



T.C

EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



NİKOTİN TERCİH EDEN SIÇAN SOYLARINDA NİKOTİN YOKSUNLUĞUNUN SUKROZ TERCİHİNE ETKİSİ

Yüksek Lisans Tezi

Aylin ZİNDE

Fizyoloji Anabilim Dalı

İzmir

2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**NİKOTİN TERCİH EDEN SIÇAN SOYLARINDA NİKOTİN
YOKSUNLUĞUNUN SUKROZ TERCİHİNE ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

Aylin ZİNDE

Danışman
Doç. Dr. Ayşegül KESER

Fizyoloji Anabilim Dalı
Fizyoloji

İzmir
2019

TEZ ONAY SAYFASI

Kurum Adı : Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anabilim Dalı : Fiziyoloji

Program : Tezli Yüksek Lisans

Tez Konusu : Nikotin Tercih Eden Sıçan Soylarında Nikotin Yoksunluğunun
Sukroz Tercihine Etkisi

Danışman : Doç. Dr. Ayşegül Keser


Tezi Hazırlayan : Aylin Zinde

Değerlendirme Kurulu Üyeleri

Adı Soyadı

Başkan (Danışman) : Doç. Dr. Ayşegül Keser.....

Üye / İmza : Prof. Dr. Nuran Ekerbiçer.....

Üye / İmza : Prof. Dr. Taner Dağcı.....

Tezin Kabul Edildiği Tarih: 07.01.2020

Önsöz

Fizyoloji bölümünde bu denli önemli bir konu üzerinde bir çalışma yapmak bu akademik yolculuğumda hem teknik hem pratik olarak birçok deneyim kazanmamı sağlamıştır. Lisansımı, Beslenme ve Diyetetik bölümünde bitirmiş olup yüksek lisansta fizyoloji alanında çalışma hakkı kazandım. Bu durum beni çok mutlu etmekle birlikte birçok bilgi eksikliğimin olduğunu gördüm. Her derste ve her uygulamada yeni bilgiler ediniyordum. Fizyoloji ailesini ve alanını daha yakından tanımamı sağlayan tezin yazımında, testlerin şekillenmesinde, düzeneklerin kurulmasında ve bunun gibi birçok alanda bana önderlik eden danışman hocam Doç. Dr. Ayşegül Keser'in desteği ve yardımı çok büyüktür. Yüksek lisans projemi, sıçanlar üzerine yaptım. Kafeslerde ad libitum besleme, karanlık aydınlık döngüsü ve nem oranını ayarlama gibi sıçanların çevresini ve beslenmesini düzenlemeyi, hayvanlarla çalışmanın zorluğunu gördüm. Hatalar olduğunda nasıl hemen düzeltilebileceği ve deneyin nasıl sürdürülebileceğini öğrendim. Bu işlemlerde danışman hocamın önderliğinde projede bana yardımcı olan proje arkadaşlarımla (Meliha Öztürk, Merve Bayoğlu) takım çalışmasını öğrendim. Testleri düzgün yapmak, test esnasında çıkabilecek sorunlara karşı önlem almak gibi birçok teorikte öğrendiğim bilgiyi uygulamada nasıl kullanabileceğimi gösteren hocalarım Prof. Dr. Lütfiye Kani ve Prof. Dr. Burcu Balkan hocalarım olduğu içinde çok şanslıydım. Çalışmamızın tamamlanmasının ardından Kuşadası'nda yapılan Ulusal Fizyoloji Kongresinde çalışmanın poster olarak sunulması benim için çok güzel ve önemli bir deneyim oldu.

Sunulan çalışmada, nikotin bağımlılığı, nikotin yoksunluğu ve bununla birlikte oluşan anhedoniye göstermek için nikotin tercih eden sıçan soylarında sukroz tercihi testi ile sukroz tüketiminin araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmamız; Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TYL-2018-20412 nolu proje ile desteklenmiştir. Bu projenin gerçekleşmesinde maddi kaynaklarını kullandığımız Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, laboratuvar olanaklarını kullandığımız E.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalına teşekkürü bir borç bilirim.

İzmir, 10.12.2019

Aylin ZİNDE

Özet

NİKOTİN TERCİH EDEN SIÇAN SOYLARINDA NİKOTİN YOKSUNLUĞUNUN SUKROZ TERCİHİNE ETKİSİ

Bağımlılığın ortaya çıkışında, yoksunluk ile tetiklenen stres yanıtı ve negatif afekt önemli rol oynamaktadır. Pek çok yayında nikotin bağımlılığının gelişiminde çevresel faktörlerin yanı sıra genetik faktörlerin de önemi vurgulanmaktadır. İnsanda sigaraya başlama, sigara içimin sürdürülmesi, yoksunluk bulguları ve sigaranın bırakılmasındaki başarı düzeyi gibi nikotin bağımlılığı ile ilişkili özelliklerin herediter geçiş gösterebildiği bildirilmektedir. Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde seçici tohumlama yöntemi kullanarak, nikotini suya tercih eden ve bu davranışı bir sonraki jenerasyona aktarabilen özel bir sıçan soyu üretilmişti. Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında, nikotini tercih eden (NT) sıçan soyunda nikotin yoksunluğunun duygu-durum üzerine etkilerinin ortaya koyulması amaçlanmaktadır.

Araştırma 4 deney grubu ile ($n = 12$) yapılmıştır: Kontrol Erkek (KE), Kontrol Dişi (KD), NT soy Erkek (NTE), NT soy Dişi (NTD). Tüm deney gruplarına yedi gün oral sukroz tercihi testi (STT) uygulandıktan sonra sekiz hafta zorlu oral nikotin ($50 \mu\text{g/ml}$) verilmiştir. Ardından on günlük nikotin yoksunluğu sırasında STT tekrarlanmıştır. Grupların sukroz tüketim miktarları arasındaki farkların istatistiksel analizi için SPSS programı kullanılmıştır.

Bazal ve yoksunluk sukroz tüketimi verilerinin karşılaştırmasında nikotin, yoksunluğu ($p = 0,042$), gün ($p < 0,001$), soy ($p < 0,001$) ve cinsiyet ($p < 0,001$) açısından farklar bulunmuştur. Soy ile cinsiyet ($p < 0,001$), soy ile nikotin yoksunluğu ($p = 0,039$) etkileşimleri saptanmıştır. Bazal ve yoksunluk durumunda KD'ler diğer gruplardan daha fazla sukroz tüketmiştir. Yoksunlukta sukroz tüketiminin tüm gruplarda azalması anhedoninin geliştiğini göstermiştir. Bazal ve yoksunluk durumunda kontrol grupları arasında belirgin cinsiyet farkı bulunmuştur. NT grupta bazal durumda cinsiyet farkı yokken yoksunlukta cinsiyet farkı gelişmiştir. Bazal durumla karşılaştırıldığında,

yoksunlukta hedoni seviyesinde en belirgin düşüş KD'lerde gözlenmiştir. KD'ler yoksunluğun birinci gününden itibaren anhedonik iken KE'lerde yoksunluğun birinci gününde anhedoni gözlenmemiştir. NTD'ler hem bazal şartlarda hem de yoksunlukta KD'lerden daha az sukroz tüketmişlerdir. Bu durum NTD'lerin KD'lerden daha çok anhedoni yaşadıklarına işaret etmektedir Erkek gruplarında hem bazal hem de yoksunluk durumunda benzer düzeyde anhedoni saptanmıştır. NT sıçanlarda kontrollere oranla cinsiyet farkı azalmış, dişiler erkeklere benzer davranış sergilemiştir.

Yoksunluğun birinci günü 1., 2., 4., 6. ve 24. saatlerde alınan sukroz tüketimi verileri değerlendirilmesinde soy ($p = 0,031$) ve cinsiyetin ($p < 0,001$) anlamlı farklılığa yol açtığı ayrıca saatler ile soy, saatler ile cinsiyet ve saatler, soy ile cinsiyet arasında $p < 0,001$ düzeyinde etkileşim olduğu saptanmıştır. Sukroz tercihleri verileri değerlendirilmesinde ise saatler ($p < 0,001$) açısından anlamlı fark bulunmuştur ayrıca saatler ile soy arasında etkileşim olduğu saptanmıştır.

Yoksunlukta, KD grubu KE grubuna oranla daha erken anhedoni geliştirmiş ve hedonik seviyeleri daha şiddetli düşüş göstermiştir. Bu sonuç, sigara tiryakisi kadınların erkeklere oranla nikotine daha bağımlı olduğunu ve sigarayı bırakmakta daha çok zorlandığını gösteren diğer çalışma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

NTD grubu, KD grubuna göre nikotin yoksunluğu sırasında daha fazla anhedoni göstermiştir. Ancak NT grupları arasında anlamlı cinsiyet farkı bulunmamıştır. NT sıçan soyunda yoksunlukta gözlenen bu negatif duygu-durum nikotin bağımlılığının gelişimine önemli bir katkı veriyor olabilir.

Anahtar Kelimeler: Nikotin, sukroz tercihi, anhedoni, nikotin tercih eden sıçan soyu

Abstract

EFFECTS OF NICOTINE WITHDRAWAL ON SUCROSE PREFERENCE IN NICOTINE PREFERRING RAT LINES

Stress response and negative affect induced by withdrawal plays important roles in the development of drug addiction. In our laboratory, a nicotine-preferring (NP) rat line has been generated using selective breeding method. In this study, we aimed to reveal the regulatory effect of inherited genetic background on nicotine withdrawal-induced negative affect. Therefore, we studied the differences in basal and withdrawal induced-anhedonia between NP rat lines and their controls.

This study involved 4 groups (n = 12): Control Males (CM), Females (CF), NP Males (NPM), and Females (NPF). In all groups, sucrose preference test was performed for seven days, followed by forced oral nicotine (50 µg/ml) administration for eight weeks. Sucrose preference was repeated during withdrawal which lasted ten days. Data were analyzed using SPSS statistics software.

When basal and withdrawal data were compared for sucrose consumption, there were effects of withdrawal ($p = 0.042$), days ($p < 0.001$), line ($p < 0.001$) and sex ($p < 0.001$). Also, there were line and sex ($p < 0.001$) and line and withdrawal ($p = 0.039$) interactions. CF, compared to other groups, consumed more sucrose during basal and withdrawal conditions. In withdrawal, attenuated sucrose consumption in all groups indicated anhedonia. There was significant sex difference in basal and withdrawal sucrose consumption between control groups. In NP groups, there was no sex difference in basal sucrose consumption while a sex difference has shown during withdrawal. Compared to basal status, the most significant decrease in hedonic level was observed in CFs. While CFs were anhedonic from the first day of withdrawal, anhedonia was not observed on the first day of withdrawal in CMs. NPFs consumed less sucrose than CF in both basal conditions and withdrawal. This indicates that NPFs experience more

anhedonia than CFs. The sex difference in NP rats was decreased compared to controls and females showed similar behavior to males.

There was a main effect of line ($p = 0,031$) and sex ($p < 0,001$) on hourly sucrose consumption data at 1st, 2nd, 4th, 6th and 24th hours on the first day of withdrawal. Additionally, there were line and sex, hours and line, hours and sex, hours, line and sex interactions. Also there was a main effect of hours ($p < 0,001$) on sucrose preference data and hours and line interaction.

During withdrawal, CFs showed earlier anhedonia than CMs. CFs showed more severe hedonic attenuation than CMs. This result is similar with the studies that indicate women are more addict to nicotine than men. In sucrose consumption data NPFs showed more anhedonia than CFs during withdrawal. But there were no significant sex difference in NP rats. The negative affect shown in NP rat lines during withdrawal may contribute to the development of nicotine addiction.

Key words: Nicotine, sucrose preference, anhedonia, nicotine preferring rat lines

İçindekiler

Önsöz	II
Özet.....	III
Abstract.....	V
İçindekiler	VII
Grafikler Dizini	X
Şekiller Dizini	XI
Kısaltmalar Listesi	XII
Giriş	1
1.1. Araştırmanın Problemi.....	7
1.2. Araştırmanın Sorusu	8
1.3. Araştırmanın Hipotezi.....	8
1.4. Araştırmanın Varsayımları.....	8
1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları	9
1.6. Araştırmanın Amacı	9
Genel Bilgiler	10
2.1. Bağımlılık.....	10
2.1.1. Nikotin Bağımlılığı	13
2.1.2. Nikotin Yoksunluğu	14
2.2. Anhedoni.....	15
Gereç ve Yöntem	18
3.1. Araştırma Planı	18
3.2. Deney Hayvanları.....	20
3.3. Sukroz Tercih Testi (STT)	22

3.4. Zorlu Oral Nikotin Uygulaması.....	24
3.5. Serumda Kotinin Tayini.....	25
3.6. İstatiksel Yöntemler.....	25
3.7. Araştırmanın Limitleri.....	26
Bulgular.....	27
4.1. Sıçanların Sukroz Tüketimleri.....	27
4.1.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Sukroz Tüketimleri.....	27
4.1.2. Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tüketimleri.....	28
4.1.3 Bazal ve Yoksunlukta Sıçanların Sukroz Tüketimlerinin Karşılaştırılması...29	
4.1.4. Grupların Bazal ve Nikotin Yoksunluğu İlk Günkü Sukroz Tüketimleri Karşılaştırılması.....	30
4.2. Sukroz Tercihi.....	31
4.2.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Sukroz Tercihleri.....	31
4.2.2. Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tercihleri.....	32
4.2.3 Bazal ve Yoksunlukta Sıçanların Sukroz Tercihlerinin Karşılaştırılması.....	33
4.3. Sıçanların Toplam Sıvı Tüketimleri.....	34
4.3.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Toplam Sıvı Tüketimleri.....	34
4.3.2. Nikotin Yoksunluğunda Toplam Sıvı Tüketimleri.....	35
4.3.3. Zorlu Nikotin Uygulamasından Önce ve Nikotin Yoksunluğunda Sıçanların Toplam Sıvı Tüketimlerinin Karşılaştırılması.....	36
4.4. Nikotin Yoksunluğunun İlk Gününde Tercihler.....	37
4.4.1. Nikotin Yoksunluğunun İlk Gününde Sukroz Tüketimleri.....	37
4.4.2. Nikotin Yoksunluğunun İlk Gününde Sukroz Tercihleri.....	39
4.5. Zorlu Nikotin Uygulaması Sırasında Yapılan Kotinin Tayini.....	40
4.6. Sıçan Ağırlıkları.....	41

4.6.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Sıçan Ağırlıkları	41
4.6.2. Nikotin Yoksunluğunda Sıçan Ağırlıkları	42
4.6.3. Zorlu Nikotin Uygulaması Öncesinde ve Nikotin Yoksunluğunda Sıçan Ağırlıklarının Karşılaştırılması	43
Tartışma	44
5.1. Nikotin Yoksunluğu ve Sukroz Tercih Testi	44
5.2. Stres Maruziyeti ve Sukroz Tercih Testi	49
Sonuç ve Öneriler	52
Kaynaklar	53
Ekler	60
8.1. Etik Kurul Onayı	60
8.2. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası	61
Teşekkür	62
Özgeçmiş	63

Grafikler Dizini

Grafik 4-1. Sıçanların Bazal Sukroz Tüketimleri.	28
Grafik 4-2. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tüketimleri.....	29
Grafik 4-3. Sıçan Gruplarının Bazal ve Nikotin Yoksunluğu İlk Günkü Sukroz Tüketimleri.	31
Grafik 4-4. Sıçanların Bazal Sukroz Tercihleri.	32
Grafik 4-5. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tercihleri.....	33
Grafik 4-6. Sıçanların Bazal Toplam Sıvı Tüketimleri.....	35
Grafik 4-7. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Toplam Sıvı Tüketimleri.	36
Grafik 4-8. Nikotin yoksunluğunun başlangıcından itibaren 1., 2., 4., 6. ve 24. saatteki tüketilen sukroz miktarları.....	38
Grafik 4-9. Nikotin yoksunluğunun başlangıcından itibaren 1., 2., 4., 6. ve 24. saatteki tüketilen sukroz tercihleri.	40
Grafik 4-10. Plazma Kotinin Konsantrasyonu Grafiği	41
Grafik 4-11. Bazal (Zorlu Nikotin Uygulamasından Önce) Sıçan Ağırlıkları.....	42
Grafik 4-12. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Günlük Ağırlıkları.....	43

Şekiller Dizini

Şekil 1-1: Nikotinin Moleküler Yapısı.....	1
Şekil 3-1. Araştırma Planı	19
Şekil 3-2. Sukroz Tercihi Testi. Tekli kafes, yıldızlı suluklarda sukroz çözeltisi yıldızsızlarda ise musluk suyu bulunmaktadır.....	23
Şekil 3-3. Zorlu Oral Nikotin Uygulaması. Üçlü kafes. Çift suluklu oral nikotin uygulaması	24



Kısaltmalar Listesi

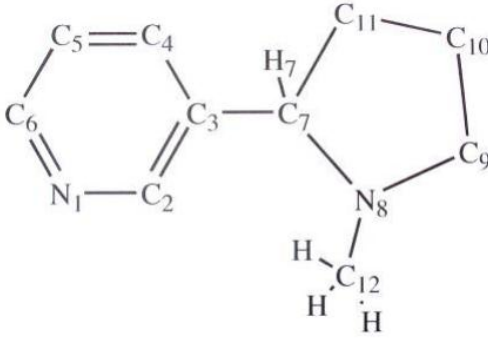
aVTA	: Anterior lateral Ventral Tegmental Alan
CF	: Control Female
CM	: Control Male
CPP	: Şartlı Yer Tercihi
CRF	: Corticotropin Releasing Factor
CUS	: Kronik Öngörülemeyen Stres
CUMS	: Kronik Öngörülemeyen Hafif Stres
DA	: Dopamin
DAerjik	: Dopaminerjik
DST	: Dorsal Striatum
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GABAerjik	: Gama Aminobütirik Asiterjik
GPI	: Globus Pallidusun İnternal Bölgesi
GPe	: Globus Pallidusun Eksternal Bölgesi
ICSS	: İntrakraniyal Kendi Kendini Uyarma
KD	: Kontrol Dişi
KE	: Kontrol Erkek
LPS	: Lipopolisakkarit
MDB	: Major Depresif Bozukluk
mPFC	: Medial Prefrontal Korteks

MSN	: Medium Spiny Nöronları
NAc	: Nukleus Akkumbens
nAChR	: Nikotinik Asetilkolin Reseptör
NP	: Nicotine-preferring
NPF	: Nicotine Preferring Female
NPM	: Nicotine Preferring Male
NT	: Nikotin Tercih Eden
NTD	: Nikotin Tercih Eden Dişi
NTE	: Nikotin Tercih Eden Erkek
PFC	: Prefrontal Korteks
pVTA	: Posterior medial Ventral Tegmental Alan
SN	: Substansiya Nigra
SNc	: Substansiya Nigra pars Kompakta
SNr	: Substansiya Nigra pars Retikularis
STT	: Sukroz Tercihi Testi
VMPFC	: Ventro Medial Prefrontal Korteks
VTA	: Ventral Tegmental Alan

Giriş

Sigara tiryakilerinin zararlı sonuçları bilmesine rağmen, tütün kullanımını sürdürmesi, nikotin bağımlılığın temel bileşenidir (De Biasi & Dani, 2011).

Nikotin, tersiyer alkaliyandır. Nikotinin, kimyasal adı (S)-3-(1-metilpirolidin-2-yl) piridindir. Acı bir tadı bulunmaktadır, hafif alkali özellikte bir maddedir. Nikotin mukoz membran, deri, alveoller ve gastrointestinal sistemden hızla emilmektedir. Yarı ömrü, 30 dakikayla 2 saat arasında değişmektedir. Karaciğerde kotinin ve nikotin-1-N-oksit'e metabolize edilmektedir. Çok az bir miktarı ise değişmemiş halde böbrek aracılığıyla atılmaktadır. Plazma proteinlerine % 5 oranla bağlanmaktadır. Şekil 1'de nikotinin moleküler yapısı gösterilmektedir (Black et al., 2001; Wu & Cho, 2004).



Şekil 1-1: Nikotinin Moleküler Yapısı

Nikotin, nikotinic asetilkolin reseptörleri (nAChR'leri) aracılığıyla hedef hücreler üzerinde etkilerini göstermektedir (De Biasi & Dani, 2011). Nikotinin beyinde genel hedefi nAChR'üdür. nAChR'leri, pentametrik ligand kapılı iyon kanalı çeşitli hetero ve homomerik α ve β tipi kombinasyonlara sahiptirler. nAChR'lerinin alt tiplerinden beyinde en çok bulunanları $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ 'dir. Bu alt tiplerin mRNA'ları beyin birçok bölgesinde bulunmaktadır. nAChR'leri, pre ve post sinaptik bölgelerde bulunmakta ve nörotransmitter salgısını ve nöronal uyarılabilirliği regüle etmektedir. nAChR'ler, mezolimbik yolda; maddelerin, hipokampus ve amigdala gibi diğer beyin bölgelerinin

ödüle olan etkisine katılarak glutamaterjik, gama aminobütirik asiterjik (GABAerjik), dopaminerjik (DAerjik) nörotransmisyonunu modüle etmede önemli rol oynamaktadır (Feduccia, Chatterjee, & Bartlett, 2012). nAChR'leri, özellikle substansiya nigra (SN) ve ventral tegmental alanda (VTA'da) yoğun bir şekilde dağılmıştır (Klink, De Kerchove D'eaerde, Zoli, & Changeux, 2001).

Nikotik reseptör agonistlerinin kronik şekilde uygulanması belirli nAChR'lerinin desensitizasyonuna neden olmakta ve buna ek olarak özellikle VTA, nukleus akkumbens (NAc) ve dorsal striatumdaki (DST'deki) nAChR'lerini up-regüle etmektedir (Parker et al., 2004). nAChR'lerinin up-regülasyonu ile dopamin (DA) yanıtının sensitizasyonu arasında bir bağlantı olabileceği iddia edilmektedir (Govind, Vezina, & Green, 2009). Günümüzde geçerli olan hipoteze göre, uzamış nikotin uygulamaları VTA'da, glutamaterjik terminaller veya DAerjik nöronlar üzerinde yerleşen nAChR'lerinden ziyade, özellikle gama aminobütirik asit (GABA) sentezleyen nöronlar üzerinde yerleşen $\alpha 4\beta 2$ nAChR'lerini up-regüle etmektedir. Ancak up-regüle olan bu reseptörler desensitize olduğundan azalmış GABAerjik ileti VTA içindeki DAerjik iletiyi arttırmaktadır (Pistillo et al., 2015; de Kloet, Mansvelter, & De Vries, 2015). Kronik nikotin uygulamalarında, DAerjik iletinin güçlenmesi sayesinde nikotinin ödül duygusunu arttırıcı özelliği ön plana çıkıyor olabilir (Balfour, 2004). Ek olarak, Berridge ve Robinson (2003) yaptığı çalışmada, ilaçların mezokortikolimbik sistemde indüklediği sensitizasyonun, o ilaca karşı kompulsif bir isteğin gelişiminde etkili olabileceğini ileri sürmektedir.

Nikotin, ödüllendirici sonuçlara yol açan davranışları pekiştiren sinirsel devrelere doğrudan etki ederek bağımlılığı başlatmaktadır. İntrakraniyal kendi kendini uyarma (ICSS) çalışmalarından edinilen bilgiler sayesinde, araştırmacılar kortikal ve limbik beyin yapılarının ödüle aracılık ettiğini tanımlamışlardır. Mezokortikolimbik DAerjik sistemin, kendini uyarma ve çevresel ödülü işlemede önemli etkisi bulunmaktadır. Önemli DAerjik yollardan biri, VTA'dan ortaya çıkmakta ve prefrontal kortekse (PFC'e) ve NAc de dahil olmak üzere limbik ve striatal yapılara projekte olmaktadır. $\alpha 4$ ve/veya $\alpha 6$ alt üniteler ile beraber $\beta 2$ alt üniteleri içeren nAChR'leri nikotin ile DAerjik nöronlarının ateşleme hızını ve fazik patlama aktivitesini arttırmakta ve DA'in PFC, NAc

ve diğer hedeflerde salgısını çoğaltmaktadır. Bu etkiler nikotinin şartlı yer tercihi (CPP) ve ICSS düzeneklerinde ödül devresini uyarması ve öğrenmeyi pekiştirmesinin altında yatan temel mekanizma olarak ileri sürülmektedir (De Biasi & Dani, 2011).

Akut sistemik nikotin uygulamaları NAc (Nisell, Nomikos, & Svensson, 1994), DST (Janhunen & Ahtee, 2004) ve PFC'de (Liang et al., 2008) DA salgılanışını artırmakta, hiperlokomosyona yol açmaktadır. Diğer taraftan, kronik nikotin uygulamaları, NAc (Cadoni & Di Chiara, 2000), DST (Marshall, Redfern, & Wonnacott, 2002) ve PFC'de (Nisell, Nomikos, Hertel, Panagis, & Svensson, 1996) DA salgısına ve lokomotor aktivitenin sensitizasyonuna yol açmaktadır. Pek çok yayın, kronik nikotin uygulaması sırasında gözlenen mezokortikolimbik sistemde artmış DAerjik iletinin nikotin bağımlılığının gelişiminde önemli bir rol oynadığını ileri sürmektedir (Di Chiara, 2000; Balfour, 2004).

Mezokortikolimbik sistem, VTA'yı, ventral striatum (NAc ve olfaktör tüberkül) ve PFC'ye bağlayan bir nöral yol olarak tanımlamaktadır. Bu nöral yol, nikotin bağımlılığı da dahil olmak üzere farklı tipte motive davranışların etkinleştirilmesine yol açacak şekilde çevresel ve duygusal uyaranları değerlendirmekte ve entegre etmektedir. Deneysel çalışmalar, mezokortikolimbik sistemin başlıca nörotransmitteri olan DA'nin, belirli bir uyarının motivasyonel değerinin kodlanmasına çok önemli bir katkıda bulunduğunu göstermektedir. Maddelerin zararlı etkilerine rağmen, insanların kendilerine bağımlılık yapıcı madde uygulama yönündeki motivasyonlarına, DA iletiminde gözlenen kısa ve uzun süreli adaptasyonların aracılık ettiği açıkça gösterilmiştir (Pistillo et al., 2015). Bağımlılığın başlaması, ödüllendirici duyuşal uyaranların işlenmesini sağlayan mezokortikolimbik DA sistemini içermektedir (De Biasi & Dani, 2011).

VTA'nın, anterior-lateral VTA (aVTA) ve posterior-medial VTA (pVTA) olmak üzere iki ana hücre popülasyonu bulunmaktadır. Bu bölgedeki hücrelerin %60'ını oluşturan DAerjik projeksiyon nöronları, DA sentezleyen enzim tirozin hidroksilazı içermektedir. VTA; DA nöronları, ventral striatuma, PFC, amigdala ve hipokampusu projeksiyon göndermektedir. aVTA'daki DA nöronları NAc'in kabuğu ile çekirdeğinin laterale ve lateral olfaktör tüberküle aksonal projeksiyon gönderirken, pVTA'daki DA nöronları

NAc'in kabuğu ile çekirdeğinin mediyaline, mediyal olfaktör tüberküle, PFC ve bazolateral amigdalya aksonal projeksiyon göndermektedir. GABAerjik internöron ve projeksiyon nöronları özellikle pVTA'da yoğun yerleşim göstermektedir. Bu nöronlar PFC, NAc ve lateral habenuaya projeksiyon göndermekte ve VTA'daki DA nöronlarına bağlantı kurarak onları tonik olarak inhibe etmektedir (Pistillo et al., 2015).

VTA'da birçok farklı nAChR ($\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\beta 2$ ve $\beta 3$) alt tipleri eksprese edilmektedir. $\alpha 4$ ve $\beta 2$ mRNA'ları neredeyse tüm DAerjik ve GABAerjik VTA nöronlarında eksprese edilirken $\alpha 7$ mRNA'ları bu nöronların % 40'ında eksprese edilmektedir (Feduccia et al., 2012). $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 4\alpha 6\beta 2$ nAChR, VTA ve SN'nin DA hücre gövde / dendritinde bulunmaktadır. Aynı zamanda $\alpha 5$, VTA'da yoğun miktarda bulunmaktadır. VTA'da, DA sisteminin nikotine olan sensitivitesini belirlemede $\alpha 5$ önemli rol oynamaktadır. $\alpha 5$ 'knock out' (KO) fareler nikotin ve nikotik agonistlere daha az hassasiyet göstermişlerdir. Homomerik $\alpha 7$ reseptörleri ise VTA'daki glutamaterjik akson terminallerinde ve DAerjik nöronların gövde / dendritlerinde yer almaktadır (Pistillo et al., 2015). İmmunoreaktivite, mRNA çalışmalarına göre D2 ve D3 reseptörleri mezensefalondaki DA nöronlarında bulunmaktadır (Pistillo et al., 2015). Nikotin, nAChR'leri ile VTA nöron aktivitesini modüle ederek NAc'de DA salgısını uyarmaktadır. Belirli nikotin dozları ile (100–500 nM), nAChR'leri kısa bir süreliğine aktif olmaktadır hemen ardından desensitizasyon gelişmekte ve bunun sonucunda da reversibl inaktivasyon yanıtı oluşmaktadır. Nikotine maruziyetin başlangıcında, VTA'daki DAerjik ve GABAerjik nöron somaları ile glutamaterjik ve GABAerjik akson terminalleri üzerinde bulunan homomerik $\alpha 7$ ve $\alpha 4\beta 2$ alt birimleri içeren nAChR'leri aktive olmaktadır. Bu reseptörlerin uyarılmasının başlangıçta GABA salgısını arttırmasına rağmen, glutamat salgısının artışı ve glutamaterjik sinyalizasyonun daha baskın olması sonucunda DAerjik nöronlar uyarılmakta ve NAc'de DA salgısı artmaktadır; ancak nikotin uyarısı ile kısa süre sonra özellikle GABAerjik nöronların üzerindeki $\alpha 4\beta 2$ alt birimlerini içeren reseptör alt tipleri hızla desensitize olmaktadır. Diğer taraftan, DAerjik nöronların veya glutamaterjik akson terminallerinin üzerindeki nAChR'lerinde böyle bir desensitizasyon gelişmemektedir. Bu nedenle nikotine uzamış maruziyet ile DAerjik nöron aktivitesi şiddetle artmaktadır (Feduccia et al., 2012; Pistillo et al., 2015).

NAc, farklı anatomik bağlantılara ve fonksiyonlara sahip çekirdek ve kabuk olarak bilinen iki alt bölgeyi içermektedir. VTA'dan DAerjik projeksiyon almaktadır. NAc'deki başlıca nöron popülasyonu, bölgede bulunan sinir hücrelerinin %95'ini oluşturan GABAerjik “medium spiny” nöronlarıdır (MSN). Geri kalan %5, tonik olarak aktif kolinerjik nöronlar ve GABAerjik internöronlar da dahil olmak üzere heterojen bir internöron popülasyonundan oluşmaktadır (Pistillo et al., 2015). Mezensefalonda VTA'dan NAc'a olan projeksiyonlar, motivasyon ve pekiştirme ile ilgilidir. NAc MSN, VTA'ya resiprokal GABAerjik projeksiyonları göndermektedir (Xia et al., 2011). NAc, VTA'dan, duygularla ilişkili bölgelerden (amigdala, orbitofrontal korteks ve medial PFC (mPFC) gibi, motor bölgelerden (dorsal kaudat ve globüs pallidus gibi), bellek ile ilişkili bölgelerden (hipokampus) projeksiyon almaktadır. NAc, singular ve mPFC, ventral pallidum, talamus, amigdala ve hipotalamus gibi kortikal bölgelere de indirekt olarak projeksiyon göndermektedir. Nörotransmitterlerden olan glutamat da ödül sisteminde rol almaktadır. Glutamaterjik nöronlar içeren, hipokampal yapı olan, subikulum NAc'a projeksiyon göndermektedir. NAc'deki DA salgısı, ödülü elde etmeye yönelik hareketi ve motivasyon gibi pozitif güdülemeyi yönlendirmektedir (Gorwood, 2008).

Kemirgenlerin striatal DA terminalinde $\alpha4\beta2$, $\alpha4\alpha5\beta2$, $\alpha6\beta2(\beta3)$ ve $\alpha4\alpha6\beta2(\beta3)$ nAChR'leri bulunmaktadır. Nigrostriatal yolakta da özellikle $\alpha4\alpha6\beta2\beta3$, mezolimbik yolakta ise çoğunlukla $\alpha6\beta2\beta3$ nAChR'leri eksprese edilmektedir. NAc'da DAerjik D1, D2 ve D5 reseptörleri eksprese edilmektedir. NAc'da MSN içerdikleri DAerjik reseptöre göre 2 alt gruba ayrılırlar: D1-MSN ve D2-MSN (Pistillo et al., 2015). Mezolimbik DAerjik sistemde; VTA'dan NAc'e projekte olan DA nöronları, madde maruziyeti veya ödüle olan davranışsal yanıtlarında önemli bir yolaktır. Madde maruziyeti ile NAc'de ekstrasellüler DA miktarı artmaktadır. DA, NAc'daki D1 ve D2 reseptörlerini içeren MSN nöronları üzerindeki D1 ve D2 reseptörlerine bağlanarak ödülü düzenlemektedir. DAerjik iletimini bloke etmek, maddelerin pekiştirici etkisini azaltmaktadır (Feduccia et al., 2012).

DST, kaudat ve putameni içermektedir. Striatumun dorsal kısmı SN pars kompaktadan (SNc) DAerjik ve serebral korteksten glutamaterjik projeksiyonlar almaktadır. Ventral striatuma benzer şekilde, DST'da da nöronların büyük çoğunluğunu MSN'ndan

oluşturmaktadır (Yelnik, 2002). DST'da, ventral striatuma benzer şekilde, nAChR'lerinin $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 6\beta 2$ alt tipleri, DA terminallerindeki kolinerjik etkilerden sorumlu olmaktadır. NAc gibi DST'de de D1, D2 ve D5 reseptörleri eksprese edilmektedir. D3 ise DA terminallerinde ve ventral striatumun MSN'nda eksprese edilmektedir (Pistillo et al., 2015).

SNc'den DST'a gelen DAerjik nöronlar MSN'na etkilerini D1 ve D2 reseptörlerini uyararak gerçekleştirmektedirler. Bu reseptörlerin uyarılması ile globus pallidusun internal bölgesine (GPi) bilgiler direkt ve indirekt yolla gönderilmektedir. DA ile MSN'da bulunan D1 reseptörlerinin aktive olması MSN uyarmakta; D1-MSN'n aksonları GPi ve SN'nın pars retikularisinde (SNr) GABA salgılayarak bu beyin bölgelerinden talamusa uzanan GABAerjik nöronları baskılamaktadır. Bu yol striatonigral veya direkt yol olarak bilinmekte ve motor hareketin aktive olmasını sağlamaktadır. Diğer taraftan, D2-MSN'n aksonları striatopallidal veya indirekt yolu oluşturmaktadır. Striatumda DA ile D2 reseptörlerinin aktivasyonu striatopallidal yolu oluşturan MSN baskılamaktadır. Bu aksonlar globus pallidus'un eksternal (GPe) bölgesinde sonlanıp indirekt yol GPe ve subtalamik çekirdekler üzerinden GPi ve SNr'de sonlanmaktadır. İndirekt yolun aktivasyonu motor hareketi azaltmaktadır (Macpherson, Morita, & Hikida, 2014). Striatumda, MSN aktivitesinin belirlenmesinde DAerjik ve glutamaterjik sonlanmaların etkileşimi önemlidir. Glutamaterjik sinyaller bazal gangliyonların GABAerjik MSN üzerinde toplanarak değerlendirilmektedir (O'Connor, 1998; Obeso et al., 2008; Galvan & Wichmann, 2008; Yelnik, 2002).

PFC, anterior singulat korteks, prelibmik ve infralimbik korteks, orbitofrontal korteks olmak üzere 3 bölüme ayrılmıştır. Bu bölümler, VTA'daki DA nöronlarından gelen DAerjik innervasyona sahiptirler (Pistillo et al., 2015).

Yapılan in vivo ve ex vivo çalışmalara göre PFC'de DA pVTA'dan köken alan DAerjik terminallerden salgılanmaktadır. PFC'de en yoğun bulunan ve eksprese edilen DA reseptörü D1 reseptörüdür. PFC, VTA'nın DA projeksiyonları tarafından uyarılmaktadır. DA salgısı $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ nAChR tarafından modüle edilmekte; ancak striatumdan farklı olarak $\alpha 6\beta 2$ reseptörleri modülasyona katılmamaktadır. $\alpha 4\beta 2$ ve $\alpha 7$ nAChR talamokortikal sonlanmalarda eksprese edilmektedir. PFC, ödül mekanizması ile ilişkili

belirli beyin bölgelerine (VTA ve striatum gibi) eksitatör glutamerjik projeksiyonlar göndermektedir. PFC, VTA nöronlarına hem direkt projeksiyon, hem de NAc üzerinden indirekt projeksiyon göndermektedir (Pistillo et al., 2015).

1.1. Araştırmanın Problemi

Günümüzde sigara içimi önlenebilir ölüm nedenleri arasında birinci sırada bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, tütün ürünlerinin kullanımı ile ilişkili hastalıklar nedeniyle dünyada her yıl 5,4 milyon kişinin öldüğünü bildirmektedir. Tütün ürünlerinin kullanımının yaygınlığının arkasında yatan en önemli neden, bu ürünlerin içinde bağımlılık yapıcı etkileri ile bilinen nikotinin yüksek miktarda bulunmasıdır. Nikotin beyinde psikostimülan etkilidir. Ödül duygusunu uyarmakta, stresi ve anksiyeteyi azaltmaktadır (Pistillo, Clementi, Zoli, & Gotti, 2015). Buna karşılık nikotin yoksunluğu sırasında stres yanıtı tetiklenmektedir. Anksiyete artışı ve anhedoni ile karakterize negatif afektif bir durum ortaya çıkmaktadır. Her iki aşamanın da nikotin bağımlılığının gelişiminde önemli olduğu ileri sürülmektedir (Wise & Koob, 2014). Ne yazık ki, sigarayı bırakmaya çalışan kişilerin % 10'undan daha azı bunu başarabilmektedir. Kronik nikotin kullanımı ve nikotin yoksunluğu insan ve hayvanlarda anksiyete ve ödül duygusu (hedoni) açısından önemli değişiklikler yaratmaktadır. Kronik nikotin kullanımı sırasında bu tip duygu durum değişikliklerinin nikotin bağımlılığının gelişiminde önemli rolü olabileceği ileri sürülmektedir. Özellikle yoksunluk sırasında artan anksiyete ve anhedonik durumun da nikotin kullanımında relapsların ortaya çıkmasına neden olabileceği tartışılmaktadır (Kenny & Markou, 2001).

Sigaraya başlama, bağımlı hale gelme ve sigarayı bırakabilme açısından herediter özelliklerin önemli olduğu, pek çok yayında ileri sürülmektedir. Sigara içmeye başlama, içmenin persistansı, yoksunluk semptomları ve içmeyi bırakma başarısı açısından insanlar arasında gözlenen çeşitlilik, herediter faktörlere dayandırılmaktadır (Nesil, Kanit, Ugur, & Pogun, 2015). Hayvan modelleri, bağımlılık ile ilişkili davranışların gelişiminde rolü olan genetik faktörlerin etkilerini saptamakta ve bağımlılık ile ilişkili genlerin ortaya koyulmasında önemli bir fırsat sunmaktadır. Selektif hayvan üretimi kompleks kalıtsal özelliklerin genetik modellerini oluşturmak için oldukça yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Carlson & Perez, 1997; He, Yang, Mathur, & Grasing, 2008).

Nikotine bağımlı hale gelme, sigarayı bırakma ve relaps konularında sık rastlanan bireysel farkların altında yatan temel etkenlerden biri genetik zemindir. Bu nedenle nikotin bağımlılığının gelişiminde kalıtım yolu ile geçen genetik faktörlerin etkilerinin ortaya çıkartılması kritik önem taşımaktadır. Bağımlılığın genetik modelleri, nikotin bağımlılığına olan genetik yatkınlığın açıklanabilmesinde ve etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde umut vadetmektedir. Ancak literatürde, bağımlılık ile ilişkili ve herediter geçiş gösteren davranışları sergileyen hayvan modellerinin kullanıldığı araştırmalar son derece az bulunmaktadır. Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde nikotin tercih eden (NT) sıçan soyu nesiller boyu üretilmektedir. Bu çalışmamızda, NT sıçan soyu kullanılmıştır. Bu nedenle tez çalışmamızdan elde edeceğimiz veriler nikotin bağımlılığına yönelik yeni tedavi stratejilerinin ya da ilaçların geliştirilmesinde önemli bilgiler sağlayacaktır.

1.2. Araştırmanın Sorusu

Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılan araştırmalarda nikotini sakarine tercih eden ve bu davranışı bir sonraki jenerasyona aktarabilen özel bir sıçan soyu üretilmiştir (Nesil et al., 2015; Nesil, Kanit, Li, & Pogun, 2013). Bu sıçan soyu, kontroller ile karşılaştırıldığında, nikotini anlamlı biçimde daha fazla tüketmektedir. Bu araştırmada ‘Nikotin tercih eden sıçan soyları, naif sıçanlarla karşılaştırıldığında, nikotin yoksunluğu sırasında daha çok anhedoni yaşadıkları için sukrozu daha az tercih edecek midir?’ sorusuna yanıt aranmıştır.

1.3. Araştırmanın Hipotezi

NT sıçan soyları, naif sıçanlara göre nikotin yoksunluğu sırasında daha çok anhedoni yaşadıkları için sukrozu daha az tercih edecektir. Araştırmanın bağımsız değişkenleri; NT soydan gelme, cinsiyet ve nikotin yoksunluğu iken bağımlı değişkenleri; su ya da sukroz tüketim miktarlarıdır.

1.4. Araştırmanın Varsayımları

Çalışmamız sıçanlar üzerine yapılan bir projedir. Çift suluk yöntemi ile sıvı erişimi sağlanmaktadır. Zorlu nikotin uygulamasında tüm sıçanların suluklardan, kan kotinin

düzeylelerini sigara tiryakilerinde bulunan seviyelere çıkartacak miktarda nikotinli su içtiği varsayılmaktadır.

1.5. Araştırmanın Sınırlılıkları

Çalışmamız sıçanlarda yapılan bir araştırma projesidir. Kafeslerde çift suluk yöntemi uygulanmaktadır. Yapılan sukroz tercihi testi (STT) esnasında bu suluklardan su veya sukroz çözeltisi dökülme riski bulunmaktadır. Bu çalışmamız için bir sınırlılık getirmiştir.

Kronik stres, hayvanlarda, depresyon benzeri davranış oluşturmaktadır. Bu davranışın bulgusu anhedonidir. Anhedoni göstergesi için STT çokça kullanılmaktadır (Benelli, Filafferro, Bertolini, & Genedani, 1999; Rygula et al., 2005). Bağımlılık yapıcı madde yoksunluğunda yaşanan anhedoninin ölçümü için de STT kullanılmaktadır (Alkhlaif, Bagdas, Jackson, Park, & Damaj, 2017; Jackson, Toma, Contreras, Alkhlaif, & Damaj, 2019). Ancak nikotin ödül devresini olduğu kadar yeme davranışını da düzenleyebilen bir maddedir. Tez çalışmamızda nikotin yoksunluğunda STT ile gösterilecek olan sukroz tüketimindeki farklılıkların nikotinin yeme davranışı üzerine olan etkileri nedeniyle ortaya çıkması ihtimali bulunmaktadır (Bunney, Burroughs, Hernandez, & LeSage, 2016).

1.6. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada amaç; naif sıçanlarda ve NT sıçan soylarında, bazal durumda ve nikotin yoksunluğunda cinsiyet farkları da göz önüne alınarak STT ile anhedoni düzeyinin araştırılmasıdır. Kronik nikotin uygulamasından sonra geliştirilen nikotin yoksunluğunda STT ile anhedoni ölçümü NT sıçan soylarında literatürde ilk defa uygulanmıştır.

Genel Bilgiler

2.1. Bağımlılık

Alkol ve sigara bağımlılığı dünyada önlenebilir ölüm sebeplerindedir (Feduccia et al., 2012). Türkiye’de 2008 yılında yapılan Küresel Yetişkin Tütün Araştırmasına (Global Adult Tobacco Survey) göre sigara içen bireylerin % 44,8’i son bir yılda sigarayı bırakmaya çalışmış, ancak %15,8’i bunu başarmıştır. Sigarayı bırakanların % 9,3’ü ilaç tedavisi kullanmaktadır (WHO. Global Adult Tobacco Survey, 2008. Turkey Report, Ministry of Health 2010, n.d.). Türk Kardiyoloji Derneği tarafından yapılan Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı (TEKHARF) çalışmasına göre yetişkin erkeklerin %59.4’ü, kadınların ise %18.9’u sigara içmektedir. 2000 yılına ait verilere göre sigara içme prevalansı erkeklerde %11 azalmıştır ancak genç kadınlarda artmıştır (Türk Kardiyoloji Derneği, 2000). Amerika Birleşik Devletleri’nde, 12 yaş ve üstü insanın % 8-10’u (20-22 milyon) alkol veya diğer maddelere bağımlı olmaktadır (Center for Behavioral Health Statistics, n.d.). Son yıllarda araştırmalar, bağımlılığın bir beyin hastalığı olduğunu desteklemektedir. Ödül devrelerinin desensitizasyonu, günlük aktivitelerden haz duymayı azaltmakta ve aktiviteyi sürdürme yönündeki motivasyonu düşürmektedir. Stres yanıtını artırarak bağımlılık yapıcı madde alımındaki isteğin artmasına, alım sonunda tatminsizliğe ve yoksunluk sırasında negatif duygulara sebep olmaktadır. Davranışlarımızın karar verme ve frenleyici kontrolleri ile ilişkili yürütme işlevlerinde işlev gören beyin bölgelerinin zayıflamasına yol açmakta ve bu durum madde kullanımını bırakma çabaları sırasında tekrarlayan nüklere neden olmaktadır (Volkow et al., 2016).

Bağımlılık yapan maddelerin ilk kullanımında, NAc kabuğunda DA salgısı artmaktadır. Bağımlılığı açıklayan hipotezlerden birine göre bu süreç “hoşnutluk” veya “sevmek” şeklinde açıklayabileceğimiz duyguların gelişimine neden olmaktadır. Bağımlılık şartlı öğrenme gelişimi ile devam etmektedir. Çevresel uyaranlar maddenin tüketimi ile eşleştirilmekte ve şartlı öğrenme gerçekleşmektedir. Şartlanmış uyaranlar çevrede bulunduğu anda maddeyi alma yönünde ‘istemek’ durumu oluşmaktadır. Böylece kişi hoşnutluk duygularını tekrar yaşamak için madde tüketimine yönelmektedir. Bu süreç sırasında VTA ile NAc arası DAerjik yolak aktivitesinde artış olmaktadır. Ancak madde

tüketiminde şartlı öğrenme uzun süre tekrarlandığı zaman şartlı davranış alışkanlığına dönüşmektedir [uyaran-yanıt (stimulus-response) tipi öğrenme]. Bu öğrenme tipinde, kişi şartlı uyaranlara maruz kaldığında madde tüketmeyi bir “alışkanlık” haline getirmektedir. Alışkanlık gelişimi ile artık bağımlı kişi maddeyi elde ettiğinde ne hissedeceğini düşünmemekte; sonuçları ne olursa olsun sadece maddeyi elde etmeye ve tüketmeye çalışmaktadır. ‘Sevmek’ durumu sadece ‘istemek’ haline gelmekte ve düşünmeksizin madde tüketimi olmaktadır. Dorsal striatal devrenin, habitüel kompulsif madde kullanımında önemli rol oynadığı ve alışkanlıkları öğrenmede (“habit learning”) DST’nin önemini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Alışkanlık gelişimi sürecinde SN ile DST arasındaki DAerjik yolak aktivitesinde artış olmaktadır (Koob & Volkow, 2010).

Bağımlılığı oluşturan üç aşama bulunmaktadır; aşırı tüketim-intoksikasyon, yoksunluk-negatif duygu ve aşırma-beklentidir. Her aşama, spesifik nörobiyolojik devrelerin aktivasyonu ve bunun sonucunda ortaya çıkan spesifik klinik özellikler ve davranışlar ile karakterizedir. Bağımlılık gelişimi sırasında DA ve glutamaterjik sistemlerinin yanı sıra ‘corticotropin releasing factor’(CRF) ve dinorfin üzerinden gelişen ileti sistemlerinin de rol oynadığı ileri sürülmektedir. 3 evre sonucunda maddeyi deneme durumundan bağımlılığa geçiş olmaktadır (Volkow et al., 2016).

Aşırı Tüketim-İntoksikasyon

Bilinen tüm bağımlılık yapıcı maddeler, DA salgısında şiddetli artışlara neden olarak beyindeki ödül bölgelerini harekete geçirmektedirler. Bu artışlar reseptör seviyesinde, asosiyatif öğrenmeyi (şartlamayı) tetikleyen bir ödül sinyali ortaya çıkartmaktadır (Volkow et al., 2016). Pavlov tipi öğrenme adı verilen bu öğrenme modelinde, tekrarlayan ödül deneyimleri ödül öncesinde var olan çevresel uyaranlar (şartlı uyaran) ile eşleştirilmektedir. Aynı şartlı uyaran ile birlikte ödüle defalarca maruz kalındığında, DA hücreleri ödülün kendisine yanıt vermeyi durdurmakta ve sadece şartlı uyarana yanıt vermeye başlamaktadır. DA hücrelerinin aktivitesindeki bu değişiklik, şartlı uyarana maruz kaldığında, kişinin “ödül beklentisi” durumuna geçmesine neden olmaktadır. Böylece madde kullanımı ile defalarca eşleşen çevresel uyaran, hızlı yükselen DA salgısı ile şartlanmış hale gelmekte; uyaran varlığında madde için aşırma (aşırı istek)

tetiklenmekte, maddeyi arama davranışları ortaya çıkmakta ve sonunda maddenin aşırı tüketimi tetiklenmektedir. Bu şartlı yanıtlar, madde kullanımını bıraktıktan sonra uzun zaman geçmesine rağmen tekrardan kullanma isteği oluşturabilmektedir (Volkow et al., 2016).

Yoksunluk-Negatif Duygu

Klinik ve prelinik çalışmalar, madde bağımlısı hayvanlar ve insanlarda bağımlılık yapıcı maddenin tüketiminin, madde bağımlısı olmayanlarla karşılaştırıldığında, DA seviyelerini daha az yükselttiğini göstermektedir (Volkow et al., 2016).

Azalmış DA salgısı, bağımlılık yapıcı madde veya diğer ödülleri ile uyarılmanın azalmasına sebep olmaktadır. Bu yüzden bağımlılık yapıcı madde kullanılmaya ilk başlandığında büyük bir öfori duygusuna neden olurken, bağımlılık geliştikten sonra madde kullanımı ile yaşanan öfori azalmaktadır. Madde kullanımı ile duygu-durumu artık hemen değişmemekte ve madde yeterli gelmemektedir (Volkow et al., 2016).

Bağımlılık yapıcı maddelerin DA salgısını arttırıcı etkilerine defalarca maruz kalındığında amigdala içindeki nöral devrelerde de bazı adaptasyonel değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bu adaptif değişiklikler kişinin stres reaktivitesini arttırmakta ve anti-ödül devresini tetikleyerek negatif duyguların oluşmasına neden olmaktadır. Anti-ödül devresi ve stres yanıtı özellikle maddenin kullanılmadığı yoksunluk sırasında aktive olmakta; disforik bir duygu-durumun gelişimi ile sonuçlanmaktadır. Anti-ödül ve stres devresinde görev alan nörotransmitterler CRF ve dinorfindir. Bu evrede DA hücrelerinde azalmış reaktivite söz konusudur. Bağımlı bireyler, başlangıçta haz almak için maddeyi kullanırken bağımlılığın gelişimi ile beraber yoksunluk sırasında yaşanan disforiden kurtulmak adına maddeyi tüketmektedirler. Ancak, madde tüketildiğinde disfori geçici bir süre için durur; yaşanan zevk de eskisinden daha az olmaktadır. Madde tüketimi tekrar ettikçe yoksunlukta yaşanan stres ve disfori artmaktadır. Böylece bir kısır döngü ortaya çıkmaktadır. Yoksunluk aşamasında; duygu ile ilgili beyin bölgeleri aktive olmakta bu da negatif duygudurum ile sonuçlanmakta ve strese karşı hassasiyeti artmaktadır (Volkow et al., 2016).

Aşerme-Beklenti

PFC’de DAerjik sinyalizasyondaki azalma ve glutamerjik sinyalizasyondaki nöroplastik değişimlerden dolayı ödöl mekanizması bozulmaktadır. Bu değişikliklerin sonucu olarak kendi davranışını düzenleme, karar verme, sergilenecek davranışı seçme ve davranışa başlamada esneklik gibi yönetici işlevler bozulmaktadır. Prefrontal alandaki ödöl ve duygusal devrelerin düzenlenmesi glutamaterjik sinyalizasyonda meydana gelen nöroplastik değişiklikler nedeniyle aksamaktadır. Bağımlı olan kişilerde, beyin prefrontal bölgelerinde DA ve glutamat üzerinden gelişen sinyalizasyondaki bozulma, güçlü dürtülere karşı koyma veya madde kullanımını bırakma kararını zayıflatmaktadır. Bu durum, maddeyi bırakmak konusundaki isteğe rağmen bırakmayı başarmadaki zorlanmayı açıklamaktadır. Prefrontal düzenleyici devrelerdeki değişiklikler ile birlikte ödöl ve duygusal yanıtları düzenleyen devrelerdeki değişiklikler, kompülsif davranışın kademeli şekilde gelişimine ve madde alımının irade gücüyle azaltılamamasına neden olmaktadır. Beklenti aşamasında; PFC’deki fonksiyonda azalma, madde isteğinde denge kuramamaya sebep olmaktadır. Bağımlılıkta relaplara ve maddeye yeniden başlamaya sebep olmaktadır (Volkow et al., 2016).

2.1.1. Nikotin Bağımlılığı

Nikotin bağımlılığı, hem nikotin kullanımı sırasında yaşanan pozitif pekiştirici ve hedonik etkilere hem de yoksunluk sırasında ortaya çıkan negatif afekte dayanmaktadır (Kenny & Markou, 2001). İnsanda, nikotin kullanımı sırasında ortaya çıkan pozitif pekiştirici etkiler arasında hafif öfori, enerji ve uyanıklığın artışı, stres ve anksiyetenin azalması bulunmaktadır (S. Watkins, George F. Koob, Athina, Koob, & Markou, 2000). Yoksunluk sırasında yaşanan negatif afektif durumların en başında artmış anksiyete ve anhedoni gelmektedir. Bağımlı bireyler yoksunlukta oluşan negatif afektif bulguları ortadan kaldırmak veya onlardan kaçınmak için tütün kullanımını devam ettirmektedir (Cook et al., 2015).

Nikotin bağımlılığı, hem genetik hem de çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Kalıtım, bağımlılığı tanımlamak için kullanılan parametrelere ve ele alınan topluluğa bağlı olarak bağımlılık riskine % 50-75 oranda katkıda bulunmaktadır. Nikotin bağımlılığı için risk faktörleri, halka dizisi ve aday gen analizleri gibi genetik yöntemler ayrıca genom

çapında ilişkilendirme çalışmaları (genome-wide association studies) kullanılarak değerlendirilmektedir (McLaughlin, Dani, & De Biasi, 2015).

2.1.2. Nikotin Yoksunluğu

İnsanlarda görülen nikotin yoksunluğu belirtileri için; Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-DSM-5), nikotin yoksunluğuna dair 7 temel semptom belirtmiştir: Sinirlilik / öfke, anksiyete, moral bozukluğu, konsantre olma zorluğu, iştah artışı, uykusuzluk ve huzursuzluktur. Bunlara ek olarak kabızlık, baş dönmesi, mide bulantısı ve boğaz ağrısı da görülebilmektedir. Nikotin yoksunluğu belirtileri duygusal, somatik ve bilişsel olarak sınıflandırılmaktadır. Duygusal semptomlar içerisinde kaygı, anhedoni, depresyon ve sinirlilik bulunmaktadır. Titreme, bradikardi, gastrointestinal rahatsızlıklar ve iştah artışı; somatik semptomlar olarak görülürken, konsantre olmakta zorluk ve bellek bozukluğu da bilişsel semptomları oluşturur. Belirli nAChR'leri üzerinden sinyalizasyon değişiklikleri yoksunluk semptomlarını ortaya çıkartmaktadır (De Biasi & Dani, 2011).

$\alpha 7$ ve $\alpha 4\beta 2$ nAChR'leri, hipokampustaki GABAerjik internöronlarında ve piramidal hücrelerde eksprese edilmektedir. Amigdala, hafıza ve kodlamada, önemli rol oynamaktadır. Duyuları entegre etmekte, bilişsel bilgide diğer limbik yapılardan olan korteks, hipokampus ve talamus ile bağlantısı bulunmaktadır. Bu sistemde özellikle madde yoksunluğunda etkisi bulunan bir bölgedir. Amigdala aynı zamanda stres ve ödülle ilişkili davranışlarda, PFC ve NAc ile olan bağlantıları üzerinden etkili olmaktadır (Feduccia et al., 2012).

Kronik nikotin kullanımından sonra, nikotinin alınmaması yoksunluk sendromu oluşturmaktadır. Bu yoksunluk sendromuna ait bulgular nikotin replasmanı yapıldığında hafiflemektedir. Somatik yoksunluk sendromu, epitalamik habenüler kompleksi ve hedeflerini içeren $\alpha 5$, $\alpha 2$ ve $\beta 4$ nikotinik alt birimlere bağlı olmaktadır. Son çalışmalar, nikotin ile uyarılmış ödül yanıtının, bağımlılığın ve yoksunluğun nöral sistemlerde yaygın olarak eksprese edilen çok çeşitli nAChR alt gruplarını içerdiğini göstermiştir (De Biasi & Dani, 2011).

KO farelerde yapılan çalışmalar sonucunda nAChR'leri alt tiplerinin nikotin yoksunluğundaki rollerine bakılmıştır. Buna göre nAChR'lerinden $\alpha 6$ alt tipinin, nikotin yoksunluğunda önemli rol oynadığı görülmektedir. Nikotin uygulamasının ardından NAc'daki DA salgısı; DST ve ventral striatumdaki DAerjik terminallerdeki $\alpha 6$ içeren nAChR'ler ve VTA'daki DAerjik somata ile düzenlenmektedir. $\beta 2$ KO fareleri, kontrol fareleri ile karşılaştırıldığında, nikotin yoksunluğunda somatik belirtiler ve hiperaljezi belirtileri sergilemiştir. Ancak KO fareler, kronik nikotin uygulaması sonrası yoksunlukta, stresle ilişkili davranışları sergilememiştir. Bu sonuçlara göre $\beta 2$ nAChR alt ünitelerinin yoksunluk sırasında etkisi daha çok afektif olup somatik bulgulara katkı vermemektedir. $\alpha 6\beta 2$ nAChR alt tipi VTA ve ventral striatumda eksprese edilir ve bağımlılık ve ödülle ilişkilidir. $\alpha 6\beta 2$ nAChR alt tipi nikotin yoksunluğu sırasında yaşanan afektif semptomların tedavisinde bir hedef olabilir (McLaughlin et al., 2015).

2.2. Anhedoni

Nikotin yoksunluğunun neden olduğu anhedoni, insanlarda tütün kullanımını ve sigara bırakma oranlarını etkileyen önemli bir bulgudur (Alkhlaif et al., 2017). Anhedoni, daha önce hoşça giden aktivitelerin artık zevk vermemesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Anhedonisi olan ama klinik depresyon tanısı olmayan hastaların, anhedonik olmayan depresyonlu hastaların veya farklı anhedoni seviyelerine sahip olan depresyonlu hastaların incelendiği çok sayıda araştırma anhedoninin şiddetinin, ventral striatumda aktivite eksikliği ve PFC'in ventral bölgesinde (ventromedial PFC ve orbitofrontal korteks) aktivite fazlalığı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu araştırmalar anhedoni gelişiminde DA'nin çok temel bir rol oynadığına işaret etmektedir (Gorwood, 2008).

Nörofarmakolojik ve nöroanatomik yaklaşımları beraber kullanan araştırmalar, şartsız (birincil) ödüllerin NAc'in kabuğunda DA salgısını artırırken, şartlı (ikincil) ödüllerin NAc'in çekirdeğinde ve mPFC'de DA salgısını artırdığını göstermektedir. Major depresif bozukluktaki (MDB) anhedoninin gelişimine bu iki yanıtta bozukluk katkı veriyor olabilir. DA ödül etkisinde tek başına rol oynamıyor olabilir. Opioid reseptörlerin de bu mekanizmada yer aldığı ileri sürülmektedir. NAc'da bulunan opioid reseptör antagonistleri ödül davranışını azaltmakta ve çeşitli ödülleri ile NAc kabuğunda

uyarılan DA salgısını bloke etmektedir. Bu etkileri nedeniyle opioidergik ileti bozuklukları da anhedoni gelişiminde rol oynayabilir (Gorwood, 2008).

Hayvan modelleri, nikotin yoksunluğu sırasında ödül etkisi yaratan uyaranlara verilen yanıtın azalmasının altında yatan nörobiyolojik faktörleri araştırmaya ve nikotin bağımlılığı için ilaç geliştirmeye olanak tanımaktadır. Anhedoni, hayvanlarda, sıklıkla, ICSS ve sukroz tercihi testi (STT) ile ölçülmektedir. Kronik nikotin uygulamasının ardından geliştirilen nikotin yoksunluğu, ICSS düzeneğinde, beyinde ödül etkisi yaratan elektrik uyaranları elde etmek için verilen operan yanıtları azaltmaktadır (Johnson et al., 2008). Benzer şekilde, nikotin yoksunluğu sırasında sukroz tercihinin de azaldığı gösterilmiştir (Alkhlaif et al., 2017).

Stres veya madde bağımlılığı nedeniyle gelişen STT'ndeki değişiklikler, VTA'dan NAc'a uzanan DAerjik nöronların, ödül yolundaki adaptasyon eksikliklerinden kaynaklanabilir. NAc'deki cAMP yanıt elemanı bağlayıcı protein aktivitesindeki değişiklikler, sukroz tercihinin temelini oluşturmaktadır (Eagle, Mazei-Robison, & Robison, 2016).

MDB'unda, singulat girus, ventrolateral PFC, amigdala, anterior insula, ventral striatum ve talamus, aktivitelerinde artış gözlenirken dorsomedial ve dorsolateral PFC aktivitesinde bir azalma gözlenmektedir. Bu aktivitelerdeki değişiklikler MDB tedavisi ile tersine dönmektedir. Bu değişiklikler hem olumlu hem de olumsuz duygularla ilişkilidir ve bu nedenle hoş duyguları hissetmek için spesifik değildir; bu da anhedoniyi işaret etmektedir. Ventral striatal aktivasyonun en az olduğu hastalar, ilgi ve hazzı en az gösterenlerdir. MDB'da anhedonik semptom beynin ödüllendirme sistemi ve DAerjik sistem ile ilişkili görünmektedir. MDB'da, NAc'in anhedonideki rolü yaygın olarak kabul edilmektedir ki 3 major depresif hastaya anhedoniyi azaltmak için beyin stimülasyonu önerilmiştir. Anhedoni şiddeti ile VMPFC aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Depresif bireylerde, hoş uyaranlara verilen yanıt VMPFC artış yanıtı ile de ilişkilendirilmiştir. MDB'li ve anhedoni düzeyi değişken bireylerde yapılan bir çalışmada, mutluluk veren uyaranlara olan yanıtlar ile VMPFC'nin aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Anhedonik depresif hastalarda görülen artmış VMPFC

aktivitesi, mutluluk durumuna geçmek için yapılan başarısız girişimlerde, mutluluğa ulaşmaya yaklaşımadan kaynaklanmaktadır (Gorwood, 2008).



Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, *in vivo* deneysel bir araştırma olarak 2019'da Şubat-Haziran ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Araştırma, Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinin Fizyoloji Anabilim Dalındaki odasında yapılmıştır. Çalışmanın evreninde, erişkin, 200-500 g arası değişen Sprague Dawley cinsi dişi ve erkek sıçanlar kullanılmıştır (EK 8.1, EK 8.2). Veri örnekleme için; 24 adet naif Sprague-Dawley cinsi erkek/ dişi sıçan, 24 adet NT Sprague-Dawley cinsi erkek/ dişi olmak üzere toplam 48 adet sıçan kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan deney hayvanları, Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden sağlanmıştır. Sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır.

Grup 1: Naif erkek sıçan (n = 12).

Grup 2: Naif dişi sıçan (n = 12).

Grup 3: Nikotin tercih eden erkek (NTE) (n = 12).

Grup 4: Nikotin tercih eden dişi (NTD) (n = 12).

Çalışmanın bağımsız değişkenleri; soy (naif / NT soydan gelme), cinsiyet ve nikotin yoksunluğu iken bağımlı değişkenleri; su ve sukroz sıvı tüketim miktarlarıdır.

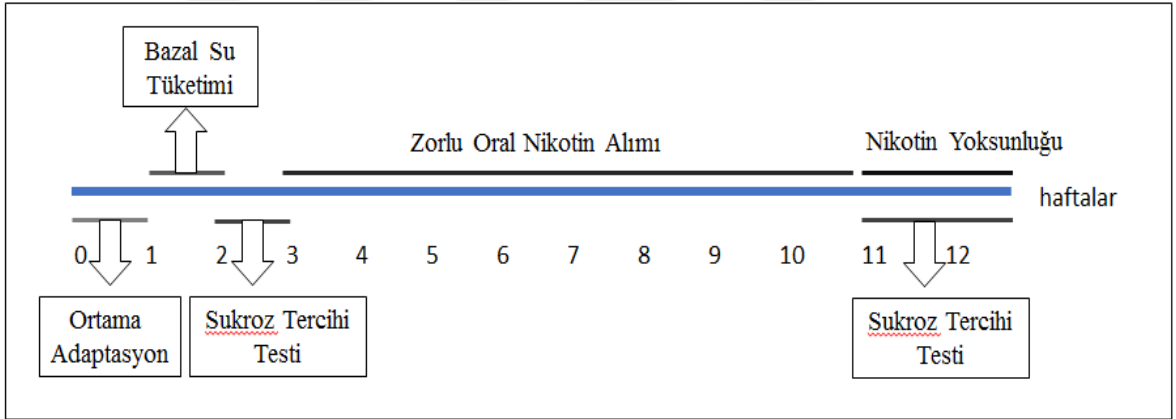
3.1. Araştırma Planı

Deneysel iki aşamalı planlanmıştır. Naif Dişi + Naif Erkek + NTD + NTE grupları oluşturulup önce bazal durumdaki sukroz tercihleri 7 gün ölçülmüştür. İkinci aşamada aynı deney hayvanlarına kronik oral zorlu nikotin verilmiştir. 8 haftalık zorlu nikotin uygulamasından sonra nikotin kesilerek nikotin yoksunluğu oluşturulmuştur. Son aşamada nikotin yoksunluğunda sukroz tercihlerine bakılmıştır. Böylece aynı deney hayvanları iki ayrı aşamada kullanılmış ve kendileriyle kıyaslanabilmiştir. Deney hayvanlarının kendi kontrolü olarak kullanılmasıyla çalışmada kullanılan hayvan sayısı gerekenin yarısı olarak gerçekleşmiştir.

Sukroz ve su tüketim miktarları şişenin nihai ağırlığının başlangıç ağırlığından çıkartılmasıyla hesaplanmıştır (1 g = 1 ml su olarak alınmıştır) (Fodor et al., 2012).

Deney hayvanları, çalışma merkezine geldikten sonra her kafeste üç sıçan olacak şekilde yerleştirilmiş ve sıçanların 1 hafta süreyle ortama ve birbirlerine adaptasyonu sağlanmıştır. Ardından sıçanlar her kafeste tek sıçan olacak şekilde kafeslere alınmış ve bazal su tüketimleri kaydedilmiştir. Böylece deney başlamadan önce her sıçanın ortalama su tüketimleri belirlenmiş ve deney sırasında sıçan sağlığı açısından bu ölçümler göz önünde tutulmuştur.

Zorlu nikotin uygulamasından önce bazal şartlarda ve zorlu nikotin uygulamasından sonra nikotin yoksunluğunda yapılan STT'nde sıçanlar kafeslerde tek olarak kalmaya devam etmiş, biri su diğeri sukroz içeren iki suluk tartılarak tüketilen su ve sukroz miktarları ölçülmüştür. Bazal STT sonrası sıçanlar her kafeste üç sıçan olacak şekilde ve sadece nikotin içeren sulukların olduğu kafeslerde zorlu nikotin uygulamasına geçmiştir (Şekil 3-1).



Şekil 3-1. Araştırma Planı

3.2. Deney Hayvanları

Çalışmada, erişkin, 200-500 g arası değişen Sprague Dawley cinsi dişi ve erkek sıçan kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan deney hayvanları, Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden sağlanmıştır. 12 adet dişi, 12 adet erkek naif Sprague- Dawley sıçan ve 12 adet dişi, 12 adet erkek NT Sprague-Dawley sıçan kullanılmıştır.

Sıçanlar, ortama adaptasyon ve zorlu nikotin uygulaması aşamalarında her kafeste üç sıçan olacak şekilde, STT esnasında ise her kafeste bir sıçan olacak şekilde yerleştirilmiştir. Tekli kafesleme her sıçanın tükettiği su ve sukroz miktarları dolayısıyla sukroz tercihleri belirlenmek için zorunludur.

Deney hayvanlarının 1 haftalık ortama adaptasyon sürecinde üçlü kafeslerde iki sulukta serbest su erişimi vardır. STT süresince sıçanlar tekli olarak kafeslere yerleştirilmiş ve kafeslerde bir sulukta su ve bir sulukta sukroz çözeltisi olacak şekilde su ve sukroza erişim sağlanmıştır. Sıçanlara STT boyunca her gün, zorlu oral nikotin uygulaması boyunca haftada bir ağırlık kontrolü yapılmıştır.

Sıçanlar tüm çalışma boyunca 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık (07.00–19.00 saatleri arasında aydınlık) siklusunda sıcaklık 22 ± 2 °C'de ve sabit nem altında tutulmuştur. Ad libitum beslenmişler ve çalışma gereği dönemine göre musluk suyu, sukroz ya da nikotinli suya devamlı erişimleri olmuştur.

Çalışma protokolü Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulunca onaylanmış olup deney hayvanlarının maruz bırakıldıkları tüm işlemler Avrupa Birliği Konseyi Direktifleri (86/609/EEC) ile uyumludur.

Nikotin Tercih Eden Sıçan Soyları

Sigaraya başlama, bağımlı hale gelme ve sigarayı bırakabilme açısından kalıtsal özelliklerin önemli olduğu pek çok yayında ileri sürülmektedir. Sigara içmeye başlama ve içmenin devam etmesi, yoksunluk semptomları ve içmeyi bırakma başarısı açısından insanlar arasında gözlenen çeşitlilik kalıtsal faktörlere dayandırılmaktadır. Literatürde özel yetiştirilmiş ve nikotin bağımlılığı davranışı sergileyen soy hayvanlar üzerinde

yapılan araştırma sayısı azdır ve tamamı Ege üniversitesi kaynaklıdır. Madde veya alkol tüketiminin genetik etkilerini görmek için alkol tercih eden (Deehan et al., 2018), kokain tercih eden (Xu et al., 2017) sıçan soyları kullanan çalışmalar daha çok bulunmaktadır.

Selektif hayvan üretimi kompleks kalıtsal özelliklerin genetik modellerini oluşturmak için oldukça yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Carlson & Perez, 1997; He et al., 2008). NT genetik özelliğin jenerasyonlar boyu seçilmesi ile elde edilen bu hayvanlar, kurguladığımız hipoteze göre nikotin kullanımı sırasında ilacın pekiştirici-ödüllendirici etkilerine, nikotin yoksunluğunda ise yoksunluğun yaratacağı negatif etkilere karşı artmış duyarlılığa sahip olacaklardır. Bu durumun hayvan soylarımızda nikotin bağımlılığının ve nikotin alımının yüksek olmasını sağladığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda seçici tohumlama yöntemi ile oluşturulan NT sıçan soyu kullanılmıştır. Ege Üniversitesi, Laboratuvar Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde Sprague Dawley cinsi dişi ve erkek sıçanlardan seçici tohumlama yöntemi ile NT sıçan soyları oluşturulmuştur. Yöntemde sıçanlar nikotin tercihlerinin saptanacağı dönemde 6 hafta boyunca tekli kafeslere alınmışlardır. Tekli kafeslerde çift suluk yöntemi ile biri sakkarin ile tadlandırılmış nikotinli su (ilk 2 hafta 10 mg /L sonraki 4 hafta 20 mg / L nicotin base ve 10 mg /L sakkarin) diğeri sakarinli su (10 mg / L) olmak üzere sıçanların oral nikotin tercihi saptanmıştır. Bu sıçanların tükettikleri sıvı miktarları haftalık olarak saptanmıştır. 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 (kaçınan) sıçan soyları üretilmiştir. Çalışmamızda, hala devam eden seçici tohumlama yönteminin 22. soyuna ait sıçanlardan 24 adet maksimum NT Sprague-Dawley cinsi erkek ve dişi sıçan

kullanılmıştır (Nesil, Kanit, Collins, & Pogun, 2011; Nesil et al., 2013; Nesil et al., 2015).

3.3. Sukroz Tercih Testi (STT)

Nikotin yoksunluğunda sıçanlarda pozitif afektif uyarılara cevap vermedeki azalmayı araştırmak için STT kullanılmaktadır (Thompson & Grant, 1971). Anhedoni parametresi olarak STT değerlendirilmesinde sukroz tercihi ve tüketimi kullanılabilir (Willner, Towell, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987; Willner et al., 1994; Alkhlaif et al., 2017).

STT’de sıçanların suluklarından birinde çeşme suyu diğerinden ise % 1 sukroz çözümü (Hakim & Keay, 2019) kullanılmıştır (Şekil 3-2). Şişenin nihai ağırlığının başlangıç ağırlığından çıkartılmasıyla sıvı tüketimi ölçülmüştür (1 g = 1 ml su olarak alınmıştır) (Fodor et al., 2012). Sulukların yerleri, tercihi etkilememesi için günlük değiştirilmiştir. Bazal sukroz ve su tüketimleri, 7 gün boyunca günde bir kez ölçülerek günlük olarak saptanmıştır. Suluklar her gün saat 9.45’te çekilmiştir ve tartım saat 10.00’da yapılmıştır.

Günlük su tüketimi: $[(\text{günlük su ağırlığı} / \text{günlük sıçan ağırlığı}) \times 1000]$

Günlük sukroz tüketim: $[(\text{günlük sukroz ağırlığı} / \text{günlük sıçan ağırlığı}) \times 1000]$

% sukroz tercihi: $[(\text{günlük net sukroz tüketimi} / \text{günlük sukroz tüketimi} + \text{su tüketimi}) \times 100]$ (Pothion, Bizot, Trovero, & Belzung, 2004) formülüyle hesaplanmıştır.



Şekil 3-2. Sukroz Tercih Testi. Tekli kafes, yıldızlı suluklarda sukroz çözeltisi yıldızsızlarda ise musluk suyu bulunmaktadır.

İkinci aşamada 8 haftalık zorlu oral nikotin uygulamasının ardından oluşturulan nikotin yoksunluğunda sıçanlara 10 günlük (Alkhlaif et al., 2017) STT uygulanmıştır. İlk gün nikotinli suların uzaklaştırılmasından hemen sonra sukroz ve su şişeleri kafeslere yerleştirilmiştir. Bu işlem saat 10.30 da yapılmıştır. Birinci gün 1.-2.-4. ve 6. saatlerde su ve sukroz şişeleri tartılarak, sukroz tüketimleri ve % sukroz tercihleri hesaplanmıştır. Diğer günler ise her sabah saat 10.30'da olmak üzere günde bir kez şişe tartımları yapılmıştır. STT sırasında sıçanlarda günlük olarak tartılmışlardır.

3.4. Zorlu Oral Nikotin Uygulaması

İlk aşamada sıçanların sukroz tercihleri tespit edildikten sonra sıçanlar tekrar her kafeste üç sıçan olacak şekilde kafeslenip zorlu nikotin uygulamasına geçilmiştir (Şekil 3-3). Bu uygulama sırasında da kafeslere 2 suluk yerleştirilmiştir. Çünkü hem sıçanların daha önce alıştıkları gibi kafeste 2 suluk bulunması istenmiş, hem de nikotinli suya ulaşmak için yarışa girmelerinin önüne geçilmeye çalışılmıştır. Bu uygulamanın 1. haftasında sıçanların içme suyuna % 0.2 sakarin ile 25 mikrogram/ml nikotin (serbest baz) eklenmiştir. Sakarin, nikotinin acı tadını hafifletmek için kullanılmıştır. İkinci haftada, 3 gün boyunca, % 0.2 sakarinle birlikte nikotin dozu 50 mikrogram/ml'ye çıkartılmıştır. Kalan 4 gün boyunca ise ödül yapıcı etkisini ortadan kaldırmak için sakarin dozu % 0.1'e düşürülmüştür. Üçüncü haftadan itibaren sekizinci haftaya kadar içme suyuna 50 mikrogram/ml olacak şekilde sadece nikotin eklenmiştir. Zorlu oral nikotin uygulaması toplamda 8 hafta boyunca uygulanmıştır. Yem erişiminde herhangi bir sınırlama yapılmamıştır.



Şekil 3-3. Zorlu Oral Nikotin Uygulaması. Üçlü kafes. Çift suluklu oral nikotin uygulaması

3.5. Serumda Kotinin Tayini

Nikotin vücutta hızlı bir şekilde metaboliti kotinine parçalanmaktadır. Plazma kotinin konsantrasyonu, sıçanların nikotini tüketip tüketmediklerini göstermektedir. Nikotin tüketmeme, genellikle 10 ng / mL'ye eşit veya daha az bir serum kotinin seviyesi olarak tanımlanmaktadır ("Biomonitoring Summary | CDC," n.d.). Çalışmamızda nikotinin tüketimini kanıtlamak amacıyla kotinin düzeylerine bakılmıştır.

Zorlu oral nikotin uygulamasının 6. haftasında sıçanlara intraperitoneal ketamin ve ksilazin uygulanarak anestezi yapılmıştır. Arka bacakları tıraş edilerek alkolle silinmiş ve safen ven hasarlanarak elde edilen kandamları test tüplerine alınmıştır. Sonrasında işlem gören bölge, bir antiseptik solüsyon ile temizlenip kapatılmıştır. Elde edilen kanların pıhtılaşması için 30 dakika beklenmiştir. Ardından soğuk santrifüjde 2000 RCF'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve serum elde edilmiştir. Serumlar toplanıp -80 derecede depolanmıştır. Kotinin tayini ELISA kiti ile yapılmıştır. Her sıçan grubundan 2 sıçan randomize seçilip toplam 8 sıçanda kan kotinin tayini yapılmıştır.

3.6. İstatiksel Yöntemler

Bu deneylerdeki ham veriler, sıçanların içtiği su ve sukroz içeren şişelerin ağırlık ölçümlerinden elde edilmiştir. Biri su diğeri de sukroz içeren suluklar tartılarak elde edilen su ve sukroz miktarları sıçan ağırlığına göre hesaplanarak, kg başına tüketilen su ve sukroz miktarları saptanmıştır. NT sıçanlar daha düşük ağırlığa sahiptir, farklı ağırlıktaki hayvanların sıvı gereksinimleri ve tüketimleri farklıdır. Bu nedenle bazal ve nikotin yoksunluğunda sıvı tüketimleri kg başına tüketilen su ve sukroz miktarı hesaplanarak incelenmiştir

Elde edilen verilerin istatiksel analizleri için SPSS (v20.0) programı kullanılmıştır. Tekrarlayan veriler için ANOVA testi uygulanmıştır. Nikotin yoksunluğu, soy, gün ve cinsiyet bağımsız faktör, su, sukroz tüketimleri ve sukroz tercihleri ise bağımlı değişken olarak seçilmiştir. Gruplar arası farkı göstermek için tek yönlü ANOVA uygulanmış, grup farkı anlamlı olduğunda post hoc Duncan testi de yapılmıştır.

3.7. Araştırmanın Limitleri

Çalışmamızda hayvan kafeslerinde çift suluk yöntemi uygulanmıştır. Yapılan STT esnasında bu suluklardan su veya sukroz çözeltilisinin dökölme olasılığı bulunmaktadır. Nikotini zorlayarak verdiğimiz standart dozda sıçanların bireysel farklılıkları nedeniyle farklı düzeyde etkilenebilecekleri düşünölmüştür. Bu durum özellikle kontrol grubu için daha önemlidir. Çünkü NT grubunda genetik heterojenite daha azdır. Ama isteğe bağlı olarak farklı dozda nikotin alımı sonuçlarımızın tartışılmasını daha zor hale getireceğinden zorlu uygulama tercih edilmiştir.



Bulgular

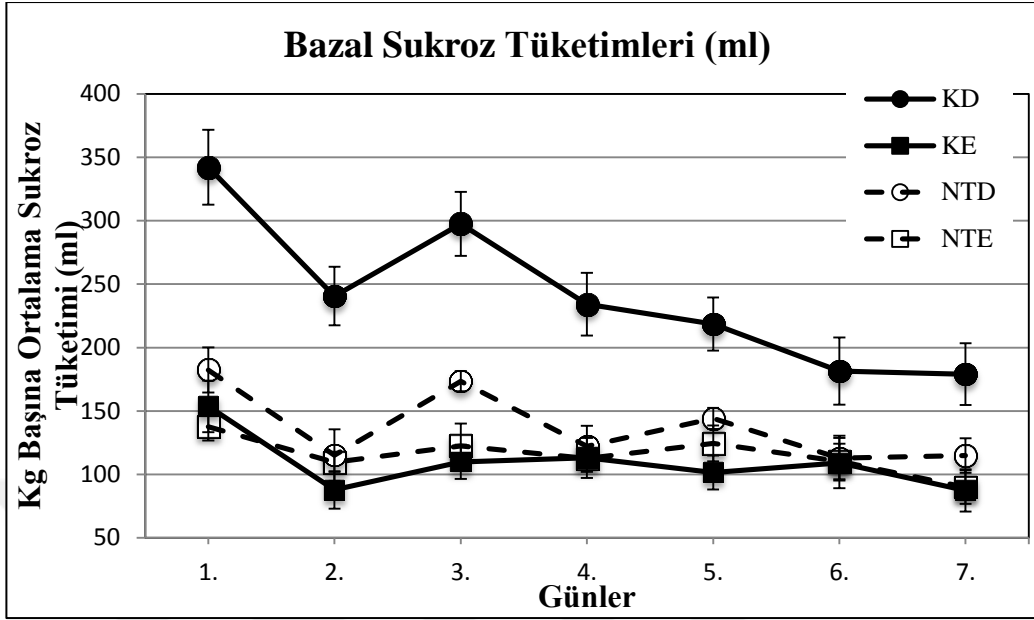
4.1. Sıçanların Sukroz Tüketimleri

Biri su diğeri de sukroz içeren suluklar tartılarak elde edilen STT verilerinden sukroz içeren şişelerden içilen sukroz miktarları sıçan ağırlığına göre düzeltilerek kg başına tüketilen sukroz miktarı hesaplanmıştır. NT sıçanlar daha düşük ağırlığa sahiptir, farklı ağırlıktaki hayvanların sıvı gereksinimleri ve tüketimleri farklı olacaktır. Bu nedenle bazal ve nikotin yoksunluğunda sukroz tüketimleri kg başına tüketilen sukroz miktarı hesaplanarak incelenmiştir.

4.1.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Sukroz Tüketimleri

Nikotin uygulamasından önce kg başına tüketilen sukroz verileri gün, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiş; günler ($F_{(1,43)} = 9,216$, $p < 0,001$) anlamlı bulunmuş ve cinsiyet ile gün arasında ($F_{(1,43)} = 2,644$, $p = 0,31$) etkileşim olduğu saptanmıştır. Faktörler arası etkileşimlere göre soy ($F_{(1,43)} = 17,496$, $p < 0,001$) ve cinsiyet ($F_{(1,43)} = 50,419$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açmış ve cinsiyet ile soy arasında ($F_{(1,43)} = 22,553$, $p < 0,001$) etkileşim olduğu saptanmıştır.

Posthoc Duncan's test uygulandığında ise KD'lerin diğer tüm gruplardan daha fazla sukroz tükettiği saptanmıştır. KD'ler diğer gruplardan daha fazla sukroz tüketmiş ancak KD'lerin sukroz tüketimi günlerle azalmıştır. KD'lerin sukroz tüketimlerinin KE'lerden farklı olduğu bulunurken NT sıçanlarda böyle bir cinsiyet farkının olmadığı bulunmuştur (Grafik 4-1).

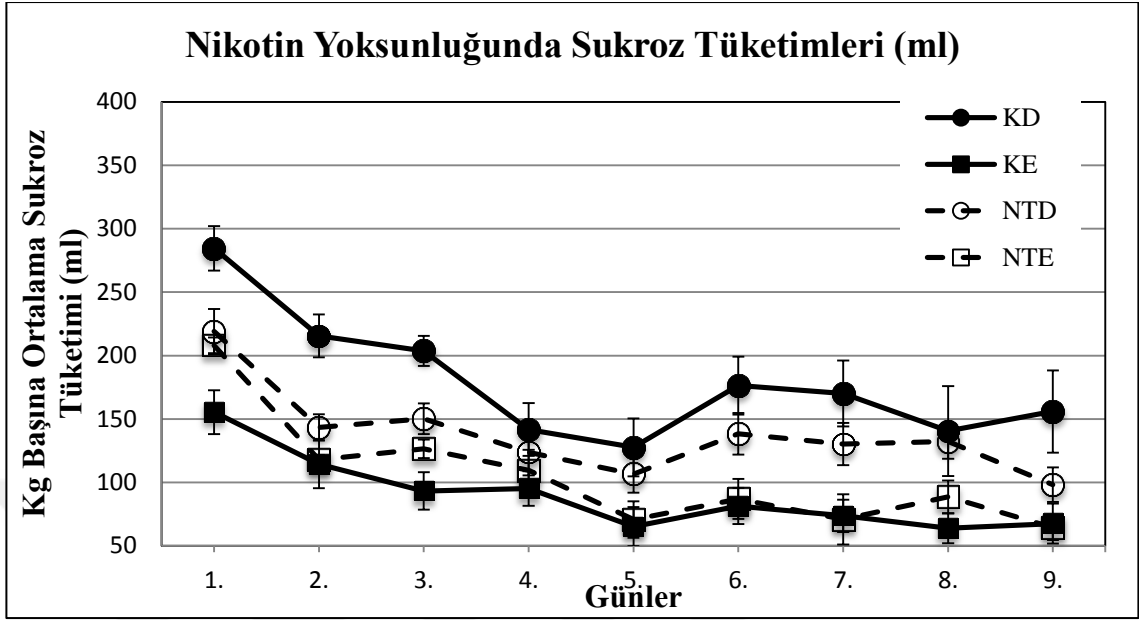


Grafik 4-1. Sıçanların Bazal Sukroz Tüketimleri.

Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre, günler ($F_{(1,43)} = 9,216$, $p < 0,001$) anlamlı bulunmuş ve cinsiyet ile gün arasında ($F_{(1,43)} = 2.644$, $p = 0.31$), etkileşim olduğu saptanmıştır. Faktörler arası etkileşimlere göre soy ($F_{(1,43)} = 17,496$, $p < 0,001$) ve cinsiyet ($F_{(1,43)} = 50,419$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açmış ve cinsiyet ile soy arasında ($F_{(1,43)} = 22,553$, $p < 0,001$) etkileşim olduğu saptanmıştır.

4.1.2. Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tüketimleri

Nikotin yoksunluğunda kg başına tüketilen sukroz verileri gün, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Günler ($F_{(1,45)} = 17,396$, $p < 0,001$) ve cinsiyet ($F_{(1,45)} = 37,125$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açmış cinsiyet ile soy arasında ($F_{(1,45)} = 6,794$, $p = 0,013$) bir etkileşim olduğu bulunmuştur. Posthoc Duncan's test uygulandığında erkekler dişilerden daha az sukroz tüketmişler. KD'ler diğer erkek gruplarından ve NTD'lerden daha fazla sukroz tüketmişlerdir (Grafik 4-2).



Grafik 4-2. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tüketimleri.

Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre, günler ($F_{(1,45)} = 17,396$, $p < 0,001$) ve cinsiyet ($F_{(1,45)} = 37,125$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açmış ve cinsiyet ile soy arasında ($F_{(1,45)} = 6,794$, $p = 0,013$) bir etkileşim olduğu bulunmuştur.

4.1.3 Bazal ve Yoksunlukta Sıçanların Sukroz Tüketimlerinin Karşılaştırılması

Bazal tüketilen sukroz miktarı ile nikotin yoksunluğu sırasında tüketilen sukroz miktarı verileri karşılaştırmasında kg başına tüketilen sukroz verileri gün, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Günler ($F_{(7,85)} = 40,362$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açmış, günler ile yoksunluk arasında ($F_{(7,85)} = 5,227$, $p < 0,001$) etkileşim bulunmuştur ve günler ile soy arasında etkileşim bulunmamıştır.

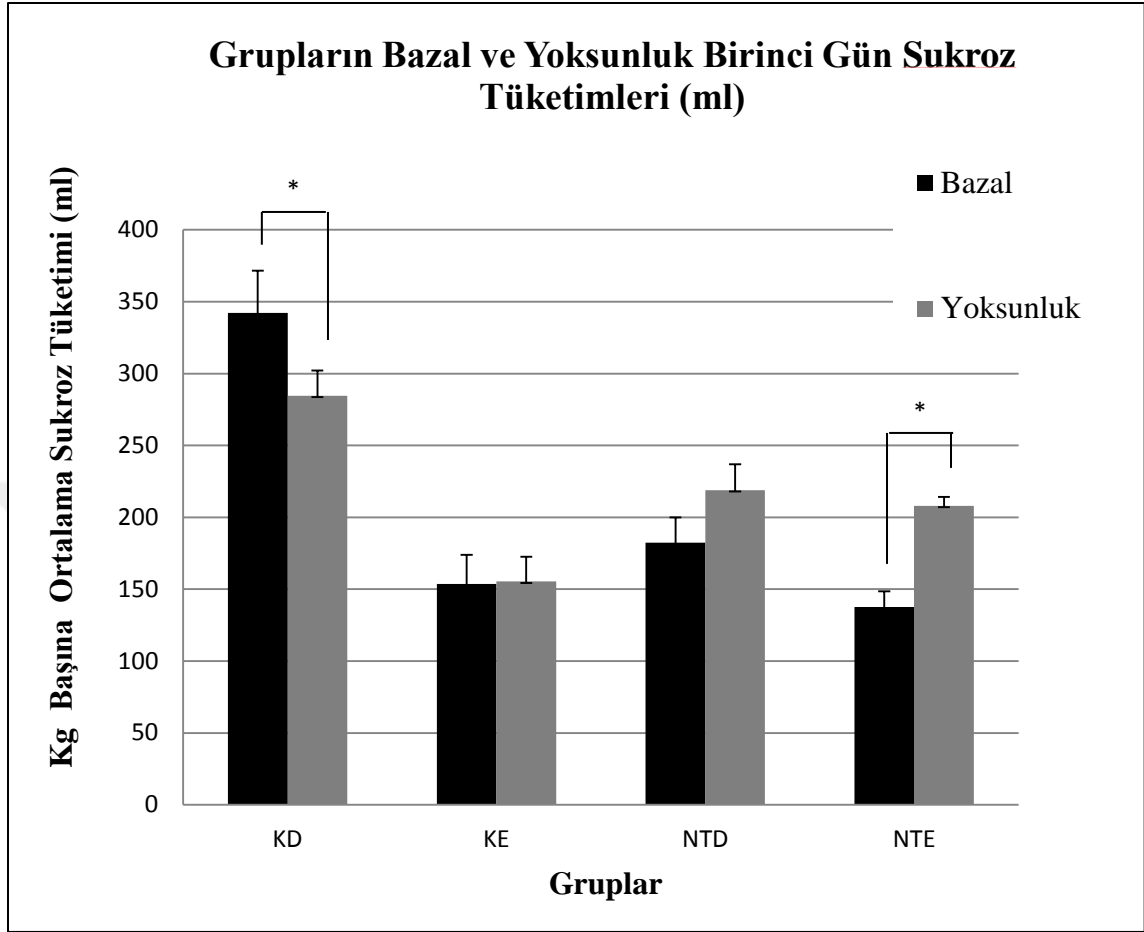
Faktörler arası sonuçlara göre soy ($F_{(7,85)} = 17,563$, $p < 0,001$), cinsiyet ($F_{(7,85)} = 91,444$, $p < 0,001$) ve yoksunluk ($F_{(7,85)} = 4,254$, $p = 0,042$) faktörleri anlamlı bulunmuştur. Soy ile cinsiyet arasında ($F_{(7,83)} = 32,316$, $p < 0,001$) ve soy ile yoksunluk arasında ($F_{(7,85)} = 4,376$, $p = 0,039$) etkileşimler saptanmıştır.

Posthoc Duncan's test uygulandığında yoksunluktaki sonuçlara benzer şekilde erkekler dişilerden daha az sukroz tüketmişler ve KD'lerin diğer erkek gruplarından ve NTD'lerden daha fazla sukroz tükettiği saptanmıştır.

4.1.4. Grupların Bazal ve Nikotin Yoksunluğu İlk Günlük Sukroz Tüketimleri Karşılaştırılması.

Faktörler arası sonuçlara göre bazal ve yoksunluğun ilk günlük sukroz tüketim verileri karşılaştırıldığında soy ($F_{(1,85)} = 15.461$, $p < 0,001$) ve cinsiyet ($F_{(1,85)} = 47.717$, $p < 0,001$) anlamlı bulunmuştur. Soy ile cinsiyet arasında ($F_{(1,85)} = 22.69$, $p < 0,001$), soy ile yoksunluk arasında ($F_{(1,85)} = 8.143$, $p = 0,005$) ve cinsiyet ile yoksunluk arasında ($F_{(1,85)} = 4,340$, $p = 0,04$) etkileşimler saptanmıştır (Grafik 4-3).

Posthoc Duncan's test ile KD'lerin bazal ve yoksunluğun birinci gün sukroz tüketimleri kıyaslandığında yoksunlukta anlamlı olarak daha az sukroz tüketmişlerdir. NTE grubu bazal birinci gün sukroz tüketimine göre yoksunluğun birinci gününde anlamlı olarak daha çok sukroz tüketmiştir. NTD grubunda ilk günlük sukroz tüketim verilerine göre bazal sukroz tüketimi ile kıyaslandığında yoksunlukta görülen artış anlamlı çıkmamıştır. KE'lerde de bazal ve yoksunluğun birinci gün sukroz tüketim verileri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Yoksunluğun birinci günü KE ve NTE grupları arasında fark bulunmamıştır. Benzer miktarda sukroz tüketmişlerdir (Grafik 4-3).



Grafik 4-3. Sıçan Gruplarının Bazal ve Nikotin Yoksunluğu İlk Günkü Sukroz Tüketimleri.

KD'ler bazal sukroz tüketimi ile kıyaslandığında yoksunlukta anlamlı olarak daha az sukroz tüketmiştir. NTE grubu bazal sukroz tüketimine göre yoksunlukta anlamlı olarak daha çok sukroz tüketmiştir (* $p < 0,05$).

4.2. Sukroz Tercih

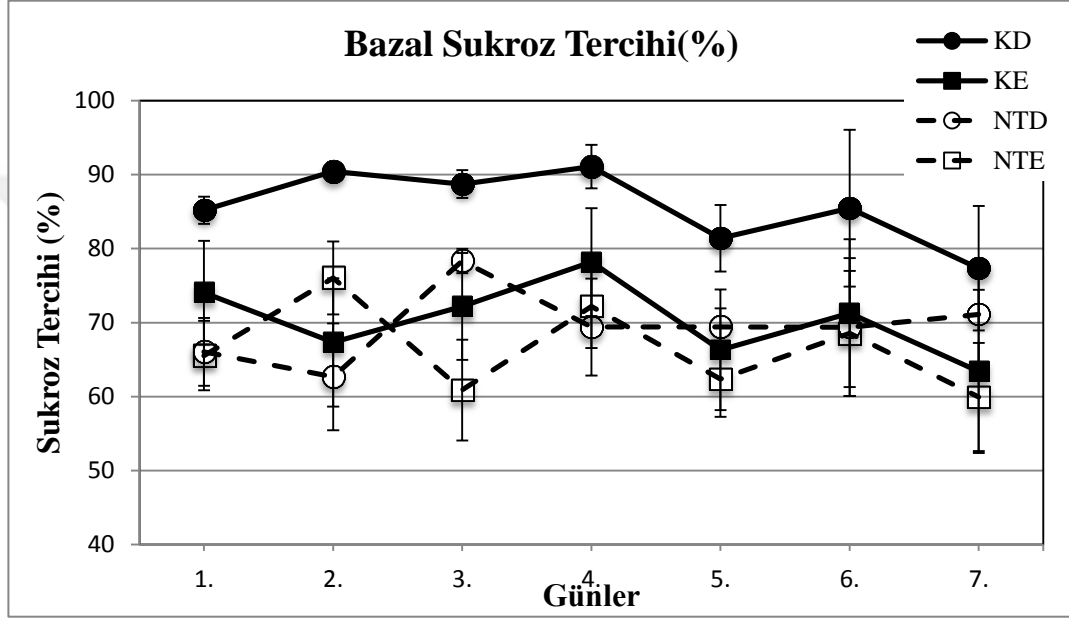
Sukroz tercihi, sıçanların sukroz tüketimlerinin toplam sıvı (sukroz ve su) tüketimlerine oranının yüzde olarak hesaplanması ile elde edilmiştir.

4.2.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Sukroz Tercihleri

Nikotin uygulamasından önce kg başına tüketilen sukroz verileri cinsiyetin ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir.

Soyun ($F_{(1,41)} = 4,634$, $p = 0,037$) ve cinsiyetin ($F_{(1,41)} = 5,613$, $p = 0,023$) istatistiksel anlamlılığa yol açtığı ve cinsiyet ile soy arasında bir etkileşim bulunmadığı görülmüştür.

Posthoc Duncan's test uygulandığında ise KD'lerin diğer tüm gruplardan daha fazla sukrozu tercih ettiği saptanmıştır (Grafik 4-4).



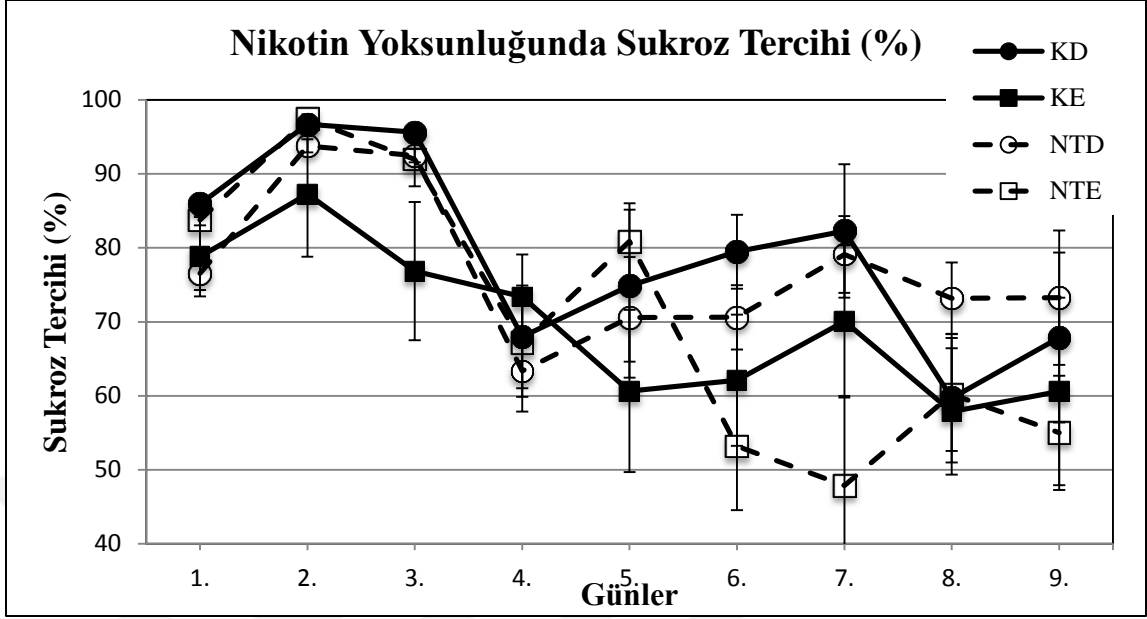
Grafik 4-4. Sıçanların Bazal Sukroz Tercihleri.

Sukroz tercihi, "sukroz * 100 / total sıvı" formülüyle hesaplanmıştır. Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre, soyun ($F_{(1,41)} = 4,634$, $p = 0,037$) ve cinsiyetin ($F_{(1,41)} = 5,613$, $p = 0,023$) istatistiksel anlamlılığa yol açtığı saptanmıştır.

4.2.2. Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tercihleri

Yoksunluktaki tercih verileri günler, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Günün ($F_{(1,41)} = 48,014$, $p < 0,001$) anlamlı azaldığı bulunmuş, günler ile soyun ($F_{(1,41)} = 2,762$, $p = 0,019$) etkileşimi saptanmış, cinsiyet farkı bulunmamıştır.

Posthoc Duncan's test uygulandığında ise gruplar arası anlamlı fark görülmemiştir (Grafik 4-5).



Grafik 4-5. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Sukroz Tercihleri.

Sukroz tercihi “sukroz * 100 / total sıvı” formülüyle hesaplanmıştır. Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre, günün ($F_{(1,41)} = 48.014$, $p < 0,001$) anlamlı azaldığı bulunmuş, günler ile soyun ($F_{(1,41)} = 2.762$, $p = 0,019$) etkileşimi saptanmış, cinsiyet farkı bulunmamıştır.

4.2.3 Bazal ve Yoksunlukta Sıçanların Sukroz Tercihlerinin Karşılaştırılması

Bazal sukroz tercihleri ile nikotin yoksunluğu sırasındaki sukroz tercihleri karşılaştırmasında gün ($F_{(1,81)} = 12.664$, $p < 0,001$) anlamlı bulunmuş ve gün ile yoksunluk arasında ($F_{(1,81)} = 11.734$, $p < 0,001$) etkileşim bulunmuştur.

Faktörler arası sonuçlarına göre soy ($F_{(1,81)} = 5.100$, $p = 0,027$) ve cinsiyet ($F_{(1,81)} = 7,804$, $p = 0,007$) faktörlerinde anlamlı farklar bulunmuştur.

Posthoc Duncan’s testinde KD’ler sukroz tercihinin en yüksek olduğu grup olarak saptanmıştır.

Yoksunlukta günlerle; özellikle 3. - 4. günlerde belirgin olacak şekilde sukroz tercihi azalmıştır; gün ile nikotin yoksunluğu etkileşimi bu nedenle saptanmıştır. Sukroz tercihi, ilerleyen günlerle bazal ölçümlerde daha az azalma gösterirken yoksunlukta azalma

daha belirgindir. Soy, cinsiyet ve yoksunluk arasında anlamlı bir etkileşim görülmemiştir.

4.3. Sıçanların Toplam Sıvı Tüketimleri

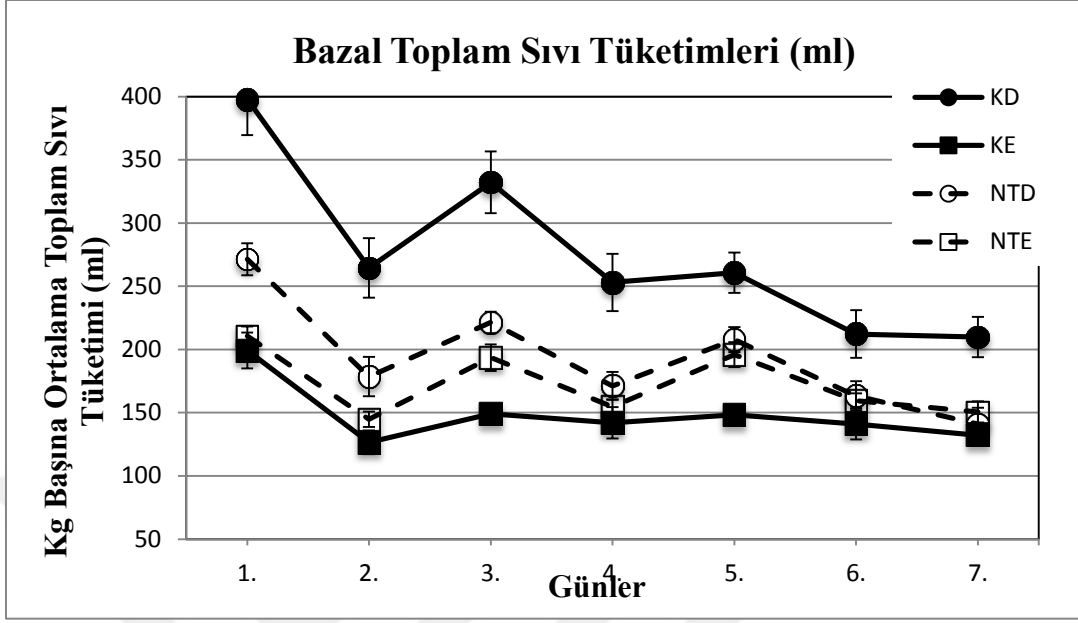
Biri su diğeri de sukroz içeren suluklar tartılarak elde edilen STT verilerinden iki şişeden toplam içilen sıvı miktarları sıçan ağırlığına göre düzeltilerek, kg başına tüketilen sıvı miktarı hesaplanmıştır. NT sıçanlar daha düşük ağırlığa sahiptir, farklı ağırlıktaki hayvanların sıvı gereksinimleri ve tüketimleri farklı olacaktır. Bu nedenle bazal ve nikotin yoksunluğunda toplam sıvı tüketimleri kg başına tüketilen toplam sıvı miktarı hesaplanarak incelenmiştir.

4.3.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Toplam Sıvı Tüketimleri

Nikotin uygulamasından önce kg başına tüketilen toplam sıvı verileri, gün, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Günlerin ($F_{(1,44)} = 37,170$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açtığı bulunmuştur. Gün ile cinsiyet arasında ($F_{(1,44)} = 6,375$, $p < 0,001$) bir etkileşim olduğu saptanmıştır.

Faktörler arası sonuçlara göre soy ($F_{(1,44)} = 9,306$, $p = 0,004$) ve cinsiyet ($F_{(1,44)} = 61,134$, $p < 0,001$) faktörlerinde anlamlı farklar bulunmuş, soy ile cinsiyet arasında ($F_{(1,44)} = 31,704$, $p < 0,001$) bir etkileşim saptanmıştır.

Posthoc Duncan's test uygulandığında ise toplam sıvı tüketimi en çok KD grubunda saptanmıştır. NTD'ler ise KE'lerden daha çok sıvı tüketmişlerdir. Erkek grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Grafik 4-6).



Grafik 4-6. Sıçanların Bazal Toplam Sıvı Tüketimleri.

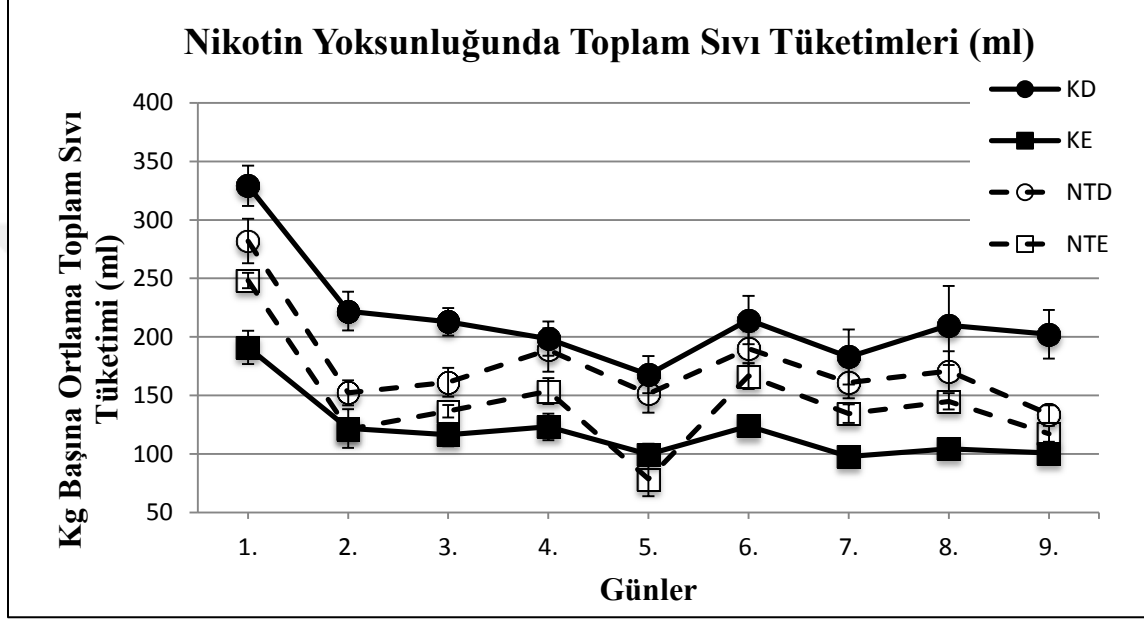
Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre, günlerin ($F_{(1,44)} = 37,170$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açtığı, soy ve cinsiyet farkının bulunmadığı ancak gün ile cinsiyet arasında ($F_{(1,44)} = 6,375$, $p < 0,001$) bir etkileşim olduğu görülmüştür. Faktörler arası etkileşimlere göre soy ($F_{(1,44)} = 9,306$, $p = 0,004$) ve cinsiyet ($F_{(1,44)} = 61,134$, $p < 0,001$) faktörlerinde anlamlı farklar bulunmuş, soy ile cinsiyet arasında ($F_{(1,44)} = 31,704$, $p < 0,001$) bir etkileşim saptanmıştır.

4.3.2. Nikotin Yoksunluğunda Toplam Sıvı Tüketimleri

Zorlu nikotin uygulanmasından sonra oluşturulan yoksunlukta kg başına tüketilen toplam sıvı verileri günler, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Günlerin, ($F_{(1,44)} = 39,785$, $P < 0,001$) istatistiksel anlamlı bulunduğu, gün ile soy arasında ($F_{(1,44)} = 2,305$, $p < 0,042$) bir etkileşim bulunmuştur.

Faktörler arası sonuçlara göre cinsiyet ($F_{(1,43)} = 63,063$, $p < 0,001$) faktörlerinde anlamlı farklar bulunmuş, soy ile cinsiyet arasında ($F_{(1,43)} = 15,515$, $p < 0,001$) bir etkileşim saptanmıştır.

Posthoc Duncan's test uygulandığında ise en çok KD, en az KE grubunda sıvı tüketimi bulunmuştur. NT grubunda ise NTD'ler NTE'lerden daha çok sıvı tüketmiştir (Grafik 4-7).



Grafik 4-7. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Toplam Sıvı Tüketimleri.

Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre, günlerin, ($F_{(1,44)} = 39,785$, $P < 0,001$) istatistiksel anlamlı bulunduğu, gün ile soy arasında ($F_{(1,44)} = 2,305$, $p < 0,042$) bir etkileşim saptanmıştır. Faktörler arası etkileşimlere göre cinsiyet ($F_{(1,44)} = 63,063$, $p < 0,001$) faktörlerinde anlamlı farklar bulunmuş, soy ile cinsiyet arasında ($F_{(1,44)} = 15,515$, $p < 0,001$) bir etkileşim saptanmıştır.

4.3.3. Zorlu Nikotin Uygulamasından Önce ve Nikotin Yoksunluğunda Sıçanların Toplam Sıvı Tüketimlerinin Karşılaştırılması

Bazal toplam sıvı tüketimi ile nikotin yoksunluğunda toplam sıvı tüketimi karşılaştırmasında gün, ($F_{(1,87)} = 56,802$, $p < 0,001$) açısından anlamlı fark bulunmuştur. Gün ile cinsiyet ($F_{(1,87)} = 4,444$, $p = 0,001$), gün ile nikotin yoksunluğu ($F_{(1,87)} = 21,305$,

$p < 0,001$) ve gün, soy ile nikotin yoksunluğunda arasında ($F_{(1,87)} = 2,677$, $p = 0,02$) anlamlı bir etkileşim görülmüştür.

Faktörler arası sonuçlara göre soy ($F_{(1,87)} = 7,459$, $p = 0,008$), cinsiyet ($F_{(1,87)} = 121,337$, $p < 0,001$) ve nikotin yoksunluğu ($F_{(1,87)} = 20,885$, $p < 0,001$) faktörlerinde anlamlı farklar bulunmuştur. Soy ile cinsiyet arasında ($F_{(1,87)} = 42,934$, $p < 0,001$) bir etkileşim saptanmıştır.

Posthoc Duncan's testte bazal ve yoksunluk durumunda dişi ve erkek gruplar arası fark bulunmuştur. Dişiler erkeklere göre daha çok sıvı tüketmişlerdir. KD'ler en çok, KE'ler en az sıvı tüketimine sahiptirler.

4.4. Nikotin Yoksunluğunun İlk Gününde Tercihler

Nikotin yoksunluğunun birinci gününde 1., 2., 4., 6. ve 24. saatlerde alınan ölçümler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

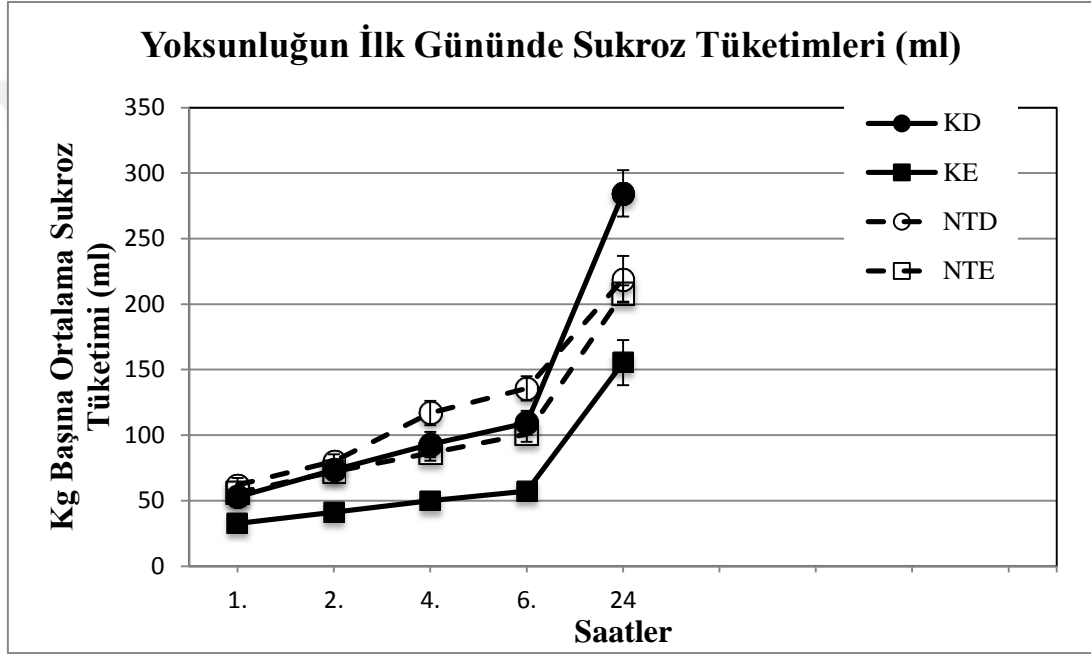
4.4.1. Nikotin Yoksunluğunun İlk Gününde Sukroz Tüketimleri

Biri su diğeri de sukroz içeren suluklar tartılarak elde edilen STT verilerinden sukroz solusyonu içeren şişelerden içilen sukroz miktarları sıçan ağırlığına göre düzeltilerek kg başına tüketilen sukroz miktarı hesaplanmıştır.

Yoksunluğun ilk saatinden itibaren alınan ölçümler ile kg başına tüketilen sukroz verileri elde edilmiş, saatlerin, cinsiyetin ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiş ve saatler ($F_{(3,42)} = 228.781$, $p < 0,001$) anlamlı artmış bulunmuştur. Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre saatler ile soy ($F_{(3,42)} = 8.103$ $p < 0,001$), saatler ile cinsiyet ($F_{(3,42)} = 9.221$ $p < 0,001$), saatler, soy ile cinsiyet ($F_{(3,42)} = 7.038$ $p < 0,001$) etkileşimi saptanmıştır. Gruplar arası sonuçlara göre soy ($F_{(1,42)} = 4.994$ $p = 0,031$) ve cinsiyet ($F_{(1,42)} = 21,661$ $p < 0,001$) istatistiksel anlamlı bulunmuş, soy ile cinsiyet arasında ($F_{(1,42)} = 4.998$ $p = 0,031$) etkileşim saptanmıştır.

Posthoc Duncan's test sonuçlarına göre yoksunluğun ilk gününde 1. ($F = 9.744$, $p = 0.003$) ve 2. saatte ($F = 9.466$, $p = 0.004$) KE'lerin diğer gruplardan daha az sukroz tükettiği saptanmıştır. 4. ($F = 3,164$, $p = 0.001$) ve 6. saatte ($F = 18.146$, $p < 0.001$)

KE'lerin diğer gruplardan daha az NTD'lerin ise daha çok sukroz tükettiği, 24 saatte KD'lerin diğer gruplardan daha çok sukroz tükettiği bulunmuştur İlk 6 saatte NT sıçanlar kontrollerine göre daha fazla sukroz tüketmişlerdir. Tüm ölçümlerde dişiler erkeklere göre daha çok sukroz içmişlerdir. NTD'ye göre ilk 6 saatte daha az sukroz tüketen KD'ler 24. saatte en çok sukroz tüketen grup haline geldiği için soy ve cinsiyet arasında etkileşim saptanmıştır (Grafik 4-8).



Grafik 4-8. Nikotin yoksunluğunun başlangıcından itibaren 1., 2., 4., 6. ve 24. saatteki tüketilen sukroz miktarları

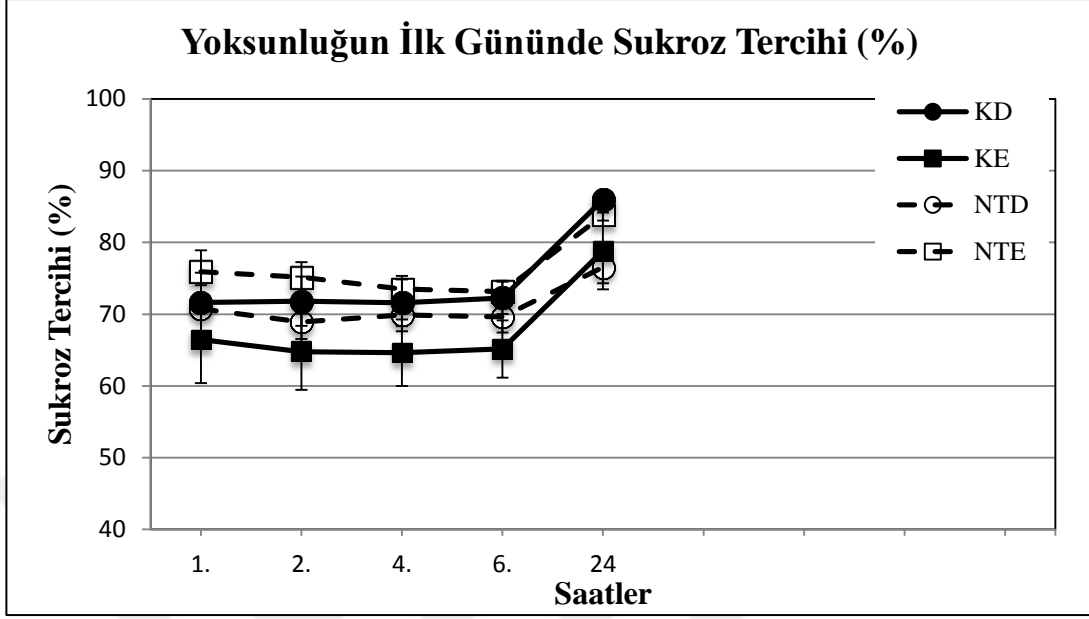
Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre, saatler ($F_{(3,42)} = 228.781$, $p < 0,001$) anlamlı artmış bulunmuştur. Saatler ile soy ($F_{(3,42)} = 8.103$ $p < 0,001$), saatler ile cinsiyet ($F_{(3,42)} = 9.221$ $p < 0,001$), saatler, soy ve cinsiyet ($F_{(3,42)} = 7.038$ $p < 0,001$) etkileşimi saptanmıştır. Gruplar arası sonuçlara göre soy ($F_{(1,42)} = 4.994$ $p = 0,031$) ve cinsiyet ($F_{(1,42)} = 21,661$ $p < 0,001$) istatistiksel anlamlı bulunmuş, soy ve cinsiyet arasında ($F_{(1,42)} = 4.998$ $p = 0,031$) etkileşim saptanmıştır.

4.4.2. Nikotin Yoksunluğunun İlk Gününde Sukroz Tercihleri

Sukroz tercihi, sıçanların sukroz tüketimlerinin toplam sıvı (sukroz ve su) tüketimlerine oranının yüzde olarak hesaplanması ile elde edilmiştir.

Yoksunluğun ilk saatinden itibaren alınan ölçümler ile sukroz tercihi verileri elde edilmiş, saatlerin, cinsiyetin ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiş ve saatler ($F_{(3,42)} = 57.169$, $p < 0,001$) anlamlı artmış bulunmuştur. Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre saatler ile soy ($F_{(3,42)} = 3.447$ $p = 0,017$) etkileşimi saptanmıştır.

Posthoc Duncan's test uygulandığında yoksunluğun ilk gününde 1., 2., 4., 6. saatte gruplar arası fark bulunmamıştır. 24 saatte ise NTD'lerin diğer gruplardan sukroz tercihinin daha düşük olduğu saptanmıştır. Tek yönlü ANOVA ile 24. saatte gruplar arasında $p = 0.001$ düzeyinde istatistiksel anlamlılık saptanmıştır (Grafik 4-9).

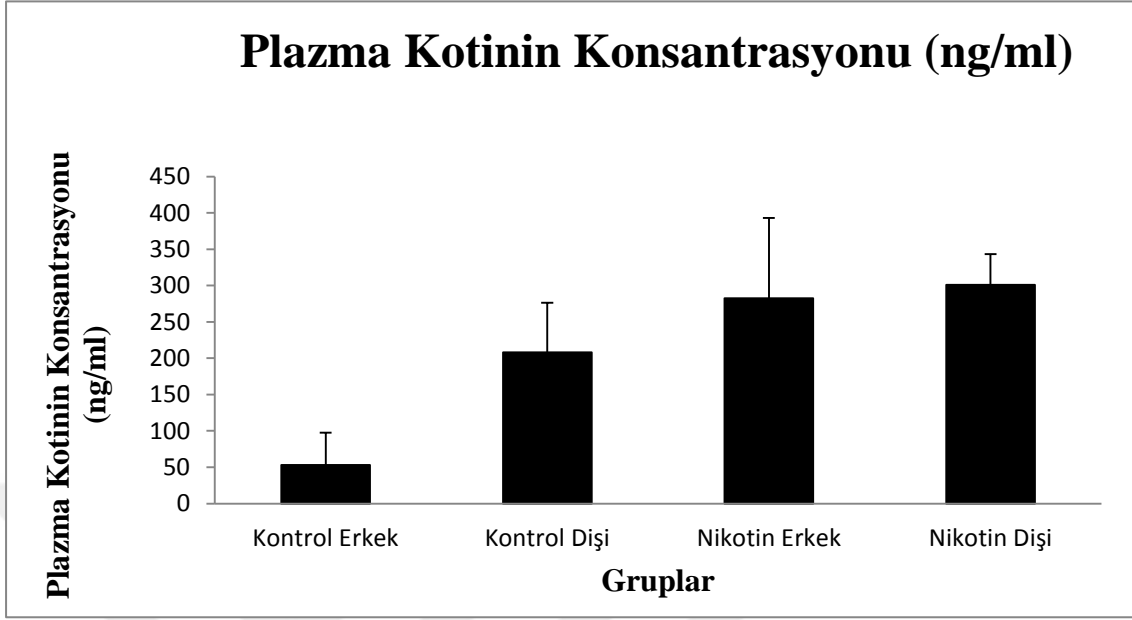


Grafik 4-9. Nikotin yoksunluğunun başlangıcından itibaren 1., 2., 4., 6. ve 24. saatteki tüketilen sukroz tercihleri.

Sukroz tercihi “sukroz * 100 / total sıvı” formülüyle hesaplanmıştır. Tekrarlayan veriler için ANOVA sonuçlarına göre saatler ($F_{(3,42)} = 57.169$, $p < 0,001$) anlamlı artmış bulunmuş ve saatlerle soy arasında ($F_{(3,42)} = 3.447$, $p = 0,017$) etkileşim saptanmıştır. 1., 2., 4., 6. saatte gruplar arası fark bulunmazken 24 saatte ise NTD’lerin diğer gruplardan sukroz tercihinin daha düşük olduğu saptanmıştır.

4.5. Zorlu Nikotin Uygulaması Sırasında Yapılan Kotinin Tayini

Plazma Kotinin Konsantrasyonu, sıçanların maksimum düzeyde nikotini tüketip tüketmediklerini göstermektedir. Serum kotinin düzeyleri, tütün dumanında nikotine maruz kalmayı yansıtmaktadır. Nikotin tüketmeme, genellikle 10 ng / mL’ye eşit veya daha az bir serum kotinin seviyesi olarak tanımlanmaktadır (“Biomonitoring Summary | CDC,” n.d.). ELİSA kiti ile elde edilmiş veriler sonucunda tüm grupların yüksek düzeyde nikotin tükettikleri görülmüştür (Grafik 4-10).



Grafik 4-10. Plazma Kotinin Konsantrasyonu Grafiği

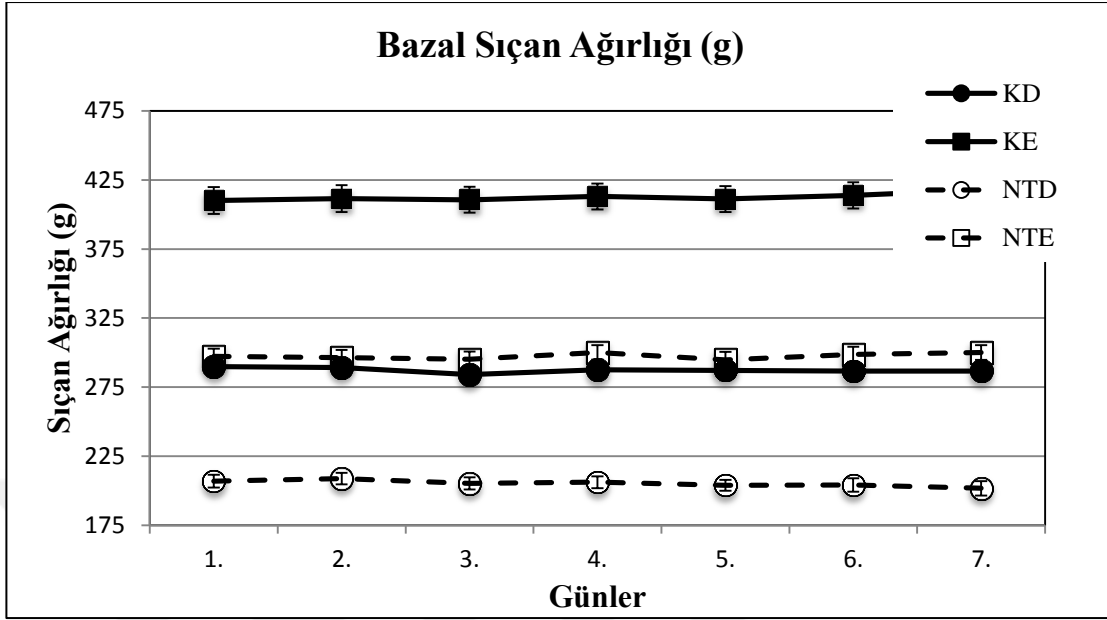
Sıçan gruplarının zorlu nikotin uygulamasının 6. haftasında yapılan kotinin tayini sonucu elde edilen plazma kotinin konsantrasyonları.

4.6. Sıçan Ağırlıkları

4.6.1. Nikotin Uygulanmadan Önce (Bazal) Sıçan Ağırlıkları

Nikotin uygulanmadan önce sıçan ağırlığı verileri cinsiyetin ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Cinsiyet ($F_{(1,44)} = 261,381$, $p < 0,001$) ve soyun ($F_{(1,44)} = 214,757$, $p < 0,001$) yüksek düzeyde istatistiksel anlamlılığa yol açtığı ve cinsiyet ile soy arasında ($F_{(1,44)} = 6,057$, $p = 0,001$) etkileşim olduğu saptanmıştır. Kontrol gruplarında, KE'ler KD'lerden ve NT gruplarında NTE'ler NTD'lerden daha fazla vücut ağırlığına sahiptir.

Posthoc Duncan's test sonuçlarına göre ise NTD'lerin en düşük vücut ağırlığına sahip olduğu KE'lerin ise en yüksek vücut ağırlığına sahip olduğu bulunmuştur. KD ve NTE ağırlıkları arasında istatistiksel anlamlı bir farklılaşma görülmemiştir (Grafik 4-11).



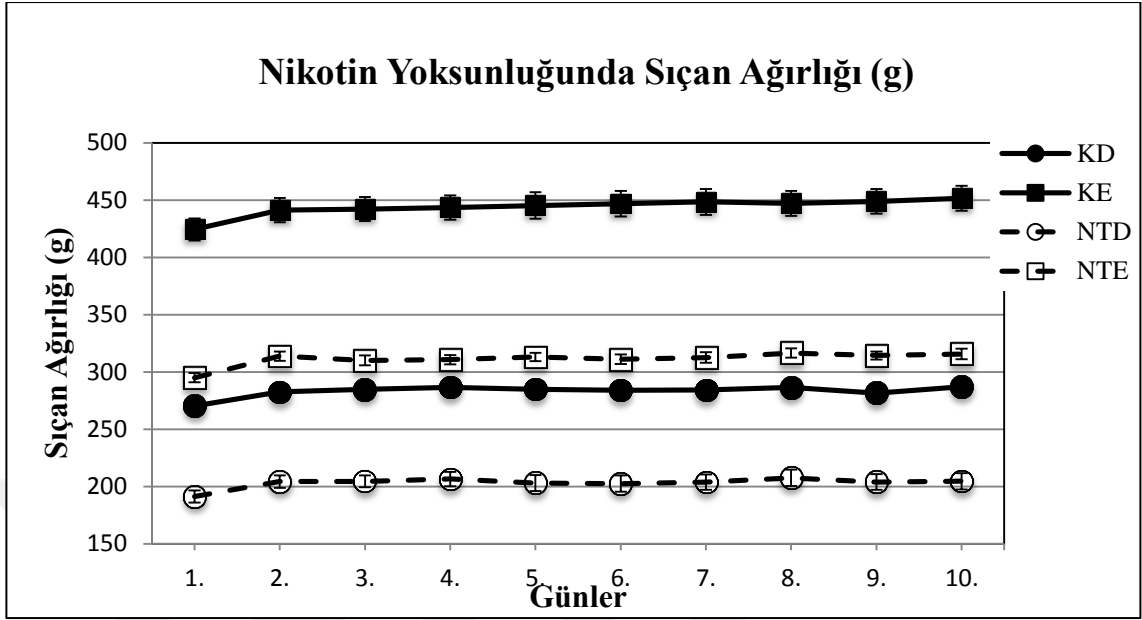
Grafik 4-11. Bazal (Zorlu Nikotin Uygulamasından Önce) Sıçan Ağırlıkları.

Kontrol gruplarında, KE'ler KD'lerden ve NT gruplarında NTE'ler NTD'lerden daha fazla vücut ağırlığına sahiptir.

4.6.2. Nikotin Yoksunluğunda Sıçan Ağırlıkları

Zorlu nikotin uygulamasından sonra nikotin yoksunluğunda sıçan ağırlığı verileri günler, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirildiğinde; günlerin ($F_{(1,43)} = 34.910$, $p < 0.001$) düzeyinde bir artışa neden olduğu saptandı. Cinsiyetin ($F_{(1,43)} = 358,601$, $p < 0,001$) ve soyun ($F_{(1,43)} = 224,634$, $p < 0,001$) istatistiksel anlamlılığa yol açtığı ve cinsiyet ile soy arasında ($F_{(1,43)} = 13,805$, $p = 0,001$) da bir etkileşim olduğu görülmüştür. Kontrol gruplarında, KE'ler KD'lerden ve NT gruplarında NTE'ler NTD'lerden daha fazla vücut ağırlığına sahiptir.

Posthoc Duncan's test uygulandığında ise tüm gruplar birbirinden farklı bulunmuş olmasına rağmen, bazal sonuçlarımıza benzer şekilde KE'ler vücut ağırlığı en fazla olan, NTD'ler vücut ağırlığı en az olan grup olmuştur (Grafik 4-12).



Grafik 4-12. Sıçanların Nikotin Yoksunluğunda Günlük Ağırlıkları.

Tüm gruplar birbirinden farklı bulunmuş olmasına rağmen, bazal sonuçlarımıza benzer şekilde KE'ler vücut ağırlığı en fazla olan, NTD'ler vücut ağırlığı en az olan grup olmuştur.

4.6.3. Zorlu Nikotin Uygulaması Öncesinde ve Nikotin Yoksunluğunda Sıçan Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Bu sonuçlara göre, bazal sıçan ağırlığı ile nikotin yoksunluğu sırasındaki sıçan ağırlığı verileri günler, cinsiyet ve soyun faktör olarak alındığı tekrarlayan ölçümler için ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Günler ($F_{(6,87)} = 46.293$, $p < 0,001$), soy ($F_{(6,87)} = 443.489$, $p < 0,001$) ve cinsiyet ($F_{(6,87)} = 618.774$, $p < 0,001$) açısından istatistiksel anlamlı farklar bulunmuştur. Soy ile cinsiyet ($F_{(6,87)} = 19.172$, $p = 0,001$), cinsiyet ile nikotin yoksunluğu ($F_{(6,87)} = 6.290$, $p = 0,014$) etkileşimleri saptanmıştır. Bazal durumda da yoksunluk durumunda da KE'ler en yüksek vücut ağırlığına sahip iken NTD'ler en düşük vücut ağırlığına sahiptir. NTE'ler, KD'lerden daha yüksek ağırlığa sahiptir. Bazal ve nikotin yoksunluğunda sıçan ağırlıkları benzerdir.

Tartışma

5.1. Nikotin Yoksunluğu ve Sukroz Tercihi Testi

Nikotin bağımlılığı, hem nikotin kullanımı sırasında yaşanan pozitif pekiştirici ve hedonik etkilere hem de yoksunluk sırasında ortaya çıkan negatif afekte dayanmaktadır (Kenny & Markou, 2001). Anhedoni, ödüllendirici veya eğlenceli aktivitelerden zevk almayı başaramamaktır ve insanlarda depresyonun temel bir belirtisidir (Liu et al., 2018). Nikotin yoksunluğunda sıçanlarda pozitif afektif uyarılara cevap vermedeki azalmayı araştırmak için STT kullanılmaktadır (Thompson & Grant, 1971). Bizim çalışmamızda da anhedoni, yoksunluk sırasında sıçanların günler içinde sukroz tüketimindeki azalma ile gösterilmiştir.

STT'nin değerlendirmesinde hem sukroz tercihi hem de sukroz tüketimi kullanılabilir (Willner, Towell, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987; Willner et al., 1994) Çalışmamızda, sukroz tercihi verilerinin aksine, sukroz tüketimi verileri ile yapılan istatistik karşılaştırmalar çok sayıda anlamlı sonuç verdiği için tartışmamız STT'de elde ettiğimiz sukroz tüketimi verilerinin istatistiksel analizi üzerinden yapılmıştır.

Çalışmamızda bazal durumda, NTD'ler KD'lerden daha az sukroz tüketmişlerdir; bu durum NTD'lerin daha anhedonik olmalarından kaynaklanabilir; çünkü sahip oldukları genetik alt yapı bu grubun daha depresif olmasına sebep olabilir. Bazalde ilk gün NTD grubu KD grubuna göre daha az sukroz tüketmiştir; bazal şartlarda NTD grubu deneye daha anhedonik başlamıştır. Bazal şartlarda NTD grubunda gözlenen bu düşük hedonik düzey onları nikotin bağımlılığına yatkın hale getiriyor olabilir. Bazal durumda, özellikle KD'lerde daha belirgin olacak şekilde, tüm gruplarda sukroz tüketimi günler içinde azalmıştır. Bu durum sukrozun başlangıçtaki hoş giden tadına zamanla habitüasyon gelişmesi nedeniyle sukrozun ödül etkisinin azalmasından kaynaklanabilir.

Ancak NTE ve KE'ler bazalde KD'lerden daha az sukroz tüketmekle beraber birbirlerine benzer miktarda tüketim gerçekleştirmişlerdir. Erkeklerde soy farkı görülmemiştir. Bu nedenle, olasılıkla, sukroz KE ve NTE'lerde KD'lerdeki kadar ödül

etkisine sahip değildir. Bazal şartlarda henüz nikotin yoksunluğu bulunmadığı için bu iki grubu anhedonik olarak değerlendirilmemiştir.

Yoksunlukta ise, bazal ile karşılaştırıldığında, tüm gruplar daha az sukroz tüketmiş ve anhedoni yaşamıştır. Yoksunluk sırasında tüketim günler içinde giderek azalmış ve özellikle 5. gün minimal değerlere inmiştir. KD'lerin yoksunluğun birinci günü sukroz tüketimleri, bazal birinci gün ile karşılaştırıldığında, anlamlı şekilde azalmıştır. KD'lerin bazale oranla yoksunlukta daha az sukroz tüketmeleri anhedoniye girdiklerine işaret etmektedir. KD'lerde anhedoni yoksunluğun birinci gününden itibaren gelişmiştir. KE'lerin de yoksunluk sırasında günler içinde sukroz tüketimlerinin azalması anhedoniye girdiklerini göstermektedir. Ancak bazal birinci gün ve yoksunluğun birinci günü sukroz tüketimleri arasında fark bulunmaması yoksunluğun ilk gününde anhedoni yaşamadıklarına işaret etmektedir. Ayrıca KD ve KE'lerin bazal birinci gün ile yoksunluğun 5. günü tüketimleri grafik üzerinden (Grafik 4-1 ve 4-2) karşılaştırıldığında, KD'lerin yoksunlukta çok daha şiddetli bir hedonik düşüş yaşadıkları görülmektedir. Yoksunluk sırasında KD'lerin KE'lerden hem daha erken evrede anhedoniye girmeleri, hem de daha şiddetli bir hedonik düşüş yaşamaları onları nikotin bağımlılığına duyarlı hale getiriyor olabilir. Bu sonuca benzer şekilde, başka çalışmalarda, kadınlarda erkeklerden daha yüksek bağımlılık düzeyleri, depresif ruh hali ve nikotin yoksunluğu ile oluşan negatif duyguların görüldüğü bildirilmiştir (Panday, Reddy, Ruitter, Bergström, & de Vries, 2007).

NTD'lerin bazal ve yoksunluk sırasında sukroz tüketimleri KD'lerden anlamlı daha az bulunmuştur. Bu durum NTD'lerin yoksunluk sırasında KD'lerden daha anhedonik olduğunu göstermektedir. NTD'lerin bazal durumda yaşadığı anhedoni nikotin alımı ile düzelmiş ancak yoksunlukta tekrar eski anhedonik seviyelerine düşmüştür. NTE'ler ise KE'ler gibi bazal şartlarda sukroz tüketmeyi sevmemişlerdir. Ancak kronik nikotin alımı ve bağımlılık gelişimi sonrasında yoksunluğun ilk günü sukroz tüketimleri bazal verilerin üstüne çıkmıştır. Bu durum yoksunluğun ilk gününde anhedonik olmadıklarına işaret etmektedir. Ancak, NTE'ler grafik üzerinden (Grafik 4-2) KE ile karşılaştırılırsa, yoksunluk sırasında birinci günden beşinci güne doğru daha belirgin bir hedonik düşüş yaşamışlardır. Bu durum onları KE'lere oranla nikotin bağımlılığına daha duyarlı hale

getiriyor olabilir. NT gruplarda dişi ve erkek sıçanlar arasında sukroz tüketiminde anlamlı fark bulunmamıştır. Bu da NT soylarda cinsiyet farkı bulunmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Yoksunluk sırasında KE'lerin sukroz tüketimleri diğer gruplar kadar belirgin düşüş (belirgin anhedoni) göstermemiştir. Ayrıca, KE'ler nikotin yoksunluğu sırasında günler içinde sukroz tüketimini azaltsa da hem bazalde hem yoksunlukta sukrozu en az tüketen gruptur. Bu durum KE'lerin sukrozu baştan itibaren tercih etmediği olarak yorumlanabilir.

Alkhlaif'in bir çalışmasında mini-pompalar ile nikotin verilmiş farelerde mini-pompaların çıkarılmasından 1. - 4. gün sonra (yoksunluğun 1.-4. günleri) sukroz tercihlerine (% 2'lik sukroz) bakılmış ve bizim sonuçlarımıza benzer şekilde sukroz tüketimlerinin azaldığı, ödül eşiğinin yükseldiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda, nikotin yoksunluğunda, bu çalışmadakine benzer şekilde, 5. güne kadar sukroz tüketimi azalmış, ödül eşiği yükselmiştir. Alkhlaif ve arkadaşlarının çalışmasında $\beta 2$ ve $\alpha 6$ nAChR alt tiplerinin nikotin yoksunluğundaki fonksiyonunu görebilmek için $\beta 2$ ve $\alpha 6$ KO fareler kullanılmıştır. Farelere 15 gün boyunca mini-pompalar ile 24 mg/kg/gün nikotin verilmiş, ardından mini-pompalar çıkartılmış ve 48 saat sonra nikotin yoksunluğunda sukroz tüketimlerine bakılmıştır. Nikotin yoksunluğu sırasında kontrol fareler, $\beta 2$ ve $\alpha 6$ mutant farelere kıyasla daha az sukroz tercih etmiştir. Mutant farelerin yoksunluk sukroz tercihleri serum fizyolojik verilmiş kontrol farelerle benzer saptanmıştır. Bu durum $\beta 2$ ve $\alpha 6$ nAChR alt tiplerinin nikotin yoksunluğunda anhedoni gelişimine etkisi olduğunu göstermektedir (Alkhlaif et al., 2017). Yine nikotin yoksunluğu ile oluşmuş anhedonide $\beta 2$ nAChR alt tipinin, etkisini görmek için yapılan bir çalışmada, $\beta 2$ KO fareler ile kontrol grubu fareler kullanılmıştır. Nikotin yoksunluğu ile oluşan anhedoni ICSS yöntemiyle değerlendirilmiştir. Buna göre anhedoninin $\beta 2$ KO farelerde azaldığı gösterilmiştir (Stoker, Marks, & Markou, 2015). Damaj ve ark'nın yaptığı başka benzer bir çalışmada, ozmotik mini pompalarla kronik nikotin maruziyeti sonrası nikotin yoksunluğu oluşturulan $\beta 3$ KO ve kontrol (dişi ve erkek) farelerde anhedoni benzeri davranışı saptamak üzere 3 gün süren STT kullanılmıştır. Nikotin bağımlılığında $\beta 3$ KO grubu fareler kontrol grubu ile kıyaslandığında anhedoni benzeri

davranışı göstermemiştir. Bu durum, $\beta 3$ nikotinik alt ünitenin nikotin yoksunluğu sırasında yaşanan anhedoninin oluşumunda önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (Jackson et al., 2019).

ICSS ile anhedoniye değerlendiren başka bir çalışmada, nikotin yoksunluğu sırasında beyin ödül eşiğinde artış ile ödül fonksiyonlarında azalma görülmüştür. Erkek C57BL6 cinsi fareler kullanılarak ozmotik mini-pompalar ile nikotin ve serum fizyolojik (24 mg/kg/gün) 13 gün boyunca verilmiştir. Mini-pompaların çıkarılmasından 12-72. saat sonra nikotin verilen grupta ödül eşiğinde artış görülmüştür (Johnson et al., 2008). Bizim çalışmamızda, bu çalışmaya benzer olarak nikotin yoksunluğunda gruplarda sukroz tüketimi azalmış yani ödül eşiğinde artış görülmüş ve bu artış 5. günde maksimum dereceye ulaşmıştır.

Başka bir araştırmada ise glutamat reseptörlerinden, mGluR5'in nikotin yoksunluğu ile oluşan anhedonideki fonksiyonunu görmek için mGluR5 KO fareler kullanılmıştır. Nikotin yoksunluğu ile oluşan anhedoni ICSS ile saptanmıştır. Buna göre, mGluR5 KO farelerde anhedonide azalma saptanmıştır. Buna göre, mGlu5 KO'ların, psikostimulan yoksunluğunda anhedonik ve somatik etkilerini azalttığı saptanmıştır (Stoker, Olivier, & Markou, 2012). Kokainde bağımlılıkta önemli bir ajandır. Uzun süreli kokain arayışının, DST'de DA salgısını arttırdığını gösteren mikrodiyaliz çalışmaları bulunmaktadır (Koob & Volkow, 2010). Nikotinde olduğu gibi kokainde de mGluR5'in etkisine bakılmıştır. Bunun için ozmotik mini pompalarla mGlu5 KO ve kontrol grubu farelere 3 gün boyunca (180 mg / kg / gün) kokain verilmiştir. Nikotin yoksunluğundaki sonuçlara benzer olarak kokain yoksunluğunda da mGluR5 KO farelerde kontrollere kıyasla anhedonide azalma bulunmuştur (Stoker et al., 2012).

Holtzman cinsi erkek sıçanlar ile yapılan bir çalışmada nikotini kendine uygulayan ('nicotine self-administration') sıçanlarda nikotin uygulaması sırasında tüketilen sukroz pelletlerinin miktarı ile nikotin yoksunluğu sırasında tüketilen sukroz pelletlerinin miktarı arasında fark bulunmuştur. Buna göre nikotin yoksunluğunda, nikotin uygulaması sırasındaki tüketimle karşılaştırıldığında, sukroz pelletlerinin daha çok tüketildiği ancak bazal tüketimle nikotin yoksunluğu arasında bir fark olmadığı saptanmıştır (Bunney et al., 2016). Bunney ve ark. (2016), bu sonucu nikotinin yeme

davranışı üzerine baskılayıcı etkilerinin yoksunlukta ortadan kalkması şeklinde yorumlamışlardır. Bizim çalışmamızda nikotin verildiği sırada sukroz tercihine bakılmamıştır. Ancak nikotin uygulaması öncesi bazal sukroz tüketimi ile nikotin yoksunluğu sırasında tüketilen sukroz karşılaştırmasında bizim çalışmamızda Bunney ve ark. (2016) sonuçlarından farklı olarak KE sıçanların sukroz tüketimi azalmıştır. Bu sonuç anhedoninin bir göstergesi olarak yorumlanmıştır.

Depresyon benzeri davranışı, adolesan dişi ve erkek C57BL / 6 farelerde postnatal 30.-45. günlerde nikotin ve etanol uygulaması yapılarak araştırılmış; fareler kontrol grubu, sadece nikotin alan grup, sadece etanol alan grup ve nikotin ile etanol birlikte alan grup olarak 4 gruba ayrılmıştır. Nikotin yoksunluğunda, kısa dönemde (postnatal 51. ve 52. gün) ve uzun dönemde (postnatal 76. ve 77. gün) görülen anhedoniye saptamak için 2 günlük STT (% 2'lik sukroz) yapılmıştır. Kısa dönemli yoksunlukta, erkek adolesan farelerde sadece nikotin verilen grupta ve nikotin ile etanol birlikte verilen grupta sukroz tüketiminde artış gösterilmiştir. Bu durumu bağımlılık aşamalarından biri olan aşırı istek durumuna bağlamışlardır. Dişilerde ise sadece etanol verilen grup, nikotin ile etanol birlikte verilen gruba göre daha fazla sukroz tüketmişlerdir. Uzun dönem yoksunlukta sadece nikotin verilen erkek adolesan farelerde anhedoni etkisi saptanmıştır (Ribeiro-Carvalho et al., 2011). Bizim çalışmamızda erişkin dişi ve erkek sıçanlara 2 aylık zorlu nikotin uygulaması sonrası nikotin yoksunluğu oluşturulmuştur. Tüm gruplarda nikotin yoksunluğunda sukroz tüketiminde azalma görülmüştür. Uzun dönem nikotin yoksunluğunda, bizim çalışmamızda erkeklerde bu çalışmaya benzer olarak anhedoni saptanmış olsa da dişilerde de anhedoni saptanmıştır. Dişilerde farklı sonuç bulunması hayvanların adolesan C57BL / 6 fareler olması ile açıklanabilir; bizim çalışmamızda Sprague Dawley erişkin kontrol ve NT sıçanlar kullanılmıştır.

Anhedoninin anlamlı olarak bağımlılıkla ilişkili olduğunu gösteren bir çalışmada, yoksunluğun en yoğun olduğu periyodun özellikle sigarayı bıraktıktan hemen sonra olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda ağır içici olan bireylerde diğer gruplara (az içen, hiç içmeyen ya da nikotin yerine koyma tedavisi alan gruplar) kıyasla sigarayı bıraktıktan sonraki 9. günde anhedoni daha yüksek saptanmıştır. Aynı zamanda çalışmada, aşerme gibi diğer yoksunluk semptomları ile geçen zaman arasında anlamlı ilişkili bulunmuştur.

Nikotin yerine koyma tedavisi ('nicotine replacement therapy') kullanan bireylerde anhedoninin azaldığı, sigarayı bırakmaya çalışırken aşermede zamanla gelişen farklılıkların da azaldığı gösterilmiştir (Cook, Lanza, Chu, Baker, & Piper, 2017).

5.2. Stres Maruziyeti ve Sukroz Tercih Testi

Kronik stres, hayvanlarda, depresyon benzeri davranış oluşturmaktadır. Bu davranışın bulgusu anhedonidir. Anhedoninin ölçümünde STT çok sık kullanılmaktadır (Benelli et al., 1999; Rygula et al., 2005). Willner ve ark'nın yaptığı bir çalışmada, sıçanlara kronik öngörülemeyen hafif stresörler (CUMS) kullanılmıştır. Kronik stres sonucunda STT uygulanarak sıçanların hem sukroz tercihinde hem sukroz tüketiminde azalma saptanmıştır (Willner, Towell, Sampson, Sophokleous, & Muscat, 1987).

Stres maruziyeti uygulanan bir başka çalışmada, 2 haftalık stres maruziyeti sonrası sıçanlara yapılan 1 haftalık STTi sonucunda (% 0.8'lik sukroz); strese maruz bırakılan sıçanlar naif gruba göre daha az sukroz tercih etmişlerdir. Bu durum anhedoni ile ilişkilendirilmiştir (Rygula et al., 2005).

Kronik strese maruz bırakılan sıçanlarla yapılmış başka bir çalışmada sıçanlar 3 haftalık kronik öngörülemeyen strese (chronic unpredictable stress-CUS) sokulmuştur. Stres öncesi ve sonrası STT uygulanmıştır. Bizim çalışmamıza benzer olarak stres sıçanların daha az sukroz tüketmelerine sebep olmuştur. Ayrıca çalışmada bu etki IL-1Ra tarafından engellenmiştir. IL-1, hipokampal nörojenizde CUS'un önemli bir aracısıdır ve IL-1 anhedonik davranışı modüle edebilmektedir (Koo & Duman, 2008).

Kronik hafif stres uygulaması yapılan bir çalışmada iki suluklu STT (% 1'lik sukroz) uygulanmıştır. Kafes içinde yapılan küçük değişiklikler ve aydınlık / karanlık döngüsünde yapılan değişiklikler gibi streslere maruz bırakılmış kısırlaştırılmış dişi ve erkek sıçanlara 3 kere STT yapılmış, strese maruz kalan sıçanların naif sıçanlara göre daha az sukroz tercih ettikleri görülmüştür. Ayrıca CPP uygulanarak anhedoni benzeri durum gelişimi görülmüştür. S-adenosyl-L-methionine kullanılarak strese olan etkisine bakılmıştır. Sıçan ağırlıklarında, stresin etkisinin olmadığı görülmüştür. Depresyon

benzeri davranışa kısırlaştırılmış sıçanlar daha yatkın olduğu için bu çalışmada bu sıçan grubu kullanılmıştır (Benelli et al., 1999).

Yeh ve ark., erkek Wistar sıçanlarda lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenmiş anhedoniye ginkgo biloba ekstraktın etkisini görmek için salin verilen kontrol grubu, LPS uygulanan grup, LPS ve ginkgo biloba ekstraktı birlikte verilen grup ve salin ve ginkgo biloba ekstraktı birlikte verilen grup olmak üzere oluşturulan 4 gruba STT (% 1,5 sukroz) uygulamıştır. STT'nde, bazal durumda gruplar arası sukroz tüketim farkı görülmemiştir. LPS ve salin verildikten 2., 4., 6., 13. ve 24 saat sonra sukroz tüketimlerine ve NAc'de DA ve serotonin seviyelerine bakılmıştır. LPS grubu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az sukroz tüketmiştir. LPS ile ginkgo biloba ekstraktı birlikte verilen grup LPS uygulanan gruba göre daha çok sukroz ve yiyecek tüketmiştir. 4. ve 13. saatler arası sukroz tüketiminde salin grubuna göre LPS grupları anlamlı olarak daha az sukroz tüketmiştir. Bu çalışmada, LPS uygulandıktan 13 saat sonraki sonuçlara göre LPS ve ginkgo biloba ekstraktı birlikte verilen grubun LPS grubuna göre sukroz tüketiminde LPS'nin etkisini azalttığı görülmüştür. LPS uygulandıktan 24 saat sonraki sukroz tüketimleri baştaki seviyeye dönmüştür. Ginkgo biloba ekstraktı su tüketimlerinde değişiklik yaratmamıştır. NAc'de DA seviyeleri LPS grubunda, LPS ve ginkgo ekstraktı birlikte verilen gruba göre daha az bulunmuştur. Bu çalışmada anhedoninin NAc'de DA seviyelerini düşürdüğünü ve ginkgo biloba ekstraktı ile DA seviyelerinin yükseltebileceği görülmüştür (Yeh et al., 2015).

Kronik hafif stres uygulanan bir başka çalışmada sıçanların STT'nde sukroz tercihlerinde azalma saptanmıştır (Xie et., al). Anhedoni modelinde, CUMS'in ödüle olan yanıtta azalmaya sebep olduğunu gösteren bir çalışmada, CPP ve STT yapılmıştır. Bu çalışmada, CUMS'un depresyon sonucu sukroz tercihindeki azalmaya sebep olmasının ödüle yanıt duyarlılığının azalmasından kaynaklanıp kaynaklanmadığına bakmak için CPP yapılmıştır. 4 hafta boyunca CUMS uygulanırken, 3. ve 4. haftalarda CPP uygulanmıştır. 2 haftanın sonunda stres uygulanan sıçanların sukroz tüketiminde (% 0,7 sukroz) azalma görülmüştür. Ancak CPP'nde ödül olarak kullanılan % 0,7 ve % 34 sukroz çözeltilerinde stresli sıçanlarda tüketimde azalma görülse de kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Papp, Willner, & Muscat, 1991).

Bağımlılık gelişimini açıklamaya çalışan hipotezlere göre madde yoksunluğu sırasında kronik stres benzeri bir durum tetiklenmekte ve bunun bir uzantısı olarak anhedoni gelişmektedir. Bizim çalışmamızda nikotin yoksunluğu sonucu anhedoni gelişmiştir. Tez çalışmamızda anhedoniyi ölçebilmek için, kronik stres durumunu modelleyen çalışmalardaki gibi, STT kullanılmıştır. Çalışmamızda tüm sıçan grupları sukrozu, bazal durumla karşılaştırıldığında, günler içerisinde daha az tüketmiştir.



Sonuç ve Öneriler

Genetik zemin; nikotine bağımlı hale gelme, sigarayı bırakma ve relaps konularında sık rastlanan bireysel farkların altında yatan temel etkenlerden biridir. Bu nedenle nikotin bağımlılığının gelişiminde kalıtım yolu ile geçen genetik faktörlerin etkilerinin ortaya çıkartılması kritik önem taşımaktadır. Bağımlılığın genetik modelleri, nikotin bağımlılığına olan genetik yatkınlığın açıklanabilmesinde ve etkin tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde umut vadetmektedir.

Çalışmamızda KD'ler, KE'lere göre, yoksunluk sırasında daha erken ve daha belirgin anhedoni geliştirmişlerdir. NTD'ler, KD'lerden daha şiddetli anhedoni yaşamışlardır. Erkek gruplarında ise benzer düzeyde anhedoni saptanmıştır. NT sıçan soylarında cinsiyet farkı azalmış, dişiler erkeklere benzer davranış sergilemiştir. Bu çalışma, NT sıçan soyunun genetik alt yapısını henüz araştırmamış olmakla beraber bu alt yapıya sahip olmanın sıçanları nikotin bağımlılığına daha duyarlı hale getirdiğini göstermiştir.

Bu çalışmanın zaman ve bütçe sınırlaması dolayısıyla sıçan beyinde anhedoniyi düzenleyen nöromekanizmalardaki değişimlere bakılamamıştır. İleride bu konuda daha fazla bilimsel araştırma yapılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Alkhlaif, Y., Bagdas, D., Jackson, A., Park, A. J., & Damaj, I. M. (2017). Assessment of nicotine withdrawal-induced changes in sucrose preference in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *161*, 47–52. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2017.08.013>
- Balfour, D. (2004). The neurobiology of tobacco dependence: A preclinical perspective on the role of the dopamine projections to the nucleus. *Nicotine & Tobacco Research*, *6*(6), 899–912. <https://doi.org/10.1080/14622200412331324965>
- Benelli, A., Filafferro, M., Bertolini, A., & Genedani, S. (1999). Influence of S-adenosyl-L-methionine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats. *British Journal of Pharmacology*, *127*(3), 645–654. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702589>
- Biomonitoring Summary | CDC. (n.d.). Retrieved September 9, 2019, from https://www.cdc.gov/biomonitoring/Cotinine_BiomonitoringSummary.html
- Black, C. E., Huang, N., Neligan, P. C., Levine, R. H., Lipa, J. E., Lintlop, S., ... Pang, C. Y. (2001). Effect of nicotine on vasoconstrictor and vasodilator responses in human skin vasculature. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *281*(4), R1097–R1104. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.281.4.R1097>
- Bunney, P. E., Burroughs, D., Hernandez, C., & LeSage, M. G. (2016). The effects of nicotine self-administration and withdrawal on concurrently available chow and sucrose intake in adult male rats. *Physiology and Behavior*, *154*, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.11.002>
- Cadoni, C., & Di Chiara, G. (2000). Differential changes in accumbens shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *European Journal of Pharmacology*, *387*(3), R23–R25. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00843-2](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00843-2)
- Carlson, K. R., & Perez, L. (1997). Ethanol and Cocaine Intake by Rats Selectively Bred for Oral Opioid Acceptance. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *57*(1–2), 309–313. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(96\)00345-0](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(96)00345-0)
- Center for Behavioral Health Statistics, S. (n.d.). *Results from the 2013 National Survey on Drug Use and Health: Summary of National Findings*. Retrieved from <http://store.samhsa.gov/home>.
- Cook, J. W., Lanza, S. T., Chu, W., Baker, T. B., & Piper, M. E. (2017). Anhedonia: Its dynamic relations with craving, negative affect, and treatment during a quit smoking attempt. *Nicotine and Tobacco Research*, *19*(6), 703–709. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw247>
- Cook, J. W., Piper, M. E., Leventhal, A. M., Schlam, T. R., Fiore, M. C., & Baker, T. B. (2015). Anhedonia as a component of the tobacco withdrawal syndrome. *Journal of Abnormal Psychology*, *124*(1), 215–225. <https://doi.org/10.1037/abn0000016>

- De Biasi, M., & Dani, J. A. (2011). Reward, addiction, withdrawal to nicotine. *Annual Review of Neuroscience*, *34*, 105–130. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113734>
- de Kloet, S. F., Mansvelder, H. D., & De Vries, T. J. (2015). Cholinergic modulation of dopamine pathways through nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology*, *97*(4), 425–438. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2015.07.014>
- Deehan, G. A., Hauser, S. R., Getachew, B., Waeiss, R. A., Engleman, E. A., Knight, C. P., ... Rodd, Z. A. (2018). 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*, *235*(9), 2755–2769. <https://doi.org/10.1007/s00213-018-4970-0>
- Di Chiara, G. (2000). Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *European Journal of Pharmacology*, *393*(1–3), 295–314. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00122-9](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00122-9)
- Eagle, A., Mazei-Robison, M., & Robison, A. (2016). Sucrose Preference Test to Measure Stress-induced Anhedonia. *BIO-PROTOCOL*, *6*(11). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1822>
- Feduccia, A. A., Chatterjee, S., & Bartlett, S. E. (2012). Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: neuroplastic changes underlying alcohol and nicotine addictions. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *5*, 83. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2012.00083>
- Fodor, A., Klausz, B., Pintér, O., Daviu, N., Rabasa, C., Rotllant, D., ... Zelena, D. (2012). Maternal neglect with reduced depressive-like behavior and blunted c-fos activation in Brattleboro mothers, the role of central vasopressin. *Hormones and Behavior*, *62*(4), 539–551. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2012.09.003>
- Galvan, A., & Wichmann, T. (2008). Pathophysiology of parkinsonism. *Clinical Neurophysiology : Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, *119*(7), 1459–1474. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2008.03.017>
- Gorwood, P. (2008). Neurobiological mechanisms of anhedonia. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *10*(3), 291. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3181880/>
- Govind, A. P., Vezina, P., & Green, W. N. (2009). Nicotine-induced upregulation of nicotinic receptors: Underlying mechanisms and relevance to nicotine addiction. *Biochemical Pharmacology*, *78*(7), 756–765. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2009.06.011>
- Hakim, J. D., & Keay, K. A. (2019). Prolonged ad libitum access to low-concentration sucrose changes the neurochemistry of the nucleus accumbens in male Sprague-

- Dawley rats. *Physiology & Behavior*, 201, 95–103.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2018.12.016>
- He, S., Yang, Y., Mathur, D., & Grasing, K. (2008). Selective breeding for intravenous drug self-administration in rats: a pilot study. *Behavioural Pharmacology*, 19(8), 751–764. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e32831c3aec>
- Jackson, A. B., Toma, W., Contreras, K. M., Alkhlaif, Y., & Damaj, M. I. (2019). The $\beta 3$ subunit of the nicotinic acetylcholine receptor is required for nicotine withdrawal-induced affective but not physical signs or nicotine reward in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 183, 1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2019.05.003>
- Janhunen, S., & Ahtee, L. (2004). Comparison of the effects of nicotine and epibatidine on the striatal extracellular dopamine. *European Journal of Pharmacology*, 494(2–3), 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.05.015>
- Johnson, P. M., Hollander, J. A., Kenny, P. J., Kenny, P., Biochem, P., & Author, B. (2008). *Decreased brain reward function during nicotine withdrawal in C57BL6 mice: Evidence from intracranial self-stimulation (ICSS) studies*. *Pharmacol Biochem Behav* (Vol. 90). Retrieved from
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2442647/pdf/nihms55668.pdf>
- Kenny, P. J., & Markou, A. (2001). Neurobiology of the nicotine withdrawal syndrome. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 70(4), 531–549.
[https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00651-7](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00651-7)
- Klink, R., De Kerchove D'exaerde, A., Zoli, M., & Changeux, J.-P. (2001). *Molecular and Physiological Diversity of Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Midbrain Dopaminergic Nuclei*. Retrieved from
<https://www.jneurosci.org/content/jneuro/21/5/1452.full.pdf>
- Koo, J. W., & Duman, R. S. (2008). IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(2), 751–756.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0708092105>
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 217. <https://doi.org/10.1038/NPP.2009.110>
- Liang, Y., Boules, M., Shaw, A. M., Williams, K., Fredrickson, P., & Richelson, E. (2008). Effect of a novel neurotensin analog, NT69L, on nicotine-induced alterations in monoamine levels in rat brain. *Brain Research*, 1231, 6–15.
<https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2008.07.037>
- Liu, M.-Y., Yin, C.-Y., Zhu, L.-J., Zhu, X.-H., Xu, C., Luo, C.-X., ... Zhou, Q.-G. (2018). Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature Protocols*, 13(7), 1686–1698. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0011-z>

- Macpherson, T., Morita, M., & Hikida, T. (2014). Striatal direct and indirect pathways control decision-making behavior. *Frontiers in Psychology*. Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.01301>
- Marshall, D. L., Redfern, P. H., & Wonnacott, S. (2002). 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*, *68*(4), 1511–1519. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.68041511.x>
- McLaughlin, I., Dani, J. A., & De Biasi, M. (2015). Nicotine withdrawal. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *24*, 99–123. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13482-6_4
- Ministry of Health - Turkey. Global Adult Tobacco Survey, Turkey Report. Ministry of Health Turkey, 2010. | Request PDF. (n.d.). Retrieved October 7, 2019, from https://www.researchgate.net/publication/262004793_Ministry_of_Health_-_Turkey_Global_Adult_Tobacco_Survey_Turkey_Report_Ministry_of_Health_Turkey_2010
- Nesil, T., Kanit, L., Collins, A. C., & Pogun, S. (2011). Individual Differences in Oral Nicotine Intake in Rats. *Neuropharmacology*, *61*, 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.021>. Secreted
- Nesil, T., Kanit, L., Li, M. D., & Pogun, S. (2013). Nine generations of selection for high and low nicotine intake in outbred Sprague-Dawley rats. *Behavior Genetics*, *43*(5), 436–444. <https://doi.org/10.1007/s10519-013-9605-y>
- Nesil, T., Kanit, L., Ugur, M., & Pogun, S. (2015). Nicotine withdrawal in selectively bred high and low nicotine preferring rat lines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *131*, 91–97. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2015.02.009>
- Nisell, M., Nomikos, G. G., Hertel, P., Panagis, G., & Svensson, T. H. (1996). Condition-independent sensitization of locomotor stimulation and mesocortical dopamine release following chronic nicotine treatment in the rat. *Synapse*, *22*(4), 369–381. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199604\)22:4<369::AID-SYN8>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199604)22:4<369::AID-SYN8>3.0.CO;2-9)
- Nisell, M., Nomikos, G. G., & Svensson, T. H. (1994). Systemic nicotine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens is regulated by nicotinic receptors in the ventral tegmental area. *Synapse*, *16*(1), 36–44. <https://doi.org/10.1002/syn.890160105>
- O'Connor, W. T. (1998). Functional neuroanatomy of the basal ganglia as studied by dual-probe microdialysis. *Nuclear Medicine and Biology*, *25*(8), 743–746. [https://doi.org/10.1016/s0969-8051\(98\)00066-3](https://doi.org/10.1016/s0969-8051(98)00066-3)
- Obeso, J. A., Rodríguez-Oroz, M. C., Benitez-Temino, B., Blesa, F. J., Guridi, J., Marin, C., & Rodriguez, M. (2008). Functional organization of the basal ganglia:

- Therapeutic implications for Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 23(S3), S548–S559. <https://doi.org/10.1002/mds.22062>
- Panday, S., Reddy, S. P., Ruiter, R. A. C., Bergström, E., & de Vries, H. (2007). Nicotine Dependence and Withdrawal Symptoms among Occasional Smokers. *Journal of Adolescent Health*, 40(2), 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2006.09.001>
- Papp, M., Willner, P., & Muscat, R. (1991). An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology*, 104(2), 255–259. <https://doi.org/10.1007/BF02244188>
- Parker, S. L., Fu, Y., McAllen, K., Luo, J., McIntosh, J. M., Lindstrom, J. M., & Sharp, B. M. (2004). Up-regulation of brain nicotinic acetylcholine receptors in the rat during long-term self-administration of nicotine: disproportionate increase of the alpha6 subunit. *Molecular Pharmacology*, 65(3), 611–622. <https://doi.org/10.1124/mol.65.3.611>
- Pistillo, F., Clementi, F., Zoli, M., & Gotti, C. (2015). Nicotinic, glutamatergic and dopaminergic synaptic transmission and plasticity in the mesocorticolimbic system: Focus on nicotine effects. *Progress in Neurobiology*, 124, 1–27. <https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2014.10.002>
- Pothion, S., Bizot, J.-C., Trovero, F., & Belzung, C. (2004). Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behavioural Brain Research*, 155(1), 135–146. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2004.04.008>
- Ribeiro-Carvalho, A., Lima, C. S., Nunes-Freitas, A. L., Filgueiras, C. C., Manhães, A. C., & Abreu-Villaça, Y. (2011). Exposure to nicotine and ethanol in adolescent mice: Effects on depressive-like behavior during exposure and withdrawal. *Behavioural Brain Research*, 221(1), 282–289. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2011.03.014>
- Rygula, R., Abumaria, N., Flügge, G., Fuchs, E., Rüter, E., & Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress. *Behavioural Brain Research*, 162(1), 127–134. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2005.03.009>
- S. Watkins, George F. Koob, Athina, S., Koob, G. F., & Markou, A. (2000). Neural mechanisms underlying nicotine addiction: acute positive reinforcement and withdrawal. *Nicotine & Tobacco Research*, 2(1), 19–37. <https://doi.org/10.1080/14622200050011277>
- Stoker, A. K., Marks, M. J., & Markou, A. (2015). Null mutation of the β 2 nicotinic acetylcholine receptor subunit attenuates nicotine withdrawal-induced anhedonia in mice. *European Journal of Pharmacology*, 753, 146–150. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.05.062>

- Stoker, A. K., Olivier, B., & Markou, A. (2012). Involvement of metabotropic glutamate receptor 5 in brain reward deficits associated with cocaine and nicotine withdrawal and somatic signs of nicotine withdrawal. *Psychopharmacology*, *221*(2), 317–327. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2578-8>
- Thompson, R. D., & Grant, C. V. (1971). Automated preference testing apparatus for rating palatability of foods. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, *15*(2), 215–220. <https://doi.org/10.1901/jeab.1971.15-215>
- Volkow, N. D., Koob, G. F., & McLellan, A. T. (2016). Neurobiologic Advances from the Brain Disease Model of Addiction. *The New England Journal of Medicine*, *374*(4), 363–371. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1511480>
- Willner, P., Lappas, S., Cheeta, S., & Muscat, R. (1994). Reversal of stress-induced anhedonia by the dopamine receptor agonist, pramipexole. *Psychopharmacology*, *115*(4), 454–462. <https://doi.org/10.1007/bf02245568>
- Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S., & Muscat, R. (1987a). *Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant*. *Psychopharmacology* (Vol. 93). Retrieved from <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2FBF00187257.pdf>
- Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S., & Muscat, R. (1987b). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, *93*(3), 358–364. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3124165>
- Wise, R. A., & Koob, G. F. (2014). The development and maintenance of drug addiction. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *39*(2), 254–262. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.261>
- Wu, W. K. K., & Cho, C. H. (2004). The Pharmacological Actions of Nicotine on the Gastrointestinal Tract. *Journal of Pharmacological Sciences*, *94*(4), 348–358. <https://doi.org/10.1254/jphs.94.348>
- Xia, Y., Driscoll, J. R., Wilbrecht, L., Margolis, E. B., Fields, H. L., & Hjelmstad, G. O. (2011). Nucleus Accumbens Medium Spiny Neurons Target Non-Dopaminergic Neurons in the Ventral Tegmental Area. *Journal of Neuroscience*, *31*(21), 7811–7816. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1504-11.2011>
- Xu, H., Das, S., Sturgill, M., Hodgkinson, C., Yuan, Q., Goldman, D., & Grasing, K. (2017). Extracellular dopamine, acetylcholine, and activation of dopamine D1 and D2 receptors after selective breeding for cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology*, *234*(16), 2475–2487. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4640-7>
- Yeh, K.-Y., Shou, S.-S., Lin, Y.-X., Chen, C.-C., Chiang, C.-Y., & Yeh, C.-Y. (2015). Effect of Ginkgo Biloba Extract on Lipopolysaccharide-induced Anhedonic






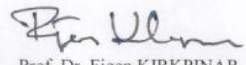


Depressive-like Behavior in Male Rats. *Phytotherapy Research*, 29(2), 260–266.
<https://doi.org/10.1002/ptr.5247>

Yelnik, J. (2002). Functional anatomy of the basal ganglia. *Movement Disorders*,
17(S3), S15–S21. <https://doi.org/10.1002/mds.10138>



Ekler

8.1. Etik Kurul Onayı

EGE ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU	
SAYI: 2019-001 KONU: Onay	30.01.2019
Etik kurulumuza yapmış olduğunuz başvuru doğrultusunda "NİKOTİN TERCİH EDEN SIÇAN SOYLARINDA NİKOTİN UYGULAMASININ VE YOKSUNLUĞUNUN ANKSİYETE TESTLERİ VE SUKROZ TERCİHİNE ETKİLERİ" isimli araştırma projeniz değerlendirilmiştir.	
Yürütücü: Prof.Dr. Lütfiye Kanıt, EÜTF Fizyoloji Anabilim Dalı Doç.Dr. Ayşegül Keser, EÜTF Fizyoloji Anabilim Dalı YL. Öğr. Aylin Zinde, EÜTF Fizyoloji Anabilim Dalı YL. Öğr. Merve Bayoğlu, EÜTF Fizyoloji Anabilim Dalı	
Proje başvuru formunuzda belirtildiği koşullarda 53 siçan 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 (KATILMADI)
 Prof. Dr. Hüseyin TEZEL	Prof. Dr. Altuğ YAVAŞOĞLU 
 Prof. Dr. Haşmet ÇAĞIRGAN	 Prof. Dr. Figen KIRKPINAR
Prof. Dr. Uğur KAYA (KATILMADI)	Dr. Öğr. Üyesi Sumru SÖZER KARADAĞLI (KATILMADI)
Öğr. Gör. Dr. M. Ayberk OKTAY 	Vet. Hek. F. Emrah SOYLU 

8.2. Deneý Hayvanları Kullanım Sertifikası



**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ**
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Sayın AYLIN ZİNDE

19.03.2018 - 30.03.2018 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi HADYEK tarafından İzmir ilinde düzenlenen "Deneý Hayvanları Kullanım Sertifikası" eğitimini başarı ile tamamlayarak A kategorisi sertifikası almaya hak kazanmıştır.

Prof. Dr. NAZAN UYSAL
HARZADIN
HADYEK BAŞKANI


Prof. Dr. ERDAL ÇELİK
Rektör V.



Teşekkür

Yüksek lisans programına ilk başladığımdan bu yana hep yanımda olduğunu hissettiğim, bana öncülük eden ve akademik anlamda yol gösterip yardımcı olan güler yüzüyle enerji veren sevgili danışman hocam, Doç. Dr. Ayşegül KESER'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışması esnasında bana yardımcı olan sevgili hocalarım Prof. Dr. Lütfiye KANIT ve Prof. Dr. Burcu BALKAN'a çok teşekkür ederim. Beni bu yolculuğa kabul eden Ege Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı ailesine ve bu süreçte birlikte zorlukları atlattığımız ve güzel günleri geride bıraktığımız canım arkadaşım Gülsüm KOZAN'a teşekkür ederim.

Hep yanımda olan ve tez yazım sürecinde bana destek olan canım ailem ve arkadaşlarım Oya KORKUT ve Elif SÖZEN'e de teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İzmir, 10.12.2019

Aylin ZİNDE

Özgeçmiş

Aylin Zinde

Adres: Basinsitesi, Karabağlar-Izmir/TURKEY

Eğitim

Lisansüstü Programı Ege Üniversitesi- Tıp Fakültesi-Fizyoloji Anabilim Dalı

Lisans Programı Yeditepe Üniversitesi- Beslenme ve Diyetetik

Lise Övgü Terzibaşoğlu Anadolu Lisesi

Yapılan Stajlar

2016 Erasmus+Programı ile Hollanda, Maastricht Üniversitesinde araştırma stajı

2016-2017 4.sınıf boyunca yapılan stajlar: Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Medikalpark-Gebze, Yeditepe Hastanesi, Dyt. Şeyda SULAR, Dyt. Emre UZUN, Sanitas

Sertifikalar

Mart 2014 Gelecek günü Semineri- Yeditepe Üniversitesi- İstanbul

Mart 2014 Individual Motivation Training- Yeditepe Üniversitesi-İstanbul

Mart 2018 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası- 9 Eylül Üniversitesi- İzmir

Ekim-Kasım 2019 Ulusal Fizyoloji Kongresi- Kuşadası / İzmir

Kişisel Beceriler

Diller:

Türkçe, İngilizce(orta seviyede), Farsça(orta seviyede), Japonca (başlangıç-N4 seviyesinde), Fransızca(başlangıç seviyesinde), Almanca(başlangıç seviyesinde)

Bilgisayar Becerileri:

Microsoft Office (Power Point, Excel,Word), SPSS 17.0(Statistical Analysis Programme), BeBIS(Beslenme Bilgi Sistemi)

Hobiler:

Piyano çalmak, yüzmek, yeni diller öğrenmek, buz pateni yapmak

İletişim Bilgileri:

E-posta Adresi: zindeaylin@gmail.com