alınarak tek değişkenli (one way) ANOVA ve post hoc Duncan testleri ile değerlendirilmiştir. Kronik nikotin etkisini göstermek içinse doz ve günlerin faktör, tedavi, soy ve cinsiyetin bağımsız değişken olarak seçildiği tekrarlayan veriler için ANOVA yöntemi kullanılmıştır. Her bir grubun davranışını izleyebilmek doz ve günlerin faktör, grupların bağımsız değişken olarak seçildiği tekrarlayan veriler için ANOVA yeniden uygulanmıştır. Kronik uygulamadaki her doz ayrıca tek başına da istatistiksel olarak incelenmiştir.

4 SONUÇLAR

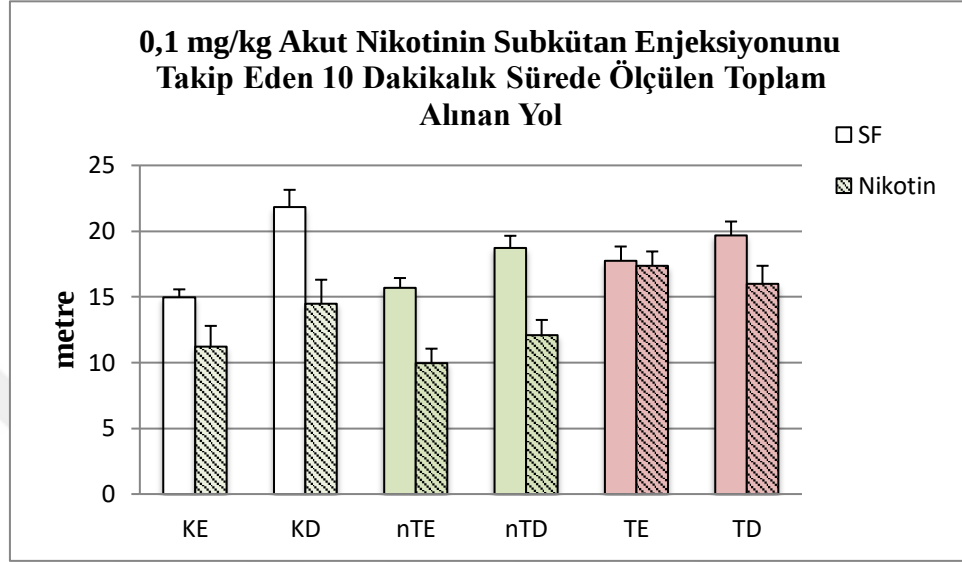
Laboratuvarlarımızda seçici tohumlama yöntemiyle nikotin tercih eden ve etmeyen sıçan soyları oluşturulmuştur. Dünyada sadece bizim laboratuvarlarımızda üretilen bu soylarda 25. jenerasyona ulaşılmıştır.

Nikotin tercih eden ve etmeyen sıçan soylarında nikotinle uyarılmış spontan lokomotor aktivitenin değişimini inceleyen bu çalışmada nikotini tercih eden soy (T), nikotini tercih etmeyen soy (nT) ve kontrol (K) sıçanları kullanılmıştır. Toplamda 12 grubun olduğu (n=9) çalışmamızda sıçanların yarısına nikotin (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6 mg/kg) enjeksiyonu yapılırken, diğer yarısına serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır. Her nikotin dozundan her sıçana 14 gün boyunca enjeksiyon yapılırken uygulamanın 4 gününde 60 dakikalık (1-4 -8-11.günler) lokomotor aktivite kayıtları alınmıştır. İlk uygulama olan 0,1 mg/kg nikotinin ilk uygulaması akut nikotin etkisini saptamak için ayrıca istatistiğe alınmıştır.

Akut uygulama verilerini analiz ederken tek değişkenli ANOVA ve tek yönlü ANOVA uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farkı görünür hale getirmek için diğer tüm faktörleri almayıp (soy, cinsiyet, ilaç uygulaması) sadece grupları alarak tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Kronik uygulama verilerinin istatistiksel değerlendirmesinde ise tekrarlayan ölçümler için ANOVA kullanılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar aşağıda gösterilmiştir.

4.1 0,1 mg/kg Akut Nikotin Uygulamas

4.1.1 Toplam Alınan Yol - 10 Dakika



ŞEKİL 6 : 0,1 mg/kg Nikotin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 10 Dakikalık Sürede Ölçülen Toplam Alınan Yol

K: Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu
SF: Serum Fizyolojik **N:** Nikotin **E:** Erkek **D:** Dişi

Şekil 6’da, 0,1 mg/kg nikotin akut enjeksiyonunu takip eden 10 dakikalık sürede ölçülen toplam alınan yol görülmektedir. Cinsiyet, soy ve akut nikotin uygulamasının bağımsız değişken toplam alınan yol verisinin bağımlı değişken olarak alındığı tek değişkenli ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

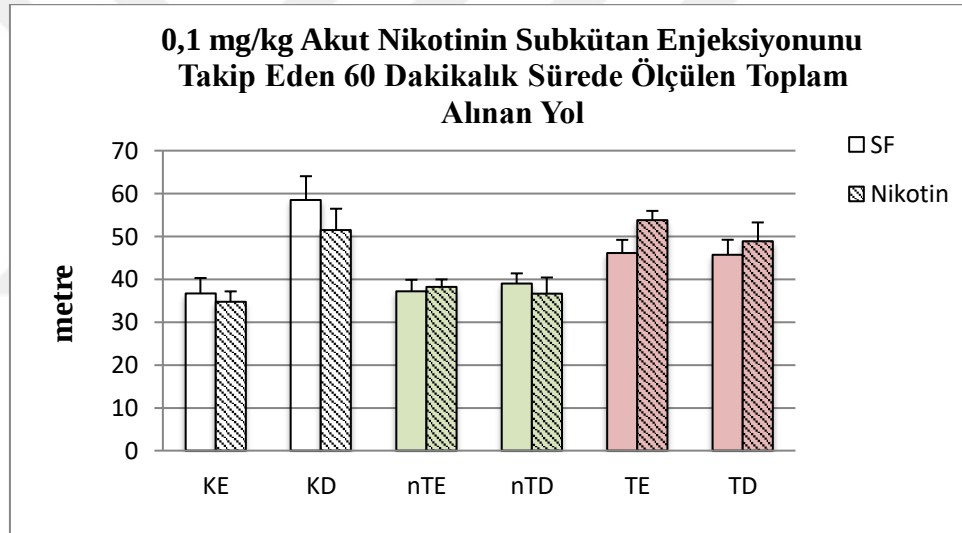
Akut nikotin uygulaması toplam alınan yolu azaltmıştır ($F_{(1,107)} = 44,142$ $p = 0,000$). Farklı soylar aynı nikotin dozundan değişik oranlarda etkilenmektedir ($F_{(2,107)} = 9,023$ $p = 0,000$). Dişilerin spontan lokomotor aktivitesi erkeklerden daha fazladır ($F_{(1,107)} = 14,622$ $p = 0,000$). Nikotin uygulaması ile soylar arasında etkileşim saptanmıştır ($F_{(2,107)} = 3,496$ $p = 0,034$). Akut nikotin enjeksiyonu, K ve nT gruplarında toplam alınan yolu azaltırken, T grubunda toplam alınan yolu etkilemediği için iki faktör arasında etkileşim ortaya çıkmıştır. Cinsiyet ve soylar arasında da bir etkileşim ($F_{(2,107)} = 3,997$ $p = 0,022$) bulunmaktadır. K grubunda belirgin bir

şekilde cinsiyet farkı bulunmakta iken nT ve T gruplarında cinsiyet farkı tamamen ortadan kalkmıştır.

Post-hoc Duncan testinde, T grubu hayvanların K ve nT grubuna göre daha hareketli oldukları ve daha fazla yol aldıkları görülmüştür.

Tek yönlü ANOVA sonuçlarına göre ise; gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($F_{(11,107)} = 8,745$ $p = 0,000$). Sonrasında uygulanan Duncan testine göre, nikotin alımının T grubu dişi ve erkekleri etkilemediği, diğer grupları ise (K ve nT) anlamlı oranda etkilediği ve hareketlerinin baskılandığı görülmüştür.

4.1.2 Toplam Alınan Yol - 60 Dakika



ŞEKİL 7 : 0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 60 Dakikalık Sürede

Ölçülen Toplam Alınan Yol

K: Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu

SF: Serum Fizyolojik **N:** Nikotin **E:** Erkek **D:** Dişi

Şekil 7’de, 0,1 mg/kg nikotinin akut enjeksiyonunu takip eden 60 dakikalık sürede ölçülen toplam alınan yol görülmektedir. Cinsiyet, soy ve akut nikotin uygulamasının bağımsız değişken, toplam alınan yol verisinin bağımlı değişken olarak alındığı tek değişkenli ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Akut nikotin uygulaması toplam alınan yol üzerinde etkili değildir. K, T ve nT grupları

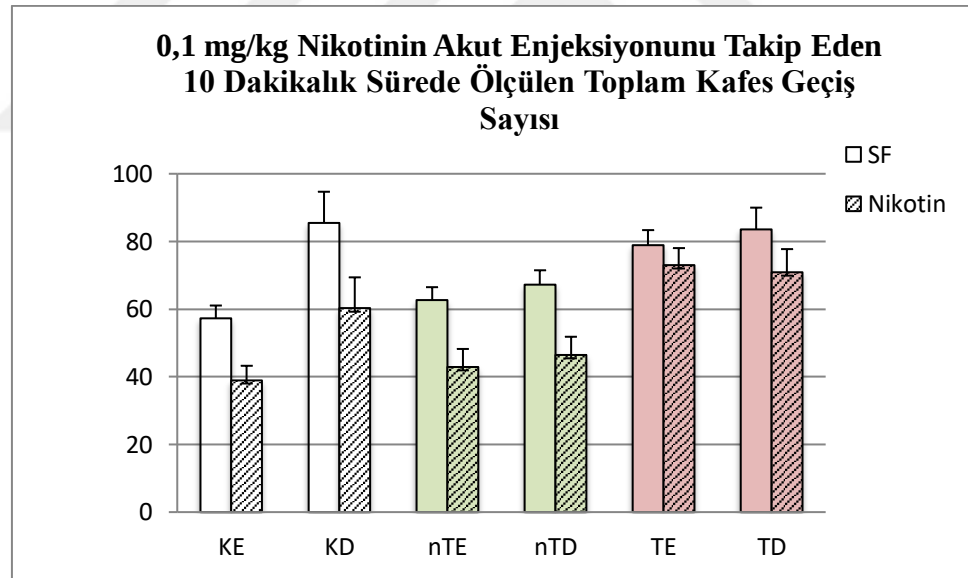
aynı nikotin dozundan farklı oranlarda etkilenmektedir ($F_{(2,107)}= 9,886$ $p= 0,000$). Dişilerin spontan lokomotor aktivitesi erkeklerden daha fazladır ($F_{(1,107)}= 7,38$ $p= 0,008$). Cinsiyet ve soylar arasında bir etkileşim ($F_{(2,107)}= 11,305$ $p= 0,000$) bulunmaktadır.

K grubunda belirgin bir şekilde cinsiyet farkı bulunmakta iken nT ve T grubu hayvanlarda cinsiyet farkı tamamen ortadan kalkmıştır.

Post-hoc Duncan testine göre, nT grubu hayvanların K ve T gruplarından daha az hareket ettiği görülmüştür. K ve T grupları benzer hareket paterni sergilemektedir.

Tek yönlü ANOVA sonuçlarına göre; gruplar arasında anlamlı bir fark vardır ($F_{(11,107)}= 4,987$ $p= 0,000$). Yapılan post-hoc Duncan testine göre, nikotin alan ve almayan K grubu dişileri ile nikotin alan T grubu dişi ve erkeklerinin lokomotor aktiviteleri benzerdir ve diğer gruplardan anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu görülmüştür.

4.1.3 Kafes Geçiş Sayısı - 10 Dakika



ŞEKİL 8 : 0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 10 Dakikalık Sürede Ölçülen Toplam Kafes Geçiş Sayısı

K: Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu
SF: Serum Fizyolojik **N:** Nikotin **E:** Erkek **D:** Dişi

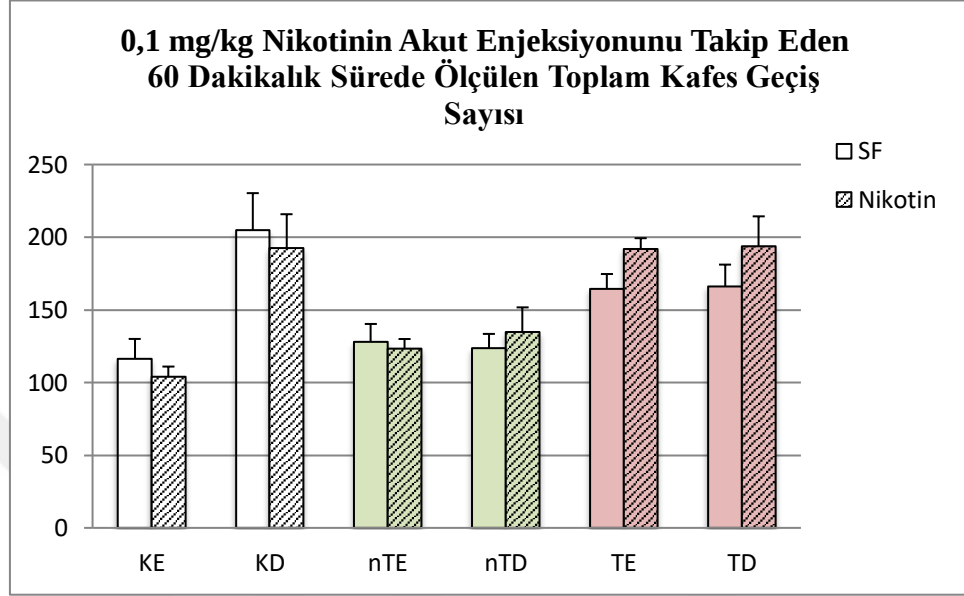
Şekil 8’de, 0,1 mg/kg nikotinin akut enjeksiyonunu takip eden 10 dakikalık sürede ölçülen toplam kafes geçiş sayısı görülmektedir. Cinsiyet, soy ve akut nikotin uygulamasının bağımsız değişken (faktör), toplam kafes geçiş sayısı verisinin bağımlı değişken olarak alındığı tek değişkenli ANOVA sonuçlarına göre;

Akut nikotin uygulaması spontan lokomotor aktiviteyi azaltmıştır ($F_{(1,107)}= 24,910$ $p= 0,000$). Farklı soylar aynı nikotin dozundan değişik oranlarda etkilenmektedir ($F_{(2,107)}= 14,470$ $p= 0,000$). Dişilerin kafes geçiş sayıları erkeklerden daha fazladır ($F_{(1,107)}= 8,571$ $p= 0,004$). Cinsiyet ve soylar arasında bir etkileşim ($F_{(2,107)}= 4,676$ $p= 0,012$) bulunmaktadır. K grubunda belirgin bir şekilde cinsiyet farkı bulunmakta iken nT ve T grubu hayvanlarda cinsiyet farkı ortadan kalkmıştır.

Post-hoc Duncan testinde, T grubunun K ve nT grubuna göre daha hareketli olduğu ve daha fazla kafes geçişi yaptıkları görülmüştür. K ve nT grubu benzer hareket paterni sergilemektedir.

Tek yönlü ANOVA sonuçlarına göre gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($F_{(11,107)}= 6,828$ $p= 0,000$). Duncan testine göre ise, nikotin alan K grubu erkekler ile nT grubu dişi ve erkeklerin diğer gruplardan farklı olduğu ve en az hareket eden gruplar oldukları görülmüştür. SF alan K grubu dişileri ile SF/nikotin alan T grubu dişi ve erkeklerinin ise en hareketli gruplar oldukları saptanmıştır.

4.1.4 Kafes Geçiş Sayısı - 60 Dakika



ŞEKİL 9 : 0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 60 Dakikalık Sürede Ölçülen Toplam Kafes Geçiş Sayısı

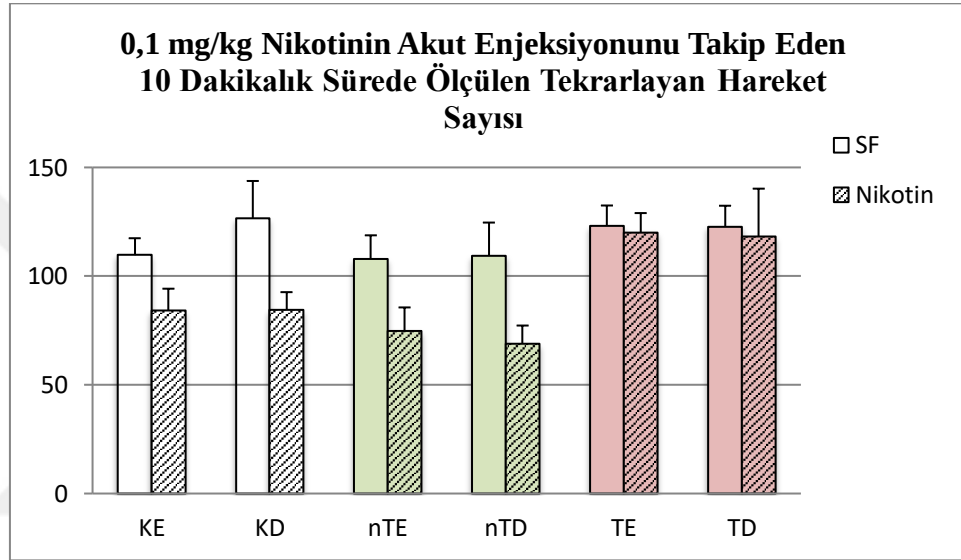
K: Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu
SF: Serum Fizyolojik **N:** Nikotin **E:** Erkek **D:** Dişi

Şekil 9’da, 0,1 mg/kg nikotinin akut enjeksiyonunu takip eden 60 dakikalık sürede ölçülen toplam kafes geçiş sayısı görülmektedir. Cinsiyet, soy ve akut nikotin uygulamasının bağımsız değişken, toplam kafes geçiş sayısı verisinin bağımlı değişken olarak alındığı tek değişkenli ANOVA sonuçlarına göre;

Akut nikotin uygulaması spontan lokomotor aktiviteyi değiştirmemiştir. Soy hayvanları aynı nikotin dozundan farklı oranlarda etkilenmektedir ($F_{(2,107)}= 11,350$ $p= 0,001$). Dişilerin spontan lokomotor aktivitesi erkeklerden daha fazladır ($F_{(1,107)}= 12,542$ $p= 0,004$). Cinsiyet ve soylar arasında bir etkileşim ($F_{(2,107)}= 10,501$ $p= 0,000$) bulunmaktadır. K grubunda belirgin bir şekilde cinsiyet farkı bulunmakta iken diğer gruplarda görülmediğinden etkileşim ortaya çıkmıştır. Post-hoc Duncan testinde, T grubunun K ve nT grubuna göre daha hareketli olduğu ve daha fazla kafes geçişi yaptıkları görülmüştür. K ve nT grubu benzer hareket paterni sergilemektedir.

Tek yönlü ANOVA sonuçlarına göre ise; gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($F_{(11,107)} = 6,828$ $p = 0,000$). Duncan testine göre, nikotin alan K grubu erkekler ile nikotin alan nT grubu dişi ve erkeklerinin en az hareket eden gruplar oldukları görülmüştür. SF alan K dişi ile SF/nikotin alan T soyu dişi ve erkeklerin ise en hareketli gruplar oldukları görülmüştür.

4.1.5 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 10 Dakika

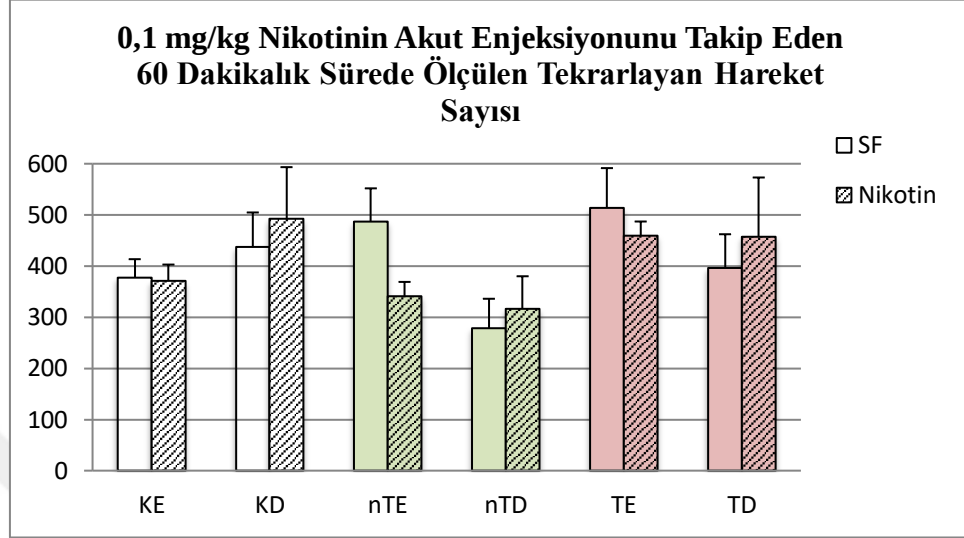


ŞEKİL 10 : 0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 10 Dakikalık Sürede Ölçülen Tekrarlayan Hareket Sayısı

K: Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu
SF: Serum Fizyolojik **N:** Nikotin **E:** Erkek **D:** Dişi

Şekil 10'da, 0,1 mg/kg nikotinin akut enjeksiyonunu takip eden 10 dakikalık sürede ölçülen tekrarlayan hareket sayısı görülmektedir. Cinsiyet, soy ve akut nikotin uygulamasının bağımsız değişken, tekrarlayan hareket sayısı verisinin bağımlı değişken olarak alındığı tek değişkenli ANOVA sonuçlarına göre; Akut nikotin uygulaması tüm gruplarda tekrarlayan hareketleri azaltmıştır ($F_{(1,107)} = 12,357$ $p = 0,001$). Farklı soylar aynı nikotin dozundan değişik oranlarda etkilenmektedir ($F_{(2,107)} = 6,524$ $p = 0,002$). Akut nikotin enjeksiyonu, K ve nT gruplarında tekrarlayan hareketlerin sayısını azaltırken, T grubunda arttırmaktadır. Post-hoc Duncan testinde, T soyu dişi ve erkeklerin diğer gruplardan daha fazla sayıda tekrarlayan hareket yaptıkları görülmektedir. K ve nT grupları benzer hareket paterni sergilemektedir.

4.1.6 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 60 Dakika



ŞEKİL 11 : 0,1 mg/kg Nikotinin Akut Enjeksiyonunu Takip Eden 60 Dakikalık Sürede Ölçülen Tekrarlayan Hareket Sayısı

K: Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu
SF: Serum Fizyolojik **N:** Nikotin **E:** Erkek **D:** Dişi

Şekil 11’de, 0,1 mg/kg nikotinin akut enjeksiyonunu takip eden 60 dakikalık sürede ölçülen tekrarlayan hareket sayısı görülmektedir. Cinsiyet, soy ve akut nikotin uygulamasının bağımsız değişken, 60 dakika sonunda ölçülmüş olan tekrarlayan hareket sayısı verisinin bağımlı değişken olarak alındığı tek değişkenli ANOVA uygulandığında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

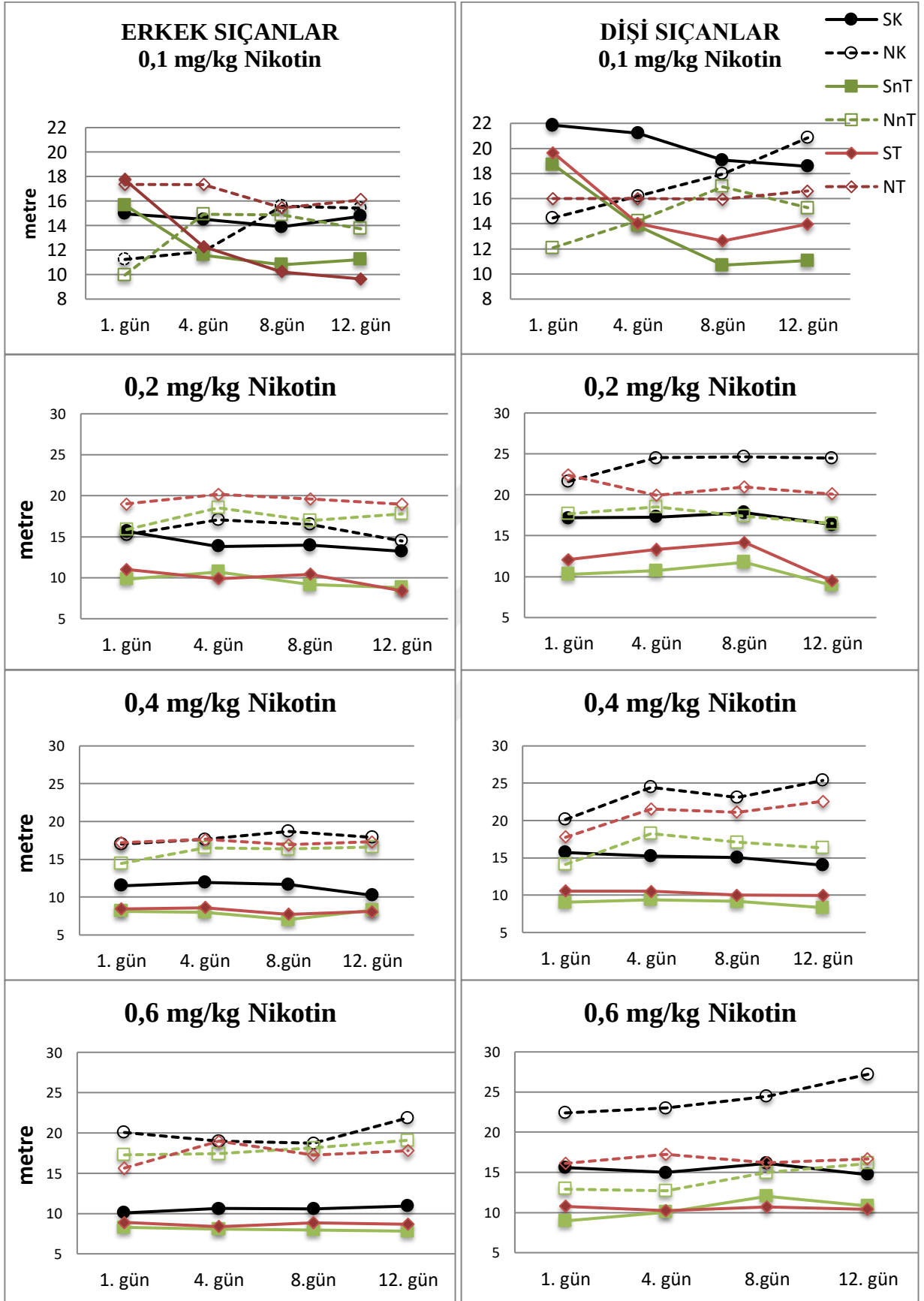
Akut nikotin uygulaması tüm gruplarda tekrarlayan hareketleri istatistiki açıdan anlamlı hiçbir değişime uğratmamıştır.

4.2 KRONİK NİKOTİN UYGULAMASI

4.2.1 Toplam Alınan Yol - 10 Dakika

10 dakika boyunca ölçülen toplam alınan yol verilerinin sonuçları her bir nikotin dozu için ayrı ayrı olmak koşulu ile grafik halinde verilmiştir (Şekil 12). Her bir doz için yapılan istatistiksel değerlendirmenin sonuçları da tablo 3’de özetlenmiştir. Bölümün sonunda tüm verilerin 2 faktörlü (günler ve dozlar) tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarının açıklamasına yer verilmiştir.





ŞEKİL 12. Tüm sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg subkutan nikotin enjeksiyonu sonrasında 10 dakikalık toplam alınan yol miktarı **K**: Kontrol **T** : Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT**: Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu **S**: Serum Fizyolojik **N**: Nikotin

Doz	Günler ve Günlerle etkileşim	Faktörler arası sonuçlar	Tek yönlü Anovada grup farkı- Duncan	Duncan sonuçları
0,1	G: ($F_{(3,94)} = 3,454$ $p=0,020$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 35,149$ $p=0,000$) UG x Soy: ($F_{(6,190)} = 5,979$ $p=0,000$)	Soy: ($F_{(2,96)} = 11,105$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 21,589$ $p=0,000$) NU x Soy: ($F_{(2,96)} = 6,726$ $p=0,002$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 5,489$ $p=0,006$)	($F_{(11,96)} = 3,022$ $p=0,002$)	Nikotin alımı T ve nT gruplarında lokomotor aktiviteyi arttırmıştır. K gruplarında ise, nikotinin uyarıcı etkisi 8. günden sonra ortaya çıkmaya başlamıştır.
0,2	G: ($F_{(3,94)} = 10,076$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 4,525$ $p=0,005$)	NU: ($F_{(1,96)} = 5,087$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 19,342$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 24,406$ $p=0,000$) NU x Soy: ($F_{(2,96)} = 7,352$ $p=0,001$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 7,860$ $p=0,001$)	($F_{(11,96)} = 24,453$ $p=0,000$)	Nikotin alımı sonucu nT grubu dişiler ile K grubu erkekler hariç diğer gruplarda toplam alınan yol artmıştır. Bu artış en fazla nikotin alan K grubu dişilerde görülmektedir.
0,4	G: ($F_{(3,94)} = 5,758$ $p=0,001$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 8,333$ $p=0,000$)	NU: ($F_{(1,96)} = 299,506$ $p=0,000$). Soy: ($F_{(2,96)} = 30,123$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 31,645$ $p=0,000$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 5,131$ $p=0,008$)	($F_{(11,96)} = 37,137$ $p=0,000$)	Nikotin alımı tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırmıştır. Locomotor aktivitesi en yüksek gruplar nikotin alan K ve T grubu dişilerdir. Bunların en hareketli olanı grup K dişilerdir.
0,6	G: ($F_{(3,94)} = 4,090$ $p=0,009$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 4,782$ $p=0,004$)	NU: ($F_{(1,96)} = 267,145$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 41,014$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 31,645$ $p=0,003$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 11,306$ $p=0,000$) NU x C: ($F_{(1,96)} = 10,700$ $p=0,001$)	($F_{(11,96)} = 36,588$ $p=0,000$)	Nikotin alımı tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırmıştır. Nikotin alan K grubu dişilerinin lokomotor aktivitesi diğer tüm gruplardan anlamlı bir şekilde yüksektir. Nikotin alan en az hareketli grup ise nT dişilerdir.

TABLO 3: Toplam Alınan Yol İlk 10 dk Sonuçları **G:** Günler **UG:** Uygulama günleri
NU: Nikotin Uygulaması **C:** Cinsiyet

4 doz (0,1 -0,2 -0,4 -0,6) ve 4 uygulamadan (1.gün - 4.gün - 8.gün - 12.gün) elde edilen tüm 10 dakikalık toplam alınan yol verilerine doz ve uygulama günlerinin tekrarlayan faktör, soy, cinsiyet ve kronik nikotin uygulamasının faktör olarak alındığı tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

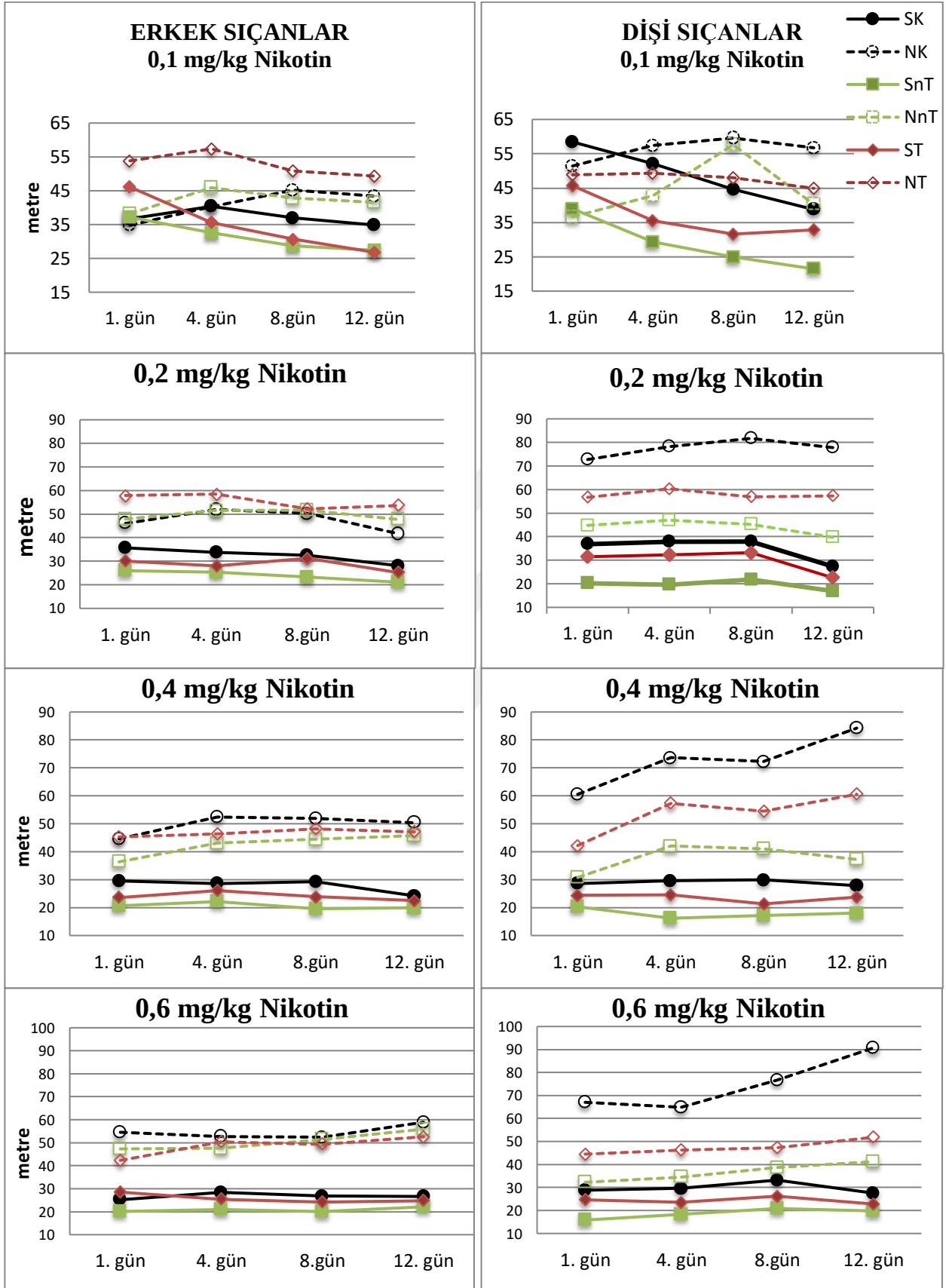
Uygulanan dozlar etkindir ($F_{(3,94)} = 20,484$ $p=0,000$) yani uygulanan doz arttıkça toplam alınan yol yani bir anlamda lokomotor aktivite de artmaktadır. Dozlar ile kronik nikotin uygulaması ($F_{(3,94)} = 123,629$ $p=0,000$), dozlar ile soy ($F_{(6,190)} = 4,815$ $p=0,000$), dozlar ile cinsiyet ($F_{(3,94)} = 3,032$ $p=0,033$), dozlar - kronik nikotin uygulaması - soy ($F_{(6,190)} = 7,031$ $p=0,000$) ve dozlar - kronik nikotin uygulaması - cinsiyet ($F_{(3,94)} = 9,607$ $p=0,000$) arasında ikili ve üçlü etkileşimler bulunmaktadır.

Bağımsız değişkenler arası sonuçlara göz attığımızda ise; kronik nikotin uygulaması ($F_{(1,96)} = 188,832$ $p=0,000$), soy ($F_{(2,96)} = 31,159$ $p=0,000$) ve cinsiyet ($F_{(1,96)} = 28,478$ $p=0,000$) istatistiksel anlamlı etkin faktörler olarak saptanmıştır. Bu verilerle, nikotini kronik olarak uygulamanın soyları ve dişi-erkekleri farklı oranda etkilediğini söylemek mümkündür. Soylar ile cinsiyet arasında da ($F_{(2,96)} = 9,8449$ $p=0,000$) anlamlı bir etkileşim vardır ve bu veri bize soy içindeki farklı cinsiyetlerin kronik nikotin uygulamasından değişik oranlarda etkilendiklerini göstermektedir.

Soylar ayrı ayrı post hoc Duncan testinde değerlendirildiğinde; nikotin alımı tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırmakta, lokomotor aktivite artışı en çok K soyu dişilerde, en az da nT soyu dişilerde görülmektedir. K grubunda görülen cinsiyet farkı diğer gruplarda saptanmamıştır.

4.2.2 Toplam Alınan Yol - 60 Dakika

60 dakika boyunca ölçülen toplam alınan yol verilerinin sonuçları her bir nikotin dozu için ayrı ayrı olmak koşulu ile grafik halinde verilmiştir (Şekil 13). Her bir doz için yapılan istatistiksel değerlendirmenin sonuçları da tablo 4’de özetlenmiştir. Bölümün sonunda tüm verilerin 2 faktörlü (günler ve dozlar) tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarının açıklamasına yer verilmiştir.



ŞEKİL 13. Tüm sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg subkutan nikotin enjeksiyonu sonrasında 60 dakikalık toplam alınan yol miktarı **K**: Kontrol **T** : Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT**: Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu **S**: Serum Fizyolojik **N**: Nikotin

Doz	Günler ve Günlerle etkileşim	Faktörler arası sonuçlar	Tek yönlü Anovada grup farkı Duncan	Duncan sonuçları
0,1	G: ($F_{(3,94)} = 11,047$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 17,994$ $p=0,000$)	NU: ($F_{(1,96)} = 45,972$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 10,527$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 5,201$ $p=0,025$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 8,412$ $p=0,000$)	($F_{(11,96)} = 4,924$ $p=0,000$)	Nikotin alan T erkekler ve K dişiler en hareketli gruplardır.
0,2	G: ($F_{(3,94)} = 13,833$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 3,983$ $p=0,010$)	NU: ($F_{(1,96)} = 7,803$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 6,755$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 1,9711$ $p=0,028$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 8,412$ $p=0,000$)	($F_{(11,96)} = 24,068$ $p=0,000$)	Nikotin alan tüm gruplarda lokomotor aktivite artmıştır. K ve T dişilerde bu artış en yüksektir. En hareketli grup anlamlı bir şekilde K dişilerdir.
0,4	G: ($F_{(3,94)} = 10,351$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 15,581$ $p=0,000$)	NU: ($F_{(1,96)} = 266,575$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 28,743$ $p=0,000$) C: ($F_{(2,96)} = 5,480$ $p=0,021$) NU x Soy : ($F_{(2,96)} = 4,460$ $p=0,014$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 7,639$ $p=0,001$)	($F_{(11,96)} = 33,661$ $p=0,000$)	Nikotin alan tüm sıçanlarda lokomotor aktivite artmıştır. K ve T dişilerde bu artış en yüksektir. En hareketli grup K dişilerdir. Nikotin alan erkekler benzer hareket paterni sergilemiştir.
0,6	G: ($F_{(3,94)} = 9,981$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 10,902$ $p=0,000$)	NU: ($F_{(1,96)} = 254,370$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 28,743$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 5,480$ $p=0,021$) NU x Soy : ($F_{(2,96)} = 25,071$ $p=0,000$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 10,929$ $p=0,000$)	($F_{(11,96)} = 31,903$ $p=0,000$)	Nikotin alan tüm gruplarda lokomotor aktivite artmıştır. En hareketli olan grup nikotin alan K grubu dişilerdir. En az hareketli grup ise nT grubu dişilerdir. Nikotin alan erkekler benzer hareket paterni sergilemiştir.

TABLO 4 : Toplam Alınan Yol 60 dk Sonuçları

G : Günler **UG : Uygulama günleri**

NU : Nikotin Uygulaması

C : Cinsiyet

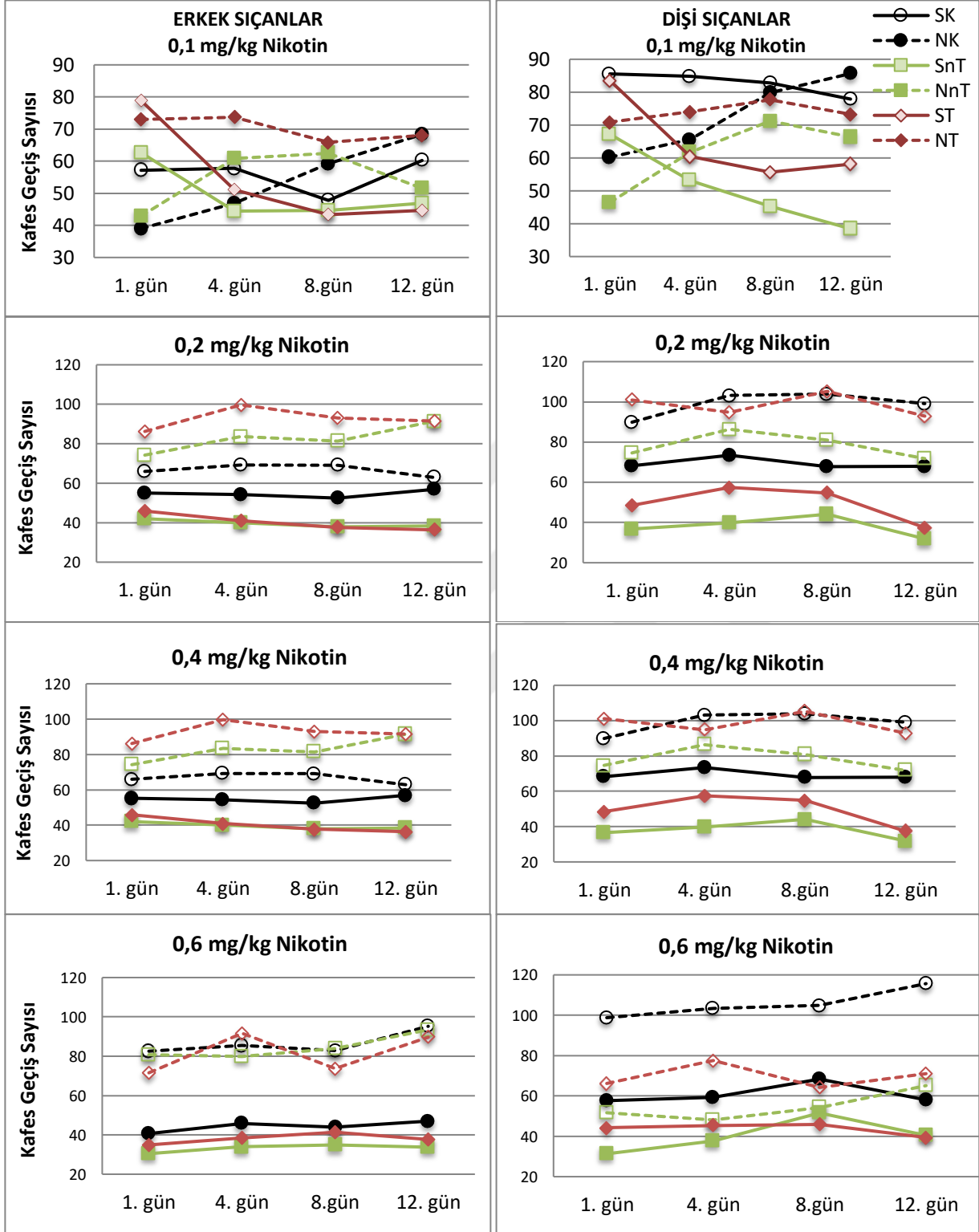
4 doz (0,1 -0,2 - 0,4 - 0,6) ve 4 uygulamadan(1.gün - 4.gün - 8.gün - 11.gün) elde edilen tüm 60 dakikalık toplam alınan yol verilerine doz ve uygulama günlerinin tekrarlayan faktör, soy, cinsiyet ve kronik nikotin uygulamasının bağımlı değişken olarak alındığı tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Uygulanan dozlar etkindir ($F_{(3,93)}= 28,798$ $p=0,000$). Dozlar ile kronik nikotin uygulaması ($F_{(3,93)}= 64,415$ $p=0,000$), dozlar ile soy ($F_{(6,188)}= 2,317$ $p=0,035$), dozlar - kronik nikotin uygulaması - soy ($F_{(6,188)}= 8,307$ $p=0,000$), dozlar - kronik nikotin uygulaması – cinsiyet ($F_{(3,93)}= 5,176$ $p=0,002$) ve dozlar – soy – cinsiyet ($F_{(6,188)}= 2,539$ $p=0,022$) arasında ikili ve üçlü etkileşimler bulunmaktadır.

Bağımsız değişkenler arası sonuçlara göz attığımızda ise; kronik nikotin uygulaması ($F_{(1,95)}= 226,513$ $p=0,000$) ve soyun ($F_{(2,95)}= 23,512$ $p=0,000$) etkin faktörler olduğunu gördük. Soy ile cinsiyet arasındaki ilişkiye bakıldığında ($F_{(2,95)}= 10,591$ $p=0,000$) aralarında anlamlı bir etkileşim bulunmakta, bu etkileşim bize, soy içindeki farklı cinsiyetlerin kronik nikotin uygulamasından değişik oranlarda etkilendiğini ve lokomotor aktivitelerinin birbirinden farklı olduğunu göstermektedir.

Post hoc Duncan testinde değerlendirildiğinde, nikotin alımının tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırdığı, bu artışın en çok K soyu dişilerde, en az da nT soyu dişilerde olduğu saptanmıştır .

4.2.3 Kafes Geçiş Sayısı - 10 Dakika



ŞEKİL 14. Tüm sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg subkutan nikotin enjeksiyonu sonrasında 10 dakikalık kafes geçiş sayıları **K:** Kontrol **T:** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu **S:** Serum Fizyolojik **N:** Nikotin

Doz	Günler ve Günlerle etkileşim	Faktörler arası sonuçlar	Tek yönlü Anovada grup farkı Duncan	Duncan sonuçları
0,1	Etkin bir parametre yok.	Soy: ($F_{(2,96)} = 8,636$ $p=0,000$) C: ($F_{(2,96)} = 8,636$ $p=0,000$) NU x Soy: ($F_{(2,96)} = 4,356$ $p=0,015$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 4,925$ $p=0,009$)	($F_{(11,96)} = 5,313$ $p=0,000$)	Nikotin alan T soyu dişi/erkekler ve nikotin/serum fizyolojik alan K soyu dişiler en hareketli gruplar olarak öne çıkmaktadır. Bu grupların içindeki nikotin alan en hareketli grup T grubu dişiler, sonra sırasıyla K grubu dişiler ve T grubu erkekler gelmektedir.
0,2	G: ($F_{(3,94)} = 6,863$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 2,692$ $p=0,051$) UG x C: ($F_{(3,94)} = 5,775$ $p=0,001$)	NU: ($F_{(1,96)} = 181,835$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 7,888$ $p=0,001$) C: ($F_{(1,96)} = 11,267$ $p=0,001$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 1,514$ $p=0,001$)	($F_{(11,96)} = 22,472$ $p=0,000$)	K grubu erkekleri hariç tüm nikotin alan gruplarda kafes geçiş sayısının arttığı yani nikotin alımının lokomotor aktiviteyi arttırdığı görülmüştür.
0,4	G: ($F_{(3,94)} = 2,948$ $p=0,037$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 6,811$ $p=0,000$)	NU: ($F_{(1,96)} = 268,437$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 19,081$ $p=0,000$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 4,525$ $p=0,013$)	($F_{(11,96)} = 29,690$ $p=0,000$)	Nikotin alımı lokomotor aktiviteyi arttırmaktadır. Cinsiyet farkı sadece K grubunda tespit edilmiştir.
0,6	G: ($F_{(3,94)} = 5,846$ $p=0,001$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 6,208$ $p=0,001$)	NU: ($F_{(1,96)} = 1837,621$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 19,402$ $p=0,000$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 9,028$ $p=0,000$) NU x C: ($F_{(1,96)} = 8,868$ $p=0,004$)	($F_{(11,96)} = 21,867$ $p=0,000$)	Nikotin alımı lokomotor aktiviteyi arttırmaktadır. K anlamı olarak en hareketli gruptur. Cinsiyet farkı sadece K grubunda tespit edilmiştir.

TABLO 5 : Kafes Geçiş Sayısı İlk 10 dk Sonuçları **G:** Günler **UG:** Uygulama günleri
NU: Nikotin Uygulaması **C:** Cinsiyet

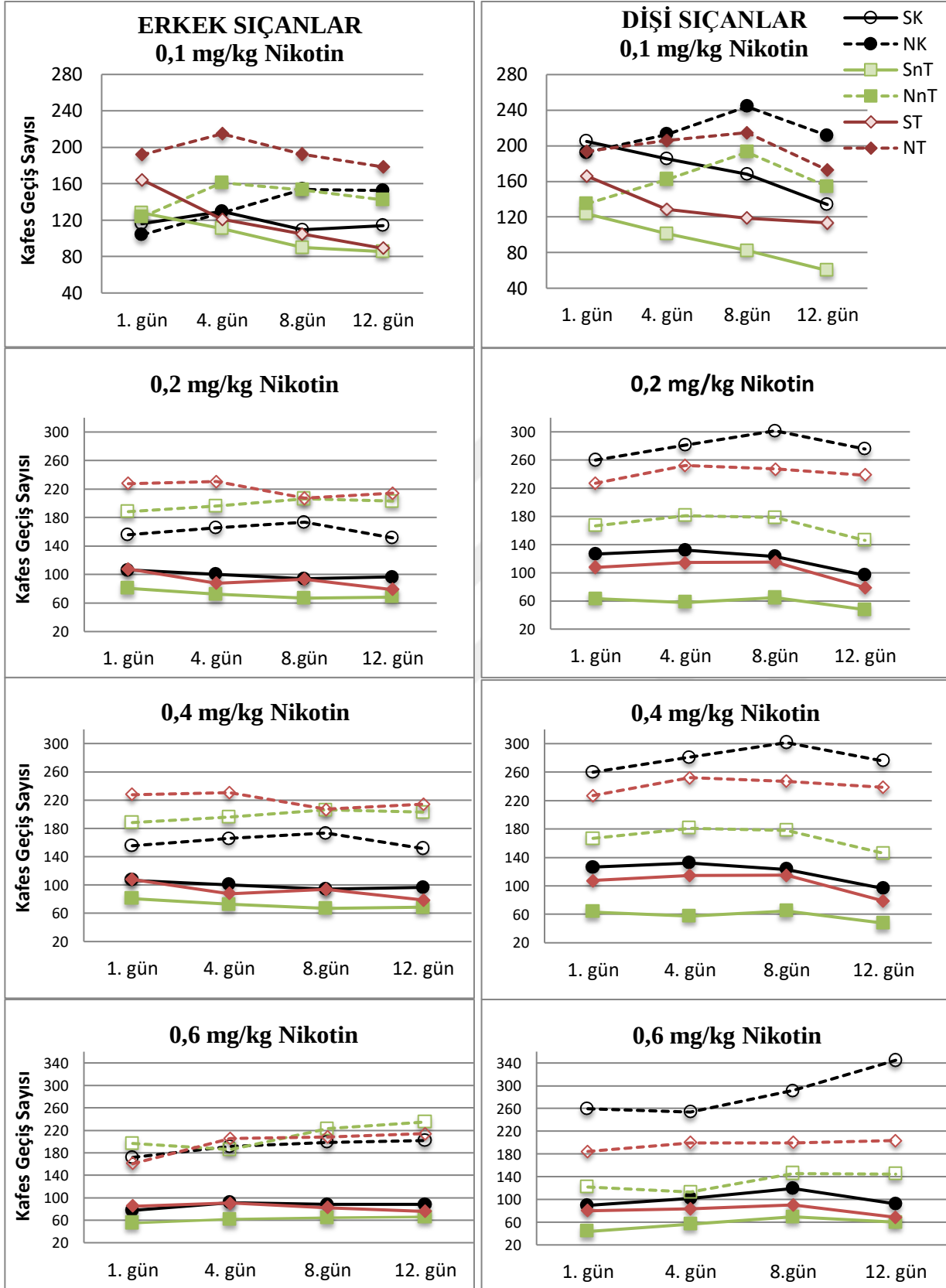
4 doz (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6) ve 4 uygulamadan (1.gün - 4.gün - 8.gün - 11.gün) elde edilen tüm 10 dakikalık kafes geçiş sayısı verilerine doz ve uygulama günlerinin tekrarlayan faktör, soy, cinsiyet ve kronik nikotin uygulamasının faktör olarak alındığı tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Uygulanan dozlar etkindir ($F_{(3,94)} = 17,419$ $p=0,000$) yani uygulanan doz arttıkça kafes geçiş sayısı, yani lokomotor aktivite de artmaktadır. Dozlar ile kronik nikotin uygulaması ($F_{(3,94)} = 106,774$ $p=0,000$), dozlar ile soy ($F_{(6,190)} = 4,248$ $p=0,000$), dozlar ile cinsiyet ($F_{(3,94)} = 5,592$ $p=0,001$), dozlar - kronik nikotin uygulaması - soy ($F_{(6,190)} = 5,675$ $p=0,000$), dozlar - kronik nikotin uygulaması - cinsiyet ($F_{(3,94)} = 5,104$ $p=0,003$) arasında ikili ve üçlü etkileşimler bulunmaktadır.

Bağımsız değişkenler arası sonuçlara göz attığımızda ise; kronik nikotin uygulaması ($F_{(1,96)} = 171,306$ $p=0,000$), soy ($F_{(2,96)} = 16,639$ $p=0,000$) ve cinsiyet ($F_{(1,96)} = 8,314$ $p=0,005$) etkin faktörlerdir. Nikotini kronik olarak uygulamanın soyları ve dişi-erkekleri farklı oranda etkilediği söylenebilir. Soylar ile cinsiyet arasında da ($F_{(2,96)} = 8,845$ $p=0,000$) anlamlı bir etkileşim vardır ve bu etkileşim soy içindeki farklı cinsiyetlerin kronik nikotin uygulamasından değişik oranlarda etkilendiğini göstermektedir.

Soylar ayrı ayrı post hoc Duncan testinde değerlendirdiğimizde, nikotin alımının tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırdığı, bu artışın en çok K soyu dişilerde, en az da nT soyu dişilerde olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Serum fizyolojik alan tüm gruplar birbirine benzer kafes geçiş sayısına sahiptir yani lokomotor aktivileri benzerdir ve istatistiksel olarak aralarında bir fark yoktur.

4.2.4 Kafes Geçiş Sayısı - 60 Dakika



ŞEKİL 15. Tüm sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg subkutan nikotin enjeksiyonu sonrasında 60 dakikalık kafes geçiş sayıları **K:** Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu **S:** Serum Fizyolojik **N:** Nikotin

Doz	Günler ve Günlerle etkileşim	Faktörler arası sonuçlar	Tek yönlü Anovada grup farkı	Duncan sonuçları
0,1	G: ($F_{(3,94)} = 7,961$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 14,366$ $p=0,000$) UG x C: ($F_{(3,94)} = 3,191$ $p=0,027$)	NU: ($F_{(1,96)} = 37,339$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,96)} = 7,653$ $p=0,001$) C: ($F_{(1,96)} = 9,335$ $p=0,003$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 6,303$ $p=0,003$)	($F_{(11,96)} = 7,288$ $p=0,000$)	Nikotin alan K soyu dişiler ve nikotin alan T soyu dişi ve erkekler en hareketli gruplardır. Nikotin alan gruplar içerisinde cinsiyet farkı K grubunda belirginken diğer gruplarda bu fark ortadan kalkmıştır.
0,2	G: ($F_{(3,93)} = 5,722$ $p=0,001$) UG x NU: ($F_{(3,93)} = 4,170$ $p=0,008$) UG x C: ($F_{(3,93)} = 3,146$ $p=0,029$)	NU: ($F_{(1,95)} = 161,414$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,95)} = 7,979$ $p=0,001$) C: ($F_{(1,96)} = 4,658$ $p=0,033$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 7,345$ $p=0,001$)	($F_{(11,95)} = 18,349$ $p=0,000$)	Nikotin alımı tüm gruplarda kafes geçiş sayısını arttırmaktadır. Cinsiyet farkı K grubunda belirgindir. K ve T dişi en hareketli gruplar olarak öne çıkmaktadır.
0,4	G: ($F_{(3,94)} = 5,125$ $p=0,003$) UG x NU: ($F_{(3,93)} = 10,486$ $p=0,000$)	NU: ($F_{(1,95)} = 220,759$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,95)} = 14,134$ $p=0,000$) C: ($F_{(1,96)} = 4,009$ $p=0,048$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 6,969$ $p=0,001$)	($F_{(11,95)} = 25,472$ $p=0,000$)	Nikotin alımı tüm gruplarda kafes geçiş sayısını arttırmaktadır. Cinsiyet farkı K grubunda belirgindir. En hareketli grup anlamlı olarak nikotin alan K dişilerdir.
0,6	G: ($F_{(3,94)} = 9,146$ $p=0,000$) UG x NU: ($F_{(3,93)} = 7,380$ $p=0,000$)	NU: ($F_{(1,95)} = 183,459$ $p=0,000$) Soy: ($F_{(2,95)} = 10,436$ $p=0,000$) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 9,437$ $p=0,000$) NU x Soy x C: ($F_{(2,96)} = 6,080$ $p=0,003$)	($F_{(11,95)} = 21,679$ $p=0,000$)	Nikotin alımı tüm gruplarda kafes geçiş sayısını arttırmaktadır. Cinsiyet farkı K grubunda belirgindir. En hareketli grup anlamlı olarak nikotin alan K dişilerdir.

TABLO 6 : Kafes Geçiş Sayısı 60 dk Sonuçları **G:** Günler **UG:** Uygulama günleri
NU: Nikotin Uygulaması **C:** Cinsiyet

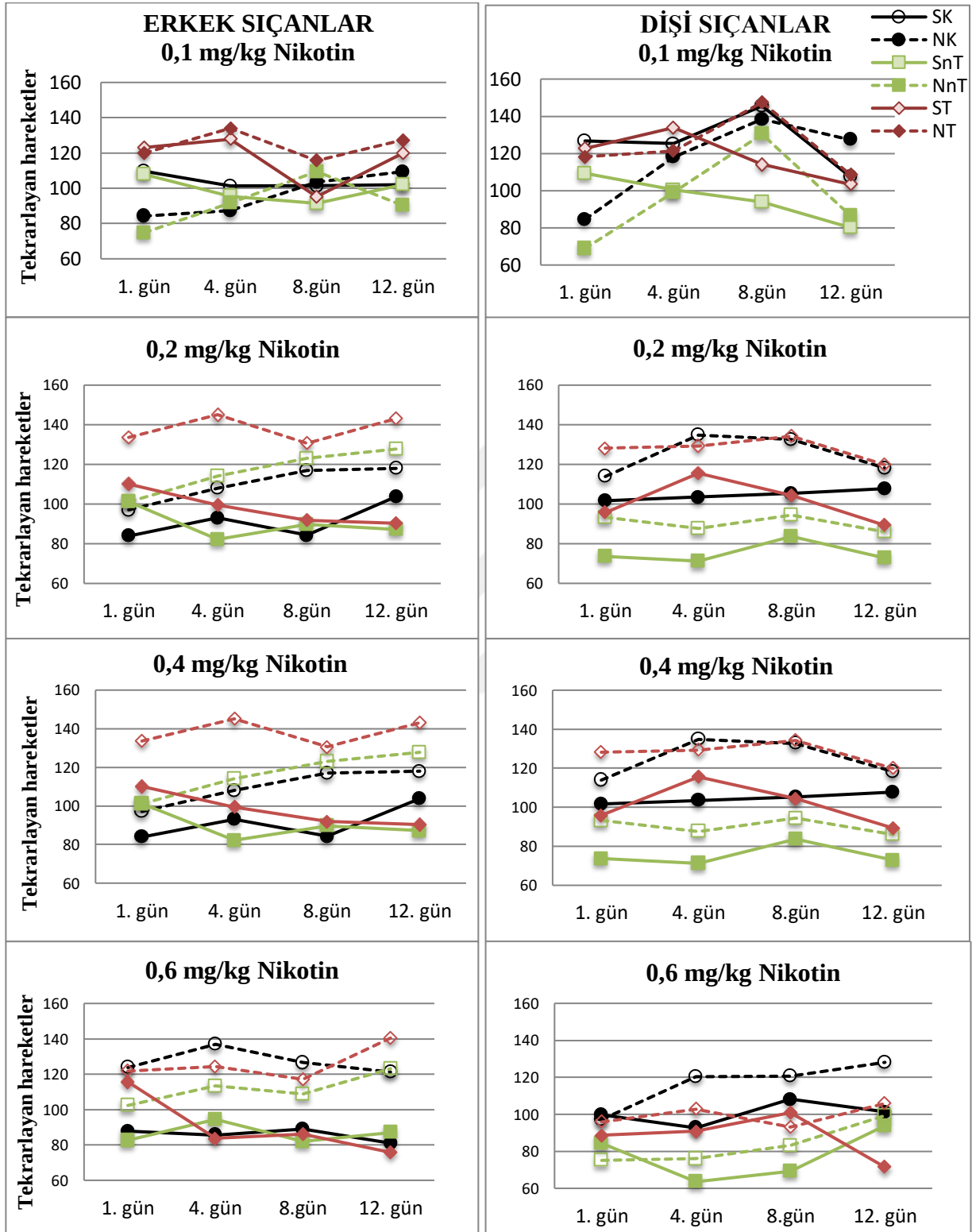
4 doz (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6) ve 4 uygulamadan (1.gün - 4.gün - 8.gün - 11.gün) elde edilen tüm 60 dakikalık kafes geçiş sayısı verilerine doz ve uygulama günlerinin tekrarlayan faktör, soy, cinsiyet ve kronik nikotin uygulamasının faktör olarak alındığı tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Uygulanan dozlar etkindir ($F_{(3,93)} = 14,985$ $p=0,000$). Dozlar ile kronik nikotin uygulaması ($F_{(3,93)} = 43,486$ $p=0,000$), dozlar ile soy ($F_{(6,188)} = 2,317$ $p=0,035$) ve dozlar - kronik nikotin uygulaması - soy ($F_{(6,188)} = 3,410$ $p=0,003$) arasında ikili ve üçlü etkileşimler bulunmaktadır.

Bağımsız değişkenler arası sonuçlara göz attığımızda ise; kronik nikotin uygulaması ($F_{(1,95)} = 182,902$ $p=0,000$), soylar ($F_{(2,95)} = 11,656$ $p=0,000$) ve cinsiyet ($F_{(1,95)} = 4,167$ $p=0,044$) etkin faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Yani nikotini kronik uygulamak, soyları ve aynı zamanda dişi-erkekleri farklı oranlarda etkiledikleri görülmüştür. Soy ile cinsiyet arasındaki ilişkiyi incelediğimizdeyse aralarında anlamlı bir etkileşim olduğu görülmüştür ($F_{(2,95)} = 8,879$ $p=0,000$) ve soyların içerisindeki cinsiyetlerin kronik nikotin uygulamasından farklı oranlarda etkilendiğini saptanmıştır.

Post hoc Duncan testinde değerlendirildiğinde ise, nikotin alımı tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırmakta, lokomotor aktivite artışı en çok K soyu dişilerde, en az da nT soyu dişilerde görülmektedir. Serum fizyolojik alan tüm gruplar birbirine benzer hareket paterni göstermektedir.

4.2.5 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 10 Dakika



ŞEKİL 16. Tüm siçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg subkutan nikotin enjeksiyonu sonrasında 10 dakikalık tekrarlayan hareket sayısı **K:** Kontrol **T:** Nikotini tercih eden siçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen siçan soyu **S:** Serum Fizyolojik **N:** Nikotin

Doz	Günler ve Günlerle etkileşim	Faktörler arası sonuçlar	Tek yönlü Anovada grup farkı Duncan	Duncan sonuçları
0,1	G: ($F_{(3,94)} = 3,737$ p=0,014) UG x NU: ($F_{(3,94)} = 10,645$ p=0,000) UG x Soy: ($F_{(6,190)} = 2,330$ p=0,034)	Soy: ($F_{(6,190)} = 2,330$ p=0,034)	Grup farkı yok.	Duncan sonuçları değerlendirilmeye alınmamıştır.
0,2	UG x Soy: ($F_{(6,190)} = 2,551$ p=0,021) UG x Cinsiyet : ($F_{(3,94)} = 3,332$ p=0,023)	NU: ($F_{(1,96)} = 35,266$ p=0,000) Soy: ($F_{(1,96)} = 10,782$ p=0,000) Soy x C: ($F_{(2,96)} = 5,813$ p=0,004)	($F_{(11,96)} = 6,632$ p=0,000)	nT grubu dişileri dışında nikotin alan tüm gruplarda tekrarlayan hareket sayısı artmıştır.
0,4	UG x NU: ($F_{(3,94)} = 4,614$ p=0,005)	NU: ($F_{(1,96)} = 28,266$ p=0,000) Soy: ($F_{(2,96)} = 5,860$ p=0,004) C: ($F_{(1,96)} = 5,918$ p=0,017) NU x C: ($F_{(2,96)} = 7,373$ p=0,008)	($F_{(11,96)} = 5,399$ p=0,000)	nT grubu dişileri dışında nikotin alan tüm gruplarda tekrarlayan hareket sayısı artmıştır.
0,6	G: ($F_{(3,94)} = 4,105$ p=0,009) UG x C : ($F_{(3,94)} = 3,214$ p=0,026)	NU: ($F_{(1,96)} = 6,255$ p=0,014) C: ($F_{(1,96)} = 4,322$ p=0,040)	Grup farkı yok.	Duncan sonuçları değerlendirilmeye alınmamıştır.

TABLO 7 : Tekrarlayan Hareket Sayısı İlk 10 dk Sonuçları **G:** Günler
UG: Uygulama günleri **NU:** Nikotin Uygulaması **C:** Cinsiyet

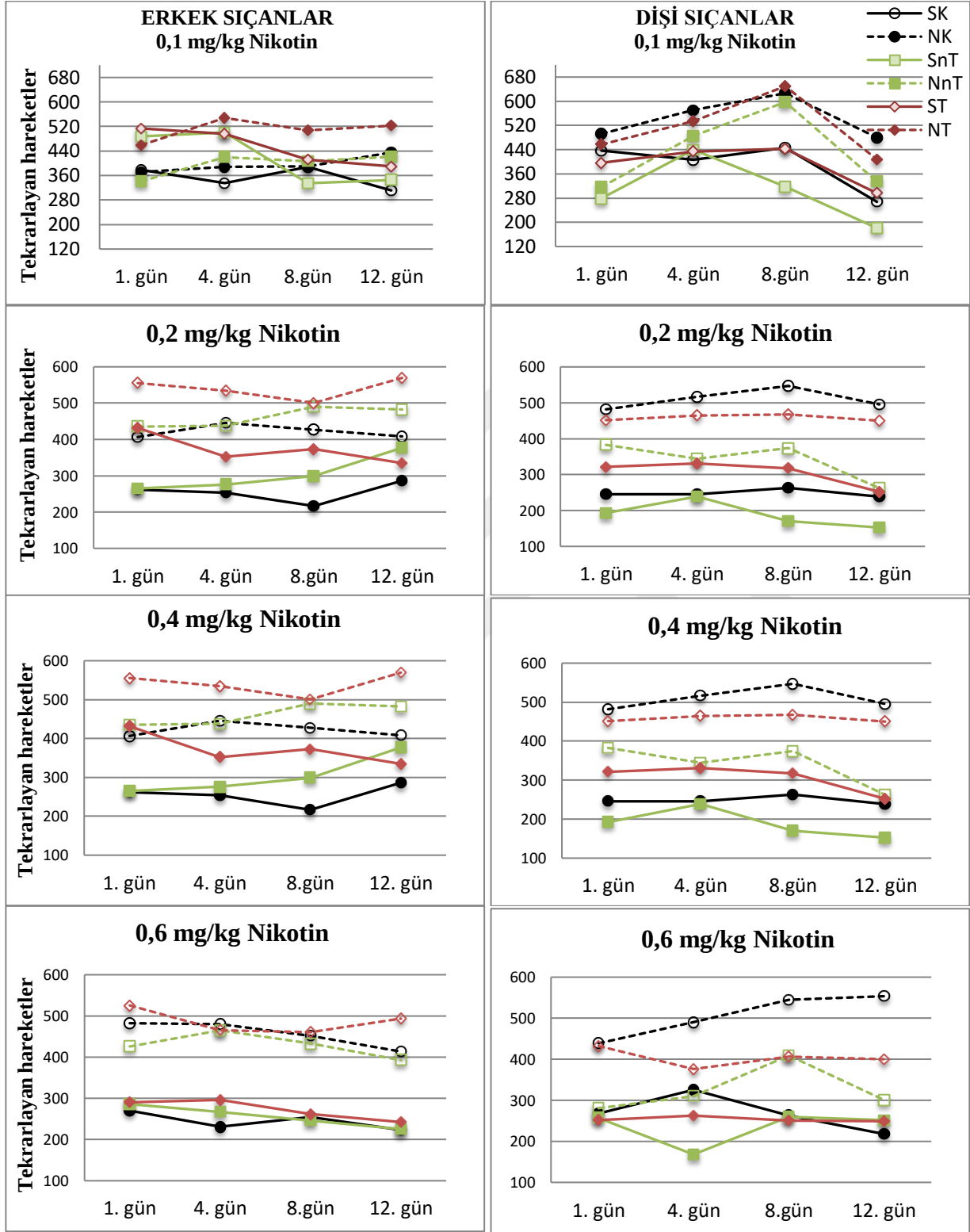
4 doz (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6) ve 4 uygulamadan (1.gün - 4.gün - 8.gün - 11.gün) elde edilen tüm 10 dakikalık tekrarlayan hareket sayısı verilerine doz ve uygulama günlerinin tekrarlayan faktör, soy, cinsiyet ve kronik nikotin uygulamasının faktör olarak alındığı tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Uygulanan dozlar etkindir ($F_{(3,93)}= 5,170$ $p=0,002$) yani uygulanan doz arttıkça tekrarlayan hareket sayısı artmaktadır. Dozlar ile kronik nikotin uygulaması ($F_{(3,93)}= 16,047$ $p=0,000$), dozlar ile soy ($F_{(6,188)}= 2,714$ $p=0,015$), dozlar ile cinsiyet ($F_{(3,93)}= 6,575$ $p=0,000$), dozlar - kronik nikotin uygulaması - uygulama günleri ($F_{(9,87)}= 3,976$ $p=0,000$) ve dozlar - uygulama günleri - cinsiyet ($F_{(9,87)}= 3,577$ $p=0,001$) arasında ikili ve üçlü etkileşimler olduğu saptanmıştır.

Faktörler arası sonuçlara bakıldığında ; kronik nikotin uygulaması ($F_{(1,95)}= 11,198$ $p=0,001$) ve soy ($F_{(2,95)}= 6,214$ $p=0,003$) etkin faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu verilerle, nikotini kronik olarak uygulamanın soyları farklı oranda etkilediği söylemek mümkündür.

Soylar ayrı ayrı post hoc Duncan testinde değerlendirdiğimizde ise, nikotin alımının K ve T soylarını benzer oranda etkilediği ve bu iki soyun (K ve T) tekrarlayan hareket sayılarının nT grubundan daha fazla olduğu görülmüştür.

4.2.6 Tekrarlayan Hareket Sayısı - 60 Dakika



ŞEKİL 17. Tüm sıçanların 0,1-0,2-0,4-0,6 mg/kg subkutan nikotin enjeksiyonu sonrasında 60 dakikalık tekrarlayan hareket sayısı **K:** Kontrol **T :** Nikotini tercih eden sıçan soyu **nT:** Nikotini tercih etmeyen sıçan soyu **S:** Serum Fizyolojik **N:** Nikotin

Doz	Günler ve Günlerle etkileşim	Faktörler arası sonuçlar	Tek yönlü Anovada grup farkı Duncan	Duncan sonuçları
0,1	G: ($F_{(3,94)}= 7,939$ p=0,000) UG x NU: ($F_{(3,94)}=$ 4,121 p=0,009) UG x C : ($F_{(3,94)}=$ 6,500 p=0,000)	NU : ($F_{(1,96)}= 5,236$ p=0,024)	Grup farkı yok.	Duncan sonuçları değerlendirilmeye alınmamıştır.
0,2	Anlamli veri yok.	NU: ($F_{(1,95)}= 70,528$ p=0,000) Soy: ($F_{(2,95)}= 7,149$ p=0,001) C : ($F_{(1,95)}= 5,851$ p=0,017) Soy x C: ($F_{(2,95)}=$ 5,024 p=0,008)	($F_{(11,95)}= 9,396$ p=0,000)	Nikotin alımı nT grubu dişiler hariç tüm nikotin alan gruplarda tekrarlayan hareket sayısını arttırmıştır. Bu artış en fazla T soyu erkeklerde görülmüştür.
0,4	Anlamli veri yok.	NU: ($F_{(1,96)}=$ 70,579 p=0,000)	($F_{(11,96)}=7,899$ p=0,000)	Nikotin alımı tüm gruplarda tekrarlayan hareket sayısını arttırmıştır.
0,6	G: ($F_{(3,94)}= 2,962$ p=0,036) UG x NU : ($F_{(3,94)}=$ 3,615 p=0,016) UG x C : ($F_{(3,94)}=$ 4,212 p=0,008)	NU: ($F_{(1,96)}= 30,254$ p=0,000)	($F_{(11,96)}=3,615$ p=0,000)	Nikotin alımı tüm gruplarda tekrarlayan hareket sayısını arttırmıştır. Ancak bu artış K ve T gruplarında anlamli iken nT grubunda anlamsızdır.

TABLO 8 : Tekrarlayan Hareket Sayısı 60 dk Sonuçları

UG: Uygulama günleri

NU: Nikotin Uygulaması

G: Günler

C: Cinsiyet

4 doz (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6) ve 4 uygulamadan (1.gün - 4.gün - 8.gün - 11.gün) elde edilen tüm 60 dakikalık tekrarlayan hareket sayısı verilerine doz ve uygulama günlerinin tekrarlayan faktör, soy, cinsiyet ve kronik nikotin uygulamasının faktör olarak alındığı tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Uygulanan dozlar etkindir ($F_{(3,93)} = 9,659$ $p=0,000$) yani uygulanan doz arttıkça tekrarlayan hareket sayısı da artış göstermektedir. Dozlar ile kronik nikotin uygulaması ($F_{(3,93)} = 12,055$ $p=0,000$), dozlar ile cinsiyet ($F_{(3,93)} = 3,071$ $p=0,032$), dozlar ve uygulama günleri ($F_{(9,87)} = 2,715$ $p=0,008$) uygulama günleri ile cinsiyet ($F_{(3,93)} = 4,721$ $p=0,004$) ve dozlar- uygulama günleri - cinsiyet ($F_{(9,87)} = 2,093$ $p=0,039$) arasında ikili ve üçlü etkileşimler olduğu bulunmuştur.

Faktörler arası sonuçlara göz attığımızda ise; sadece kronik nikotin uygulamasının ($F_{(1,95)} = 41,620$ $p=0,000$) etkin olduğu görülmüştür.

Post hoc Duncan testinde değerlendirdiğimizdeyse, nikotin alımının nT soyu haricindeki gruplarda tekrarlayan hareket sayısını arttırdığı ve bu artışın en çok K soyu dişilerinde olduğu saptanmıştır.

5 TARTIŞMA

Çalışmamızda, kontrol grubu ve nikotin bağımlısı soylardan gelen naif sıçanlar kullanılmıştır. Bu sıçanlar üzerinde, 0,1 mg/kg akut nikotin uygulamasının ve 0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6 mg/kg kronik nikotin uygulamasının lokomotor aktivite üzerine etkisini araştırılmıştır.

Nikotinin lokomotor aktivite üzerine olan etkisi komplekstir. Akut olarak uygulanan nikotin lokomotor aktivitede azalmaya, kronik uygulamaları ise lokomotor aktivitede artmaya yol açmaktadır(7, 15, 21). Ancak daha önce nikotine maruz kalmış sıçanlarda nikotinin lokomosyonu baskılayıcı etkisine karşı hızlı bir tolerans geliştiği ve lokomotor aktiviteyi uyarıcı etkinin daha da belirginleştiği saptanmıştır ve bu konuda literatürde birçok yayın vardır(8, 9, 21). Bununla paralel şekilde, nikotinin tekrarlayan dozlarının dopaminerjik akson sonlanmalarının bulunduğu nukleus akumbens, dorsal striatum ve prefrontal korteks gibi bölgelerde dopamin salgısını da giderek arttırdığı gösterilmiştir (11, 15, 19, 20). Diğer bir deyişle nikotinin lokomotor aktiviteye etkili olduğu kanıtlanmıştır.

Nikotin bu etkisini ventral tegmental alandaki nikotinik reseptörleri, özellikle de $\alpha 4\beta 2$ nAChR etkileyerek, buradan dopamin salgılanmasını arttırarak yapar. Buradan salgılanan dopamin nukleus akumbens ve prefrontal korteks de dahil olmak üzere beyin birçok bölgesine dağılır ve hem bağımlılıkta hem de lokomotor aktivitenin değişmesinde rol oynar(11). Ventral tegmental bölgeye nikotin infüzyonları lokomotor aktivasyonu arttırır ve sistemik olarak uygulanan nikotinin lokomotor uyarıcı etkisi, asendan mezokortikolimbik dopamin yolunun lezyonlanması ile zayıflatılabilir(13). Bu da gösteriyor ki, nikotinin lokomotor aktivite üzerine olan etkisine mezokortikolimbik sistem aracılık etmektedir.

İn vivo mikrodializ yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar ile nikotinin lokomotor aktiviteki artış etkisinin nukleus akumbensteki dopamin miktarı ile paralel olduğu gösterilmiştir. Bu deneylerden sonra nikotine uyarılmış lokomotor aktivite artışı nukleus akumbensteki dopamin miktarının davranışsal bir göstergesi olarak kabul edilmektedir(13). Aynı zamanda lokomotor aktivite, sıçanlarda madde uygulaması ve bırakma etkilerini indekslemek için yaygın olarak kullanılan hassas, koşulsuz bir davranış çeşidi olarak kabul edilmektedir(129-131).

Literatürde, çalışmamızda kullandığımız nikotin tercih eden ve etmeyen sıçan soyları eşdeğerinde bir deney hayvanı popülasyonu olmadığı, dolayısıyla nikotin bağımlısı sıçanlar üzerinde uygulanmış bir lokomotor aktivite ölçümü yapılmadığı için, nikotin bağımlısı sıçanlarımızdan elde ettiğimiz verileri aynı tip sıçan verileriyle kıyaslamak ve tartışmak

mümkün olmamaktadır. Bu sebeple tartışma bölümünde K erkek ve dişi sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarla ilgili bilgilere ve kıyaslamalara yer verilecek, ayrıca nikotin bağımlısı sıçanların verileri de çalışmamızda bulunan K gruplarının verileriyle bir arada tartışılacaktır.

Pek çok bağımlılık yapıcı maddeye olan duyarlılık madde kullanım süresiyle beraber azalırken nikotinde bu durum tam tersidir, yani nikotine belli bir süre maruz kalındığında duyarlılık daha da artar(115), buna karşın maruziyet süresi uzadıkça aversif etki görülme olasılığı da artmaktadır(8, 132, 133). Clark ve ark. 1983’de yaptıkları bu çalışmada(8), naif 250-287 gr ağırlığında erkek sıçanlara 4 aşamalı bir deney deseni uygulamışlardır. Çalışmanın 1. aşaması akut uygulamayla ilgilidir ve ilerki bölümlerde bahsedilecektir. Çalışmanın diğer aşamalarında sıçanlar önce 30 gün haftanın iki günü sf ve nikotine (0,4 mg/kg sc) maruz bırakılmışlar, sonraki aşamada 13 gün boyunca 0,1 – 0,2 – 0,4 – 0,8 mg/kg maruz kaldıktan sonra 3 gün de 0,4 mg/kg sc nikotin almışlar ve ardından 23 günlük bir yoksunluğa sokulmuşlar. Deneyin son iki günü sf ve 0,4 nikotin birer gün arayla sıçanların tamamına dönüşümlü şekilde uygulanarak deney sonlandırılmış. Nikotinin uygulanma süresi uzadıkça lokomotor aktivitede azalma görülmeye başlanmış. Ayrıca bu çalışmada, yüksek nikotin dozunun(0,8 mg/kg sc) lokomasyonu baskılamaya başladığı da gösterilmiş. Çalışmamızda, aynı doza uzun süre maruz kalınması sonucu görülebilen nikotinin aversif etkisinin görülmemesi için 2 haftalık periyotlar halinde nikotin dozunu arttırarak toplamda 8 hafta süren bir çalışma deseni uyguladık. Ve yine yüksek nikotin dozlarının oluşturabileceği aversif etkileri önlemek adına çalışmamızda en yüksek nikotin dozunu 0,6 mg/kg’ı seçtik.

Nikotin – lokomotor aktivite ilişkisini incelemek için nikotinin deney hayvanına uygulanabilmesi gerekmekte ve bunun için de çeşitli yollar ve teknikler uygulanmaktadır. Bunların bazıları kemirgenlerde bazıları da maymun vb. başka tür hayvanlara yapılan uygulama yöntemleridir. Literatürde nikotin uygulanması için kullanılan bazı yöntem ve teknikler şunlardır; oral gavaj ve serbest oral alım(134), inhalasyon(135), subkutan enjeksiyon(136), intramuskuler enjeksiyon(137), intravenöz enjeksiyon(138), intrakraniyal mikroenjeksiyon(139), osmotik minipump(140, 141) ve intravenöz self-administrasyondur(142). Yaptığımız çalışmada, deney desenimizin seansa başlamadan hemen önce nikotin uygulanmış olmasını gerektirdiği ve bunu hızlı, aynı zamanda da pratik bir şekilde yapmamıza olanak tanıyacak, aynı zamanda sıçanları devamlı irrite etmeyecek, lokomotor aktivatör etkinin iyi gösterilmiş olduğu yöntemlerden olan subkutan enjeksiyon tekniğini kullandık.

Lokomotor aktivite ölçüm süresi ile ilgili olarak, 30 dakikadan 180 dakikaya kadar farklı ölçüm süreleri ve bu sürelerin de farklı şekilde bölünerek veri olarak kullanılabildiği birçok çalışma bulunmaktadır(11, 15, 132, 143, 144). Nikotinin enjekte edilmesinden hemen

sonraki 10 ila 20 dakikalık periyot, nikotinin deney hayvanı üstünde etkisini en iyi gösterdiği zaman periyodu olarak karşımıza çıkmaktadır(8, 145). Bu sebeple biz de çalışmamızda nikotinin uygulanmasının hemen sonrasında ortaya çıkan etkisini görmek için ilk 10 dakika verisini kullanmayı tercih ettik. Her bir ölçüm seansının toplam süresini ise önceki çalışmalar ışığında 60 dakika olarak belirledik. Çünkü nikotin enjeksiyonundan hemen sonra ölçülen spontan lokomotor aktivite 60. dakikadan sonra ciddi iniş çıkışlar göstermemektedir(11, 132, 133).

Akut olarak nikotin ile ilk kez karşılaşılmasında ya da kronik nikotin uygulaması esnasında olduğu fark etmeksizin sıçanlar yeni bir nikotin dozuna maruz kaldıklarında, özellikle uygulamanın ilk günlerinde lokomotor aktivitelerinde azalma görülmektedir ve uygulanan doz seviyesi arttıkça bu azalma oranının da arttığı gösterilmiştir(8, 24, 146). Yani sıçanlar ne kadar yüksek doz nikotine maruz kalırlarsa, uygulamanın ilk günlerinde lokomotor aktivitelerinin de o kadar azaldığı görülmüştür. Clark ve ark. bu çalışmalarında(8), 0, 0,1, 0,2, 0,4 mg/kg subkutan nikotini akut olarak naif erkek sıçanlara uygulamış ve uygulamanın hemen sonrasında yapılan ölçümlerde, sıçanları lokomotor aktivitesi en yüksekten en düşüğe olarak sıralamak istenildiğinde yukarıda verdiğimiz sıralamayı yani 0, 0,1, 0,2, 0,4 mg/kg şeklinde olduğunu görmüşler. Yine aynı çalışmanın sonraki aşamalarında 0,4 mg/kg nikotin alan sıçanlara verilen doz 0,8 mg/kg'a çıkarılınca lokomotor aktivitelerinde uygulamanın ilk günlerinde azalma ve bazı sıçanlarda ataksi benzeri yan etkiler görülmüş. Çalışmamızda en yüksek uyguladığımız doz 0,6 mg/kg idi ve sıçanlarımızın hiçbirinde ne bu dozda ne de diğer dozlarda ataksi benzeri davranışlar ya da başka beklenmeyen yan etkiler gözlemlenemedi. Başka bir çalışmada(146), Elliott ve ark. 0, 0,1, 0,5, 1 mg/kg nikotini naif dişi ve erkek sıçanlara akut ve 5 gün subkronik olarak uygulamış ve yine akut uygulama sonrasında lokomotor aktivitesi en düşük olan grubun 1 mg/kg nikotine maruz kalan sıçanlar olduğu görülmüş. Sonuç olarak, akut olarak nikotin ile ilk karşılaşma durumunda ya da kronik uygulamada doz arttırımı sonrasında sıçanların lokomotor aktivitesinde azalma görülmesi beklenen bir durum olarak kabul edilmektedir. Bu iki çalışmadan daha ayrıntılı olarak ileri paragraflarda bahsedeceğiz.

Nikotinin ilk kez uygulanmasından sonra görülen lokomotor aktiviteyi baskılayıcı etkisine uygulanan doz miktarı ve sıçanın özelliğine göre değişen sürelerde tolerans gelişmesinin sonrasında nikotin uygulamasına hala devam ediliyorsa bu kez de lokomotor aktiviteyi uyarıcı etki ortaya çıkmaya başlar. Bu durum tartışma bölümünün 2.paragrafında bahsettiğimiz bilgileri destekler niteliktedir. Akut nikotin lokomotor aktiviteyi baskılamakta, kronik uygulama ise arttırmaktadır(15, 147, 148). Eğer aynı doz belli bir süre boyunca uygulanmaya devam ederse ve doz arttırılırsa sıçanın artmış dozun aversif etkisini tolere edip

edemediğine göre lokomotor aktiviteleri tekrar artış eğilimine geçemeyebilir ya da geçer(8). Çalışmamızda özellikle T grubu sıçanlarımızın çok çarpıcı bir şekilde nikotin akut aversif etkisine hızla tolerans geliştirdiğini, kronik uygulama sırasında da doz artışının aversif etkisinden en hızlı çıkan grup olduklarını tespit ettik(Şekil 6, Şekil 7). K grubu sıçanlarımızın ise, özellikle K dişi sıçanlarımızın nikotin dozu artışına diğer tüm gruplardan daha iyi uyumluluk gösterdiğini ve lokomasyonu en yüksek sıçan grubu olduklarını gördük. Aşağıda bulgularımızı daha da detaylı tartışacağız.

Daha önceden nikotin ile hiç karşılaşmamış naif hayvanlara yapılan ilk nikotin enjeksiyonu sonucu elde edilen veriler akut nikotin uygulaması verileri olarak değerlendirilmektedir. Biz çalışmamızda akut nikotin uygulamasını 0,1 mg/kg dozda uyguladık. Akut nikotin uygulamasının lokomotor aktiviteyi K erkek ve dişi sıçanlarda azalttığına dair pek çok çalışma olduğundan söz etmiştik(8, 9, 132, 149, 150).

Bu çalışmalardan biri olan Clark ve ark. yaptıkları bu çalışmada(8), naif 250-287 gr ağırlığında erkek sıçanlara 4 aşamalı bir deney deseni uygulanmış. Çalışmanın 1.aşaması akut uygulamayla ilgilidir. Diğer aşamalarda kronik nikotin uygulamasıyla nikotini tolere eden ve edemeyen sıçan grupları belirlenmiş, bu grupların bir kısmı farklı dozlarda nikotine akut olarak maruz kaldıktan sonra mekamilamine maruz bırakılmış. Daha sonra mekamilamin alan ve almayan tüm sıçanlar 0,4 mg/kg nikotine kronik olarak 30 gün maruz bırakılmış, ardından da 0, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8 mg/kg nikotin yaklaşık 2 hafta yine subkutan olarak uygulanmış ve çalışmanın sonunda sıçanlar 2 hafta yoksunluğa sokulmuş, testin son 2 günü de 0,4 mg/kg nikotin ve sf birer gün arayla sıçanlara yarı yarıya uygulanarak deney sonlandırılmıştır. Deney süresinde belirli aralıklarla sıçanların lokomotor aktivite ölçümleri yapılmış. Biz şu an bu çalışmanın akut uygulama aşamasıyla ilgileneceğiz. Akut uygulamanın yapıldığı aşamada, serum fizyolojik (sf) ile birlikte farklı nikotin dozlarının(0,1- 0,2 ve 0,4 mg/kg sc) lokomotor aktivite üzerine olan etkisine bakılmış. Test süresi 80 dakika olarak belirlenen çalışmada bu süre 4'e ayrılıp her 20 dakika da bir veri analizi yapılmış. Testin özellikle ilk 20 dakikalık bölümünde daha belirgin olmak üzere lokomotor aktivitenin doz bağımlı bir şekilde azaldığı görülmüş.

Nikotin akut etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, Balfour ve ark.(15) erkek 250-350 gr ağırlığında Sprague-Dawley sıçanları üzerinde bir çalışma gerçekleştirmişler. Nükleus akumbense bir dializ probu yerleştirilmiş ve serum fizyolojik (sf), 0,1 ve 0,4 mg/kg nikotin subkutan uygulanarak hem lokomotor aktiviteye hem de dializ probundan alınan örnekler yardımıyla dopamin seviyeleriyle birlikte dopamin metabolitlerinden olan DOPAC ve HVA seviyelerine eş zamanlı bakılmış. Akut olarak nikotin enjeksiyonun hemen ardından lokomotor aktivite ölçüm kafesine koyulan sıçanların her 20 dakikada bir hem aktivite hem de

Nac'deki dopamin ve metabolitlerinin verileri alınmış. Verilerin incelenmesi sonucunda, akut uygulama sonrasında lokomotor aktivitede doz bağımlı bir azalma olduğu görülmüş.

Bahsettiğimiz bu 2 çalışmanın verileriyle bizim elde ettiğimiz veriler örtüşmektedir. Çalışmamızda bulunan nikotin alan K erkek sıçanlarımızın lokomasyonu, akut uygulamadan hemen sonra baskılanmış ve ölçüm süremiz olan 60 dakika boyunca da nikotin alan K erkek sıçanların sf alan K erkek sıçanlardan hep daha az hareket paternine sahip oldukları görülmüştür(Şekil 7).

Akut nikotin uygulamasının dişilerdeki ve erkeklerdeki etkisine birlikte bakıldığı bir çalışma olan Kanit ve ark(148) yaptıkları bu çalışmada, 36 dişi ve 12 erkek erişkin Lister Hooded sıçanı üzerinde, akut ve 21 günlük kronik nikotin uygulamasının lokomotor aktivite üzerine etkisini, buna ek olarak dişilerin bir kısmına overektomi yaptıktan sonra hormon replasman tedavisini tek başına ve nikotinle kombine şekilde vererek bu prosedürün lokomotor aktivite üzerine etkisini incelemişler. Şu an bu çalışmanın akut uygulama verileri üzerinden devam edeceğiz. Akut nikotin uygulamasında 12 erkek ve 12 dişi sıçan üzerinde sıçanların yarısına sf, yarısına 0,4 mg/kg nikotin subkutan olarak uygulanmış ve 30 dakika sonunda lokomotor aktivitelerine bakılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda, ister sf ister nikotin alsın dişilerin erkeklerden hep anlamlı bir şekilde daha hareketli oldukları görülmüş. Nihayetinde, akut nikotin uygulamasının lokomotor aktiviteyi anlamlı bir şekilde azalttığını, dişilerdeki azalma oranının erkeklerden daha fazla olduğunu tespit etmişler. Bu çalışmanın ışığında, dişilerin erkeklerden, uygulanan maddeden bağımsız olarak daha hareketli olduğu, aynı zamanda nikotinin akut baskılayıcı etkisinden de daha fazla etkilendiğini söyleyebiliriz. Biz de yaptığımız çalışmada, Kanit ve ark. çalışmasında bulduklarıyla neredeyse birebir örtüşen verilere ulaştık. Çalışmamızda, K erkek ve dişi sıçanlar üzerinde akut nikotin uygulamasının hemen sonrasında yaptığımız ölçümlerde, nikotin alan K dişi ve erkeklerde lokomotor aktivitenin, ölçüm süresinin tamamı boyunca, sf alan K dişi ve erkeklerden daha az olduğunu, nikotin alan gruplar arasında ve sf alan gruplar arasında cinsiyet açısından bakıldığında bir fark olduğunu ve dişilerin erkeklerden hep daha hareketli olduğunu, bununla birlikte nikotin alan ve sf alan grupları kıyasladığımızda, nikotin alan dişilerdeki azalma oranının nikotin alan erkeklerdeki azalma oranından daha fazla olduğunu tespit ettik(Şekil 6, Şekil 7). Bu duruma dişi mezolimbik sisteminin işleyiş şeklinin erkeklerden farklı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bununla ilgili genel olarak kabul gören bazı hipotezler bulunmaktadır. Kronik nikotin uygulaması verilerimizi tartışırken, dişi sıçanlarımızın sonuçları kısmında bu hipotezlerin en kabul görenlerinden biri olan O'Dell ve ark. hipotezini(24) ayrıntılı olarak açıklayacak ve verilerimizle ilişkilendireceğiz.

Nikotin bağımlısı gruplarımızın akut uygulama verilerine göz atacak olursak, T (nikotin tercih eden soy) grubunda, akut uygulamanın 10.dakikasında dişilerde nikotinin aversif etkisi belirgin iken erkeklerde aversif etki neredeyse görülmemektedir(Şekil 6). Nikotin alan T erkekler sf alanlarla benzer hareket paternine sahiptir ve bu sonuç literatürdeki K grubu sıçanlarla kıyaslandığında oldukça ilginçtir. 60 dakika sonunda elde ettiğimiz veride ise hem dişi hem de erkek T grubu sıçanların, nikotinin aversif etkisinden hızlı bir biçimde çıktıklarını ve ilk uygulama olmasına rağmen nikotinin aversif etkisine tolerans geliştirdiklerini ve nikotine duyarlı hale geldiklerini, lokomotor aktivitelerinin artmaya başladığını gördük(Şekil 6). Elde ettiğimiz bu veriler, literatürde var olan K grubu hayvanlarla yapılmış olan çalışmalarda(8, 132, 148) görülen nikotinin akut uygulama sonrasında oluşan lokomotor aktivitede azalma görülmesi sonucundan ve literatürle benzer şekilde bizim çalışmamızda da bulduğumuz K grubu sıçanlarımızdaki lokomotor aktivite azalması durumundan oldukça farklıdır ve son derece dikkat çekicidir. Tekrar özetlemek gerekirse, T grubu dişi sıçanlarımız akut uygulamanın ilk 10 dakikasında K dişilerle benzer davranmış ve akut nikotinden beklenildiği gibi olumsuz etkilenmiş olmasına rağmen T grubu erkeklerde bu azalma görülmemiştir. 60 dakika verisinde ise hem dişi hemde erkek T grubu sıçanlar, K grubu sıçanlardan farklı davranmış, lokomasyonlarında azalma yerine artma gözlenmiştir. Bu sonuçları göz önüne alarak; nikotini tercih eden soydan gelen naif sıçanların akut uygulama bile olsa nikotinin aktivatör etkisine oldukça duyarlı olduklarını ve nikotinin uyarıcı etkisinin bu sıçanlarda son derece hızlı bir biçimde ortaya çıktığını, aynı zamanda nikotinin aversif etkisine de hızla tolerans geliştirdiklerini ve nikotine duyarlı hale geldiklerini söyleyebiliriz.

Çalışmamızda yer alan nT (nikotin tercih etmeyen soy) grubu sıçanlardaki akut uygulama sonrası durum şöyledir; ilk 10 dakika verilerinde akut nikotinden K grubu dişi ve erkek sıçanlarla benzer şekilde etkilenmişler, lokomotor aktiviteleri azalmış, bu azalma oranı yine K gruplarımızda olduğu gibi dişilerde daha fazla olarak karşımıza çıkmıştır(Şekil 6). Akut uygulamanın 60 dakika verilerinde ise, nT dişilerin K dişiler kadar olmasa bile yine de sf alan gruba göre lokomotor aktivitelerinin daha düşük olduğunu, ancak ilginç bir şekilde nikotin alan nT erkeklerin lokomotor aktivitelerinin K erkek grubunun aksine, sf alan sıçanlardan istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir şekilde daha fazla olduğunu gördük(Şekil 6). Yani nT dişiler akut uygulamanın tamamında K dişiler gibi davranırken, nT erkekler 60 dakika sonundaki veriler baz alındığında nikotinin aversif etkisinden çıkmış ve K erkeklerle göre lokomotor aktivitelerinde anlamlı olmayan kısmi bir artış saptanmıştır. Sonuç olarak akut uygulama sonucunda, T grubu erkekler kadar olmasa da nT erkeklerin de nikotinin akut

baskılayıcı etkisine karşı tolerans geliştirdiğini ve nikotine duyarlı hale geldiklerini söylemek yanlış olmaz.

Literatürde, subkronik ya da kronik nikotin uygulamaları esnasında K grubu sıçanların nikotinin aversif etkisinden 3.günden itibaren kurtulmaya başladığı ve nikotinin uyarıcı etkisinin belirginleştiğini belirten birçok yayın bulunmaktadır(8, 144, 145, 148). Bu çalışmalardan yukarda da bahsettiğimiz Kanıt ve ark.(148) çalışmasının 0,4 mg/kg nikotinin 21 gün kronik olarak uygulandığı aşamada, nikotin alan dişi ve erkeklerin 60.dakika verilerinde 3.günden itibaren sf alan sıçanlardan anlamlı daha hareketli oldukları ve uygulama günleriyle aradaki farkın daha da arttığını yani nikotin alımının lokomotor aktiviteyi uygulama süresince arttırdığını görmekteyiz. Kronik nikotin uygulamasıyla ilgili başka bir çalışmada da, Colins ve ark.(151), 7 gün boyunca yani subkronik denilebilecek bir süre boyunca 0,4 mg/kg nikotini subkutan olarak adolesan ve yetişkin dişi ve erkek K grubu sıçanlara uygulamışlar, daha sonra da kokain verip stereotipi ve lokomotor aktivite ölçümlerine bakmışlar. Bu çalışmanın ilk 7 günlük, sadece nikotin verildiği süre zarfında yapılan ölçümlerde, nikotin alan yetişkin dişi ve erkek sıçanların sf alanlara göre 60.dakika verilerinde 5.günden itibaren anlamlı olarak daha hareketli oldukları gözlenmiş. Bizim çalışmamızda ise K erkekler bu duruma 0,2 mg/kg nikotin uygulamasının 4.gününde ulaştılar, yani sf alan sıçanlardan anlamlı daha hareketli olmaları için 14 günlük 0,1 mg/kg uygulamanın üzerine 4 gün de 0,2 mg/kg nikotin uygulaması gerekti. K dişi sıçanlarımızda ise aynı durumun oluşması yani nikotinin aversif etkisinden çıkıp sf alan sıçanlardan anlamlı daha hareketli olmaları, 0,1 mg/kg nikotin uygulamasının 12.gününden itibaren gerçekleşti. Bulgularımız, literatürde var olan ve yukarda bahsettiğimiz(148, 151), K grubu sıçanların 3 ila 5.günden itibaren anlamlı olarak aversif etkiden kurtulduklarını gösteren çalışmalardan farklıdır. Çünkü bahsi geçen çalışmalarda uygulanan doz 0,4 mg/kg'dır. Biz nikotin uygulamasını 0,1 mg/kg dozdan başlayarak yaptık ve daha düşük dozda başladığımız için çalışmamızda nikotinin uyarıcı etkisinin ortaya çıkması 0,4 mg/kg uygulanan çalışmalarla kıyaslandığında geç olmuştur. Bunun en olası sebebi, düşük doz nikotinin aversif etkisinden sıçanların çıkmasının daha uzun sürmesi ve mezolimbik sistemdeki nikotinik reseptörlerinin aktive olması için gerekli nikotin konsantrasyonuna ulaşılmasının zaman almış olması olduğunu düşünüyoruz.

Kronik nikotin uygulamamızın tamamı göz önüne alındığında, K erkek gruplarında ilk 10 dakika ve 60 dakika verilerinde birbirine benzeyen sonuçlara ulaştık. 0,2 , 0,4 ve 0,6 mg/kg kronik nikotin uygulamasının ilk günlerinde doz artışının ilk günlerinde lokomotor aktivitede azalma görülmesi durumu yani aversif etki, K erkek sıçan gruplarımızın hiçbirinde

görülmezken K dişilerde 0,4 ve 0,6 mg/kg'da lokomotor aktivitede azalma saptadık(Şekil 12, Şekil 13). K erkeklerin lokomotor aktiviteleri 0,2 uygulamanın 4.gününden itibaren sf alan K erkek grubundan anlamlı daha yüksek hale gelmiştir ve kronik nikotin uygulaması süresince de bu durum devam etmiştir ve artan nikotin dozlarına da oldukça uyumlu davranmışlardır.

Stolerman, gerek tek başına gerek ekip arkadaşlarıyla yaptığı çalışmalar(147, 152-154) sonucunda, 0,4 mg/kg dozun K erkeklerde lokomotor aktiviteyi en etkin arttıran doz olduğunu belirtmiştir. Bu araştırmalardan biri olan bu çalışmada(147), yetişkin erkek Lister Hooded sıçanlarına 2 hafta boyunca haftada 5 gün günde 1 kez olmak üzere farklı nikotin dozları (0,04 - 0,13 – 0,4 mg/kg sc) subkutan olarak uygulanmış ve haftada 2 kez lokomotor aktiviteleri ölçülmüş. Elde edilen verilere göre lokomotor aktiviteyi en etkin arttıran dozun 0,4 mg/kg olduğu görülmüş. Çalışmanın devamında lokomotor aktiviteyi en etkin arttıran doz olduğu saptanan 0,4 mg/kg nikotini çalışmadaki sıçanların yarısına, serum fizyolojisi de diğer yarısına uygulayıp, aynı zamanda VTA'ya yerleştirilen bir kanül yardımıyla nikotinik reseptör agonisti olan sistisin verilmiş ve bunun sonucunda beklendiği gibi lokomotor aktivitede artış saptanmış. Daha sonra nikotinik reseptör antagonisti olan mekamilamin yine intraserebral olarak uygulanmış ve reseptörlerin bloke olması sonucunda lokomotor aktivitede azalma meydana geldiği görülmüş. İntraserebral sistisin ve mekamilamin uygulaması gibi maddelerin intraserebral,sistemik ya da başka bir şekilde uygulamasından önce sadece subkutan nikotin/serum fizyolojik enjeksiyonu yapılması ve belli bir süre uygulanan bu nikotin sonrasında başka madde/ilaç uygulamasına geçilmesi, son yıllardaki çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir prosedürdür(143, 147, 155). Bu sayede, nikotinik lokomotor aktiviteyi baskılayıcı etkisine tolerans gelişmesi amaçlanmakta aynı zamanda sıçanların enjeksiyon yapımına ve deney kafesi ile çalışma ortamına da adaptasyonuna sağlanmaktadır. Sonuç olarak bu ve benzeri diğer çalışmalar ışığında, K erkek sıçanların lokomotor aktivitesini en etkin arttıran dozun 0,4 mg/kg olarak kabul edilmektedir ve birçok çalışmada da 0,4 mg/kg nikotin dozu lokomotor aktivite çalışmalarının vazgeçilmezi olarak karşımıza çıkmaktadır(143, 151, 155).

Buna karşın biz yaptığımız çalışmalar neticesinde K erkek sıçanlarda lokomotor aktiviteyi arttıran en etkin dozun hem 0,4 hem de 0,6 mg/kg olduğunu tespit ettik. İki dozda da benzer bulgular olmasının yanında 0,6 mg/kg dozda 0,4'e göre lokomotor aktiviteler arasında anlamlı olmayan bir yükseltikten de söz etmek mümkündür. Literatürden farklı olarak çalışmamızda 0,6 mg/kg dozun da literatürde belirtilen 0,4 mg/kg gibi K erkeklerde etkin çıkmasının en olası sebebinin deney desenimiz olduğunu düşünmekteyiz. 0,1 mg/kg nikotin uygulamasından itibaren aralıksız ve 2 haftada bir gittikçe artan şekilde kronik nikotin

uygulamasına maruz kalan K erkek sıçanlarda yüksek olasılıkla mezolimbik yollarda bulunan nikotinik reseptörlerin sayısı ve duyarlılığı daha da artmış, bu sayede de kronik nikotini artan dozlarda uyguladığımız süre boyunca lokomotor aktivite de artış görülmüş ve 0,6 mg/kg doza da duyarlı çıkması gerçekleşmiş olması kuvvetle muhtemeldir.

Nikotin alan K dişi gruplarımıza gelecek olursak, ilk 10 dakika verilerinde, aversif etkiden 1.günden itibaren çıkmaya başlamalarına rağmen, sf alan K dişi grubuna göre anlamlı bir şekilde lokomotor aktivitelerinin ilk günlerde düşük olduğunu gördük. Bunun sebebi daha önceki çalışmalardan da anlaşıldığı üzere nikotin ile ilk karşılaşmalarda görülebilen aversif etkidir(146, 150). İlk 10 dakika ve 60.dakika verilerinde 12.günden itibaren nikotin alan K dişilerin sf alan K dişilerden daha hareketli oldukları noktaya eriştiğini gördük. Hem 10. hem de 60.dakika verilerimizde doz artışının ilk günlerinde görülmesi beklenen aversif etkinin K dişilerde, K erkeklere benzer olarak 0,2 mg/kg uygulamada görülmediğini, 0,4 ve 0,6 mg dozlarında ise erkeklerin aksine bariz bir şekilde görüldüğünü saptadık. Çünkü nikotin dozu yükseldikçe dişilerde nikotinin aversif etkilerinin görülme olasılığı artmaktadır(146, 155). Literatürde var olan çalışmalarda da görüleceği gibi 1mg/kg ve daha yüksek dozları K dişiler tolere edememekte ve lokomasyonları azalma eğilimine girmektedir. Bu tip çalışmalardan biri olan bu çalışmada(146), Elliott ve ark. 160 adet dişi ve erkek, erişkin ve adolesan sayısı eşit olan Sprague Dawley sıçanları üzerinde farklı nikotin dozlarının lokomotor aktiviteye olan etkisini incelemişler. 5 gün boyunca subkutan olarak sf, 0,1, 0,5 ve 1 mg/kg nikotin uygulanmış ve hergün lokomotor aktiviteleri ölçülmüş. Yüksek doz nikotin (1 mg/kg) alan sıçanların 1.gün ölçümlerinde sf alanlardan bile daha az hareket ettiğini görmüşler. 1mg/kg nikotin alan sıçanlar dişi ve erkek fark etmeksizin 5.güne doğru sf alandan daha hareketli olmaya başlamışlar ancak hala lokomotor aktivitesi en yüksek olan gruplar sırasıyla 0,5 ve 0,1 mg/kg nikotin alan gruplar olduğu görülmüş. Belki bu çalışmadaki uygulama süresi bizim çalışmamızdaki gibi 2 hafta olsaydı yüksek dozun aversif etkisinden daha da kurtulmaya başlayabilirlerdi çünkü çalışmadaki verilerden ve grafiklerden bunu görebiliyoruz, 1 mg/kg nikotin alan sıçanların lokomotor aktivitesi artış eğilimde görülüyor ancak 2 hafta sonunda ne olacağını kestirmemiz tabi ki imkansızdır. Çalışmamızda bu kadar yüksek bir dozu uygulamadığımız için K dişilerde nikotinin aversif etkisini sadece yüksek doz sayılabilecek olan 0,4 ve 0,6 mg/kg'da gördük. Ancak bu dozları uyguladıktan 1 ila 2 gün içinde K dişi sıçanlarımız aversif etkiden hızla çıkmış ve lokomotor aktiviteleri artmaya devam etmiştir. Çalışmamızın tamamı düşünüldüğünde, 0,2 – 0,4 – 0,6 mg/kg nikotin uygulamalarında tüm hayvanlar içerisinde, en hareketli grup anlamlı bir şekilde K dişiler olmuştur. Literatürde var olan çalışmalarda, K dişi sıçanlarda lokomotor aktiviteye ve birçok davranış testine en etkin olan dozun bazı çalışmalarda 0,4 mg/kg, bazı çalışmalarda da 0,2 mg/kg olduğu

görülmektedir ve ancak lokomotor aktiviteyle ilgili bir çalışma varsa dişilerde yaygın olarak kullanılan en etkin doz 0,2 mg/kg'dır(150, 156). Oysa biz çalışmamızda, K dişilerde lokomotor aktivite üzerine en etkin dozun 0,6 mg/kg olduğunu tespit ettik(Şekil 13). Bu durumun en olası sebebi tıpkı K erkek sıçanlarımızda da gerçekleştiğini düşündüğümüz mekanizmalardır. Deney desenimizde her sıçana 2 hafta boyunca belirlenen bir nikotin dozu aralıksız olarak hergün günde bir kez uygulanmış, hem yoksunluğa girmelerine izin verilmemiş hem de uzun süre aynı doza maruz kalmaları kaynaklı bir reseptör down regülasyonu oluşmasına fırsat tanınmadan bir üst doza geçilmiştir. Bu sayede mezolimbik sistemde bulunan nikotinik reseptörlerin nikotinin lokomotor aktiviteyi uyarıcı etkisine tolerans göstermesinin önüne geçilmiş ve nikotine daha duyarlı hale gelmeleri sağlanmıştır.

Bu verimizin ışığında diyebiliriz ki, nikotinin uyarıcı etkisine tolerans gelişmesine sebep olmayacak uzunlukta bir süre boyunca (çalışmamızda uyguladığımız 2 haftalık doz uygulama seansları oldukça ideal görünmektedir) ve gittikçe artan dozlarda yapılan kronik nikotin uygulaması lokomotor aktiviteyi K erkek ve dişi sıçanlarda gittikçe artırır. Çalışmamız bu durumun gösterildiği somut bir örnektir. Literatürde, dişilerin kronik nikotin uygulamasına erkeklerden daha duyarlı olduklarını gösteren birçok çalışma(146, 148) vardır ve kronik nikotin dozu yükseldiğinde bile dişiler yine nikotine erkeklerden daha duyarlı davranmaktadır(146, 155). Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler bu çalışmaları desteklemektedir. Çalışmamızda, K dişilerin K erkeklerden 0,1 mg/kg doz harici hep daha hareketli olduğunu ve nikotin dozu arttırıldığında erkeklerde görülmeyen doz artışı kaynaklı aversif etkinin dişilerde görülmüş olmasına rağmen (özellikle 0,4 ve 0,6 mg/kg dozlarda) buna hızla adapte olduklarını ve tolerans geliştirdiklerini, erkeklerden her durumda lokomotor aktivitelerinin daha yüksek olduğunu saptadık.

Nikotin bağımlısı sıçanlarımızın kronik uygulama sonuçlarına baktığımızda ise; Nikotin tercih etmeyen (nT) grupta bulunan dişi ve erkek sıçanlarımızda, 0,1 mg/kg nikotinin kronik uygulanmasının ilk 10 dakika ölçümlerinde, hem dişi hem erkeklerin 4.günden itibaren aversif etkiden çıktığını ve lokomotor aktivitelerinin arttığını gördük. Erkeklerde 10. ve 60.dakika ölçümlerinde, 0,2 ve 0,6 mg/kg nikotin uygulamasının ilk günlerinde doz artışı kaynaklı aversif etki görülmezken sadece 0,4 mg/kg dozda görülmüştür. Dişilerde ise yine 10. ve 60.dakika ölçümlerimizde, 0,2 mg/kg uygulamada aversif etkiye dair bulgu yok iken, 0,4 ve 0,6 mg/kg uygulamaların ilk günlerinde aversif etkiye rastlanmıştır. Ve doz artışı devam ettikçe nT grubu dişi sıçanların yüksek nikotin dozunu tolere edemediğini ve lokomotor aktivitelerinin azaldığını gördük. Çalışmamızdaki sıçanların hareket kalıbının daha iyi anlaşılması için hem çalışmamızda bulunan literatürle kıyaslama yapma fırsatımızın olduğu K grubu sıçanlarımızla, hem de nikotini tercih eden ve hem de etmeyen sıçan soyunun hareket

kalıplarını karşılaştırmak uygun olacaktır. nT ve K gruplarını kıyaslamak istersek, ilk 10 dakika ve 60 dakika verilerinde benzer sonuçlara ulaştık. nT erkeklerle K erkeklerin, 0,1'den 0,6 mg/kg'a kadar tüm dozlarda benzer hareket paterni sergilediklerini görmekteyiz. Dişilerde ise, nT dişilerin K dişilerden hep daha az hareketli olduklarını gördük. nT grubu sıçanların diğer nikotin bağımlı soy olan T grubu sıçanlarla kıyaslamasını T grubu sıçanların verilerinin incelenmesinden sonra yapacağız.

Nikotini tercih eden (T) sıçanlarımızın kronik nikotin uygulaması ölçümlerinde, hem dişi hem de erkeklerin hem 10. hem de 60.dakika verilerinde 0,2 mg/kg nikotinin ilk uygulamasının başlarında aversif etki görülmezken, 0,4 ve 0,6 mg/kg dozlarının ilk uygulandığı günlerde belirgin aversif etkiyi her 2 cinste de tespit ettik ancak bu dozların uygulamasına devam edilmesiyle birkaç gün sonra lokomotor aktivitede tekrar belirgin artışlar saptadık bu da bize artmış nikotin dozuna ilk kez maruz kaldıktan hemen sonra T grubu sıçanlarımızın nikotinin aversif etkisine hızla tolerans geliştirdiğini göstermektedir. Akut uygulamanın ilk 10 dakika verisi hariç, 0,1'den 0,6 mg/kg uygulamanın sonuna kadar yapılan tüm deney seanslarında T grubunun hem dişi hem de erkeklerinde lokomotor aktivitenin genel olarak arttığını gördük ve çalışmanın geneli düşünüldüğünde de T grubu sıçanların nikotinin aversif etkisinden diğer gruplardaki sıçanlara göre çok daha hızlı çıktıklarını saptadık. T grubunda bulunan sıçanlarımızı nT grubuyla kıyaslayacak olursak; ilk 10 dakika verileri baz alındığında, T erkekler, nT erkeklerden 0,1 ve 0,2 mg/kg dozlarda daha hareketliken, 0,4 ve 0,6 mg/kg dozlarda benzer hareket paterni sergilemişlerdir. Dişilerde ise, sadece 0,1'de benzer hareket ettiklerini diğer tüm dozlarda T dişilerin nT dişilerden hep daha hareketli olduğunu gördük. 60 dakika verileri baz alındığındaysa, 0,1 mg/kg dozda T erkeklerin daha hareketli olduğunu, diğer dozlarda benzer hareket paterni sergilediklerini, dişilerde ise, 10 dakika verisiyle benzer şekilde 0,1 mg/kg dozda benzer hareketli olduklarını diğer dozlardaysa T dişilerin daha hareketli olduklarını tespit ettik.

T grubu sıçanların K grubu sıçanlarla olan kıyaslamasına gelince, ilk 10 dakika ve 60 dakika verilerinde, T ile K grubu erkekler kıyaslanınca, tıpkı nT erkeklerle olan durum gibi T erkeklerin K erkeklerden daha hareketli, 0,4 ve 0,6 mg/kg dozlarda ise benzer hareket paternine sahip olduklarını gördük. Dişilere baktığımızda, tüm ölçümlerde K dişiler T dişilerden daha hareketlidir.

0,1 mg/kg nikotin uygulamasıyla başlayıp 0,6 mg/kg uygulamanın sonuna kadar devam eden deney süremiz boyunca nikotin alımının tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırdığını saptadık. T grubu sıçanlarımız esas olarak, düşük nikotin dozlarına daha duyarlı davranmış ve nikotinin aversif etkisinden en çabuk çıkan grup olarak ön plana çıkmış, yüksek dozlara çıkıldığında ise K dişi sıçanların nikotine en duyarlı yani lokomotor aktivitesi en

yüksek olan grup olduğunu gördük.

Lokomotor aktivite ölçümlerinde cinsiyet farkının oldukça önemli olduğunu ve dişilerin erkeklerden her durumda daha hareketli olduklarını yukarda bahsettiğimiz, hem literatürde var olan çalışmalarla hem de kendi çalışmamızın verileriyle gösterdik. Dişilerin daha hareketli olmasındaki en önemli noktanın gelişmiş bir mezokortikolimbik sisteme sahip olmaları olarak özetlemek mümkündür. Bu durumu oldukça iyi açıklayan hipotezlerden birini içeren O'Dell ve ark. yaptıkları bu derlemede(24), dişilerin nikotine neden erkeklere göre daha iyi cevap verdiği kapsamlı bir hipotezle açıklamaktadır. Bu hipotez, VTA'dan çıkan dopaminerjik yolların Nac'e ulaştığı, bu esnada gabaerjik nöronlarla sinaps yaptığından bahsetmektedir ve Nac'den dopamin salgısını temel olarak düzenleyen, gabaerjik sistemin ne derece aktive olduğudur. Erkeklerde normal şartlarda veya nikotin alımı sonrasında VTA'daki nikotinik reseptörlerin uyarılmasıyla hem doğrudan Nac'e giden lifler sayesinde dopamin salınımı tetiklenmekte hem de VTA'dan çıkan bir kısım liflerin gabaerjik nöronlarla sinaps yapması sonucu VTA'dan dopamin salınımı azalmaktadır. Bu sebeple erkeklerde beynin temel olarak lokomotor sistemini aktive eden madde olan dopaminin salınımı belli bir seviyede olabilmektedir. Dişilerde ise yine erkeklerle benzer birçok yolak aktif olmasına rağmen en önemli fark VTA'dan çıkan ve gabaerjik nöronlarla sinaps yaparak Nac'den dopamin salınımını azaltan yolağın östrojen reseptörleri vasıtasıyla bloke edilmesi ile VTA'dan doğrudan Nac'e giden yolağın yine östrojen reseptörleri vasıtasıyla daha da aktive edilmesi sonucu Nac'den erkeklere göre çok daha fazla dopamin salınımı olmasıdır. Yani kısaca, menstrüel siklusun ve dişi cinsiyet hormonlarının nikotine verilen cevabı etkilediği ve dolayısıyla lokomotor aktivite ölçümü yapılmışsa sonuçların farklılıklar içermesine yol açtığını söylemek yanlış olmaz ve literatürde de bu durumu anlatan yayınlar mevcuttur(148, 157, 158). Bu çalışmalardan biri olan ve yukarda daha önce bahsettiğimiz Kanit ve ark. bu çalışmasında(148), overektomi uygulanan dişi sıçanların lokomotor aktivitesinin azaldığı ve hormon replasman tedavisinin özellikle östrojenin lokomotor aktiviteyi arttırdığı, östrojen ve nikotinin kombine uygulanmasının sadece nikotin ya da sadece östrojen uygulanan overektomizeli sıçanlara göre lokomotor aktiviteyi daha çok arttırdığı gösterilmiştir. O'Dell ve ark. hipotezinden yaklaşık 15 yıl önce yapılan çalışmada ortaya konan sonuçlar birbiriyle tutarlılık göstermektedir ve bu da O'Dell ve ark. hipotezinin doğru olabileceği ihtimalini arttıran bir husustur. Tüm bu veriler ışığında, bizim çalışmamızda bulunan dişi sıçanlarımızda da benzer bir sürecin olduğunu düşünmek ve söylemek yanlış olmaz. Ek olarak, dişilerin menstrüel sikluslarının foliküler ya da luteal fazında olup olmalarıyla bile nikotine cevaplarının değişebildiğiyle ilgili yayınlar da bulunmaktadır(159, 160).

Dişilerin östrus süresinin 4 gün olduğu bilinmektedir ve bu sürenin içerisinde östrojen ve progesteron seviyelerini farklı olduğu evreler bulunmaktadır(159, 160). Çalışmamızda bulunan dişilerde, östrus takibi yapmadık. Bunun sebebini birkaç maddede özetlemek mümkündür; ilk olarak, çalışmamız 8 hafta sürdü ve bu kadar uzun bir süre boyunca dişilerde yapılan ölçümlerde östrusun her evresine denk gelen ölçümler olma ihtimali bir hayli yüksektir. Eğer östrusa denk gelen ölçümler olduysa da, bu durumun dişilerin standart sapmasında yükselmeye yol açmış olması kuvvetle muhtemeldir(160), ancak tüm popülasyonu göz önünde bulundurmak adına bu durumu bilinçli olarak göz ardı etmenin daha iyi olacağını düşündük. Bunlara ek olarak, östrus takibinin yapılabilmesi için gerekli prosedürlerin uygulanmamasıyla sıçanların fazladan stres almasının da önüne geçmiş olduk. Neticede çalışmamızda dişi ve erkek sıçanlar bir arada bulunmuşlar, bu sayede tüm popülasyona genelleme yapılacak seviyede bulgular elde edilmiş ve sıçanların tamamı eşit şartlarda değerlendirmeye alınarak çalışmamız gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamız lokomotor aktivite ölçümünün seçici tohumlama yöntemi ile oluşturulmuş nikotin bağımlısı sıçanlar üzerinde yapıldığı ilk çalışmadır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışmasında, akut ve kronik nikotin uygulamasının naif kontrol ve nikotin bağımlı soydan gelen dişi ve erkek sıçanların lokomotor aktivitesini değiştirdiğini gösterdik.

Akut nikotin uygulamasının ilk 10 dakika verilerine baktığımızda, tüm hayvanlarda literatürdeki çalışmalarla paralel bir şekilde lokomotor aktivitenin azaldığını, 60 dakika verilerinde ise beklenen azalmanın K ve nT grubunda görüldüğünü, T soyu dişi ve erkeklerde ise nikotinin aversif etkisine hızla tolerans geliştiğini ve lokomotor aktivitede azalma olması yerine artış görülmeye başladığını tespit ettik.

Kronik nikotin uygulaması ise, uygulanan doz miktarına bağlı olarak soyları farklı oranda etkilemiştir. Düşük doz olarak uyguladığımız nikotin dozunda (0,1 mg/kg) lokomasyonu en yüksek olan grup T grubu iken uygulanan doz miktarı arttıkça (0,2 - 0,4 - 0,6 mg/kg) K grubunun en hareketli olduğunu saptadık. Uygulama süresi boyunca dişilerin erkeklerden daha hareketli olduğu sonucu yine literatürle benzer şekilde ortaya çıkmıştır.

Sonuç olarak; nikotin tüm dozlarda ve tüm gruplarda lokomotor aktiviteyi arttırmaktadır. Bağımlılığa yatkın soydan gelmek cinsiyet farkını ortadan kaldırır, aynı zamanda düşük nikotin dozlarına daha duyarlı yanıt verilmesine neden olur. Ayrıca nikotini tercih eden soydan gelmek nikotinin aversif etkisine hızla tolerans gelişmesine ve nikotinin uyarıcı etkisinin daha erken ortaya çıkmasına neden olur. Kontrol grupları ise yüksek nikotin dozlarına, nikotin bağımlısı sıçan gruplarına göre daha duyarlıdır ve cinsiyet farkı da sadece K gruplarında belirgindir.

Nikotin bağımlılığının tedavi edilmesine yönelik yeni yaklaşımlar sunmaya oldukça müsait olduğu anlaşılan nikotin bağımlısı deney hayvanları üzerinde daha farklı ve moleküler düzeyi de içeren kapsamlı çalışmalar yapılması, şu ana kadar tedavide eksik kalan parçaları tamamlamaya yardımcı olabilir. Nikotin bağımlısı deney hayvanlarının moleküler düzeyde ayrıntılı bir biçimde incelenmesi , nikotinin aversif etkisine nasıl hızlı bir şekilde tolerans geliştirdiklerinin anlaşılmasına ve tedavide yeni yaklaşımlar doğmasına yol açması bakımından oldukça önem arz eden bir konudur. Sonuç olarak, bağımlılığın gizli köşelerine ışık tutabilecek bir potansiyel barındıran nikotin bağımlısı sıçanlar üzerinde daha çok ve kapsamlı çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır. Çalışmamız, dünyada sadece bizim laboratuvarlarımızda bulunan nikotini tercih eden ve etmeyen sıçanlar üzerinde yapılmış olan ilk nikotin – lokomotor aktivite ilişkisini inceleyen çalışmadır ve bu bağlamda elde ettiğimiz tüm veriler özgün bir şekilde tüm dünyadaki araştırmacıların hizmetine sunulmuştur.

EKLER

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Araştırma Projesi Onay Formu

EGE ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

SAYI: 2020-025
KONU: Onay

22.07.2020

Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda “**NİKOTİN TERCİH EDEN VE ETMEYEN SIÇAN SOYLARINDA LOKOMOTOR AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI**” isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.

Yürütücü: **Prof. Dr. Lutfiye Kanıt, EÜTF Fizyoloji AD**
Doç. Dr. Oğuz Gözen, EÜTF Fizyoloji AD
Araş. Gör. Dr. Ramazan Can Gökmen, EÜTF Fizyoloji AD
Prof. Dr. Ersin O. Koylu, EÜTF Fizyoloji AD
Uzm. Dr. Fulya Tuzcu Gürkan, EÜTF Fizyoloji AD
Prof. Dr. Burcu Balkan, EÜTF Fizyoloji AD
Doç. Dr. Ayşegül Keser, EÜTF Fizyoloji AD
Araş. Gör. Dr. Meliha Öztürk, EÜTF Fizyoloji AD

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

Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK
(E.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı)

Prof. Dr. N. Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU

Prof. Dr. Aytül ÖNAL

Prof. Dr. Hüseyin TEZEL

Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU

Prof. Dr. Haşmet ÇAĞIRGAN

Prof. Dr. Figen KIRKPINAR

Prof. Dr. Uğur KAYA

Dr. Öğr. Üyesi Sumru SÖZER KARADAĞLI

Öğr. Gör. Dr. M. Ayberk OKTAY

Vet. Hek. F. Emrah SOYLU

Özcan NALBANTOĞLU

Melek Merve AFŞAROĞLU

KAYNAKÇA

1. Fu Q, Vaughn MG, Wu L-T, Heath AC. Psychiatric correlates of snuff and chewing tobacco use. *PloS one*. 2014;9(12):e113196.
2. The L. GBD 2015: from big data to meaningful change. *Lancet* (London, England). 2016;388(10053):1447.
3. Willemsen MC. Tobacco control policy in the Netherlands: between economy, public health, and ideology: Springer Nature; 2018.
4. Organization WH, Control RfIT. WHO report on the global tobacco epidemic, 2008: the MPOWER package: World Health Organization; 2008.
5. De Biasi M, Dani JA. Reward, addiction, withdrawal to nicotine. *Annual review of neuroscience*. 2011;34:105.
6. Koob GF. The dark side of emotion: the addiction perspective. *European journal of pharmacology*. 2015;753:73-87.
7. Philpot RM, Engberg ME, Wecker L. Effects of nicotine exposure on locomotor activity and pCREB levels in the ventral striatum of adolescent rats. *Behavioural brain research*. 2012;230(1):62-8.
8. Clarke P, Kumar R. The effects of nicotine on locomotor activity in non-tolerant and tolerant rats. *British journal of pharmacology*. 1983;78(2):329-37.
9. Morrison CF, Stephenson JA. The occurrence of tolerance to a central depressant effect of nicotine. *British journal of pharmacology*. 1972;46(1):151-6.
10. Pistillo F, Fasoli F, Moretti M, McClure-Begley T, Zoli M, Marks MJ, et al. Chronic nicotine and withdrawal affect glutamatergic but not nicotinic receptor expression in the mesocorticolimbic pathway in a region-specific manner. *Pharmacological Research*. 2016;103:167-76.
11. Nisell M, Nomikos GG, Hertel P, Panagis G, Svensson TH. Condition-independent sensitization of locomotor stimulation and mesocortical dopamine release following chronic nicotine treatment in the rat. *Synapse*. 1996;22(4):369-81.
12. Gotti C, Guiducci S, Tedesco V, Corbioli S, Zanetti L, Moretti M, et al. Nicotinic acetylcholine receptors in the mesolimbic pathway: primary role of ventral tegmental area $\alpha 6\beta 2^*$ receptors in mediating systemic nicotine effects on dopamine release, locomotion, and reinforcement. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(15):5311-25.
13. Clarke P, Fu DS, Jakubovic A, Fibiger HC. Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1988;246(2):701-8.
14. Balfour DJ, Benwell ME, Birrell CE, Kelly J, Al-Aloul M. Sensitization of the mesoaccumbens dopamine response to nicotine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1998;59(4):1021-30.
15. Benwell M, Balfour D. The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *British journal of pharmacology*. 1992;105(4):849.
16. Benwell M, Balfour D, Khadra L. Studies on the influence of nicotine infusions on mesolimbic dopamine and locomotor responses to nicotine. *The clinical investigator*. 1994;72(3):233-9.
17. Berridge KC, Robinson TE. Parsing reward. *Trends in neurosciences*. 2003;26(9):507-13.
18. Steketee JD, Kalivas PW. Drug wanting: behavioral sensitization and relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacological reviews*. 2011;63(2):348-65.
19. Cadoni C, Di Chiara G. Differential changes in accumbens shell and core dopamine in

- behavioral sensitization to nicotine. *European journal of pharmacology*. 2000;387(3):R23-R5.
20. Marshall DL, Redfern PH, Wonnacott S. Presynaptic nicotinic modulation of dopamine release in the three ascending pathways studied by in vivo microdialysis: comparison of naive and chronic nicotine-treated rats. *Journal of neurochemistry*. 1997;68(4):1511-9.
 21. Reavill C, Waters J, Stolerman I, Garcha H. Behavioural effects of the nicotinic agonists N-(3-pyridylmethyl) pyrrolidine and isoarecolone in rats. *Psychopharmacology*. 1990;102(4):521-8.
 22. Marks MJ, Grady SR, Collins AC. Downregulation of nicotinic receptor function after chronic nicotine infusion. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1993;266(3):1268-76.
 23. Marks MJ, Stitzel JA, Collins AC. Influence of kinetics of nicotine administration on tolerance development and receptor levels. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1987;27(3):505-12.
 24. O'Dell LE, Torres OV. A mechanistic hypothesis of the factors that enhance vulnerability to nicotine use in females. *Neuropharmacology*. 2014;76:566-80.
 25. Pogun S, Yazarbas G, Nesil T, Kanit L. Sex differences in nicotine preference. *Journal of neuroscience research*. 2017;95(1-2):148-62.
 26. Westermeyer J, Boedicker AE. Course, severity, and treatment of substance abuse among women versus men. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*. 2000;26(4):523-35.
 27. Perkins KA, Donny E, Caggiula AR. Sex differences in nicotine effects and self-administration: review of human and animal evidence. *Nicotine & Tobacco Research*. 1999;1(4):301-15.
 28. Perkins KA. Does smoking cue-induced craving tell us anything important about nicotine dependence? *Addiction*. 2009;104(10):1610-6.
 29. Donny E, Caggiula A, Rowell P, Gharib M, Maldovan V, Booth S, et al. Nicotine self-administration in rats: estrous cycle effects, sex differences and nicotinic receptor binding. *Psychopharmacology*. 2000;151(4):392-405.
 30. Hamilton KR, Berger SS, Perry ME, Grunberg NE. Behavioral effects of nicotine withdrawal in adult male and female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2009;92(1):51-9.
 31. Koylu E, Demirgören S, London ED, Pöğün S. Sex difference in up-regulation of nicotinic acetylcholine receptors in rat brain. *Life Sciences*. 1997;61(12):PL185-PL90.
 32. Nesil T, Kanit L, Collins AC, Pogun S. Individual differences in oral nicotine intake in rats. *Neuropharmacology*. 2011;61(1-2):189-201.
 33. Yazarbas G, Keser A, Kanit L, Pogun S. Nicotine-induced conditioned place preference in rats: sex differences and the role of mGluR5 receptors. *Neuropharmacology*. 2010;58(2):374-82.
 34. Kanit L, Taşkıran D, Furedy JJ, Kulali B, McDonald R, Pöğün Ş. Nicotine interacts with sex in affecting rat choice between “look-out” and “navigational” cognitive styles in the Morris water maze place learning task. *Brain Research Bulletin*. 1998;46(5):441-5.
 35. Yilmaz Ö, Kanit L, Okur B, Pöğün Ş. Effects of nicotine on active avoidance learning in rats: sex differences. *Behavioural pharmacology*. 1997.
 36. Sines J. Selective breeding for development of stomach lesions following stress in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1959;52(5):615.
 37. Garcia-Ibanez E, Garcia-Ibanez JL. Middle fossa vestibular neurectomy: a report of 373 cases. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 1980;88(4):486-90.
 38. Anderson SM, McClearn GE. Ethanol consumption: selective breeding in mice. *Behavior genetics*. 1981;11(4):291-301.
 39. Lessov-Schlaggar CN, Pergadia ML, Khroyan TV, Swan GE. Genetics of nicotine dependence and pharmacotherapy. *Biochemical pharmacology*. 2008;75(1):178-95.
 40. Keser A, Nesil T, Kanit L, Pogun S. Brain nitric oxide metabolites in rats preselected for

nicotine preference and intake. *Neuroscience letters*. 2013;545:102-6.

41. Nesil T, Kanit L, Pogun S. Bitter taste and nicotine preference: evidence for sex differences in rats. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*. 2015;41(1):57-67.
42. Ozturk B, Pogun S, Kanit L. Increased alcohol preference and intake in nicotine-preferring rats. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*. 2019;1-13.
43. Beckwith SW, Czachowski CL. Alcohol-preferring P rats exhibit elevated motor impulsivity concomitant with operant responding and self-administration of alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2016;40(5):1100-10.
44. Beckwith SW, Czachowski CL. Ethanol pre-exposure does not increase delay discounting in P rats, but does impair the ability to dynamically adapt behavioral allocation to changing reinforcer contingencies. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2019;187:172816.
45. Dyr W, Wyszogrodzka E, Paterak J, Siwińska-Ziółkowska A, Małkowska A, Polak P. Ethanol-induced conditioned taste aversion in Warsaw Alcohol High-Preferring (WHP) and Warsaw Alcohol Low-Preferring (WLP) rats. *Alcohol*. 2016;51:63-9.
46. Smolen A, Marks MJ. Genetic selections for nicotine and cocaine sensitivity in mice. *Journal of addictive diseases*. 1991;10(1-2):7-28.
47. Smolen A, Marks MJ, DeFries JC, Henderson ND. Individual differences in sensitivity to nicotine in mice: response to six generations of selective breeding. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1994;49(3):531-40.
48. Marks MJ, Miner L, Burch JB, Fulker DW, Collins AC. A diallel analysis of nicotine-induced hypothermia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1984;21(6):953-9.
49. Miner LL, Collins AC. Strain comparison of nicotine-induced seizure sensitivity and nicotinic receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1989;33(2):469-75.
50. Ugur M, Balci SD, Kanit L, Sahin H, editors. *The Effects of Oral Nicotine Administration through Generations on Conditioned Place Preference*. ACTA PHYSIOLOGICA; 2015: WILEY-BLACKWELL 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA.
51. de Micheli A. The tobacco in the light of history and medicine. *Archivos de cardiologia de Mexico*. 2015;85(4):318.
52. Picciotto MR. Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trends in pharmacological sciences*. 2003;24(9):493-9.
53. Wonnacott S, Sidhpura N, Balfour DJ. Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Current opinion in pharmacology*. 2005;5(1):53-9.
54. Corrigall WA, Coen KM. Nicotine maintains robust self-administration in rats on a limited-access schedule. *Psychopharmacology*. 1989;99(4):473-8.
55. Le Foll B, Goldberg SR. Effects of nicotine in experimental animals and humans: an update on addictive properties. *Nicotine Psychopharmacology*: Springer; 2009. p. 335-67.
56. Goodwin AK, Hiranita T, Paule MG. The reinforcing effects of nicotine in humans and nonhuman primates: a review of intravenous self-administration evidence and future directions for research. *Nicotine & Tobacco Research*. 2015;17(11):1297-310.
57. Kohut SJ, Bergman J. Reinforcing effectiveness of nicotine in nonhuman primates: effects of nicotine dose and history of nicotine self-administration. *Psychopharmacology*. 2016;233(13):2451-8.
58. Meyer JS, Quenzer LF. *Psychopharmacology: Drugs, the brain, and behavior*: Sinauer Associates; 2005.
59. López-Flores LA, Pérez-Rubio G, Falfán-Valencia R. Distribution of polymorphic variants of CYP2A6 and their involvement in nicotine addiction. *EXCLI journal*. 2017;16:174.
60. Jenkinson CE, Dickens AP, Jones K, Thompson-Coon J, Taylor RS, Rogers M, et al. Is volunteering a public health intervention? A systematic review and meta-analysis of the health and survival of volunteers. *BMC public health*. 2013;13(1):773.
61. Grzybowski A. The history of antitobacco actions in the last 500 years. part. 1. Non-

medical actions. *Przegląd lekarski*. 2006;63(10):1126-30.

62. Escobar-Chávez JJ, Domínguez-Delgado CL, Rodríguez-Cruz IM. Targeting nicotine addiction: the possibility of a therapeutic vaccine. *Drug design, development and therapy*. 2011;5:211.

63. Dani JA. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor structure and function and response to nicotine. *International review of neurobiology*: Elsevier; 2015. p. 3-19.

64. Gotti C, Clementi F, Fornari A, Gaimarri A, Guiducci S, Manfredi I, et al. Structural and functional diversity of native brain neuronal nicotinic receptors. *Biochemical pharmacology*. 2009;78(7):703-11.

65. Taly A, Corringer P-J, Guedin D, Lestage P, Changeux J-P. Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system. *Nature reviews Drug discovery*. 2009;8(9):733-50.

66. Millar N. Assembly and subunit diversity of nicotinic acetylcholine receptors. Portland Press Ltd.; 2003.

67. Changeux J-P, Taly A. Nicotinic receptors, allosteric proteins and medicine. *Trends in molecular medicine*. 2008;14(3):93-102.

68. Cecchini M, Changeux J-P. The nicotinic acetylcholine receptor and its prokaryotic homologues: Structure, conformational transitions & allosteric modulation. *Neuropharmacology*. 2015;96:137-49.

69. Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Rogers SW. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiological reviews*. 2009;89(1):73-120.

70. Barrantes FJ. Phylogenetic conservation of protein-lipid motifs in pentameric ligand-gated ion channels. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2015;1848(9):1796-805.

71. Wonnacott S. Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends in neurosciences*. 1997;20(2):92-8.

72. Millar NS, Gotti C. Diversity of vertebrate nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*. 2009;56(1):237-46.

73. Klink R, de Kerchove d'Exaerde A, Zoli M, Changeux J-P. Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *Journal of Neuroscience*. 2001;21(5):1452-63.

74. Champtiaux N, Gotti C, Cordero-Erausquin M, David DJ, Przybylski C, Léna C, et al. Subunit composition of functional nicotinic receptors in dopaminergic neurons investigated with knock-out mice. *Journal of Neuroscience*. 2003;23(21):7820-9.

75. Picciotto MR, Corrigan WA. Neuronal systems underlying behaviors related to nicotine addiction: neural circuits and molecular genetics. *Journal of Neuroscience*. 2002;22(9):3338-41.

76. Pistillo F, Clementi F, Zoli M, Gotti C. Nicotinic, glutamatergic and dopaminergic synaptic transmission and plasticity in the mesocorticolimbic system: focus on nicotine effects. *Progress in neurobiology*. 2015;124:1-27.

77. Wonnacott S, Kaiser S, Mogg A, Soliakov L, Jones IW. Presynaptic nicotinic receptors modulating dopamine release in the rat striatum. *European journal of pharmacology*. 2000;393(1-3):51-8.

78. Poorthuis RB, Bloem B, Verhoog MB, Mansvelder HD. Layer-specific interference with cholinergic signaling in the prefrontal cortex by smoking concentrations of nicotine. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(11):4843-53.

79. Livingstone PD, Wonnacott S. Nicotinic acetylcholine receptors and the ascending dopamine pathways. *Biochemical pharmacology*. 2009;78(7):744-55.

80. Parker SL, Fu Y, McAllen K, Luo J, McIntosh JM, Lindstrom JM, et al. Up-regulation of brain nicotinic acetylcholine receptors in the rat during long-term self-administration of nicotine: disproportionate increase of the $\alpha 6$ subunit. *Molecular pharmacology*. 2004;65(3):611-22.

81. Pierce RC, Kumaresan V. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neuroscience & biobehavioral reviews*. 2006;30(2):215-38.
82. Markou A, Paterson NE. The nicotinic antagonist methyllycaconitine has differential effects on nicotine self-administration and nicotine withdrawal in the rat. *Nicotine & Tobacco Research*. 2001;3(4):361-73.
83. Dandekar MP, Nakhate KT, Kokare DM, Subhedar NK. Effect of nicotine on feeding and body weight in rats: involvement of cocaine-and amphetamine-regulated transcript peptide. *Behavioural brain research*. 2011;219(1):31-8.
84. Cooper RG. Effect of tobacco smoking on renal function. *Indian J Med Res*. 2006;124(3):261-8.
85. Yoshikawa H, Hellström-Lindahl E, Grill V. Evidence for functional nicotinic receptors on pancreatic β cells. *Metabolism*. 2005;54(2):247-54.
86. Janhunen S, Ahtee L. Differential nicotinic regulation of the nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic pathways: implications for drug development. *Neuroscience & biobehavioral reviews*. 2007;31(3):287-314.
87. Damsma G, Day J, Fibiger HC. Lack of tolerance to nicotine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *European journal of pharmacology*. 1989;168(3):363-8.
88. Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G. Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature*. 1996;382(6588):255-7.
89. Ferrari R, Le Novere N, Picciotto M, Changeux J, Zoli M. Acute and long-term changes in the mesolimbic dopamine pathway after systemic or local single nicotine injections. *European Journal of Neuroscience*. 2002;15(11):1810-8.
90. Di Chiara G. Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *European journal of pharmacology*. 2000;393(1-3):295-314.
91. Grillner P, Svensson TH. Nicotine-induced excitation of midbrain dopamine neurons in vitro involves ionotropic glutamate receptor activation. *Synapse*. 2000;38(1):1-9.
92. Fu Y, Matta S, Gao W, Sharp B. Local α -bungarotoxin-sensitive nicotinic receptors in the nucleus accumbens modulate nicotine-stimulated dopamine secretion in vivo. *Neuroscience*. 2000;101(2):369-75.
93. Fu Y, Matta SG, Gao W, Brower VG, Sharp BM. Systemic Nicotine Stimulates Dopamine Release in Nucleus Accumbens: Re-evaluation of the Role of N-Methyl-d-aspartate Receptors in the Ventral Tegmental Area. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2000;294(2):458-65.
94. Yin R, French ED. 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 Research Bulletin*. 2000;51(6):507-14.
95. Ashare RL, Schmidt HD. Optimizing treatments for nicotine dependence by increasing cognitive performance during withdrawal. *Expert opinion on drug discovery*. 2014;9(6):579-94.
96. Carcoba LM, Flores RJ, Natividad LA, O'Dell LE. Amino acid modulation of dopamine in the nucleus accumbens mediates sex differences in nicotine withdrawal. *Addiction biology*. 2018;23(5):1046-54.
97. Zhou FM, Wilson CJ, Dani JA. Cholinergic interneuron characteristics and nicotinic properties in the striatum. *Journal of neurobiology*. 2002;53(4):590-605.
98. O'Reilly EJ, McCullough ML, Chao A, Jane Henley S, Calle EE, Thun MJ, et al. Smokeless tobacco use and the risk of Parkinson's disease mortality. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*. 2005;20(10):1383-4.
99. Quik M, Huang LZ, Parameswaran N, Bordia T, Campos C, Perez XA. Multiple roles for nicotine in Parkinson's disease. *Biochemical pharmacology*. 2009;78(7):677-85.
100. Quik M, Perez XA, Bordia T. Nicotine as a potential neuroprotective agent for

Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2012;27(8):947-57.

101. Björklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in neurosciences*. 2007;30(5):194-202.

102. Joel D, Weiner I. The connections of the dopaminergic system with the striatum in rats and primates: an analysis with respect to the functional and compartmental organization of the striatum. *Neuroscience*. 2000;96(3):451-74.

103. Wise R. RompreP (1989) Brain dopamine and reward. *Annu Rev Psychol*.40:191-225.

104. Koob GF. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends in pharmacological sciences*. 1992;13:177-84.

105. Kawano H, Daikoku S. Functional topography of the rat hypothalamic dopamine neuron systems: retrograde tracing and immunohistochemical study. *Journal of Comparative Neurology*. 1987;265(2):242-53.

106. Ikemoto S, Bonci A. Neurocircuitry of drug reward. *Neuropharmacology*. 2014;76:329-41.

107. Bowers MS, Chen BT, Bonci A. AMPA receptor synaptic plasticity induced by psychostimulants: the past, present, and therapeutic future. *Neuron*. 2010;67(1):11-24.

108. Tritsch NX, Ding JB, Sabatini BL. Dopaminergic neurons inhibit striatal output through non-canonical release of GABA. *Nature*. 2012;490(7419):262-6.

109. Margolis EB, Toy B, Himmels P, Morales M, Fields HL. Identification of rat ventral tegmental area GABAergic neurons. *PloS one*. 2012;7(7):e42365.

110. Sesack SR, Pickel VM. 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. *Journal of Comparative Neurology*. 1992;320(2):145-60.

111. Zhao-Shea R, Liu L, Soll LG, Improgo MR, Meyers EE, McIntosh JM, et al. Nicotine-mediated activation of dopaminergic neurons in distinct regions of the ventral tegmental area. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(5):1021-32.

112. Lecca S, Melis M, Luchicchi A, Ennas MG, Castelli MP, Muntoni AL, et al. Effects of drugs of abuse on putative rostromedial tegmental neurons, inhibitory afferents to midbrain dopamine cells. *Neuropsychopharmacology*. 2011;36(3):589-602.

113. Suarez S, Amadon A, Giacomini E, Wiklund A, Changeux J-P, Le Bihan D, et al. Brain activation by short-term nicotine exposure in anesthetized wild-type and beta2-nicotinic receptors knockout mice: a BOLD fMRI study. *Psychopharmacology*. 2009;202(4):599-610.

114. Benwell ME, Balfour DJ, Birrell CE. Desensitization of the nicotine-induced mesolimbic dopamine responses during constant infusion with nicotine. *British journal of pharmacology*. 1995;114(2):454-60.

115. Kenny PJ, Markou A. Nicotine self-administration acutely activates brain reward systems and induces a long-lasting increase in reward sensitivity. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(6):1203-11.

116. Tryon RC. Genetic differences in mazelearning ability in rats. *Yearbook of the National Society for the Study of Education*. 1940.

117. Overstreet DH, Friedman E, Mathé AA, Yadid G. The Flinders Sensitive Line rat: a selectively bred putative animal model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2005;29(4-5):739-59.

118. Murphy JM, Stewart RB, Bell RL, Badia-Elder NE, Carr LG, McBride WJ, et al. Phenotypic and genotypic characterization of the Indiana University rat lines selectively bred for high and low alcohol preference. *Behavior genetics*. 2002;32(5):363-88.

119. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*. 2003;463(1-3):3-33.

120. Lieben CK, van Oorsouw K, Deutz NE, Blokland A. Acute tryptophan depletion induced by a gelatin-based mixture impairs object memory but not affective behavior and spatial learning

in the rat. *Behavioural brain research*. 2004;151(1-2):53-64.

121. Hall CS. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *Journal of Comparative Psychology*. 1936;22(3):345.

122. Ramos A, Kangerski AL, Basso PF, Santos JEDS, Assreuy J, Vendruscolo LF, et al. Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain. *Behavioural brain research*. 2002;129(1-2):113-23.

123. Shalev U, Kafkafi N. Repeated maternal separation does not alter sucrose-reinforced and open-field behaviors. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 2002;73(1):115-22.

124. Zimbardo PG, Montgomery K. Effects of "free-environment" rearing upon exploratory behavior. *Psychological reports*. 1957;3(3):589-94.

125. Soubrie P. OPEN-FIELD IN RAT-INTER RELATIONSHIPS BETWEEN LOCOMOTION, EXPLORATION AND EMOTIVITY. *Journal de pharmacologie*. 1971;2(4):457-&.

126. Candland DK, Nagy ZM. The open field: some comparative data. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1969;159(3):831-51.

127. Kumar R, Mitchell E, Stolerman I. Disturbed patterns of behaviour in morphine tolerant and abstinent rats. *British journal of pharmacology*. 1971;42(3):473-84.

128. Kršiak M, Steinberg H, Stolerman I. Uses and limitations of photocell activity cages for assessing effects of drugs. *Psychopharmacologia*. 1970;17(3):258-74.

129. Bowen DJ, Eury SE, Grunberg NE. Nicotine's effects on female rats' body weight: caloric intake and physical activity. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 1986;25(6):1131-6.

130. Corrigan WA, Coen KM, Adamson KL. Self-administered nicotine activates the mesolimbic dopamine system through the ventral tegmental area. *Brain research*. 1994;653(1-2):278-84.

131. Malin DH, Lake JR, Newlin-Maultsby P, Roberts LK, Lanier JG, Carter VA, et al. Rodent model of nicotine abstinence syndrome. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 1992;43(3):779-84.

132. Stolerman I, Fink R, Jarvik M. Acute and chronic tolerance to nicotine measured by activity in rats. *Psychopharmacologia*. 1973;30(4):329-42.

133. Stolerman I, Bunker P, Jarvik M. Nicotine tolerance in rats; role of dose and dose interval. *Psychopharmacologia*. 1974;34(4):317-24.

134. Maehler R, Dadmarz M, Vogel W. Determinants of the voluntary consumption of nicotine by rats. *Neuropsychobiology*. 2000;41(4):200-4.

135. Kaya N, Dabak D, PS TO, Ozan I. Investigation of the effects of Alfa lipoic acid on changes in maternal rat kidney caused by tobacco smoke exposure in pregnancy [Gebelikte Tütün Dumani Maruziyetinin Anne Siçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Alfa Lipoik Asitin Etkilerinin İncelenmesi]. 2019.

136. Schoedel KA, Sellers EM, Palmour R, Tyndale RF. Down-regulation of hepatic nicotine metabolism and a CYP2A6-like enzyme in African green monkeys after long-term nicotine administration. *Molecular pharmacology*. 2003;63(1):96-104.

137. Buccafusco JJ, Jackson WJ. Beneficial effects of nicotine administered prior to a delayed matching-to-sample task in young and aged monkeys. *Neurobiology of aging*. 1991;12(3):233-8.

138. Takada K, Swedberg M, Goldberg S, Katz J. Discriminative stimulus effects of intravenous l-nicotine and nicotine analogs or metabolites in squirrel monkeys. *Psychopharmacology*. 1989;99(2):208-12.

139. Aizawa H, Kobayashi Y, Yamamoto M, Isa T. Injection of nicotine into the superior colliculus facilitates occurrence of express saccades in monkeys. *Journal of neurophysiology*. 1999;82(3):1642-6.

140. Howell LL. Effects of caffeine on ventilation during acute and chronic nicotine administration in rhesus monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*.

1995;273(3):1085-94.

141. Kassiou M, Eberl S, Meikle SR, Birrell A, Constable C, Fulham MJ, et al. In vivo imaging of nicotinic receptor upregulation following chronic (-)-nicotine treatment in baboon using SPECT. *Nuclear medicine and biology*. 2001;28(2):165-75.

142. DeNoble VJ, Mele PC. Intravenous nicotine self-administration in rats: effects of mecamylamine, hexamethonium and naloxone. *Psychopharmacology*. 2006;184(3):266-72.

143. Buzás A, Bokor P, Balangó B, Pintér D, Palotai M, Simon B, et al. Changes in striatal dopamine release and locomotor activity following acute withdrawal from chronic nicotine are mediated by CRF1, but not CRF2, receptors. *Brain research*. 2019;1706:41-7.

144. Werling LL, Reed SC, Wade D, Izenwasser S. Chronic nicotine alters cannabinoid-mediated locomotor activity and receptor density in periadolescent but not adult male rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2009;27(3):263-9.

145. Clarke P, Kumar R. Characterization of the locomotor stimulant action of nicotine in tolerant rats. *British journal of pharmacology*. 1983;80(3):587-94.

146. Elliott BM, Faraday MM, Phillips JM, Grunberg NE. Effects of nicotine on elevated plus maze and locomotor activity in male and female adolescent and adult rats. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 2004;77(1):21-8.

147. Reavill C, Stolerman I. Locomotor activity in rats after administration of nicotinic agonists intracerebrally. *British journal of pharmacology*. 1990;99(2):273-8.

148. Kanýt L, Stolerman I, Chandler C, Saigusa T, Pöğün Ş. Influence of sex and female hormones on nicotine-induced changes in locomotor activity in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1999;62(1):179-87.

149. Cheeta S, Irvine E, File SE. Social isolation modifies nicotine's effects in animal tests of anxiety. *British journal of pharmacology*. 2001;132(7):1389-95.

150. Levin ED, Rezvani AH, Montoya D, Rose JE, Swartzwelder HS. Adolescent-onset nicotine self-administration modeled in female rats. *Psychopharmacology*. 2003;169(2):141-9.

151. Collins SL, Izenwasser S. Chronic nicotine differentially alters cocaine-induced locomotor activity in adolescent vs. adult male and female rats. *Neuropharmacology*. 2004;46(3):349-62.

152. Stolerman I, Garcha H, Pratt J, Kumar R. Role of training dose in discrimination of nicotine and related compounds by rats. *Psychopharmacology*. 1984;84(3):413-9.

153. Stolerman I. Characterization of central nicotinic receptors by studies on the nicotine cue and conditioned taste aversion in rats. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 1988;30(1):235-42.

154. Stolerman I. Discriminative stimulus effects of nicotine in rats trained under different schedules of reinforcement. *Psychopharmacology*. 1989;97(1):131-8.

155. Miladinovic T, Manwell L, Raaphorst E, Malecki S, Rana S, Mallet P. Effects of chronic nicotine exposure on Δ^9 -tetrahydrocannabinol-induced locomotor activity and neural activation in male and female adolescent and adult rats. *Pharmacology biochemistry and behavior*. 2020;194:172931.

156. Tizabi Y, Hauser SR, Tyler KY, Getachew B, Madani R, Sharma Y, et al. Effects of nicotine on depressive-like behavior and hippocampal volume of female WKY rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2010;34(1):62-9.

157. Perkins KA, Stitzer M. Behavioral pharmacology of nicotine. *Handbook of Substance Abuse*: Springer; 1998. p. 299-317.

158. Rose JE, Corrigall WA. Nicotine self-administration in animals and humans: similarities and differences. *Psychopharmacology*. 1997;130(1):28-40.

159. Carpenter MJ, Upadhyaya HP, LaRowe SD, Saladin ME, Brady KT. Menstrual cycle phase effects on nicotine withdrawal and cigarette craving: a review. *Nicotine & tobacco research*. 2006;8(5):627-38.

160. Mazure CM, Toll B, McKee SA, Wu R, O'Malley SS. Menstrual cycle phase at quit date and smoking abstinence at 6 weeks in an open label trial of bupropion. Drug and alcohol dependence. 2011;114(1):68-72.

