



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**NİKOTİN TERCİH EDEN SIÇAN SOYLARINDA NİKOTİN
UYGULAMASININ ANKSİYETE TESTLERİNE
ETKİLERİ**

Yüksek Lisans Tezi

Merve BAYOĞLU

Sinirbilim Anabilim Dalı

İZMİR

2021

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**NİKOTİN TERCİH EDEN SIÇAN SOYLARINDA NİKOTİN
UYGULAMASININ ANKSİYETE TESTLERİNE
ETKİLERİ**

Yüksek Lisans Tezi

Merve BAYOĞLU

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Lütfiye KANIT

**Sinirbilim Anabilim Dalı
Sinirbilim Programı**

İZMİR

2021

TEZ DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Merve BAYOĞLU

Başkan: Prof.Dr Prof. Dr. Lütfiye KANIT (**Danışman**)

Üye: Prof.Dr. Burcu BALKAN

Üye: Prof.Dr. Nuran EKERBİÇER

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih:28.07.2021

ÖNSÖZ

Sinirbilim hakkında bilgi dağarcığımı geliştiren, ufkumu genişleten, yüksek lisans eğitimim boyunca deyim yerindeyse bana annelik, ablalık, danışmanlık ve bunların hepsinden daha fazlasını yaparak yoluma ışık tutan çok değerli ve sevgili danışman hocam Prof. Dr. Lütfiye KANIT'a çok ama çok teşekkür ederim.

Kendisinden birçok ders almış olduğum ve tez çalışmamı yürütmemde, koordine etmemde bana yardımcı olan çok sevgili Prof. Dr. Burcu BALKAN hocama ve aynı şekilde çalışmamda büyük katkısı olan Doç. Dr. Ayşegül KAÇAR hocama çok teşekkür ederim. Ayrıca emeği geçen Prof. Dr. Ersin Oğuz KOYLU ve Oğuz GÖZEN hocalarıma da teşekkürler.

İlk baştan itibaren çalışmamda bana destek olan Dr. Meliha ÖZTÜRK'e, ekip arkadaşım Elif SALUR'a ve Aylin ZİNDE'ye de teşekkür ederim.

Ege Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına destekleri ve katkıları için çok teşekkür ederim.

Her konuda olduğu gibi yüksek lisans ve tez dönemim boyunca benden desteğini esirgemeyen sevgili Mustafa Arda TARIM'a, eğitim konusunda hiçbir destekten kaçınmayan sevgili aileme özellikle annem Seniha ÇAKA'ya ve desteğini arkamda hissettiğim arkadaşlarıma tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Bornova-İZMİR

Merve BAYOĞLU

2021

ÖZET

NİKOTİN TERCİH EDEN SIÇAN SOYLARINDA NİKOTİN UYGULAMASININ ANKSİYETE TESTLERİNE ETKİLERİ

BAYOĞLU, Merve

Sinirbilim Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tez yöneticisi: Prof. Dr. Lütfiye KANIT

Haziran, 2021, 50 sayfa

Genetik yatkınlık, nikotin bağımlılığındaki bireysel çeşitliliğe anlamlı şekilde katkı sağlar. Seçici tohumlama yöntemi kullanılarak üretilen sıçan soyları, madde bağımlılığına olan yatkınlığı göstermek açısından başarılı bir yöntemdir. Ancak madde bağımlılığına yatkınlığı başarılı şekilde ortaya koyan seçici tohumlama yöntemi uygulanmış herhangi bir nikotin tercih eden sıçan soyu bulunmamaktadır. Biz de bu çalışmamızda yüksek nikotin tercih eden sıçan soyları ile kontrollerinin anksiyete benzeri davranışları arasındaki farklılaşmayı değerlendirdik. Çalışmanın başında nikotine maruz kalmamış halde bulunan tüm sıçanlar sırayla açık alan, yükseltilmiş artı labirent ve bilye gömme testlerine alındı. Daha sonra ikinci aşamada tüm sıçanlar 8 hafta boyunca oral yolla zorlu nikotine maruz bırakıldı. Kronik oral nikotin alımının son 2 haftasında anksiyete testleri tekrarlandı. Bazal koşullarda ve kronik nikotin maruziyeti esnasında nikotin tercih eden sıçanlarda kontrollerine göre, yükseltilmiş artı labirent testinde açık kolların tercih edilmesi, açık kollarda geçirilen zaman ve kapalı kola ilk girilen zaman (latans) parametreleri daha yüksekken açık kollardan kaçınma endeksinin daha düşük olduğu görüldü. Açık alan testinde nikotin tercih eden sıçanların daha az dışkıladığı ve daha çok merkez alanda (açık alanda) zaman geçirdiği görülürken; bilye gömme testinde daha az bilye gömdüğü görülmüştür. Bu sonuçlar neticesinde bazal koşullarda ve kronik nikotin maruziyeti esnasında nikotin tercih eden sıçan soylarının daha düşük anksiyete benzeri davranış sergilediği gösterilmiştir. Biz tüm bu sonuçları nikotin tercih eden soylarda yenilik

arayan davranışlarda azalma olarak yorumladık. Bu nedenle seçici tohumlama yöntemiyle nikotin tercih eden sıçanların nikotin bağımlılığını çalışmak açısından çok kullanışlı ve faydalı bir hayvan modeli olduğu sonucuna vardık.

Anahtar kelimeler: anksiyete, seçici tohumlama, nikotin, davranış, bağımlılık



ABSTRACT

EFFECTS OF NICOTINE ADMINISTRATION ON ANXIETY TESTS IN NICOTINE-PREFERRING RAT LINES

Genetic vulnerability contributes significantly to the individual variability observed in nicotine dependence. Selective breeding for sensitivity to a particular effect of abused drugs has produced rodent lines useful for studying genetic vulnerability to drug addiction. However, there are no studies that use rodent lines selectively bred for oral nicotine preference. We examined the differences in anxiety-like behavior between a high nicotine-preferring rat line and their controls. At the beginning of the study, all rats, naïve to any drug, were exposed sequentially to open field, elevated plus maze and marble burying paradigms. In the second step, all rats received nicotine in drinking water for 8 weeks. Anxiety tests were repeated on the last two weeks of chronic nicotine treatment. Elevated plus maze testings under basal conditions and during chronic nicotine treatment showed that the open arm preference, time spent in the open arms, and latency to enter the closed arms were higher, whereas open arm avoidance index was lower in the nicotine-preferring rats compared to the controls. Nicotine-preferring rats excreted less fecal pellets and spent more time in the central zones of open field arena; they buried less marbles in the marble burying test. These findings indicate a lower level of anxiety-like behavior in nicotine-preferring rat line under basal conditions and during chronic nicotine treatment. We interpreted the overall results as increased novelty-seeking behavior in nicotine-preferring rat line. Therefore, we conclude that the selectively bred nicotine-preferring rat line could be a very useful animal model to study nicotine dependence.

Key words: Anxiety, selective breeding, nicotine, behavior, addiction

İçindekiler

ÖNSÖZ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vii
Tablolar dizini	x
Şekiller dizini	xi
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Bağımlılık	4
2.2. Anksiyete	5
2.2.1. Anksiyete Bozuklukları Tanı Kriterleri.....	5
2.2.2. Panik Bozukluk Türleri.....	6
2.2.3. Tedavisi	6
2.3. Anksiyete Hayvan Modelleri	7
2.4. Soy Hayvanları	7
2.4.1. Alkol Soy Hayvanları.....	8
2.4.2. Nikotin Soy Hayvanları	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	10
3.2. Seçici Tohumlama Yöntemi.....	10
3.3. Deney Deseni	11
3.4. Deney Protokolleri.....	11
3.4.1. Ele İnsana Alıştırma Prosedürü (Handling)	11
3.4.2. Handlingin uygulaması	12
3.4.3. Davranış Testleri.....	12
3.5. Davranış Testi Protokolleri	14

3.5.1 Kronik oral nikotin uygulaması	14
3.5.2. Açık Alan Testi.....	14
3.5.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze Test).....	15
3.5.4. Bilye Gömme Testi.....	15
3.6. Hayvanlar ve Kafesleme	17
3.7. Prosedür	18
3.7.1. Nikotin Uygulaması	18
3.8. Anksiyete Testleri	18
3.8.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	19
3.8.2. Açık Alan Testi.....	19
3.8.3. Bilye Gömme Testi.....	20
3.8.4. Fotosel Aktivite Kabinleri ile Lokomotor Aktivite Testi	20
4. BULGULAR.....	22
4.1. İstatistiksel Analiz	22
4.1.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Anksiyete Benzeri Davranışlar ve Lokomotor Aktivite	23
4.1.2. Açık Alan Testinde Anksiyete Benzeri Davranış ve Lokomotor Aktivite.....	28
4.1.3. Bilye Gömme Testinde Anksiyete Benzeri Davranışlar	33
4.1.4. Bazal Koşulda Nikotin Tercih Eden Sıçanların Fotosel Aktivite Kafeslerinde Lokomotor Aktivitesi.....	34
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
KAYNAKLAR	41
ETİK ONAY	48
TEŞEKKÜR	49
ÖZGEÇMİŞ.....	50

Tablolar dizini

Tablo 1. EPM İstatistiksel Analizi

Tablo 2. Açık Alan Testi İstatistiksel Analizi



Şekiller dizini

Sekil 1. Kafesleme

Sekil 2. Çalışma Planı

Sekil 3. Deney Prosedürü

Sekil 4. EPM Testi

Sekil 5. Bilye Gömme Testi

Sekil 6. Bazal ve Nikotinle Uyarılmış Açık Kola İlk Giriş Süresi (Latans)

Sekil 7. Bazal Koşullarda ve Nikotin ile Uyarılmış Açık Kolda Geçirilen Süre (sn)

Sekil 8. Bazal ve Nikotin ile Uyarılmış Açık Kol Tercihi

Sekil 9. Bazal Şartlarda ve Nikotin ile Uyarılmış Kapalı Kola Giriş Sayısı

Sekil 10. Bazal Şartlarda ve Nikotin ile Uyarılmış Açık Kol Sakınma İndeksi

Sekil 11. Bazal Şartlarda ve Nikotinle Uyarılmış Orta Alan Süreleri

Sekil 12. Bazal ve Nikotinle Uyarılmış Total Yol

Sekil 13. Bazal Şartlarda ve Nikotinle Uyarılmış Çizgi Geçiş Sayısı

Sekil 14. Bazal ve Nikotinle Uyarılmış Gömülen Bilye Sayısı

KISALTMALAR

NtE:	Nikotin tercih eden
MB:	Bilye gömme testi
OF:	Açık alan testi
EPM:	Yükseltmiş artı labirent testi
SC:	Subkutan
DSM-V:	Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı, 5. Baskı:
SSRI:	Seçici serotonin geri alım inhibitörleri
SSNI:	Seçici serotonin norepinefrin geri alım inhibitörleri
RIMA:	Geri dönüşümlü monoamin oksidaz A inhibitörü

1. GİRİŞ

Nikotin bağımlılığında ve nikotin kullanımında bireysel değişkenlikler açısından genetik faktörler önemli rol oynamaktadır (36). Sigaraya başlama, günlük içilen sigar sayısı, sabah uyandıktan sonra ilk içilen sigara zamanı, başarısız sigara bırakma denemeleri ve nikotin yoksunluğu gibi sigara kullanma davranışlarıyla ilgili karakteristik davranışlarda kalıtımın etkili olduğunu gösteren pek çok yayın bulunmaktadır (22,67). Seçici tohumlama yöntemiyle kemirgen soyu oluşturmak bağımlılık davranışlarının doğasını gösteren çok önemli bir araçtır. İstenen fenotipte seçici tohumlanan hayvan modellemeleri bağımlılığın genetik etkilerini gün yüzüne çıkarmada önemli rol oynamaktadır. Seçici tohumlama yöntemiyle yüksek ve düşük alkol tüketmeyi tercih eden modeller literatürde bulunmaktadır (13). Bazı çalışmalarda intravenöz kokain ve morfinin kendi kendine uygulandığı seçici tohumlanan hayvanlar oldu (71,26). Bazı diğer çalışmalarda ise kokain ve metamfetamin uygulanan kemirgen soylarında farklılaşan lokomotor yanıtlar üzerinde durulmuştur (33,40). Ancak bugüne kadar çok sınırlı bir grup çalışmada nikotinin etkisini gösterecek seçici tohumlanmış soylar olduğu görülmüştür (60,39,42).

2006 yılından bugüne kadar Ege Üniversitesi Hayvan Laboratuvarı'nda yüksek nikotin tercih eden sıçan soyları üretilmiştir ve üretilmeye devam edilmektedir. Tekli kafeslenen sıçanların nikotin tercihleri, suya serbest erişimli olacak şekilde bir tarafı nikotinli su diğer tarafı sadece su olan iki şişe ile belirlenmiştir (52,45). Yaptığımız literatür araştırması sonucunda oral nikotin tercih eden başka bir kemirgen soyu çalışması bulunmamaktadır. Nikotin tüketim ortalaması ise dişilerde 3,98 mg/kg erkeklerde 4,13 mg/kg'dır (45). Nikotin tercih eden sıçanlarda 8 jenerasyondan sonra nikotin alımı arttırmıştır (Nesil ve ark. 2005). Yüksek nikotin alımı için kalıtımla aktarılabilirlik, dokuz nesil seçici tohumlamadan sonra sıçanlarda 0.1 idi. Nesil ve ark. (2015) gösterdi ki nikotin tercih eden sıçan soylarında 16 ve 40 saat sonra nikotin yoksunluğunda lokomotor aktivite ve kaçma girişimleri azalırken, yoksunluğun somatik işaretleri olan titreme, çene titremesi, ayak ve genital bölge temizliği gibi davranışlarda bir artış olmuştur. Öztürk ve ark.

(47) ise bu sıçan soyları için, iki şişeli seçim ve kendi kendine uygulanan alkol uygulaması düzeneğinde kontrollerine göre daha fazla alkol tüketmeyi tercih ettiğini göstermiştir. Tüm bu bilgiler ışığında, önceki bulgular göstermektedir ki seçici tohumlanan nikotin tercihli sıçan soyları, nikotin bağımlılığını çalışmayı destekleyen kıymetli bir hayvan modellemesidir. Çeşitli karakter ve negatif duygularla ilişkili kişilik özellikleri ile nikotin bağımlılığı arasında ilişki vardır (56,37). Sigara içmekte olan kişilerle yapılan bir başka çalışmada negatif duygulanım ve sigara içme dürtüsü arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır (30). Sosyal fobi ya da post travmatik stres bozukluğu gibi anksiyete bozukluğu tanısı almış bireylerde nikotin bağımlılığına yatkınlık açısından yüksek risk grubu içinde olduğu saptanmıştır (54,61). Sigara içme ve anksiyete arasındaki ilişki çift yönlüdür. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar, sigara içmenin panik atak ve panik bozukluk görülme riskini arttırdığını göstermektedir (32). Nikotinin stres ve anksiyete yanıtını düzenlediği, tetiklediği iyi bilinen etkilerinden biridir (13,44). Nikotinin anksiyete üzerindeki etkisini dozu ve uygulama şekli belirler. Kronik nikotin maruziyetinde anksiyolitik etkisinin varlığını gösteren pek çok hayvan çalışması literatürde mevcuttur (51). Nikotin bağımlılığına duyarlılığı arttıran bir başka davranış ise yenilik arama davranışıdır (27). Yenilik arama davranışı, farklı ve yoğun deneyimlere karşı istek duyma, yeni durumlara açık olma olarak tanımlanır. Yenilik arama davranışı gösteren bireyler yeniliği denemek adına bütün riskleri göze alabilirler ve hatta olası olumsuz sonuçları da göz ardı ederek daha az kaygı gösterirler. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda yenilik arama davranışı, nikotin kullanımından önce bunu öngörebilmeye yardımcı olur (32). Buna paralel olarak hayvanlar üzerindeki yenilik arama davranışı kendi kendine uygulanan nikotin uygulamalarında da öngörmekte yardımcı olur (33,63). Hayvanlarla yapılan Artı Labirent ve Açık Alan deneylerinde anksiyete davranışı, yenilik arama davranışının bir göstergesi olarak yorumlanmıştır (70).

Bu çalışma Nikotin Tercih Eden (NtE) sıçan soyları ve kontrolleri arasındaki anksiyete benzeri davranışlar arası farklılaşmayı saptamak için tasarlanmıştır. Anksiyete benzeri davranışları ölçmek için naif sıçanlar üzerinde Açık alan (OF), Yükseltilmiş artı labirent (EPM), Bilye gömme (MB) ve Porsolt zorlu yüzme (PST) testleri kullanılmıştır. Bu testleri arasında EPM ve OF yenilik arama davranışlarını ölçmede kullanılmıştır (70). Çalışmanın ikici aşamasında, sekiz hafta boyunca tüm

hayvanların sıvı kaynağı olarak sadece nikotinli suya erişimlerine müsaade edildi. Kronik nikotin maruziyetinin devam ettiği sekiz haftanın son iki haftasında tüm sıçanlara anksiyete testleri tekrar uygulandı. Yaptığımız araştırma sonucunda bilindiği kadarıyla yüksek nikotin tercih eden sıçan soylarıyla kaygı benzeri davranışları çalışan başka bir çalışma yoktur. Nikotin tercih eden bu sıçan soylarında, nikotin tercihinin anksiyete benzeri davranışları değiştirebileceği varsayılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Bağımlılık

Tıp literatüründe bağımlılık zehirleyici etkisi bulunan kimyasal maddelerin aşırı kullanımı olarak bilinmektedir. Kişinin zarar verici sonuçlarına rağmen bir maddeyi kullanmaya devam etmesi olarak da tanımlanabilir (15).

Bağımlılığın birden fazla ele alınması gereken yönleri bulunmaktadır. Kişiyi psikolojik, kültürel, sosyal ve fizyolojik açıdan fazlasıyla etkileyen bu durum ilk başta biyolojik birtakım mekanizmaların tetiklenmesiyle meydana gelir. Bağımlı bireyin yaşadığı haz striatumdaki dopamini artırmaktan çok orbifrontal korteksteki aktivasyonu artırıcı etki yapmaktadır ve bu durum beyin ödüllendirme sistemindeki bir hastalık olarak karşımıza çıkar ve bağımlılık gelişir (57).

Nikotin bağımlılığı sıklıkla (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder) DSM-V kullanılarak değerlendirilir. Nikotin bağımlılığı psikolojik, fizyolojik, bilişsel ve davranışsal yönleriyle incelenmesi gereken bir sendromdur (8).

Bağımlılık yapan maddeleri yedi başlık altında toplayabiliriz (55). Bunlar:

1. Narkotik analjezikler: Opiyat türevleri (afyon, morfin, kodein, eroin vb.)
2. Stimülanlar: Amfetamin, kokain gibi uyarıcı maddeler. Nikotin de stimülan bir ajandır.
3. Depresanlar: Benzodiazepin ve barbitürat grubu ilaçlar ve alkol gibi depresan ajanlar santral sinir sistemini deprese ederek etki gösterirler.
4. Hallüsinojenler: Bu gruptaki ilaçlar algı sistemlerinde değişimlere neden olurlar. Bunlara LSD, PCP (Fensiklidin), Meskalin örnek verilebilir.
5. Cannabis: Bu grupta Cannabis sativa (hint keneviri) bitkisinden elde edilen ilaçlar bulunmaktadır. Marijuhana (ganja), haşhaş, haşhaş yağı, bong vb.

6. Uçucu solventler: Tiner, uhu ve çeşitli petrol türevleri
7. Diğer bağımlılık yapan maddeler: Çeşitli kas gevşeticiler, ağrı kesiciler, anti histaminikler, antiemetikler, antidepresan ve antipsikotikler bağımlılık yapıcı etkiye sahiptirler ve kötüye kullanımları olasıdır.

2.2.Anksiyete

Anksiyete/kaygı bozukluğu; tüm insanların yaşadığı ve “nedeni bilinmeyen korku hali” olarak tarif edilen bir duygulanım şeklidir, kişi için tehlike içeren, bilinen ya da bilinmeyen bir durum karşısında yaşanan endişe, korku ve birlikte eşlik eden bedensel belirtileri ile kendini göstermektedir. DSM-V tanımına göre anksiyete fiziksel belirtileri (örneğin çarpıntı, terleme, titreme, ağız kuruluğu, nefes darlığı, boğulma hissi; göğüs ağrısı, karın rahatsızlığı, gerçek dışılık hissi, parestezi, vb.) olan ani başlangıçlı ataklar ile kendini göstermektedir. Panik ataklar birdenbire ortaya çıkabilir; ancak birçok hasta panik atak olabileceğinden korktukları durumlardan kaçınmaya başlar.

Anksiyete bozuklukları en yaygın görülen psikiyatrik bozukluklardır. Bu bozuklukların son yıllarda daha sık olup olmadığına dair yeterince kanıt olmamakla birlikte tanı alma açısından kadınların erkeklere oranla 1,5 kat daha fazla olduğu bilinmektedir (16).

2.2.1. Anksiyete Bozuklukları Tanı Kriterleri

DSM-V'in yaptığı sınıflamaya göre panik bozukluk, agorafobi, yaygın anksiyete bozukluğu, sosyal anksiyete bozukluğu, özgül fobi, ayrılma anksiyetesi ve seçici mutizm olmak üzere çeşitli anksiyete türleri tanımlanmaktadır.

2.2.2. Panik Bozukluk Türleri

- Agorafobi, Panik atak meydana geldiğinde kaçmanın zor ve utanç verici olabileceği yerlerden korkma (kalabalıklar, toplu taşıma araçları, kapalı alanlar)
- Yaygın anksiyete bozukluğu, Somatik anksiyete semptomları (titreme, çarpıntı, baş dönmesi, bulantı, kas gerginliği vb.) ve konsantrasyon, sinirlilik, uykusuzluk ve sürekli endişe gibi semptomlar görülür. (Kendisi veya bir akrabasının) kaza yapmak veya hasta olmak.
- Sosyal anksiyete bozukluğu, İlgi odağı olunan ve eleştirilebilir durumlardan korkma- örneğin, topluluk önünde konuşma, yetkili makamları ziyaret etme, işteki amirlerle veya karşı cinsten kişilerle konuşmalar.
- Özgül fobi, Genellikle hayvanlarla (kediler, örümcekler veya böcekler) veya diğer doğal olaylarla (kan, yükseklik, derin su) ilgili tekil, sınırlı durumlar.
- Ayrılma anksiyetesi, Bireyin bağlı olduğu kişilerden ayrılmaya ilişkin uygunsuz ve aşırı korku ya da kaygı.
- Seçici mutizm, Birey başka durumlarda konuşmasına rağmen, konuşma beklentisinin olduğu sosyal durumlarda (örneğin okul) tutarlı bir şekilde konuşamama (16).

2.2.3. Tedavisi

Tedavisinde sıklıkla antidepresan ilaçlar (SSRI ve SSNI, kalsiyum modülatörleri, azapiron ve RIMA yolaklarını kullanan ilaçlar), psikoterapi ve psikoterapi-ilaç kombinasyonu kullanılmaktadır (5).

Çeşitli çalışma sonuçları da göstermektedir ki ilaç etkinliği yüksek olsa da ilaç ve psikoterapi kombinasyonu en etkili tedavi yöntemidir (6).

2.3.Anksiyete Hayvan Modelleri

1900'lü yılların başından bugüne kadar hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarla anksiyete davranışları incelenmiştir. Bu testler yapılırken, insandaki anksiyetenin hayvanlardakiyle aynı oluşum mekanizmasına sahip olduğu düşüncesi temel alınmaktadır.

Deney hayvanlarından edinilen anksiyete bilgileri iki yolla olur. Birincisi koşulsuz durum yani hayvana aşırı ağrı ve rahatsızlık vermeyen ve durum karşısında gösterdiği tepkileri değerlendiren, ikincisi ise koşullu yani hayvanı strese sokan, ağırlı uyarana karşı (elektrik şokuna maruz kalma) cevabın değerlendirildiği diğer yoldur (14).

2.4.Soy Hayvanları

Çeşitli modellemeler yapılarak bir özelliği belirgin şekilde gözlemlenebilen hayvan soyları oluşturulmaktadır. Soy hayvanlarını oluşturmak için yapılan çeşitli çalışmalar incelendiğinde temellerinin aynı şeye dayandığı görülür. Edinilmesi istenen özellik/davranış için hayvanlar o duruma maruz bırakılır. Maruz bırakmayla pekiştirilen durum çeşitli yollarla test edilir. Nesilden nesile genetik kodla aktarılan çeşitli özellikleri temsil eden bu nesiller insan davranışları ve geleceği açısından çok büyük önem taşımaktadır.

Seçici soy üretme/ tohumlama, ilaca bağlı tercihlerin ve lokomotor tepkilerin genetik temelini araştırmak için bir dizi çalışmada kullanılmıştır. Alkolün kendi kendine oral uygulanmasına yönelik değişen tercihi görebilmek için seçici tohumlama yoluyla beş farklı sıçan modeli geliştirilmiştir. Bunlardan biri Grahame ve arkadaşlarının yapmış olduğu alkol kaynaklı oral tercih, buna bağlı olarak gözlemlenen lokomotor aktivitedeki değişiklikler ve yoksunluk davranışları için seçim ile geliştirilen birkaç fare soyu çalışmasıdır (20). Alkol tercihi için üretilen soylara ek olarak kokain, Smolen ve arkadaşlarının 1994'te yaptığı nikotin ve

metamfetamin (60) enjeksiyonlarından sonra lokomotor aktivitede farklılık gösteren sıçan hatları geliştirmek için seçici soy üretme yöntemi kullanılmıştır (Palmer ve diğerleri, 2005) (26).

2.4.1. Alkol Soy Hayvanları

Yapılan çalışmalar alkol tercih eden fare ve sıçanlarda alkol kullanım bozukluğu ve depresyon arasında da ortak genetik yatkınlık olduğunu göstermiştir. Her iki durumun ne ölçüde etki ettiği tam olarak anlaşılammıştır. Karmaşık etkileşimler nedeniyle genetik ve biyolojik etki faktörlerini deneysel olarak analiz etmek için hayvan modellerini kullanmak yararlıdır (11).

2.4.2. Nikotin Soy Hayvanları

Sigara kullanımı ile stres arasındaki ilişki uzun zamandır tartışma konusu olmuştur. Bilimsel sonuçlar sigara bağımlılığın stresi arttırdığını göstermesine rağmen, sigara içenler sigaranın streslerini azalttığını söylemektedir.

Tütün ürünlerinin kullanımının yaygınlığının arkasında yatan en önemli neden, bu ürünlerin içinde yüksek derecede bağımlılık yapıcı etkileri ile bilinen nikotinin bulunmasıdır. Nikotin, dopamin adlı norötransmitterin salgılanmasına neden olur. Dopamin içiciye haz verir, konsantrasyonunu artırır, enerji düzeyini yükseltir. Bu nörotransmitterlerin salınması mutluluk hissine neden olur. Günümüzde sigara içimi önlenebilir ölüm nedenleri arasında birinci sıradadır ve buna rağmen Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre dünyada her yıl yaklaşık 5 milyon kişi sigara-ilişkili hastalıklardan kaybedilmektedir.

Sigara dumanındaki temel bağımlılık yapıcı ajan nikotin beyinde psikostimülan etkilidir, ödül duygusunu uyarır, stresi ve anksiyeteyi azaltır. Buna karşılık nikotin yoksunluğu sırasında stres yanıtı tetiklenir. Uzun süre nikotin kullanımında beyin normal fonksiyonlarını yerine getirebilmek için nikotine ihtiyaç duyar ve böylece kişi bu etkileri yaşayabilmek için daha fazla sigara tüketmeye başlar. Anksiyete artışı ve anhedoni ile karakterize negatif afektif bir durum ortaya çıkar. Her iki aşamanın da nikotin bağımlılığının gelişiminde önemli olduğu ileri sürülmektedir.

Sigaraya başlama, bağımlı hale gelme ve sigarayı bırakabilme açısından herediter özelliklerin önemli olduğu pek çok yayında ileri sürülmektedir (44). Bu çalışmada kullanılan sıçanlar laboratuvarlarımızda, seçici tohumlama yöntemi kullanarak üretilmiştir. İstemli oral nikotin alımındaki farklılara dayanarak seçilen ve üretilen bu hayvan soyunun literatürde başka bir örneği bulunmamaktadır (44,45). Nikotin tercih eden sıçan soy oluşumunda 20. nesile ulaşılmıştır ve bu sıçanlar naif kontrollere göre nikotini %80 oranında fazla tercih etmektedirler.

Kronik nikotin maruziyeti dişi ve erkek sıçanlarda etki ederken çeşitli farklılıklar gösterebilmektedir. Aynı zamanda anksiyolitik ve anksiyojenik etkileri de nikotinin verilme şekline, dozuna ve süresine göre değişkenlik gösterebilmektedir. Cinsiyetlere göre bakıldığında dişi sıçanlar nikotinin anksiyolitik etkilerine karşı yapılan teste göre daha hassas ya da daha az hassas olabilmektedirler (10).

Kanıt ve arkadaşları (1999) cinsiyet ve ovarian hormonların spontan lokomotor aktivite üzerindeki etkisini araştırılmışlar ve dişi sıçanların erkeklere oranla daha yüksek lokomotor aktivite değerleri gösterirken akut nikotinin dişilerde lokomotor aktiviteyi daha fazla baskıladığını bulmuşlardır. Yaptıkları 21 günlük kronik nikotin enjeksiyonu sonrasında ise, lokomotor aktivite her iki cinsiyette de artarken, dişilerde artış daha fazla olmuştur. Yapılan bu araştırma ile dişi hormonlarının mezokortikolimbik dopamin sistemi ile etkileşime girerek lokomotor aktiviteyi etkilediğini göstermektedir (34).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu tez çalışmasında yapılan deneylerde Ege Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde Fizyoloji Anabilim Dalı tarafından yürütülen "Nikotin Tercih Eden Sıçan Soyu" (NtE) projesine ait seçici tohumlama yöntemiyle yetiştirilen Sprague Dawley cinsi 48 dişi ve erkek sıçanlar kullanılmıştır. Bu proje kapsamında 22 nesildir Ege Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında, nikotin tercih etme miktarlarına bakılarak çiftleştirilmiştir. Çiftleştirmelerden elde edilen soylar, standart koşulları altında (20-22C; 12-12 saat gece-gündüz siklusunda ışıklar 07:00'da açılır), ad-libitum/serbest beslenme rejiminde, aynı koşullar altında büyütülmüştür. Bu tez çalışması deney protokolleri Ege Üniversitesi Kurumsal Hayvan Etik Kurulu (30.01.2019 tarihli ve 2019-001 nolu etik onay) tarafından onaylanmıştır ve deney hayvanlarına uygulanan tüm işlemler Avrupa Birliği Konseyi Direktifleri (2010/63 / EU) ile uyumludur.

3.2. Seçici Tohumlama Yöntemi

Seçici tohumlama yöntemi, insanlar tarafından istenen özelliklere sahip yeni organizmalar geliştirmek için kullanılan bir yöntemdir. Yetiştiriciler, üretmek istedikleri fenotipik özelliklere sahip iki ebeveyn seçer ve istenen özelliklere sahip yavrular elde eder. Bu çalışmada da nikotin tercihleri çift suluk (**Şekil.1**) (nikotine oral yolla serbest erişimli, bir şişesi su, bir şişesi nikotinli su) yöntemiyle belirlenen sıçanlar arasından nikotin tercihi en fazla olan sıçanlar kendi aralarında eşleştirilmiş, böylece nikotin tercih eden nesiller oluşturulmuştur. Normal koşullarda çift suluk yöntemiyle sıçanların %30 u nikotinli su tüketmeyi tercih etmektedir.



Şekil 1. Kafesleme

3.3. Deney Deseni

Tez çalışmasında 22. nesile ait nikotin tercih eden 3-4 aylık (250-350 g) sıçanlar kullanılmıştır. Nikotin tercih eden dişiler ve erkekler kendi aralarında kafeslenirken (Şekil 1.) kontrol grubu dişiler ve erkekler kendi aralarında kafeslenmiştir. Tez çalışmasında 4 grup bulunmaktadır. NTE dişi, NTE erkek, kontrol dişi ve kontrol erkektir. Her grupta 12 sıçan bulunmaktadır ve deneylerde toplam 48 sıçan kullanılmıştır.

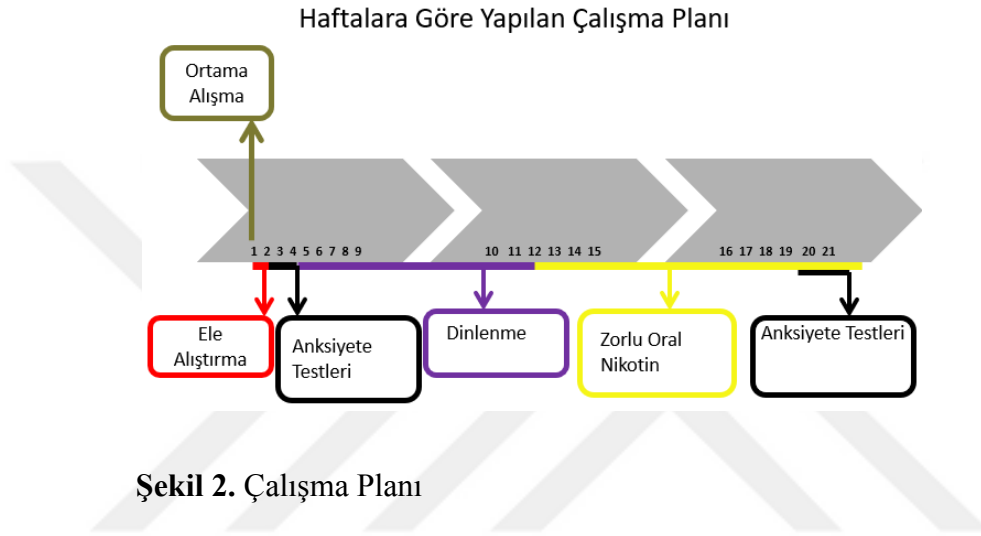
3.4. Deney Protokolleri

3.4.1. Ele İnsana Alıştırma Prosedürü (Handling)

Handling kelimesi elde tutma, ele, insana alıştırma anlamına gelmektedir. Handlingin amacı deney hayvanının araştırmacıya alışması, araştırmacının dokunmasından kaynaklanan stres yanıtlarının daha az tetiklenmesini sağlamaktır. Hem ortam hem de araştırmacıdan kaynaklanan yeniliğin verdiği anksiyeteyi

minimumuna indirmek, stres faktörünü olabildiğince elimine etmek yani handling bu açıdan çok önemli bir prosedürdür.

Deneylere başlanmadan önce stres faktörünü minimuma indirmek için önce bir hafta ortama alışmaları için beklenmiş ve daha sonra da deney ve kontrol gruplarındaki tüm sıçanlara bir hafta boyunca handling yapılmıştır.



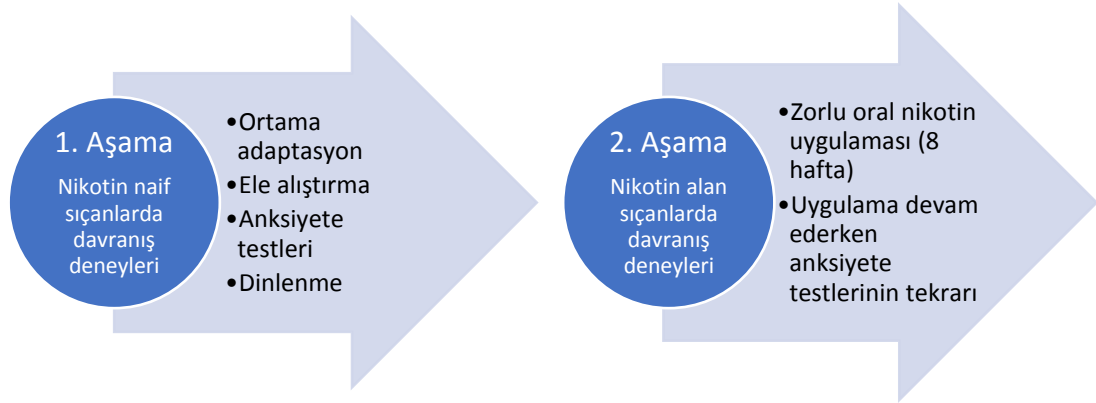
3.4.2. Handlingin uygulaması

Handling uygulamasında dişi ve erkek sıçanlar ayrı ayrı ve üçerli kafeslendi. Tüm deney gruplarından 3 deney hayvanı alınarak toplamda 12 hayvana uygulama yapılarak başlandı. Her gün her gruptan 3 hayvan eklendi. Handlingin ilk günü hayvanların stresini azaltmak için ele alıştırma süreleri uzun (4-5 dakika) tutuldu. Zamanla ele alıştırma süresi kısaltıldı (15-20 saniye). Bu uygulamaya bir hafta boyunca devam edildi. Bu süre içerisinde handlingin yeterli olup olmadığını gösteren işaretler (idrara yapma sıklığı, gaita sıklığı, saklanma çabası, kaçma çabası, kalp ritminde) gözlemlenerek uygulama yapıldı. Bu tepkilerde istenilen düzeye gelmeyen sıçanlara ek uygulamalar yapıldı.

3.4.3. Davranış Testleri

Tüm deneyler iki aşamalı olarak planlanmıştır. Kontrol dişi, kontrol erkek, NtE dişi ve NtE erkek grupları oluşturulup önce bazal şartlardaki anksiyete düzeyleri araştırılmıştır. Aynı deney hayvanlarına kronik oral yolla zorunlu nikotin verilmiş ve 1 aylık nikotin uygulamasından sonra nikotin etkisinde anksiyete seviyelerindeki değişim incelenmiştir. Oral nikotin alımı devam ederken aynı deney hayvanlarına nikotin etkisinde anksiyete testleri uygulanmış ve iki aşamadaki edinilen verilerin karşılaştırılması yapılmıştır. Böylece deney hayvanlarının kendilerinin kontrolü olması sağlanmıştır.

Davranış deneylerinin başlangıç ve bitiş saatlerinin standart olmasına dikkat edilmiştir (sabah 09:00- 16:00). Tüm deneylerden önce 1 saat boyunca deney odasına alışmaları sağlanmıştır. Handling haftasından sonra Açık Alan, Porsolt Zorlu Yüzme, Yükseltmiş Artı Labirent ve Bilye Gömme testleri uygulanmıştır. Testler öncelik sonralık etkisini ortadan kaldıracak şekilde eşitlenerek gerçekleştirilmiş ve skorlanmıştır. Tüm deney skorlamaları deneylere ve hayvanlara kör olan gözlemciler tarafından yapılmıştır.



Şekil 3. Deney Prosedürü

3.5. Davranış Testi Protokolleri

3.5.1 Kronik oral nikotin uygulaması

Kronik oral nikotin uygulamasına bazal anksiyete testlerinin bitiminden 1 ay sonra başlanmıştır. Uygulamada maruz bırakılan nikotin miktarı kademeli şekilde arttırılmıştır. İlk hafta 25 mikrogram/ml nikotin (serbest baz) ve %0,2 sakkarin deney hayvanlarının içme sularına eklenmiştir. Nikotinin acı tadını maskelemek için kullanılan sakkarin ikinci hafta aynı kalmış, nikotin dozu 50 mikrogram/ml'ye çıkartılmıştır. Üçüncü hafta ödül yapıcı etkileri nedeniyle sakkarin %0,1'e düşürülüp dördüncü hafta içme suyuna sadece 50 mikrogram nikotin eklenmiştir. Toplamda 9 hafta süren uygulama esnasında nikotin alan hayvanların kafeslerinde nikotinsiz su seçeneği konulmamıştır.

3.5.2. Açık Alan Testi

Deney hayvanlarında sıklıkla kullanılan ve uygulanacak protokollerden önce veya sonraki duygu durumunu saptayabilmek için tercih edilen testlerden biridir. Açık alan testinde anksiyeteye sebep olan faktörlerin başında ortamın yeni olması ve açık alanda güvende hissedememeleri gelir, çünkü açık ve geniş ortam kemirgenlerde sıkıntı yaratan bir durumdur.

Boyutları 60x60x40 cm ebatlarında olan deney düzeneği 16 eş kareye bölünmüştür. 5 dakikalık prosedürde merkezdeki 4 kareye bırakılan deney hayvanının bu süre içinde orta alanda geçirdiği zaman, çevre alan geçirdiği zaman, orta alandaki geçiş sayısı, çevre alandaki geçiş sayısı, total aldığı yol parametreleri HVS tracking sistem ile analiz edilmiştir. Her deney hayvanına 5 dakika süreyle deney aparatını keşfetmeleri ve ortama alışmaları için zaman tanınmıştır. Burada anksiyete belirtisi olarak orta alana giriş sayısı ve orta alanda geçirdiği süre kullanılırken, açık alanda alınan total yol verisi lokomotor aktivite göstergesi kullanılmıştır.

3.5.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (Elevated Plus Maze Test)

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi sıklıkla anksiyete davranışını belirlemek için kullanılan bir testtir. Kemirgenlerde doğal anksiyete oluşturmak için en çok kullanılan anksiyete testidir. İki kolu açık iki kolu kapalı olan düzenek yerden 50 – 70 cm yükseklikte kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan boyutları 50x50x40x10 olan aparatın merkezi 10x10 cm kare ile birleşmektedir. Deneyde ışıklandırmanın 90 lux olmasına dikkat edilmiştir. Uygulama süresi 5 dakikadır. Deney esnasında merkeze bırakılan deney hayvanının açık kola girme zamanı, giriş sayısı, açık kolda geçirdiği süre, kapalı kola giriş sayısı ve kapalı kolda geçirilen süre verileri kaydedilmiştir. Bir koldan diğerine girdiğini skorlamak için 4 pençenin de kollara girmesi gerekmektedir. EPM deneyinde kapalı kola ilk giriş süresi latans verisi olarak değerlendirilmiştir ve anksiyete seviyesi hakkında bilgi verdiği düşünülmektedir.



Şekil 4: EPM Testi

3.5.4. Bilye Gömme Testi

Objeye gömme testi, obsesif kompulsif benzeri (OKB) davranış, kaygı benzeri davranış ve yenilik fobisi (neo-phobia) için kullanışlı bir modeldir. Objeye gömme, literatürde otizm, motivasyon veya genel anksiyete bozukluğu için de bir ölçüt olarak

görülmektedir. Sıçanlar kafeslerinde bu tip nesnelere içgüdüsel olarak saklama davranışı sergilerler, çok sayıda bu tip nesne olması onlarda anksiyete yaratır ve süratle gömme davranışı göstermeye çalışırlar (24).

Çalışmamızda uygulanan test protokolünde 40x40x40 ölçülerinde polietilen kafesin tabanı 5 cm yüksekliğinde mısır koçanı kaplanmıştır. Mısır koçanı ile kaplanmış taban üzerine düzenli sıra ve eşit aralıklarla 16 adet (4x4) renkli cam bilye (15 mm çapında) yerleştirilmiştir. Sıçan bilyelerin ve talaş yatağının düzenini bozmayacak şekilde kafesin bir köşesinden deney düzeneğinin içine bırakılmış ve kafesin kapağı kapatılmıştır. Deney süresi boyunca deney kafesi içerisinde olan hayvanlara yem ve su verilmemiştir. Deney süresi bitikten sonra sıçan talaş ve bilyelerin görünümünü bozmadan kafesten çıkarılmıştır. 30 dakika içinde bilyelerin 2/3 'ü gömüldüyse gömülmüş sayılmıştır. Bilyelerin değerlendirilmesini çalışmaya kör bir araştırmacı yapmıştır. Her hayvan için yeni mısır koçanları kullanılırken deney bitiminden sonra boşaltılan kafes ve kullanılan 16 adet bilye %70 etanol ile temizlenmiş kurulanmış ve bütün prosedür baştan uygulanmıştır.



Şekil 5: Bilye Gömme Testi

3.6. Hayvanlar ve Kafesleme

Bu çalışmada erkek ve dişi olarak kontrol (naif) ve Nt Sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanılmıştır. 3 -4 aylık sıçanlar (yaklaşık 250-350 g) Ege Üniversitesi Hayvan Üretim Laboratuvarından alınmıştır. Yüksek nikotin tercihli Nt soyları, 2006 senesinden beri Ege Üniversitesinde yetiştirilmektedir. Bu çalışmada kullanılan Nt sıçanlar 22'nci nesil sıçanlardır. Tüm sıçanlar her grupta 12 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır: Kontrol Erkek (KE), Kontrol Dişi (KD), Nikotin Tercih Eden Erkek (NtE), Nikotin Tercih Eden Dişi (NtE). Sıçanlar cinsiyetlerine göre 2'şerli kafeslendiler (aynı olacak şekilde). 12 saat aydınlık 12 saat karanlık (gece/gündüz, ışıklar 07.00da açıldı) siklusunda ve 20-22 C de bakımları sağlandı. Tüm sıçanlar yem ve sulara serbest erişimli olarak kafeslendi. Tüm deneysel prosedürler için Ege Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan onay alındı (2019-001). Hayvanlar ilgili AB yönetmeliğindeki (2010/63/EU) hayvan bakım ve deney koşullarına uygun şekilde kullanıldı.

Tüm hayvanlar davranış testleri uygulanmadan iki hafta önce yerlerine taşındı ve araştırmacılara alışmaları için handling uygulaması yapıldı. Davranış testlerinin her biri iki kere uygulandı. İlk aşamada kronik nikotin maruziyeti başlamadan önce tüm gruplara davranış testleri uygulanarak bazal şartlardaki veriler elde edildi. İkinci aşamada ise tüm sıçanlara sadece nikotinli su bulunan şişelerle 8 haftalık nikotin maruziyeti uygulandı. Davranış testleri kronik nikotin uygulaması devam ederken yedi ve sekizinci haftalarda tekrar uygulandı. Davranış deneyleri devam ederken nikotin uygulamasına da devam edildi. Uygulanan davranış testleri ise Açık alan, Yükseltilmiş artı labirent, Bilye gömme gibi anksiyete benzeri davranışları ölçen testlerdir. Her sıçan için ilk gün OF, ikinci gün MB, sekizinci gün EPM ve dokuzuncu gün ZYT uygulandı. OF ve EPM sabah saat 09.00 ve 12.00 saatleri arasında uygulanırken, MB ve öğleden sonra saat 13.00 ve 15.00 saatleri arasında uygulandı. NtE sıçanların lokomotor aktiviteleriyle ilgili soru işaretlerini gidermek adına ayrı bir grup NtE ve kontrol sıçanlarla fotosel aktivite kafeslerinde lokomotor aktivite ölçümleri yapıldı. (n=8/9) Locomotor aktivite sabah saat 09.00 ve 12.00 saatleri arasında test edildi.

3.7. Prosedür

3.7.1. Nikotin Uygulaması

Davranış testlerini takiben tüm çalışma gruplarına 8 hafta süreyle oral yollu zorlu nikotin uygulaması yapıldı. Tüm sıçanlar günlük 24 saat boyunca içme sularına nikotine (nikotin ditartarat dihidrat, Acros Organics, USA) maruz bırakıldı. Nikotinli su tüm gruplar için erişilebilir tek sıvı kaynağı oldu (zorlu oral nikotin). İlk hafta için başlangıç dozu 25 µg/ml (serbest baz) olarak uygulandı. İkinci hafta tüm gruplar için 50 µg/ml doza çıkarıldı ve 7 hafta boyunca bu doz uygulandı. Nikotinli solüsyona, nikotinin acı tadını baskılamak için ilk 2 hafta boyunca sakkarin (Sigma-Aldrich, USA) eklendi. İlk 10 gün %0.2, sonraki 4 gün %0.1 oranında sakkarin eklenerek 2 hafta tamamlandı. 2 haftanın sonunda sakkarinin ödüllendirici etkisini elimine etmek için nikotinli solüsyona sakkarin ilave etme uygulamasına son verildi (36). Nikotin ve sakkarin içeren solüsyonun pH değeri 7.4 olarak ölçüldü. İçilen solüsyonlar haftada 2 kere ölçülerek yenilendi. Bireysel kafeslemenin/ izolasyonun kaygı benzeri davranışları arttırdığını gösteren çalışmalar vardır ¹⁷. Bu yüzden nikotin uygulaması boyunca her kafese 2 sıçan konulmuştur. NtE grupta kronik nikotin uygulaması sırasında bir hayvan ölmüştür.

İçme suyu yoluyla nikotin verilmesi, ilaç iletimi açısından daha uzun bir salınımaya yol açmaktadır. Ayrıca bu durum kemirgenlerin aktif zamanlarında (gece) daha fazla nikotin tüketmelerine izin vermektedir (49). Bu nedenle sigara içmekle benzemektedir. Nikotin dozajlama yapılan bir çalışmada Huang ve ark (29) 50 µg/ml dozuyla verilen zorlu oral nikotinin, kan kotinin düzeyini çok yüksek miktarda sigara tüketen bireylerdeki kadar arttırdığını bulmuştur. Bütün bunlara ek olarak son zamanlarda Wistar cinsi sıçanlarla yaptığımız başka bir çalışmada (yayınlanmamış verilerdir) aynı dozda kullandığımız nikotin miktarının, yüksek miktarda sigara tüketen bireylerin kan kotinin seviyesinin üst aralığı olan 1009.932 ± 66.5 ng/ml düzeyine getirdiği görüldü.

3.8. Anksiyete Testleri

3.8.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testi anksiyete ve yenilik arama davranışını ölçen bir testtir (69,70). Bu test kemirgenlerin yüksek ve açık alanlardan doğal olarak kaçınmaları ve yeni mekanları keşfetme dürtüleri arasındaki çatışmaya dayanır. Yükseltilmiş artı labirent testi daha önceden bahsedildiği gibi uygulanmıştır (31). Deney aparatı ahşaptan yapılmıştır ve iki açık iki kapalı kolu mevcuttur. Her iki kolu 50 x 100 cm uzunluğunda ve kapalı olan kollarının duvar yüksekliği 40 cm'dir. Kolları merkezinde 10 x 10 cm olacak şekilde birleştirilmiştir. Labirent yerden 70 cm yüksektedir. Her bir sıçan için deney, yüzleri açık kola bakacak şekilde ve merkezdeki 10 x 10 cm olan kareden başlamıştır. Tüm sıçanlar için her bir deney video kaydına alınmış ve cinsiyet ve gruplara kör bir çalışmacı tarafından 5 dakikalık skorlama tablosuna işlenmiştir. Skorlama yapılırken sıçanların açık ya da kapalı kol fark etmeksizin 4 ayağıyla birlikte girmesine dikkat edilmiştir. Her hayvandan sonra deney düzeneği %70 alkolle temizlenmiş ve kuruması için beklenmiştir.

Kapalı kola giriş sayısı ve toplam kollara giriş sayıları lokomotor aktivite endeksi olarak kullanılmıştır. Kapalı kola ilk girilen zaman, açık kol tercihi (açık kola giriş sayısı/ toplam kollara giriş sayısı x 100), açık kolda geçirilen süre ve açık koldan kaçınma indeksi $[100 - (\% \text{ açık kol süresi} + \% \text{ açık kola giriş sayısı}) / 2]$ verileri anksiyete benzeri davranışların ölçümünde kullanılmıştır (41). Bazal ve nikotin uygulamasının yapıldığı koşullarda toplamda 3 sıçan labirentten düşmüş ve 7 sıçan ise açık ya da kapalı herhangi bir kola giriş yapmamıştır. EPM analizinde bu veriler uç değer sayıldığı için istatistikten hariç tutulmuştur.

3.8.2. Açık Alan Testi

Açık alan deneyi kemirgenlerin açık ve parlak şekilde aydınlatılmış alanlardan hoşlanmayıp kaçınmalarına karşılık keşfetme dürtüleri arasındaki çatışmaya dayanmaktadır. OF deney düzeneği 80 x 80 x 40 cm boyutlarında kare şeklinde bir alandır. Tabanı 16 adet küçük eş karelerden oluşmaktadır (59). Merkez bölge/ açık alan olarak ifade edilen en ortada 4 küçük kare (40 x 40) bulunmaktadır. Çevresindeki kareler ise kapalı alan olarak değerlendirilmektedir. Odanın aydınlatılmasının 100 lux olmasına dikkat edilmiştir. Her bir sıçan için deney

başlangıcı merkez bölgeden başlatılmıştır. Sıçanların deney düzeneğini keşfetmeleri için 5 dakika tanınmıştır. Her sıçandan sonra deney düzeneği %70 alkolle temizlenmiş ve kuruması için beklenmiştir. Sıçanların hareketleri düzeneğin yukarısına yerleştirilen VCR kamera ile kaydedilmiştir. Kamera kayıtları HVS (HVS Görüntüleme, EN) sistemiyle ayrıntılı incelenmiştir. Katedilen toplam mesafe HVS ile değerlendirilmiştir. Toplam çizgi geçişleri, açık alanda geçirilen süre, toplam dışkılama sayısı gibi veriler çalışmaya kör bir gözlemci tarafından skorlanmıştır. Açık Alan Testinde genel lokomotor aktivite toplam alınan yol ve toplam çizgi geçiş sayısı verilerinin kullanılmasıyla değerlendirildi. Açık alanda geçirilen zaman ve dışkılama sayısı anksiyete belirtisi olarak değerlendirilmiştir (53).

3.8.3. Bilye Gömme Testi

Bilye gömme kemirgenlerde neofobik (yenilik kaygısı) davranışı simgeler. Bu test yenilik anksiyetesine dayandırılarak kullanılmaktadır. Test uygulaması daha önce tarif edilmiştir (55). Kısaca polietilen kafeslerin (40 x 40x 40 cm) tabanları 5 cm' lik mısır koçanları ile doldurulmuştur. 15 mm çapındaki 16 adet cam bilye eşit aralıklarla (4 x 4) mısır koçanlarının üstüne dizilmiştir. Tüm sıçanlar düzeneğe aynı yerden konulmuş ve davranışları 30 dakika boyunca kamera kaydına alınmıştır. Gömülen bilye sayısı, bilyenin 2/3'ü mısır koçanının içinde ise gömüldü sayılarak cinsiyet ve gruplara kör bir gözlemci tarafından belirlenmiştir. Her sıçandan sonra mısır koçanları dökülmüş, kafesler ve bilyeler %70 etanolle silinmiş ve kullanılmamış yeni mısır koçanları ile aynı şekilde doldurulmuştur.

3.8.4. Fotosel Aktivite Kabinleri ile Locomotor Aktivite Testi

Locomotor aktivite fotoselli aktivite kabinleri (40 x 40 x 30 cm) ile değerlendirilmiştir. Kabinlerin duvarları şeffaf pleksiglastan yapılmıştır ve tabanı tel örgüyle kaplanmıştır. Kızılötesi ışıklar köşelerden 5 cm uzakta ve zeminden 3 cm yukarıdadır. Işık kesintileri Commat/ Biopac yazılımı ile kaydedilmiştir. Yazılım 60 dakikalık kayıtları 5 dakikalık aralıklarla kaydetmiştir. Kafes geçişleri (bir ışıkta diğer ışığa geçiş sayısı), tekrarlı hareketler (aynı ışığın tekrarlı kesintileri) kayıt altına

alınmıştır. Ayrıca sıçanların hareketleri, kafeslerin üstünde bulunan kamera ile kaydedilmiş ve 60 dakikalık toplam alınan yol tracking cihazıyla takip edilmiştir.

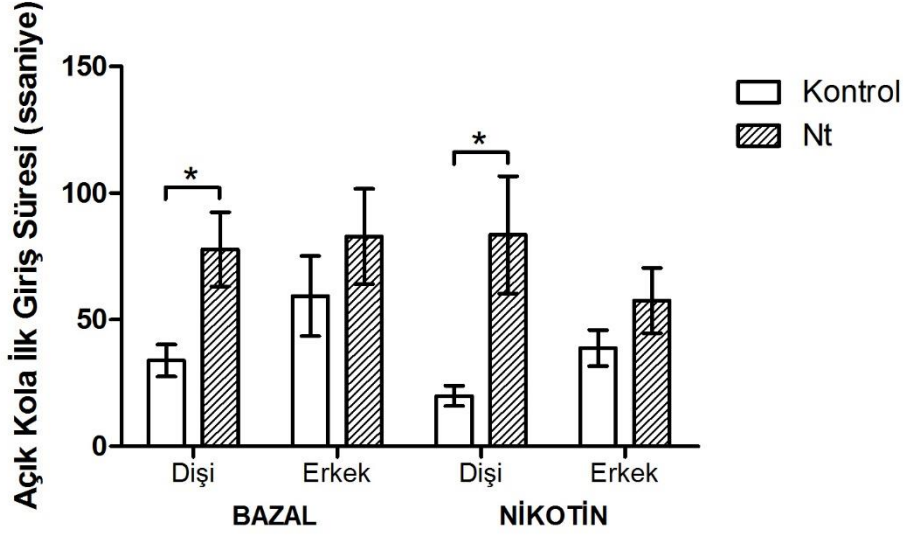


4. BULGULAR

4.1. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel hesaplamalar SPSS v20 yazılım paketi kullanılarak yapılmıştır. EPM, OF ve MB testlerinden elde edilen davranış parametreleri (dışkılama sayıları hariç) three-way ANOVA ile, uygulamalar (bazal koşul ve nikotin uygulaması) denek içi desen-within subject- ile, soylar (kontrol ve Nt soyları), cinsiyet (dişi, erkek) ise denekler arası (2 x 2 x 2 faktöriyel desen)- between subject- ile analiz edilmiştir. Tüm bunlara ek olarak bazal ve nikotin uygulaması koşullarında kayıt altına alınan veriler, soy (kontrol ve NtE), cinsiyet (dişi, erkek) tek yönlü ANOVA kullanılarak ayrı ayrı analiz edildi. Nikotinin düzenleyici etkilerinden en iyi bilineni olan gastrointestinal hareketliliğe dayanarak (3), yalnızca bazal durumda edinilen dışkılama verileri tek değişkenli ANOVA (soy ve cinsiyet denekler arası, 2 x 2 faktöriyel desen) kullanılarak analiz edildi. Ayrıca lokomotor aktivite testiyle alınan davranışsal veriler tek değişkenli ANOVA (soy ve cinsiyet denekler arası, 2 x 2 faktöriyel desen) kullanılarak analiz edildi. Her bir bağımsız değişken için basit temel etki (SME) belirlenerek, aralarında istatistiksel anlamlılık bulunan bağımsız değişkenler üzerinde çalışıldı. Etkileşim olmadan anlamlı bir ana etki bulunduğunda, grup farklılıklarını göstermek için tek yönlü ANOVA'lar ve ardından post-hoc Duncan testleri yapıldı. P değerleri 0.05'ten küçükse istatistiksel olarak anlamlı olduğuna karar verildi. OF testi için açık alanda geçirilen süre verisinde Grubbs testi ($p < 0.05$) kullanılarak bir uç değer bulundu ve veri setinden çıkarıldı (48).

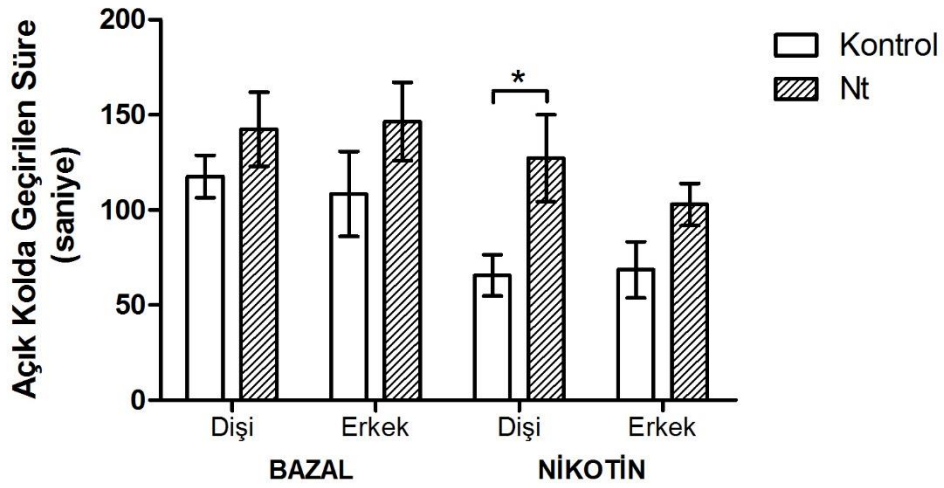
4.1.1. Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Anksiyete Benzeri Davranışlar ve Lokomotor Aktivite



Şekil 6. Açık Kola İlk Giriş Süresi (Latans)

C, Kontrol dişilerle karşılaştırıldığında, NtE dişiler daha yüksek latansa sahiptir, kapalı kola daha geç girmiştir bazal şartlarda ve nikotin uygulaması sırasında.

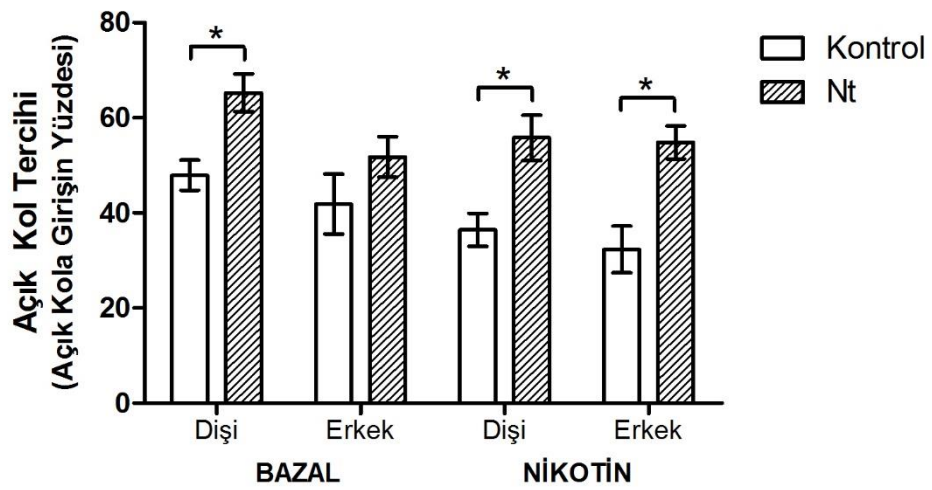
Tüm EPM verileri three-way ANOVA ile analiz edildi. Analiz edilirken uygulama (bazal ve nikotin uygulaması) denek içi, soy ve cinsiyet denekler arası faktör olarak kullanıldı. Tablo 1' de belirtildiği gibi bu test kapalı kola giriş latansı, açık kol tercihi, Açık kol Endeksi ve açık kolda geçirilen zaman açısından soylar arasındaki ana etkiyi/ farklılaşmayı göstermektedir.



Şekil 7. Bazal Koşullarda ve Nikotin ile Uyarılmış Açık Kolda Geçirilen Süre (sn)

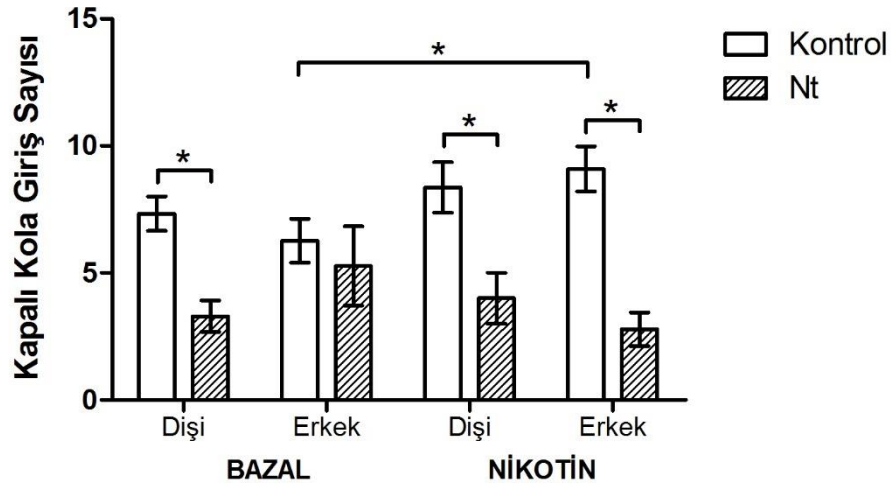
D, Nikotin uygulaması sırasında kontrol dişilere oranla NtE dişiler açık kollarda daha uzun zaman geçirmiştir.

Kontrol ve NtE grupları karşılaştırıldığında, NtE grubu kontrol grubuna göre açık kolu daha çok tercih etmiş ve açık kolda daha çok zaman geçirmiştir. Ayrıca NtE grubunun kontrol grubuna göre Açık Koldan Sakınma İndeksi daha düşük ve kapalı kola girme latansları daha uzundur, kapalı kola daha geç girmiştir.



Şekil 8. Bazal ve Nikotin ile Uyarılmış Açık Kol Tercih

Açık kol tercihi hem bazal koşullarda hem de nikotin uygulamasında dişi NtE sıçanlarda kontrol dişilere göre daha yüksektir. NtE erkek sıçanların ise sadece nikotin uygulaması sırasında kontrollerine kıyasla açık kol tercihi daha yüksek bulunmuştur.

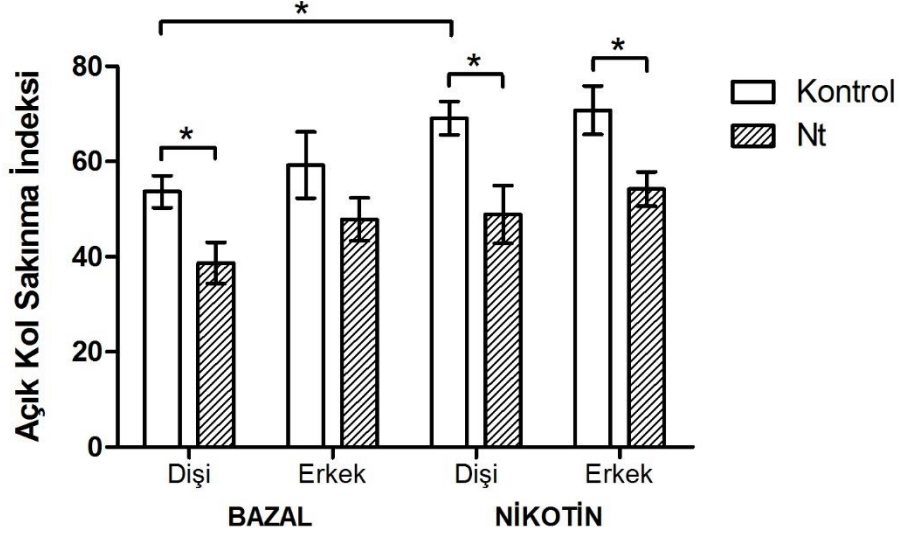


Şekil 9. Bazal Şartlarda ve Nikotin ile Uyarılmış Kapalı Kola Giriş Sayısı

Bazal koşullarda NtE dişiler kontrol dişilere göre kapalı kola daha az sıklıkta girmişlerdir. Nikotin uygulaması yapıldığında ise erkek ve dişi NtE sıçanlar kontrol sıçanlara göre kapalı kola daha az giriş yapmıştır. Nikotin uygulaması sadece erkek kontrol sıçanlarında kapalı kol girişlerini artırmıştır.

ANOVA sonuçlarına göre nikotin uygulamasının açık kol tercihi, açık kolda geçirilen süre ve Açık Kol Endeksi üzerindeki ana etkisi görülmüştür. Kronik nikotin maruziyeti açık kol tercihinde ve açık kolda geçirilen zamanda azalmaya neden olmuştur.

Tüm çubuklar, grup başına ortalama \pm SEM, n = 11-12 hayvanı temsil eder, açık renk çubuklar kontrolleri temsil eder ve gri çubuklar NtE sıçanları temsil eder. Sırayla kontrolden veya bazal durum farkları *p<0.05,3, #p<0.01, &p<0.001



Şekil 10. Açık Kol Sakınma İndeksi

Hem bazal şartlarda hem nikotin uygulamasında NtE dişi sıçanların kontrollerine oranla Açık koldan kaçınma endeksi daha düşüktür. NtE erkek sıçanların kontrol sıçanlara göre Açık koldan kaçınma endeksi sadece nikotin uygulaması sırasında daha düşüktür. Nikotin uygulaması Açık koldan kaçınma endeksini sadece dişi sıçanlarda arttırmıştır.

Buna karşılık Açık Kol Sakınma İndeksinde her iki grupta da bir artış söz konusudur. Cinsiyet açısından bakıldığında ise faktörler arası herhangi bir anlamlılık saptanmamıştır. Tek değişkenli ANOVA analizine göre soyların EPM verilerinde latans [F (1,40) =5.490 p=0.024; F (1,37) =9,413 p=0.004], açık kol tercihi [F (1,40) =8.900 p=0.005; F (1,37) =24.017 p<0.001] ve Açık Kol Endeksi [F (1,40) =7,088 p=0.011; F (1,37) =15,013 p<0.001] üzerindeki ana etkisi görülmektedir. Tek değişkenli ANOVA analizine göre bazal şartlardaki soy etkisi anlamlı değilken buna karşılık nikotin uygulamasıyla soy etkisinde anlamlılık mevcuttur [F (1,37) =9.345 p=0.004]. Bazal koşullarda cinsiyetler arası farklılaşma sadece açık kol tercihinde

görülmektedir [F (1,40) =4.608 p=0.038]. Bazal şartlarda Açık Kol tercihi dişi sıçanlarda erkek sıçanlara oranla daha fazladır. Bu sonuca paralel olarak Mixed ANOVA'da analiz edilen parametrelerin hiçbirinde cinsiyet ve soy arasında bir etkileşim yoktur. Tek Yönlü ANOVA analizine göre açık kol tercihi [F (7,77) = 6.019 p<0.001], latans [F (7,77) = 3.037 p=0.007], OAI (AKE) [F(7,77)= 4.986 p<0.001] ve açık kolda geçirilen zaman [F (7,77) =3.128 p=0.006] verileri gruplar arasında anlamlı farklılaşma olduğunu göstermektedir. Post-hoc ve Duncan testlerinin sonuçları ilgili grafiklerin altında verilmiştir.

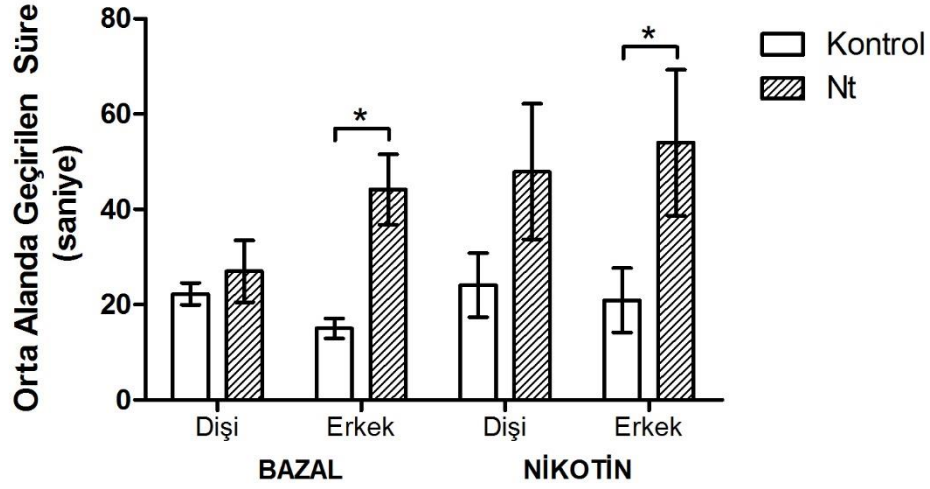
Üç yönlü ANOVA analizine göre kapalı kola giriş sayısı ve toplam kol geçiş sayısı benzer sonuçları vermektedir (Tablo 1). Ancak sadece kapalı kol girişi analizleri bildirilmektedir. Kapalı kola giriş üzerinde soy etkisinin olduğu yapılan analizlerle görülmektedir (Tablo 1) ve bu etki cinsiyetten bağımsızdır. Buna ek olarak uygulama ile soy arasında [F (1,37) = 5.13 p=0.028] ve uygulama, soy ve cinsiyet [F (1,37) = 4.820 p=0.034] arasında kapalı kola giriş açısından anlamlı bir etkileşim vardır. Takip eden testlere göre kapalı kola giriş sayısı üzerinde soyların; erkek sıçanlar için [F (1,37) = 23.01 p<0.001] nikotin uygulamasında, dişi sıçanlar içinse hem bazal [F (1,37) = 8.337 p=0.006] hem de nikotin uygulaması esnasında [F (1,37) = 11.641 p=0.002] anlamlı bir etkisi olduğu bulunmuştur. Bazal koşullar esnasında NtE Dişi sıçanlar KD sıçanlara göre daha az kapalı kola giriş yapmıştır (**Şekil 9**). Nikotin uygulandığında ise her iki NtE dişi ve erkek grupları K dişi ve erkek gruba göre kapalı kola daha az giriş yapmıştır (**Şekil 9**). Tüm bunlara ek olarak kronik nikotin uygulamasında sadece KE sıçanların [F (1,37) = 5.991 p=0.019] kapalı kola girişleri açısından anlamlılık bulunmuştur, diğer bütün gruplar için böyle bir anlamlılık söz konusu değildir. Yani kronik nikotin maruziyeti sadece KE sıçanlarının kapalı kola giriş sayılarında bir azalmaya neden olmuştur.

Parametreler	Soyun Ana Etkisi	Uygulamanın Ana Etkisi
Latans	F (1,37) =15.810 p<0.001	F (1,37) =1.823 p=0.185
Açık kol tercihi	F (1,37) =20.616 p<0.001	F (1,37) =6.222 p=0.017
Açık kol kaçınma endeksi	F (1,37) =14.437 p=0.001	F (1,37) =14.937 p<0.001
Açık kolda geçirilen zaman	F (1,37) =7.318 p=0.01	F (1,37) =15.983 p<0.001
Toplam kollara giriş sayısı	F (1,37) =20.344 p<0.001	F (1,37) =0.969 p= 0.331
Kapalı kollara giriş sayısı	F (1,37) =25.407 p<0.001	F (1,37) =0.553 p=0.462

Tablo 1. EPM İstatistiksel Analizi

Tablo 1: EPM testi istatistiksel analizleri. Uygulama, soy ve cinsiyetin ana etkisi üç yönlü ANOVA ile değerlendirilmiştir. Uygulama (bazal ve nikotin) denek içi, Soy (Kontrol ve NtE) ve Cinsiyet (erkek, dişi) ise denekler arası faktörde yer almıştır (2 x 2 x 2 faktöriyel desen). İstatistiksel olarak anlamlı etkiye sahip sonuçlar bold fontla yazılmıştır. EPM testi için yapılan analizler sonucunda cinsiyetin herhangi bir parametre üzerinde anlamlı bir etkisine rastlanmamıştır.

4.1.2. Açık Alan Testinde Anksiyete Benzeri Davranış ve Lokomotor Aktivite



Şekil 11. Bazal Şartlarda ve Nikotinle Uyarılmış Orta Alan Süreleri

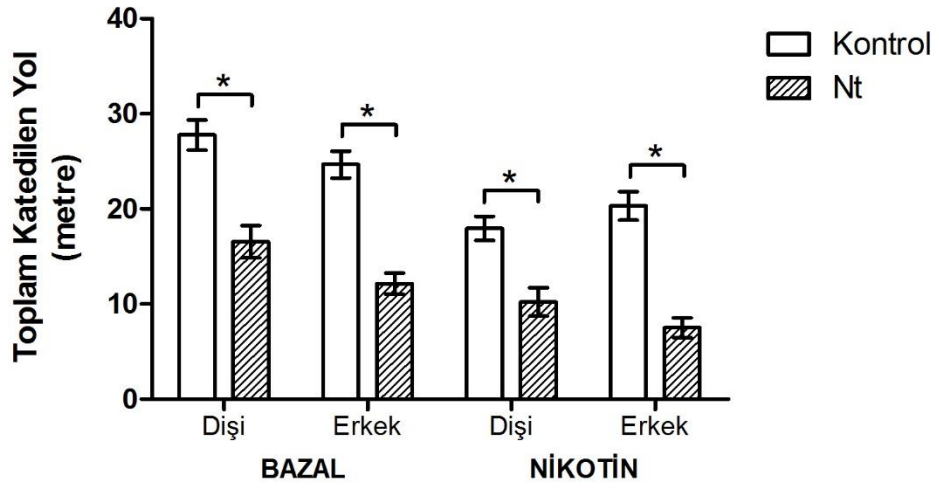
Bazal ve nikotin uygulaması sırasında erkek NtE sıçanlar kontrol erkek sıçanlara oranla merkez bölgede daha fazla zaman geçirmiştir.

Merkez (açık/orta) alanda geçirilen süre verisi üç yönlü karma ANOVA kullanılarak analiz edilmiştir (denek içi faktör: Uygulama, denekler arası faktörler: Soy ve Cinsiyet). **Tablo 2**'de soy etkisi verilmiştir. Kontrol ve NtE gruplar karşılaştırıldığında; NtE sıçanlar orta alanda daha fazla zaman geçirmişlerdir.

Cinsiyet ya da uygulama açısından anlamlı bir etki görülmemiş ve faktörler arası etkileşim saptanmamıştır. Tek değişkenli ANOVA analizi soyların açık alanda geçirilen zamana etkisini hem bazal koşullarda [$F(1,43) = 10.320$ $p = 0.002$] hem de nikotin uygulaması esnasında [$F(1,43) = 6.255$ $p = 0.016$] ayrıca göstermiştir.

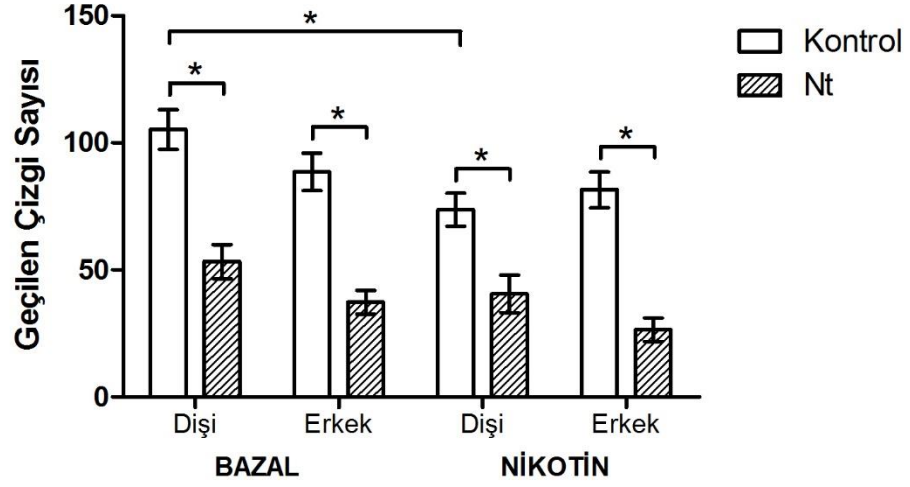
Cinsiyetin herhangi bir etkisi saptanmamıştır. Ancak soy ve cinsiyetin bazal koşullarda [$F(1,43) = 5.348$ $p = 0.01$] anlamlı bir etkileşimi olduğu gösterilmiştir. Açık alanda geçirilen süre Tek yönlü (oneway) ANOVA kullanılarak analiz edildiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılaşma olduğu ortaya çıkmıştır [$F(7,86) = 2.665$ $p = 0.015$]. Post-hoc ve Duncan test sonuçları **Şekil 11** 'de açıklanmıştır.

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki dışkılama adedi ile anksiyete düzeyi arasında pozitif korelasyon vardır (46). Bazal koşullarda edinilen verilerin tek değişkenli ANOVA (gruplar arası faktör: soy ve cinsiyet) analizi soyun ana etkisini göstermektedir (Tablo 2). Cinsiyetin herhangi bir etkisi saptanmamış ve soy ve cinsiyet arasında herhangi bir etkileşim bulunmamıştır. Tek yönlü(oneway) ANOVA [F (3,44) = 4.687, p=0.006] sonrası yapılan Post-hoc ve Duncan testleri sonucunda NtE dişi ve NtE erkek sıçanlar kontrollere oranla daha az dışkılamışlardır.



Şekil 12. Bazal ve Nikotinle Uyarılmış Total Yol

Dişi ve erkek NtE sıçanlar bazal koşullarda ve nikotin uygulaması sırasında kontrol sıçanlarına göre daha az mesafe katetmiştir. Kronik nikotin uygulaması her iki kontrol ve NtE grubunda toplam alınan yolu azaltmıştır.



Şekil 13. Bazal Şartlarda ve Nikotinle Uyarılmış Çizgi Geçiş Sayısı

D, Dişi ve erkek NtE sıçanları kontrol sıçanlarına göre her iki bazal ve nikotin uygulaması durumlarında daha az çizgi geçiş sayısına sahiptir.

Açık alan testide alınan toplam yol ve toplam çizgi geçiş sayısı üç yönlü karma ANOVA ile analiz edildiğinde soy ve nikotin uygulamasının anlamlı bir etkisi olduğu görülmüştür (Tablo 2). Cinsiyetin anlamlı bir etkisi ya da herhangi bir faktörle etkileşimi saptanmamıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, NtE sıçanlar daha az mesafe katetmiş ve NtE sıçanlarda daha az çizgi geçiş sayısı gözlenmiştir. Ayrıca kronik nikotin uygulaması tüm gruplarda toplam mesafe ve topla çizgi geçiş sayılarında azalmaya neden olmuştur. Alınan toplam yol [$F(7,87) = 25.050$ $p < 0.001$] ve toplam çizgi geçiş sayısı [$F(7,87) = 18.096$ $p < 0.001$] için yapılan Tek yönlü (oneway) ANOVA gruplar arası anlamlı farklılaşma olduğunu göstermektedir. Post-hoc ve Duncan test sonuçları **Şekil 12** 'de açıklanmıştır.

Kronik nikotin uygulaması sadece kontrol dişi grubunda toplam çizgi geçiş sayısını azaltmıştır. Tüm çubuklar, grup başına ortalama \pm SEM, $n = 11-12$ hayvanı

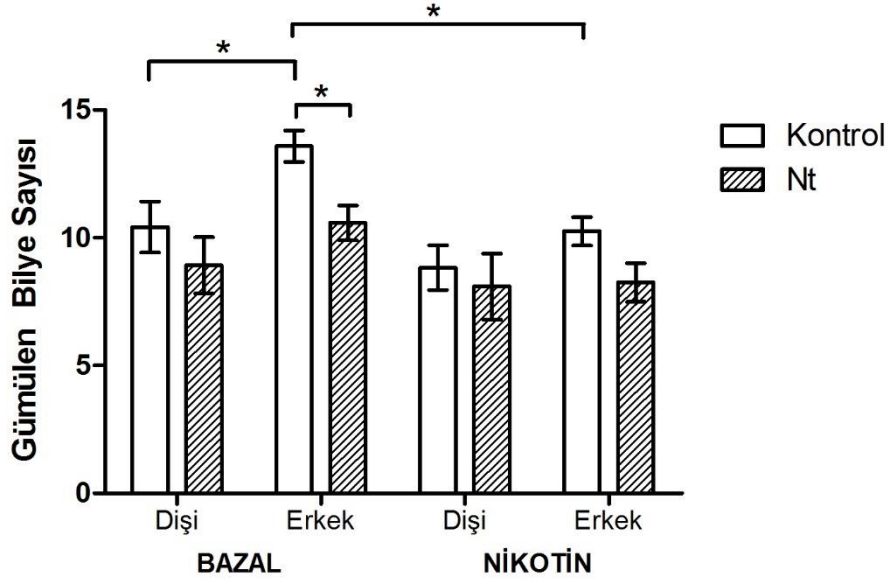
temsil eder, açık çubuklar kontrolleri temsil eder ve gri çubuklar NtE sıçanlarını temsil eder. Sırasıyla kontrol veya bazal durum farkları: * $p < 0.05$.

Parametreler	Soyun Ana Etkisi	Uygulamanın Ana Etkisi
Merkez alanda geçirilen zaman	F (1,42) = 11,740 p=0.001	F (1,42) = 2.372 p=0.131
Dışkılama sayısı	F (1,44) = 12.897 p=0.001	-
Alınan toplam yol	F (1,43) = 112.041 p<0.001	F (1,43) = 46.762 p<0.001
Toplam çizgi geçiş sayısı	F (1,43) = 90.074 p<0.001	F (1,43) = 13.086 p=0.001

Tablo 2. Açık Alan Testi İstatistiksel Analizi

Tablo 2: Açık Alan Testi istatistiksel analizi. Soy, Cinsiyet ve Uygulamanın merkez alanda geçirilen zaman, dışkılama sayısı, toplam yol ve toplam çizgi geçiş sayısı üzerindeki ana etkisi Üç yönlü karma ANOVA ile değerlendirilmiştir. Uygulama (bazal, nikotin) denek içi faktör, soy (kontrol, NtE) ve cinsiyet (erkek, dişi) ise denekler arası faktördür (2 x2 x 2 faktöriyel desen). Soy ve cinsiyetin dışkı sayısına etkisi tek değişkenli ANOVA (2 x 2 faktöriyel desen) ile analiz edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık bulunan sonuçlar koyu renkle gösterilmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda Açık Alan Testinde cinsiyetin herhangi bir faktörle herhangi bir etkisi saptanmamıştır.

4.1.3. Bilye Gömme Testinde Anksiyete Benzeri Davranışlar



Şekil 14. Bazal ve Nikotinle Uyarılmış Gömülen Bilye Sayısı

Kontrol erkek sıçanlar NtE gruba ve kontrol dişilere göre bazal koşullarda daha fazla bilye gömmüştür. Kronik nikotin uygulaması ise yalnızca erkek kontrol sıçanlarında gömülen bilye sayısında azalmaya neden olmuştur. Tüm çubuklar, grup başına ortalama \pm SEM, $n = 11-12$ hayvanı temsil eder, açık çubuklar kontrolleri temsil eder ve gri çubuklar NtE sıçanlarını temsil eder. Kontrol dişisinden, kontrol erkek veya bazal durumdan fark: * $p < 0.05$.

Üç yönlü karma ANOVA analizi, gömülen bilye sayısı üzerinde nikotin uygulamasının [$F(1,43) = 10.747$ $p=0.002$], soyun [$F(1,43) = 7.808$ $p=0.008$] ve cinsiyetin [$F(1,43) = 6.425$ $p=0.015$] ana etkisini göstermiştir. Bağımsız değişkenler arasında herhangi bir etkileşim bulunmamaktadır. Kontrollere kıyasla NtE sıçanlarda gömülen bilye sayısı daha azdı ve tüm gruplar için dişi sıçanlar erkek sıçanlara oranla daha az sayıda bilye gömmüştür. Nikotin uygulamasından sonra her iki grupta da gömülen bilye sayısı azalmıştır. Tek değişkenli ANOVA analizi yapıldığında, bazal şartlarda soy [$F(1,4) = 6.622$ $p=0.014$] ve cinsiyetin ($F(1,44) = 7.639$ $p=0.008$) anlamlı bir etkisi görülmüştür. Bazal ve nikotin uygulaması koşullarında faktörler

arası etkileşime rastlanmamıştır. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ise gruplar arası farkları [$F(7,87) = 4.113$ $p=0.001$] göstermiştir. Post-hoc ve Duncan test sonuçları **Şekil 14'** te açıklanmıştır.

4.1.4. Bazal Koşulda Nikotin Tercih Eden Sıçanların Fotosel Aktivite Kafeslerinde Lokomotor Aktivitesi

Alınan anksiyete test sonuçlarının ardından, bazal koşullarda alınan NtE sıçanların lokomotor aktivite verileri endişe uyandırdı. Bu nedenle NtE ve kontrol sıçanları ayrı fotosel aktivite kafesleri kullanılarak bazal lokomotor aktiviteleri ölçüldü. Tek değişkenli ANOVA analizi cinsiyetin alınan toplam yol [$F(1, 31) = 6.369$ $p=0.017$] ve kafes geçişleri [$F(1,31) = 6.306$ $p=0.017$] üzerindeki anlamlı etkisini göstermektedir. Ancak soy ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır [toplam alınan yol: $F(1,31) = 7.042$ $p=0.012$; kafes geçiş sayısı: $F(1,31) = 5.710$ $p=0.023$. Basit ana etki sonucuna göre toplam alınan yol [$F(1,31) = 4.538$ $p=0.041$] ve kafes geçiş sayısı [$F(1,31) = 6.386$ $p=0.017$] NtE grupta kontrollere oranla daha fazladır. NtE ve Kontrol grupları arasında anlamlı farklılaşma olmamıştır. Öte yandan, tekrarlanan hareketlerin sayısının tek değişkenli ANOVA analizi, çizgi veya cinsiyetin ana etkisinin olmadığını ve bağımsız değişkenler arasında hiçbir etkileşimin bulunmadığını gösterdi.

5. TARTIŞMA

Şu anki mevcut çalışma ile NtE soy grubu ve kontrol grubu üzerinde anksiyete ile ilişkili davranış ve yenilik kaynaklı stres arasındaki farklılık araştırılmıştır. Bu amaçla farkı ortaya çıkarmak için EPM, OF, MB testleri iki farklı zamanda uygulanmıştır. Davranışsal parametreleri önce bazal koşullar altında ölçülürken ikinci ölçümler oral yollu kronik nikotin maruziyeti devam ederken alınmıştır. Karma ve tek değişkenli ANOVA analizleri, NtE sıçanların anlamlı şekilde daha düşük anksiyete davranışı sergilediği ve yeniliklere karşı tepkilerinde daha az hassasiyet gösterdiklerini ortaya koymaktadır.

EPM ve OF testleri yeniliğe zorunlu maruz bırakan testlerdir ve stres ve anksiyete yanıtını tetiklemektedir (19,58). MB ise yeni obje karşısında neofobik gömme davranışının bir göstergesidir. EPM, OF, MB testlerinin bazal koşullardaki tek değişkenli ANOVA analizi yine benzer şekilde göstermiştir ki NtE sıçanlar kontrollerine oranla daha az anksiyete ve stres yanıtı geliştirmektedir. EPM testinde NtE sıçan soylarının kapalı kola girme latansları ve açık kol tercihleri daha yüksekken Açık Kol Kaçınma Endeksi daha düşüktür. Buna paralel olarak OF testinde NtE sıçan soyları açık alanda daha fazla zaman geçirmiş, daha az dışkı sayısı gözlenmiş ve MB testinde daha az bilye gömmüştür. EPM testi latans, Açık Kol Kaçınma Endeksi ve açık kol tercihi ile ilgili yapılan Tek yönlü ANOVA sonucuna göre anksiyetenin azalması NtE sıçanlarda daha belirgindir. Diğer taraftan, yapılan Tek yönlü ANOVA analizine göre anksiyete ilişkili davranışlar NtE sıçanlarda daha belirgin bir düşüş göstermiştir.

Yenilik arama davranışı kemirgenler için, yeni çevreye ya da objeye karşı keşfetme dürtüsünde artma ve anksiyetede azalmayla ilişkilidir (70). Yapılan bazı çalışmalara göre yenilik arama dürtüsü yüksek olan kişiler nikotin de dahil olmak üzere madde kullanımına karşı yüksek risk grubu içindedirler (71). EPM ve OF testleri yenilik arama ve risk alma davranışlarını ölçmekle beraber hayvanlarda anksiyete ölçümlerinde de kullanılmaktadır (70). Sıçanlar yeni, bilinmeyen bir

nesneye maruz bırakıldığında, bu durum stresi, anksiyeteyi ve ilişkili diğer çeşitli yolları tetiklemektedir. Bu yollar aynı zamanda defekasyon ve açık bölgelerden kaçınma gibi duygusal tepkileri ve keşfetme davranışlarını de içermektedir (62). Yenilik arama davranışı yüksek olan sıçanlar, EPM ve OF testlerini değerlendirirken kontrol gruplarına göre daha az anksiyeteye ilişkili davranışları göstermektedirler (72,65). Mevcut çalışmada literatürde görülenlerle paralel şekilde NtE sıçanlar EPM testinde açık kolları tercih ettiler, OF testinde açık alanda daha fazla zaman geçirdiler ve kontrollerine oranla daha az defekasyon gerçekleştirmiştir. Bu sonuçlara göre NtE sıçanlar deney düzeneğini keşfederken daha az kaygı yaşamış ve daha yüksek seviyede yenilik arama davranışı göstermiştir. Yüksek alkol tercih eden sıçan soylarıyla yapılan başka bir çalışma da EPM ve OF testlerinde daha az anksiyete davranışı gösterdiğini kaydetmiştir (40,43).

Nikotin uygulaması devam ederken alınan EPM verileriyle yapılan Tek değişkenli ANOVA analizi sonuçlarına göre NtE sıçanlar kontrollerine oranla daha fazla açık kolda zaman geçirmiş, daha fazla açık kolu tercih etmiş, daha düşük Açık kol kaçına endeksine sahip ve latansları daha yüksektir (kapalı kola daha geç girmiştir). Bunlara paralel olarak nikotin uygulaması sırasında edinilen OF verileri de göstermiştir ki NtE sıçanlar açık alanda daha fazla zaman geçirmiştir. Bu sonuçlar bazal koşullarda NtE sıçanlarda gözlemlenen düşük anksiyete profilinin nikotin uygulamasıyla da devam ettiğini göstermiştir. Ek olarak karma ANOVA analizine göre oral yollu zorlu nikotin maruziyeti EPM testinde anksiyeteye ilişkili davranışları düzenlemektedir. Genel tabloya bakıldığında nikotin uygulamasıyla açık kol tercihi ve açık kolda geçirilen süre azalırken, açık koldan Kaçınma Endeksi azalmıştır. Bu bulgular, yapılan bu çalışmada oral nikotin uygulamasının EPM testinde anksiyeteyi arttırdığını göstermektedir. Nikotinin anksiyete üzerine etkisini belirleyen dozu ve uygulama yoluna bağlıdır (51). Huang ve ark. (29) ve bizim yaptığımız sonuçları henüz yayınlanmamış çalışma göstermektedir ki yüksek dozda uygulanan oral yollu zorlu nikotin kan kotinin seviyesini yükseltmiştir ve bu da EPM testindeki anksiyojenik etkiyi açıklayabilir. İlginçtir ki bazal koşullarda EPM testinde NtE ve kontrol sıçanları arasında açık kolda geçirilen sürede bir farklılık olmazken kronik nikotin uygulamasıyla NtE sıçanlar kontrollere oranla anlamlı şekilde açık kolda daha fazla zaman geçirmiştir. Yapılan tek yönlü ANOVA sonucuna göre bu etki NtE sıçanlarda daha fazla belirgindir. Ek olarak NtE ve kontrol sıçanlar

arasındaki açık kol tercihi ve Açık koldan Kaçınma Endeksi farkı kronik nikotin maruziyetiyle daha da artmıştır. Tüm bunlarla 8 hafta boyunca zorlu nikotin uygulamasının NtE sıçanların kontrollere oranla anksiyete seviyelerinde belirgin düşüşe neden olmuştur. Bulgular bir araya getirildiğinde NtE sıçanların, nikotinin anksiyojenik etkisine karşı direnci olduğu hipotezini desteklemektedir.

Bizim bulduğumuz bu sonuçlara paralel şekilde yapılan bazı EPM çalışmaları tekrarlı nikotin maruziyetinin ve oral nikotin maruziyetinin Sprague Dawley sıçanlarında (42) ve farelerde (33) anksiyete benzeri davranışı arttırdığını bildirmektedir. Ayrıca, sırasıyla farelerde ve Fisher 344 sıçanlarında kronik oral nikotin maruziyeti ile değişmeyen (41,66) veya azalan (46) anksiyete seviyesi de bildirilmiştir. Bu çalışmaların farklı sonuçlar içermesinin temel sebebi hayvan tür/suşlarının farklı olması, nikotin uygulanma yolu ve süresi ve nikotinin uygulanma dozajındaki farklılıklar olabilir. İlginç bir şekilde, kronik oral nikotin uygulaması özellikle kontrol grubunda MB testinde gömülen bilye sayısında azalmaya neden olmuştur ki bu durum azalmış anksiyete anlamına gelmektedir. Diğer yönden bakıldığında kronik nikotin maruziyeti OF testi için anksiyete benzeri davranışlarda herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır. Edinilen tutarsız EPM, OF ve MB bulguların nedeni, nikotinin anksiyete üzerindeki etkilerinin davranışın ölçüldüğü ortama duyarlı olabileceğini ve bu testlerin anksiyetenin farklı boyutlarını ölçtüğünü göstermektedir. Üç test için de stres kaynağı yenilik olmasına rağmen her biri için ayrı ayrı ortak olmayan stresörler de mevcuttur (OF için açıklık, EPM için yükseklik, MB yeni nesne). Sonuçlarımıza paralel olarak Calarco ve ark. (33) OF testinde kronik oral nikotin maruziyetinin anksiyeteye etkisi olmadığını, MB testinde ise azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışma NtE sıçanlar ve kontrol grubu sıçanları arasındaki yenilik kaynaklı lokomotor aktivite düzeyinde anlamlı farklılığını ortaya koymuştur. NtE sıçanlar EPM testinde kapalı kola daha az sıklıkta girmiş, OF testinde daha az mesafe katetmiş ve daha az çizgi geçişinde bulunmuştur, ki bu durum 5 dakikalık EPM ve OF seansları sırasında azalmış lokomotor aktiviteyi yansıtır. Bu bulgular NtE sıçanlar hakkında hipolokomotor fenotipte olduklarıyla ilgili endişe uyandırdı. Ancak 60 dakika boyunca fotosel aktivite kabinlerinde yapılan lokomotor aktivite ölçümleri sonucunda NtE sıçanlar ve kontrol grupları arasında bir fark olmadığı görüldü. Ayrıca NtE sıçanlar kontrol sıçanlarına göre kıyaslandığında hiperaktivite

göstermiştir. Aslında araştırmalar, yüksek lokomotor aktiviteye sahip yüksek tepki veren sıçanların, kokain ve amfetamin gibi ilaçların güçlendirici etkilerine karşı daha savunmasız olduğunu göstermektedir. Aslında araştırmalar, yüksek lokomotor aktivite gösteren yüksek tepki veren sıçanların, kokain ve amfetamin gibi ilaçların bağımlılık yapıcı / ödüllendirici etkilerine karşı daha savunmasız olduğunu göstermektedir. Tüm bunlar birlikte değerlendirildiğinde hipoaktivite gözlenen NtE sıçanların 5 dakikalık EPM ve OF seanslarında gösterdikleri performans, yeni bir çevreyle karşılaşıldığında stres yanıtının davranışsal olarak daha az tetiklenmesi şeklinde yorumlanmıştır. Önceki çalışmalarda ayrıca, lokomotor aktivite testinin ilk 15 dakikasında hipoaktivite ve periyadölesan farelerde 2 saatlik seansın sonunda hiperaktivite bildirildi, bu da EPM'de artan yenilik arayışı davranışını göstermektedir.

Kronik nikotin maruziyeti OF testinde lokomotor aktivite üzerinde belirgin bir etki göstermiştir. Nikotin, 5 dakikalık seanslarda tüm gruplar için alınan total yolu azaltmıştır. Buna paralel olarak toplam çizgi geçiş sayılarında da özellikle de Kontrol Dişi grubunda belirgin şekilde azalma olmuştur. Nikotinin lokomotor aktivite üzerine negatif düzenleyici etkilerine rağmen, NtE sıçanların toplam mesafe ve çizgi geçiş sayıları nikotin maruziyeti sırasında kontrollere oranla daha düşük kalmıştır. Nikotinin lokomotor aktivite üzerindeki etkisi dozajına, verilme yoluna ve sıklığına göre değişkenlik gösterebilmektedir. Çalışmalar göstermiştir ki subkutan (SC) nikotin uygulaması (0,4 mg/kg) lokomotor aktiviteyi azaltırken kronik uygulanması ise aktiviteyi arttırmaktadır (34). Bazı çalışma raporlarına göre Sprague-Dawley sıçanlarıyla yapılan subkutan uygulamalarda düşük dozla (0,1 mg/kg ve 0,5 mg/kg, SC) lokomotor aktivite artışı olurken yüksek dozla (1 mg/kg, SC) lokomotor aktivitede azalma olduğu görölmüştür (17). Yapılan önceki çalışmalar nikotinin uygulama yoluyla ilgili kronik oral nikotin maruziyetinin lokomotor aktivite üzerinde arttırıcı etkisi olduğunu bildirmiştir (33, 35). Ancak bu çalışmalar nikotin dozlarının doğrudan karşılaştırılması için yeterli değildir çünkü farelerle yapılmıştır. Öte yandan, tüm bu çalışmalar lokomotor aktiviteyi uzun sürede (örneğin 1 saat) ölçmüştür. Çalışmamızda kullanılan ise kısa test süresi (5 dakika), tutarsız sonuçlar için başka bir açıklama olabilir. Bu açıklamayı destekleyen Calarco ve ark. (7), OF testinde 5 dakikalık test süreleri boyunca kronik oral nikotin tedavisinin farelerde lokomotor aktiviteyi değiştirmediğini bildirdi.

Seçici tohumlama yöntemi, bağımlılığın hayvanlarda modellenmesinde sıklıkla kullanılan bir yoldur. Seçici tohumlama yöntemi kullanılan bazı çalışmalar ise şöyledir; alkol (70), kokain (11), metamfetamin (71) ve opioid (12) bağımlılıkları. Ancak bunlardan çok azı seçici tohumlama yöntemini nikotinin etkileri üzerinde kullanmıştır. Bu çalışmalarda kemirgenler nikotin kaynaklı lokomotor aktivite ¹², hipotermi (13) ve felç/nöbet hassasiyeti (17) için seçilmiştir. Bizim bilgimize göre seçici tohumlama yöntemiyle yetiştirilmiş kemirgenlerle yapılan başka bir oral nikotin tercihi çalışması literatürde bulunmamaktadır. Mevcut çalışmamız, ilk kez, yüksek nikotin tercihi için seçici olarak yetiştirilmiş bir sıçan soyunda yenilik arayışıyla uyumlu bir kişilik özelliğinin olası varlığını göstermektedir. Yenilik arayışının madde kullanım bozukluklarının gelişmesinde önemli bir risk faktörü olduğuna dair giderek artan sayıda kanıt vardır (22,35). Buna paralel olarak, yüksek yenilik arayışı davranışı, hayvanların nikotine tepkisini öngörür. Suto ve ark. (34), yüksek yenilik arama davranışı gösteren sıçanların kendi kendine nikotin uygulamasını kolayca edindiğini ve nikotine ulaşmak için daha fazla çalıştığını gösterdi. Abreu-Villaça ve ark. (1), Delikli Tahta (holeboard) testinde yüksek yenilik arayışı davranışı sergileyen fareler, iki şişeli serbest seçim yönteminde daha fazla nikotin tükettiğini buldu.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, erkek ve dişi NtE sıçanlar, bazal durum sırasında EPM, OF ve MB testlerinde düşük düzeyde anksiyete davranışı sergilemiştir. Anksiyete testlerinde elde edilen sonuçlar yenilik arayışı ile iyi korelasyon göstermiştir (21,35). Nikotin tercihi yüksek bir sıçan soyunda yüksek yenilik arama davranışının bir arada bulunması, yenilik arayışı ve nikotin ödülünün ortak genetik mekanizmalara sahip olduğunu gösterebilir. Kronik nikotin uygulaması sırasında NtE sıçan soyundaki azalmış anksiyete durumu devam etmiştir. Ayrıca NtE sıçanlar nikotinin caydırıcı (anksiyojenik) etkilerinden korunmuştu ve ilginç bir şekilde NtE sıçanlar yeni bir ortama maruz kaldıklarında hipoaktivite sergilemiştir. Bu bulgular, yeniliğin neden olduğu strese karşı aşırı hassasiyet olarak yorumlanabilir. NtE sıçan soyları ve kontroller arasındaki olası stres-reaktivite farklılıkları gelecekteki çalışmalarla araştırılacaktır. Bu veriler, seçici olarak yetiştirilmiş NtE sıçan soyunun, nikotin bağımlılığında hayvan modeli olarak faydalı olabileceğini göstermektedir. Bu sıçan soyuyla yapılan genetik, moleküler ve davranışsal çalışmalar, uyuşturucu bağımlılığı için yeni tedavi yöntemleri hakkında önemli bilgiler sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abreu-Villaca Y, Queiroz-Gomes Fdo E, Dal Monte AP, Filgueiras CC, Manhaes AC. Individual differences in novelty-seeking behavior but not in anxiety response to a new environment can predict nicotine consumption in adolescent C57BL/6 mice. *Behavioural brain research*. 2006;167(1):175-182.
- Adriani W, Laviola G. A unique hormonal and behavioral hyporesponsivity to both forced novelty and d-amphetamine in periadolescent mice. *Neuropharmacology*. 2000;39(2):334-346.
- Aikawa N, Ohmori K. Effect of zaldaride maleate, an antidiarrheal compound, on fecal pellet output induced by hyperpropulsion in gastrointestinal of rats. *Japanese journal of pharmacology*. 2000;82(4):350-352.
- Balkan B, Pogun S. Nicotinic Cholinergic System in the Hypothalamus Modulates the Activity of the Hypothalamic Neuropeptides During the Stress Response. *Current neuropharmacology*. 2018;16(4):371-387.
- Bandelow B, Michaelis S, Wedekind D. Treatment of anxiety disorders. *Dialogues Clin Neurosci*. 2017 Jun;19(2):93-107.
- Bandelow B, Reitt M, Rover C, Michaelis S, Gorlich Y, Wedekind D. Efficacy of treatments for anxiety disorders: a meta-analysis. *Int Clin Psychopharmacol*. 2015;30(4):183-192.78
- Bardo MT, Donohew RL, Harrington NG. Psychobiology of novelty seeking and drug seeking behavior. *Behavioural brain research*. 1996;77(1-2):23-43.
- Brett H, Timberlake D, Ehringer MA, Lessem JM, Hopfer CJ, Smolen A, Hewitt JK. Genes, time to first cigarette and nicotine dependence in a general population sample of young adults. *Addiction*. 2007 Apr;102(4):655-65.
- Calarco CA, Lee S, Picciotto MR. Access to nicotine in drinking water reduces weight gain without changing caloric intake on high fat diet in male C57BL/6J mice. *Neuropharmacology*. 2017;123:210-220.

- Caldarone BJ, King SL, Picciotto MR. Sex differences in anxiety-like behavior and locomotor activity following chronic nicotine exposure in mice. *Neuroscience letters*. 2008;439(2):187-191.
- Can A, Grahame NJ, Gould TD. Affect-related behaviors in mice selectively bred for high and low voluntary alcohol consumption. *Behavior genetics*. 2012;42(2):313-322.
- Carlson KR, Perez L. Ethanol and cocaine intake by rats selectively bred for oral opioid acceptance. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1997;57(1-2):309-313.
- Deehan GA, Jr., Hauser SR, Getachew B, et al. Selective breeding for high alcohol consumption and response to nicotine: locomotor activity, dopaminergic in the mesolimbic system, and innate genetic differences in male and female alcohol-preferring, non-preferring, and replicate lines of high-alcohol drinking and low-alcohol drinking rats. *Psychopharmacology*. 2018;235(9):2755-2769.
- Dolu, N., Özesmi, Ç., Anksiyetenin Değerlendirilmesinde Güncel Olarak Kullanılan Bazı Deneysel Hayvan Modelleri, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, Cilt: 14, Sayı: 4, 2004 / *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, Vol: 14, N.: 4, 2004
- Drugs, UNO World Drug Report 2010: United Nations Publications; 2010.
- DSM-5, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition, 2019.
- 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):21-28.
- Exner M, Clark D. Behaviour in the novel environment predicts responsiveness to d-amphetamine in the rat: a multivariate approach. *Behavioural pharmacology*. 1993;4(1):47-56.
- File SE, Peet LA. The sensitivity of the rat corticosterone response to environmental manipulations and to chronic chlordiazepoxide treatment. *Physiology & behavior*. 1980;25(5):753-758.
- Grahame NJ, Li TK, Lumeng L. Selective breeding for high and low alcohol preference in mice. *Behavior genetics*. 1999;29(1):47-57.

- Grubbs FE. Procedures for Detecting Outlying Observations in Samples. *Technometrics*. 1969;11(1):1-21.
- Haberstick BC, Timberlake D, Ehringer MA, et al. Genes, time to first cigarette and nicotine dependence in a general population sample of young adults. *Addiction*. 2007;102(4):655-665.
- Hall FS, Huang S, Fong GW, Pert A, Linnoila M. Effects of isolation-rearing on locomotion, anxiety and responses to ethanol in Fawn Hooded and Wistar rats. *Psychopharmacology*. 1998;139(3):203-209.
- Harro, J. (2018, October 15). Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural Brain Research*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.016>
- Hartman C, Hopfer C, Corley R, Hewitt J, Stallings M. Using Cloninger's temperament scales to predict substance-related behaviors in adolescents: a prospective longitudinal study. *The American journal on addictions*. 2013;22(3):246-251.
- He S, Yang Y, Mathur D, Grasing K. Selective breeding for intravenous drug self-administration in rats: a pilot study. *Behavioural pharmacology*. 2008;19(8):751-764.
- Hiroi N, Agatsuma S. Genetic susceptibility to substance dependence. *Molecular psychiatry*. 2005;10(4):336-344.
- Hiroi N, Scott D. Constitutional mechanisms of vulnerability and resilience to nicotine dependence. *Molecular psychiatry*. 2009;14(7):653-667.
- Huang LZ, Parameswaran N, Bordia T, Michael McIntosh J, Quik M. Nicotine is neuroprotective when administered before but not after nigrostriatal damage in rats and monkeys. *Journal of neurochemistry*. 2009;109(3):81-837.
- Hukkanen J, Jacob P, 3rd, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacological reviews*. 2005;57(1):79-115.
- Irvine EE, Cheeta S, File SE. Tolerance to nicotine's effects in the elevated plus-maze and increased anxiety during withdrawal. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2001;68(2):319-325.
- Isensee B, Wittchen HU, Stein MB, Hofler M, Lieb R. Smoking increases the risk of panic: findings from a prospective community study. *Archives of general psychiatry*. 2003;60(7):692-700.

- Kamens HM, Burkhart-Kasch S, McKinnon CS, Li N, Reed C, Phillips TJ. Sensitivity to psychostimulants in mice bred for high and low stimulation to methamphetamine. *Genes, brain, and behavior*. 2005;4(2):110-125.
- Kanit L, Stolerman IP, Chandler CJ, Saigusa T, Pogun S. Influence of sex and female hormones on nicotine-induced changes in locomotor activity in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1999;62(1):179-187.
- King SL, Caldarone BJ, Picciotto MR. Beta2-subunit-containing nicotinic acetylcholine receptors are critical for dopamine-dependent locomotor activation following repeated nicotine administration. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:132-139.
- Lessov-Schlaggar CN, Pergadia ML, Khroyan TV, Swan GE. Genetics of nicotine dependence and pharmacotherapy. *Biochemical pharmacology*. 2008;75(1):178-195.
- Leventhal AM. Do individual differences in reinforcement smoking moderate the relationship between affect and urge to smoke? *Behav Med*. 2010;36(1):1-6.
- Macri S, Adriani W, Chiarotti F, Laviola G. Risk taking during exploration of a plus-maze is greater in adolescent than in juvenile or adult mice. *Animal Behaviour*. 2002;64(4):541-546.
- Marks MJ, Miner L, Burch JB, Fulker DW, Collins AC. A diallel analysis of nicotine-induced hypothermia. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1984;21(6):953-959.
- Marley RJ, Arros DM, Henricks KK, Marley ME, Miner LL. Sensitivity to cocaine and amphetamine among mice selectively bred for differential cocaine sensitivity. *Psychopharmacology*. 1998;140(1):42-51.
- Mesa-Gresa P, Perez-Martinez A, Redolat R. Behavioral effects of combined environmental enrichment and chronic nicotine administration in male NMRI mice. *Physiology & behavior*. 2013;114-115:65-76.
- Miner LL, Collins AC. Strain comparison of nicotine-induced seizure sensitivity and nicotinic receptors. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1989;33(2):469-475.
- Moller C, Wiklund L, Thorsell A, Hyytia P, Heilig M. Decreased measures of experimental anxiety in rats bred for high alcohol preference. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 1997;21(4):656-660.

- Nesil T, Kanit L, Li MD, Pogun S. Nine generations of selection for high and low nicotine intake in outbred Sprague-Dawley rats. *Behavior genetics*. 2013;43(5):436-444.
- Nesil T, Kanit L, Ugur M, Pogun S. Nicotine withdrawal in selectively bred high and low nicotine preferring rat lines. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2015;131:91-97.
- Onaivi ES, Payne S, Brock JW, Hamdi A, Farouqui S, Prasad C. Chronic nicotine reverses age-associated increases in tail-flick latency and anxiety in rats. *Life sciences*. 1994;54(3):193-202.
- 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.
- Palmer AA, Verbitsky M, Suresh R, et al. Gene expression differences in mice divergently selected for methamphetamine sensitivity. *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society*. 2005;16(5):291-305.
- Pekonen K, Karlsson C, Laakso I, Ahtee L. Plasma nicotine and cotinine concentrations in mice after chronic oral nicotine administration and challenge doses. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1993;1(1):13-18.
- Pfarr S, Schaaf L, Reinert JK, et al. Choice for Drug or Natural Reward Engages Largely Overlapping Neuronal Ensembles in the Infralimbic Prefrontal Cortex. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2018;38(14):3507-3519.
- Picciotto MR, Brunzell DH, Caldarone BJ. Effect of nicotine and nicotinic receptors on anxiety and depression. *Neuroreport*. 2002;13(9):1097-1106.
- Pogun S, Yazarbas G, Nesil T, Kanit L. Sex differences in nicotine preference. *Journal of neuroscience research*. 2017;95(1-2):148-162.
- Ramos A, Mormede P. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 1998;22(1):33-57.
- Rasmusson AM, Picciotto MR, Krishnan-Sarin S. Smoking as a complex but critical covariate in neurobiological studies of posttraumatic stress disorders: a review. *J Psychopharmacol*. 2006;20(5):693-707.
- Ravishankar J. *Drugs of Abuse- Classification and Effects 2000* [cited 2014 04.10].

- Redolat R, Perez-Martinez A, Carrasco MC, Mesa P. Individual differences in novelty-seeking and behavioral responses to nicotine: a review of animal studies. *Current drug abuse reviews*. 2009;2(3):230-242.
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (1993). The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Reviews*, 18, 247–291.
- Rodgers RJ, Haller J, Holmes A, Halasz J, Walton TJ, Brain PF. Corticosterone response to the plus-maze: high correlation with risk assessment in rats and mice. *Physiology & behavior*. 1999;68(1-2):47-53.
- Sestakova N, Puzserova A, Kluknavsky M, Bernatova I. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdisciplinary toxicology*. 2013;6(3):11-135.
- 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):531-540.
- Sonntag H, Wittchen HU, Hofler M, Kessler RC, Stein MB. Are social fears and DSM-IV social anxiety disorder associated with smoking and nicotine dependence in adolescents and young adults? *European psychiatry : the journal of the Association of European Psychiatrists*. 2000;15(1):67-74.
- Steimer T, Driscoll P. Divergent stress responses and coping styles in psychogenetically selected Roman high-(RHA) and low-(RLA) avoidance rats: behavioural, neuroendocrine and developmental aspects. *Stress*. 2003;6(2):87-100.
- Suto N, Austin JD, Vezina P. Locomotor response to novelty predicts a rat's propensity to self-administer nicotine. *Psychopharmacology*. 2001;158(2):175-180.
- Tapias-Espinosa C, Rio-Alamos C, Sampedro-Viana D, et al. Increased exploratory activity in rats with deficient sensorimotor gating: a study of schizophrenia-relevant symptoms with genetically heterogeneous NIH-HS and Roman rat strains. *Behavioural processes*. 2018;151:96-103.
- Thorsell A, Slawecki CJ, El Khoury A, Mathe AA, Ehlers CL. The effects of social isolation on neuropeptide Y levels, exploratory and anxiety-related behaviors in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2006;83(1):28-34.

- Vieyra-Reyes P, Picciotto MR, Mineur YS. Voluntary oral nicotine intake in mice down-regulates GluR2 but does not modulate depression-like behaviors. *Neuroscience letters*. 2008;434(1):18-22.
- Vink JM, Willemsen G, Boomsma DI. Heritability of smoking initiation and nicotine dependence. *Behavior genetics*. 2005;35(4):397-406.
- Wahlsten D, Metten P, Phillips TJ, et al. Different data from different labs: lessons from studies of gene-environment interaction. *Journal of neurobiology*. 2003;54(1):283-311.
- Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*. 2007;2(2):322-328.
- Wingo T, Nesil T, Choi JS, Li MD. Novelty Seeking and Drug Addiction in Humans and Animals: From Behavior to Molecules. *Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*. 2016;11(3):456-470.
- Xu H, Das S, Sturgill M, et al. Extracellular dopamine, acetylcholine, and activation of dopamine D1 and D2 receptors after selective breeding for cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology*. 2017;234(16):2475-2487.
- Yang Z, Nesil T, Wingo T, Chang SL, Li MD. HIV-1 Proteins Influence Novelty-Seeking Behavior and Alter Region-Specific Transcriptional Responses to Chronic Nicotine Treatment in HIV-1Tg Rats. *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*. 2017;19(9):1024-1032.

ETİK ONAY

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (TF-HADYEK)
ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	Proje Yürütücüsü
02.10.2018	52/2018	Prof. Dr. Lâtfiye KANIT

"Nikotin tercih eden sıçan soylarında nikotin uygulamasının ve yoksunluğunun anksiyete testlerine ve şeker tercihine etkileri" isimli proje etik olarak uygun bulunmuştur.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 5 yıl

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans programına başvurma sürecimden başlayıp ilk derslerimi almamdan bu yana hep yanımda olduğunu hissettiğim, bana öncülük eden ve sadece akademik anlamda değil bir insanın ne şekilde ihtiyacı olabilirse bundan çok daha fazlasıyla yol gösterip yardımcı olan güler yüzüyle enerji ve umut veren çok sevgili danışman hocam, Prof. Dr. Lütfiye KANIT'a bana kattığı tüm değerler için çok teşekkür ederim.

Tez çalışması esnasında bana çokça yardımcı olan sevgili hocalarım Doc. Dr. Ayşegül KESER ve Prof. Dr. Burcu BALKAN'a

Beni kendi bünyesine kabul eden Ege Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı ailesine,

Bu süreçte yaşadığım pek çok zorlukta elimden tutan çok değerli Mustafa Arda TARIM'a,

Her koşulda yanımda olan ve bu zorlu süreçte bana destek olan canım ailem ve arkadaşlarıma en içtenliğimle teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı:

Merve Bayoğlu

Medeni Durumu:

Bekar

Yabancı Dil:

İngilizce

Sertifikalar:

İşaret Dili Sertifikası

Deney Hayvanları Sertifikası

Eğitim:

- Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilim Yüksek Lisans Programı, İzmir (2017/... Devam Ediyor),
- Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Psikoloji Bölümü, İzmir 2013/2017
- Salihli Anadolu Öğretmen Lisesi, Manisa 2009/2013

Sözel Sunumlar:

- Nikotin Tercih Eden Sıçan Soylarında Nikotin Uygulamasının Anksiyete Testlerine Etkileri, 45. Ulusal Fizyoloji Kongresi Sözlü Sunum, Kuşadası, Aydın (Danışman: Prof. Dr. Lütfiye KANIT) 11/2019