

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

**NIKOTİN BAĞIMLILIĞINDA
ŞARTLI YANITLARIN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

**Fizyoloji Anabilim Dalı Programı
Doktora Tezi**

Dr. Görkem YARARBAŞ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Şakire PÖĞÜN**

İZMİR

Haziran 2006

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

**NIKOTİN BAĞIMLILIĞINDA
ŞARTLI YANITLARIN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

**Fizyoloji Anabilim Dalı Programı
Doktora Tezi**

Dr. Görkem YARARBAŞ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Şakire PÖĞÜN**

İZMİR

Haziran 2006

ÖNSÖZ

Madde bağımlılığı tüm dünyada giderek büyüyen bir sorundur. Nikotin bağımlılığı ve buna bağlı sigara kullanımı diğer bağımlılık türlerine kıyasla masum gözükmesine karşın her yıl milyonlarca insanın ölümüne neden olmaktadır. Bu çalışmada, sigara bırakma tedavileri geliştirmesinde faydalı olabilecek nörobiyolojik ipuçları bulmayı hedefledik. Sonuçlarımızın tedavi alanındaki yeni araştırma ve çalışmalara faydalı olacağını umuyorum.

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Şakire PÖĞÜN'e, davranış alanındaki tecrübesiyle çalışmamızın sorunsuz şekilde gerçekleşmesinde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Lütfiye KANIT'a içten teşekkürlerimi sunarım.

İZMİR

Haziran 2006

Dr.Görkem YARARBAŞ

İÇİNDEKİLER

1	GİRİŞ	1
2	GENEL BİLGİLER	8
2.1	Nikotin ve tütün bağımlılığı	8
2.2	Nikotin/sigara bağımlılığında görülen cinsiyet farkları	10
2.3	Bağımlılık çalışmalarında şartlı yer tercihi	14
2.4	Nikotin ile oluşturulan şartlı yer tercihi	16
2.5	Nikotin ile nitrik oksid bağlantısı	19
2.6	Nikotin bağımlılığında glutamatın ve metabotropik glutamat 5 reseptörlerinin yeri	22
3	GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1	Deney hayvanları	27
3.2	Şartlı Yer Tercihi	27
3.2.1	Deney düzeneği	27
3.2.2	Davranışın otomatik ölçümünün validasyonu	30
3.2.3	Çalışma Protokolü	31
3.3	İlaç uygulamaları	33
3.4	Deneyler	33
3.4.1	Doz yanıt	33
3.4.2	İlk gün tercih edilen tarafta nikotin uygulanan şartlama deneyleri	34

3.4.3	NOS (Nitrik oksit sentaz) inhibisyonun nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisinin incelenmesi	34
3.4.4	MPEP uygulamasının nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisinin incelenmesi	35
3.5	İstatistiksel analiz	35
4	BULGULAR	37
4.1	Doz Yanıt	37
4.2	İlk gün tercih edilen tarafta nikotin uygulanan şartlama deneyleri	39
4.3	NOS (Nitrik oksit sentaz) inhibisyonun nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisi	41
4.4	MPEP uygulamasının nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisi	43
5	TARTIŞMA	45
6	REFERANSLAR	53

ŞEKİLLER:

Şekil 1: Erkek ve dişilerde sigara/nikotin bağımlılık paternleri	12
Şekil 2: Deneylerde kullanılan şartlı yer tercihi (CPP) düzeneklerinin grafik çizimi (sol) ve üstten çekilmiş fotoğrafı (sağ). Grafikteki noktalı çizgiler karşılıklı fotosellerin izlem hattını göstermektedir	28
Şekil 3: CPP düzeneklerinin deney ortamında, izole bir odadaki yerleşimleri	29
Şekil 4: “COMMAT, MAY-Place preference” yazılımının bilgisayar ekranındaki görüntüsü	30
Şekil 5: Farklı nikotin dozlarında erkek ve dişi sıçanlarda oluşturulan CPP	38
Şekil 6: Tercih edilen tarafta nikotin ile yapılan şartlama sonuçları	39
Şekil 7: NOS inhibisyonunun 0,2 mg nikotin ile oluşturulan CPP'ye etkisi	41
Şekil 8: MPEP uygulamasının 0,2 mg/kg nikotin ile oluşturulan CPP'ye etkisi	43

TABLolar:

Tablo 1: Sıçan beyinde mGluR5 dağılımı	22
Tablo 2: Deney protokolü	32

1 GİRİŞ

Genelde bağımlılık, özelde sigara kullanımı büyük bir sağlık sorunudur. Dünya genelinde her yıl milyonlarca insanın sağlığının kaybına ve ölümüne neden olmaktadır (Samet 2005). Bu bilgilerin toplumun büyük çoğunluğu tarafından bilinmesine rağmen bağımlılıkla başa çıkma yolları maalesef çok sınırlı ve eldeki olanaklarla bağımlılığın tedavi oranı amaçlanan düzeyin çok altındadır. Nikotinin sigaranın içindeki bağımlılık yapıcı en önemli madde olduğu kabul edilmektedir. Engellenebilir bir ölüm nedeni olması nedeniyle, sigara içmeyi bıraktıracı tedavilerin geliştirilmesi önemlidir. Bu bağlamda nikotinle yapılan çalışmalar giderek daha fazla önem kazanmaktadır.

Sigara kullanımının yarattığı zararın büyüklüğü ve nikotin bağımlılığının kompleks doğası bir araya geldiği zaman ortaya çözümü zor bir problem çıkmaktadır. Bağımlılığın altında yatan mekanizmaların genetik ve moleküler düzeylerden davranışa kadar değişen bir yelpazede araştırılarak aydınlatılması için değişik faktörlerin modüle edilerek kontrolüne olanak sağlayan deney düzenlerinden yararlanılması gerekmektedir. Bu anlamda, bağımlılığın kolay idare edilebilir ve ölçülebilir hale getirilmesi amacıyla deney hayvanlarının kullanımı avantajlar sağlar.

Nikotin bağımlılığı üç boyutta incelenebilir: Ödül, şartlanma, bilişsel destek. Tüm bağımlılık yapıcı maddeler gibi nikotinin de ödül boyutu vardır. Beyinde dopaminerjik aktiviteyle yakından ilişkili olan bu boyut bugüne dek en çok araştırılmış olandır. Nikotinin beyinde *nukleus akkumbenste* dopamin salımını artırdığı gösterilmiştir. Nikotinin bu etkisinin yanısıra sigaranın içerdiği çok sayıdaki kimyasaldan bazıları dopaminin yıkımını sağlayan monoamino oksidaz (Mao and Wang) enzimini inhibe ederek dopamin seviyelerinin yüksek kalmasını sağlar. Dopaminerjik sistem üzerine yapılan araştırmalar sonucunda tedaviye yönelik bazı yaklaşımlar da geliştirilmiştir. Bir dopamin geri alım inhibitörü olan bupropion,

ödül sistemi üzerinden etki yapar ve sigara içme davranışını bir düzeye dek azaltabilir. Ancak tedavi başarısı halen düşüktür (yaklaşık %35) ve cinsiyet farkları dikkat çekmektedir (Lerman, Shields et al. 2002). Bu durum, bağımlılığın sürdürülmesinde ödül ve pekiştirmeden farklı boyutların varlığına işaret etmektedir.

Şartlanma, nikotin bağımlılığında bir diğer etkidir. Sigaranın pek çok bağımlılık yapıcı maddeye oranla günlük tüketiminin adet olarak yüksek olması şartlanma etkisinin sigara bağımlılığında çok etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bağımlılığın şartlanma boyutu glutamaterjik sistemle ilişkilendirilmektedir (Tzschentke and Schmidt 2003). Her ne kadar nikotinin pekiştirici etkilerinde rolü olan pek çok davranışsal etkinin dopaminerjik sistemler üzerinden olduğu bilinmekte ise de, nikotinin uzun dönemdeki etkilerinde habitüasyon görülmemektedir ve bunun çağrışımsal ve uyarın-ödül bağlamında şartlanmaların etkisiyle olduğu düşünülmektedir. Akut ve kronik etkilerde *n. akkumbenste* farklı bölgelerin etken olması olasıdır. Sigara kullanımının alışkanlık haline gelmesinde bu ayırımın üzerinde durulması gerekmektedir (Di Chiara 2000).

Suistimal edilen bir madde olan ve ölüme yol açtığı kanıtlanmış olan sigara kullanımının istenen düzeyde önlenememesinde nikotinin bilişi (kognisyon) destekleyen olumlu etkilerinin de rolü vardır (Heishman, Snyder et al. 1993). Nikotinin asetilkolin reseptörleri (nAChR), bilişsel fonksiyon ve bağımlılıkta kritik rolleri olduğu kanıtlanmış olan beyin bölgelerinde pre- ve post-sinaptik olarak bulunmaktadırlar: *korteks*, *korpus striatum* ve *ventral tegmental alan* (Levin, Briggs et al. 1992). Nikotinin kognitif etkileri bağımlılığın oluşması ve sürdürülmesinde önemli bir etkidir. Sigara kullanımı ile kognitif performans arasındaki ilişki kullanıcılar tarafından bildirildiği kadar, gerek insan (Algan, Furedy et al. 1997) gerekse hayvanlarda (Yılmaz, Kanit et al. 1997) yapılan çalışmalarda performans artışı bilimsel olarak da gösterilmiştir.

Şartlı yer tercihi (Condition Place Preference – CPP), suistimal edilen çeşitli maddelerin ödül oluşturan etkilerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır; bu yöntemde birincil pekiştiricinin bağlam ile eşleştirilmesi sonucunda kontekstin de pekiştirici özellikler kazandığı kabul edilmektedir (Bardo, Rowlett et al. 1995). CPP etkisi bazı maddelerle (örnek, kokain) kolayca oluşturulup incelenebilmiş olmasına karşın, nikotin çalışmalarında yer tercihinin başarılı biçimde ortaya koyulması zaman almıştır (Shoaib, Stolerman et al. 1994; Tzschentke 1998). CPP çalışmalarında, örneğin, eğer nikotin hep belli ortamlarda tüketiliyorsa, bu ortamların da nikotin gibi pekiştirici olduğu varsayılmaktadır. Nikotin ile eşleştirilen ortamlarda daha fazla zaman geçirilmesi bu varsayımın temelini oluşturmaktadır. Nikotinin şartlı yer tercihinde etkili olduğuna ilişkin 1985 yılından başlamak üzere (Fudala, Teoh et al. 1985) yaklaşık 30 yayın vardır. Bu çalışmaların tümünde sonuçlar aynı yönde değildir ve aralarında çelişkili bulgular vardır. Bu farklılaşmanın kullanılan hayvan türlerinden kaynaklanması olası olduğu gibi, kullanılan nikotin dozu, şartlı yer tercihi düzeneği ve deney protokolünün de sonuçlara yansması söz konusudur (Le Foll and Goldberg 2005). Yine de nikotin ile şartlı yer tercihinin oluşturulduğunu saptayan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Diğer taraftan bu konunun cinsiyet farkları boyutunda araştırılmamış olması önemli bir eksikliklerdir. Özellikle nikotin etkilerinde cinsiyet farkları olduğu ve sigara bağımlılığında kadınların erkeklerden farklı bir profil sergilediği göz önünde bulundurulursa, konunun bu boyutu ile araştırılmasının önemi açıktır.

Son yıllarda nikotin etkilerinde cinsiyet farklılıkları giderek önem kazanmakta olan bir konudur. Kadınlarda artan oranlarda sigara kullanımının yanısıra, kadınların sigarayı bırakmada erkeklerden daha başarısız olmaları toplum sağlığı açısından üzerinde önemle durulması gereken bir konudur (Pogun 2001). Ayrıca bu farklılığın deneysel çalışmalarda da (genellikle sıçan) görülmesi, olayın çevre faktörleri ile açıklanamayacağını ve biyolojik temelini önemini düşündürmektedir. Erkekler ve kadınlar, benzer şekilde, nikotini

plasebodan ayırdedebildikleri halde, bu ayırım için kullandıkları kriterler farklıdır; kadınlarda sübjektif kriterler daha etkili olmaktadır (Perkins, DiMarco et al. 1994; Perkins, Donny et al. 1999).

Diğer yandan, nikotinin etkileri kolinerjik sistem ile sınırlı değildir. Nikotinin nörokimyasal ve davranışsal etkilerinde transmitter olarak asetilkolin, dopamin, noradrenalin, serotonin, glutamat ve GABA'yi kullanan nöronların üzerlerinde yer alan nACh reseptörleri üzerinden tüm bu ileti sistemleri ile etkileşimler söz konusudur (Wonnacott and Marks 1999). Ayrıca, her ne kadar nACh reseptör aktivasyonunun hücre içine Na⁺ girişine yol açtığı biliniyorsa da, bulgular, kanalın aktivasyonu ve açılmasını takiben hücre içine Ca²⁺ girişi de olduğunu kanıtlamaktadır (Rosecrans and Karan 1993). Intraselüler Ca²⁺ düzeylerinin artması, nörotransmitter salgılanmasını arttıracak gibi, çeşitli intraselüler süreçleri de etkileyecektir. Nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin uyarılması ve nitrik oksit (NO) oluşumunun tetiklenmesi, bu bağlamda değerlendirilebilir; NO düzeylerindeki artışın nikotinin çeşitli etkilerinde rol alması olasıdır.

Son yıllarda suistimal edilen ilaçların pekiştirici ve fiziksel bağımlılık oluşturan etkilerinin beyinde gerek lokalizasyon, gerek nörotransmitter sistemleri açısından ayrıştığı görüşü ağırlık kazanmıştır. Mezolimbik alanlarda dopamin düzeylerinin artışının pekiştirici olduğu, glutamaterjik sistemlerin ise bağımlılığın şartlanma boyutlarına etkili olduğu yönünde bulgular vardır. Bu bağlamda metabotropik Glutamat 5 reseptörleri (mGluR5) özellikle dikkat çekmektedir. mGluR5 bulunmayan (knock-out) farelerde *n.akumbenste* dopamin düzeyleri normal olduğu ve kokain uygulamasıyla yükseldiği halde bu farelerde kokaine bağlı lokomotor aktivite artışı olmamakta ve hayvanlar kokaine bağımlı olmamaktadırlar (Chiamulera, Epping-Jordan et al. 2001). Diğer bir deyişle, bağımlılığın dopaminden farklılaşan bir boyutu bağımlılık oluşmasında etken olmaktadır. Aynı bulgu 6-methyl-2-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) ile de gösterilmiştir. MPEP, in-vitro ve in-vivo koşullarda

selektif olarak etki gösteren bir mGluR5 reseptör antagonistidir (Gasparini, Lingenhoehl et al. 1999; Salt, Binns et al. 1999). Son yıllarda MPEP kullanılarak mGluR5'in korku şartlamasında, amigdala plastisitesinde ve LTP'de etkili olduğu gösterilmiştir (Schulz, Fendt et al. 2001; Fendt and Schmid 2002; Lee, Lee et al. 2002; Rodrigues, Bauer et al. 2002). Bağımlılık yapıcı maddelerden bazılarının etkilerinin ortamla ilişkilendirilmesinin MPEP ile engellendiği gösterilmiştir (Herzig, Capuani et al. 2005).

Bağımlılıkla ilgili klasik bilgilerimizi bu yeni verilerle birleştirdiğimizde dopamin'in bağımlılığın oluşmasında etkili olan, ödül sistemlerinin uyarılması ile sağlanan coşkulu duyguların oluşmasında rol aldığını, glutamaterjik sistemlerin (özellikle mGluR5) ise bağımlılığın sürdürülmesinde etkili olduğunu söyleyebiliriz. Bu durumda bağımlılığın tedavisinde mGluR'leri üzerinde durmak yerinde olacaktır. Ancak söz konusu veriler kokain ile elde edilmiş olup, tüm bağımlılıklara genelleştirilemez. Nikotin bağımlılığında kontekst belki de diğer tüm bağımlılık türlerinden daha ağırlıklı olarak ele alınmalıdır. Çünkü sigara tiryakisi olan bir kişi binlerce sigara içmiştir ve şartlanmasını sağlayacak faktörler, nikotin ile binlerce kez eşleştirilerek çok fazla pekiştirilmiştir. Bu nedenle mGluR5 sisteminin rol alması olası görülen ve bağımlılığın sürmesinde etken olan boyutun nikotin bağımlılığında da etkili olması beklenebilir.

Nikotin ödül ile ilgili beyin bölgelerinde dopamin ve glutamat düzeylerini artırmaktadır. Bildiğimiz kadarı ile, MPEP kullanılarak yapılan bir tek çalışma vardır ve bu çalışmada nikotin ile beynin ödül sistemlerinde Dopamin DA1 Reseptörlerinin rolü olduğu teyid edildiği halde mGluR5'in bu etkiyi modüle etmediği gösterilmiştir (Harrison, Gasparini et al. 2002). Tüm bu bilgiler birlikte değerlendirildiğinde, nikotin bağımlılığında etkili olan şartlama boyutunda da kokainde olduğu gibi glutamaterjik sistemin, ve özellikle mGluR5'in, etkili olması olasılığı yüksektir ve bu tür bir etkide cinsiyet farkları bulunması olasıdır.

Sunulan tez çalışmasının amacı, nikotinin şartlı yer tercihi oluşturmasını farklı nikotin dozlarında incelemek, olası cinsiyet farklarını saptamak ve nikotin ile oluşturulan şartlı yer tercihinde NO ve mGluR5 etkisini araştırmaktır. Bu bağlamda, sunulan tez çalışmasının sonuçları kliniğe ve toplum sağlığına yönelik yarar sağlayabilecek, nikotin bağımlılığı ile başa çıkma yolları aranırken mGluR5 antagonistleri üzerinde durulması desteklenecektir. Halen MPEP insanlara uygulanmamaktadır, ancak konu ile ilgili çalışmalar sürmektedir. Diğer taraftan benzer şekilde nikotinin akut ve kronik uygulaması ile beyinde bölgesel farklılık ve cinsel dimorfizm gösteren şekilde NO düzeylerini artırıcı etkilerinin (Pogun, Demircoren et al. 2000) şartlı yer tercihinde incelenmesi NO'nin nikotin bağımlılığının sürdürülmesindeki rolünü aydınlatacaktır. Literatürde bu yönde bir çalışma da mevcut değildir.

Özetle, sunulan tez çalışması nikotinin bağımlılığının ortaya çıkış ve sürdürülmesindeki mekanizmalarını araştırmayı amaçlamaktadır. Bu mekanizmalar anlaşıldıkça yeni farmakoterapötik yaklaşımların geliştirilmesi mümkün olabilecektir. Her iki cinsiyette de çalışılması, cinsiyet farklılıklarının da ortaya konabilmesini mümkün kılacaktır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Nikotin ve tütün bağımlılığı

Sigara kullanımının sürdürülmesindeki temel etken nikotin bağımlılığıdır. Nikotin tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkisinin yapraklarında bulunan bir alkaloiddir. Tütünde bulunan nikotin ilk kez 1828 yılında Posselt ve Reimann tarafından izole edilmiştir (Jerrold S. Meyer 2005).

Nikotinin vücuda geçişi, tütünün sigara olarak içilmesi, çiğnenmesi veya değişik kullanım şekilleriyle mümkün olabilir. En hızlı geçiş sigara kullanımıyla olur. Sigaradan alınan nefesteki nikotinin beyine ulaşması yaklaşık 7 saniyede gerçekleşir. Bu süre intravenöz uygulamaya göre iki misli hızlıdır. Günde çok sayıda sigara içilmesi ve her bir sigaranın yaklaşık 30-60 saniye aralıklarla ve ortalama 10 nefeste içilmesi, nikotinin etkilerinin pekişmesinde önemlidir ve bu durum nikotin bağımlılığında şartlanma boyutunun diğer pek çok maddeye oranla ön planda olmasına neden olabilir (Jerrold S. Meyer 2005);(Miyata, Kono et al. 2005).

Vücutta nikotinin %70-80'i primer metaboliti olan kotinine çevrilir. Bu aşamada bir karaciğer enzimi olan sitokrom P450 2A6 görev alır. Kotinin ve diğer metabolitler olan nikotin-*N*-oksit, nornikotin ve norkotinin idrarla vücuttan atılır (Jerrold S. Meyer 2005).

Nikotin etkilerini nikotinic asetilkolin reseptörlerini (nAChR) uyararak gösterir. Bu reseptörler, toplam beş altüniteden oluşan bir iyon kanalı yapısındadırlar. Alt üniteler α (2-9) ve β (2-4) olarak isimlendirilir ve en yaygın reseptör yapısı iki α 4 ve üç β 2 olmakla birlikte diğer kombinasyonlar da mevcuttur. Ayrıca aynı alt ünitelerden oluşan (örneğin 5 adet α 7) reseptör yapıları da bulunmaktadır (Jerrold S. Meyer 2005). Altüniteler üzerine odaklanan çalışmalar da yapılmıştır. Son dönemde yapılan bir "kendine uygulama" (self administration)

çalışmasında $\beta 2$ geni etkisiz hale getirilmiş fareler nikotini kendilerine uygulamamışlardır. Buna karşın aynı hayvanlarda yoksunluk yanıtları gösterilebilmiştir (Besson, David et al. 2006). Bu durum nikotin bağımlılığının çok boyutlu ve karmaşık doğasını ortaya koymaktadır.

Nikotinin gerek deney hayvanlarında gerek insanlarda bağımlılık yapıcı bir maddenin tüm özelliklerini sergilediği kabul edilmiştir (Le Foll and Goldberg 2006).

Dopaminin nikotin bağımlılığındaki rolü pek çok çalışma ile kanıtlanmıştır. Ancak nikotin bağımlılığında diğer bazı nörotransmitter sistemlerinin de etkileri söz konusudur. Örneğin nikotin uygulamasından sonra sıçan *nukleus akkumbensinde* ve fare *korpus striatumunda* endojen opiyoid salgısında artış olduğu bilinmektedir (Pomerleau and Pomerleau 1984; Pierzchala, Houdi et al. 1987; Davenport, Houdi et al. 1990; Houdi, Pierzchala et al. 1991; Dhatt, Gudehithlu et al. 1995); endojen opiyoidlerin nikotinin ödül/pekiştirme etkilerinde rol oynaması olasıdır.

Glutamaterjik ileti de bağımlılık davranışında kritik bir role sahiptir ve son yıllardaki çalışmalar tip 5 metabotropik glutamat reseptörlerinin (mGluR5) genetik veya farmakolojik olarak inaktive edilmesinin kokain, nikotin ve alkol alımını (kendine uygulama = “self administration”) azalttığını ortaya koymuştur (Olive, McGeehan et al. 2005).

Bir transkripsiyon faktörü olan CREB’in de suistimal edilen pek çok maddenin ödül etkilerinde aracılık ettiği bilinmektedir. Örneğin, morfin CREB’i aktive etmekte (Guitart, Thompson et al. 1992; Lane-Ladd, Pineda et al. 1997) ve CREB geni olmayan mutant farelerde morfin pekiştirici etki oluşturmamaktadır (Maldonado, Blendy et al. 1996; Walters and Blendy 2001). Kronik kokain *n. akkumbenste* CREB fosforilasyonunu artırmakta (Terwilliger, Beitner-Johnson et al. 1991; Kano, Suzuki et al. 1995) ve CREB ekspresyonu artırılmış mutant fareler kokainin pekiştirici etkilerine daha duyarlı hale gelmektedir (Walters and Blendy 2001). CREB’in nikotin bağımlılığındaki rolü ile ilgili az sayıda çalışma

mevcuttur. Kronik nikotinin fare *n. akkumbensinde* CREB fosforilasyonunu azalttığı, fakat *prefrontal kortekste* artırdığı bildirilmektedir. Diğer yandan nikotin yoksunluğunda ventral tegmental alanda (VTA) CREB fosforilasyonu artmaktadır (Brunzell, Russell et al. 2003). Bunun aksine, kronik nikotin uygulamasının sonlandırılması sıçanlarda korteks ve amigdalada fosforile CREB düzeylerini düşürmekte ve CRE-DNA bağlanmasını azaltmaktadır (Pandey, Roy et al. 2001). Demek ki nikotin bağımlılığında uzun süreli plastisite oluşturulmasında CREB'in rolü olabilir, ancak bu konudaki çalışmalar henüz yeterli değildir.

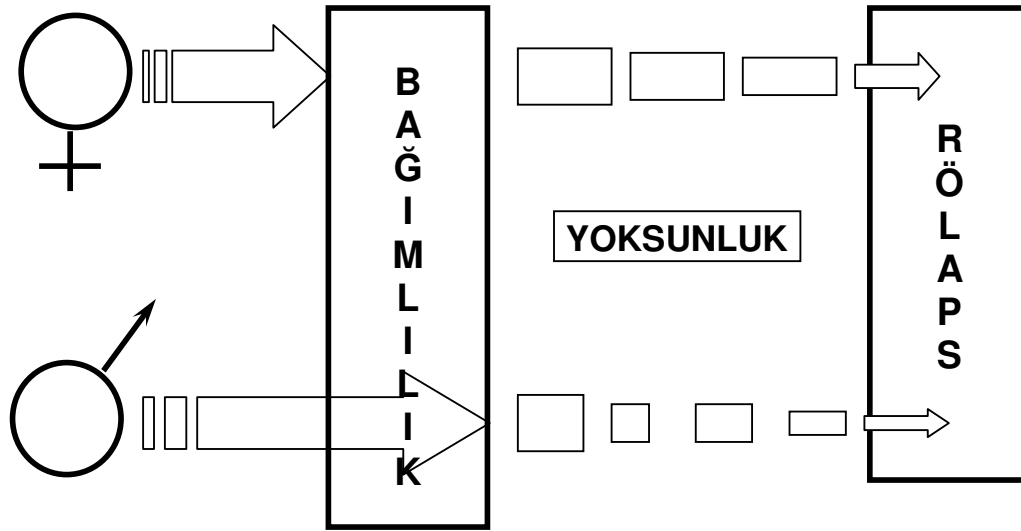
2.2 Nikotin/sigara bağımlılığında görülen cinsiyet farkları

Her ne kadar erkek ve dişilerin farklı olduğu herkes tarafından çok açık biçimde algılanıyor ise de, bu farklılığın önemli bir faktör olarak bilimsel çalışmalarda ve tıp uygulamalarında yerini alması çok geç olmuş, hatta bazı ortamlarda bu durum bir devrim olarak nitelendirilmiştir. Cinsiyet farklılıkları üreme fonksiyonu ile sınırlı olmayıp beynin yapısal ve fonksiyonel organizasyonunda da kendini gösterir ve davranışa yansır. Cinsiyet farklarına odaklanan araştırmalar sadece betimsel veriler sağlamakla kalmaz, davranışın altında yatan mekanizmaların anlaşılmasına da açıklık getirir. Psikopatoloji ve bağımlılıkta gözlenen cinsiyet farkları konunun klinik açıdan önemini vurgulamaktadır.

Beyin ve davranıştaki cinsiyet farkları genler, gonadal cinsiyet, hormonal cinsiyet, hormonların beyin üzerindeki etkileri (aktivasyonel, organizasyonel ve trofik), öğrenme, sosyal ve diğer çevresel faktörlerin arasındaki karşılıklı ve karmaşık etkileşimler sonucu ortaya çıkar (Pogun 2001).

Giderek artan bulgular, bağımlılığı hazırlayan faktörler, bağımlılığın sonunda gelinen nokta ve bağımlılık mekanizmalarında erkekler ve dişiler arasında önemli farklar olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda bağımlılığın önlenmesi ve tedavisinde cinsiyet faktörünün dikkate alınması gerekmektedir. Tütün/sigara kullanımı önemli cinsiyet farkları sergileyen bir

bağımlılıktır. Cinsiyet, pek çok nörotransmisyon sistemini etkileyen bir faktör olduğuna göre, sigara kullanımında görülen cinsiyet farklarının bir dereceye kadar nikotinin nACh reseptörleri ile etkileşiminde farklılaşma yaratması beklenebilir. Her ne kadar son yıllarda sigara bağımlılığında bir azalma görülmekte ise de, sigarayı bırakmada kadınlar erkekler kadar başarılı olmamaktadırlar . Laboratuvar hayvanlarında da nikotinin oluşturduğu santral etkilerde de cinsiyet farkları gözlenmektedir (Pogun 2001). Nikotinin yanısıra, genelde psikostimülan ilaçların pekiştirici, ödüllendirici etkilerine dişilerin daha yatkın olduğu bildirilmiştir (Perkins, Donny et al. 1999; Lynch, Roth et al. 2002). Gerek insan, gerek hayvan çalışmalarının nikotin bağımlılığındaki cinsiyet farklarına ilişkin bulguları Şekil 1’de özetlenmiştir. Dişiler erkeklere oranla daha kısa zamanda bağımlı olurlar, tütün veya nikotini daha seyrek ve daha az aralıklarla bırakabilirler ve tekrar kullanmaya başlama (rölaps) olasılığı kadınlarda erkeklerden daha yüksektir.



Şekil 1: Erkek ve dişilerde sigara/nikotin bağımlılık paternleri.

Son yıllarda sigara bıraktırma programlarında kadınların erkeklere göre başarısının daha düşük olduğu bildirilmektedir (Fiore and Jorenby 1992). Kadınların sigarayı bırakmada karşılaştığı zorluk nikotin replasman yaklaşımının kullanıldığı programlarda daha da belirgin olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu gözlem nikotinin pekiştirici/ödöl etkilerinin, sigaranın farmakolojik olmayan yönlerine göre, kadınlarda erkeklerden daha az etkili olduğunu düşündürmektedir (Perkins, Grobe et al. 1996). Yine, nikotin bağımlılığının önlenmesinde ve depresyon tedavisinde kullanılan farmakoterapinin kadınlarda sağladığı başarı erkeklere oranla daha düşüktür (Frank, Carpenter et al. 1988). Kadınlar daha “hafif” ve daha az sayıda sigara tükettikleri halde sigarayı bırakmakta daha büyük zorlukla karşılaşmaktadırlar. Sigara kullanımının kan ve salyada kotinin düzeyleri, ekspirasyon havasındaki CO gibi biyokimyasal göstergeleri de kadınlarda daha düşüktür. Kadınlarda bağımlılık göstergeleri erkeklerden daha düşük olduğu halde daha ciddi yoksunluk belirtileri gösteriyor olmaları ve sağlık konularında erkeklerden daha dikkatli oldukları halde sigarayı bırakmada zorlanmaları, ayrıca nikotin sakızı gibi replasmanlardan da daha az yararlanmaları dikkat çekicidir (Perkins, Grobe et al. 1996). Yine erkeklerde farklı bir yoldan nikotin yüklemesi yapıldığında sigara tüketiminde azalma gözleendiği halde, kadınlarda bu etki oluşmamaktadır (Perkins, Grobe et al. 1992).

Sigara içme prevalansındaki değişiklikler aşağıda özetlenmiştir (NIDA Research Report Series 98-4342, 1998) :

- Son yıllarda sigara tüketimindeki azalma kadınlarda erkeklerden daha düşüktür.
- Adolesans döneminde sigara içen kızların oranı erkeklerden daha yüksektir.
- Kadınların sigaraya başlamaları daha kolay, bırakmaları daha zor, bıraktıkları durumda tekrara sigara içmeye başlamaları (rölaps) daha kolaydır.
- Nikotin replasmanı kadınlarda sigara isteğini azaltmada erkeklerden daha az etkilidir.
- Kadınlarda yoksunluk belirtileri erkeklerden daha yoğundur.

- Kadınlar sigarayı bıraktıklarında kilo almaktan erkeklere oranla daha fazla çekinmektedirler.
- Kadınlarda gebelik ve annelik durumu, sigara tüketimi açısından, erkeklere oranla daha fazla kaygı oluşturan bir durumdur.

Tüm bu bulgular nikotinin kadınlarda erkeklerden daha az etkili olduğunu, ancak sigara bağımlılığının buna rağmen daha ciddi olduğunu düşündürmektedir. Bu bağlamda, nikotin etkilerinde cinsiyet farklarının araştırılması ve bu farklılığın mekanizmalarının açıklanması, özellikle büyük bir sorun olan sigara bağımlılığının önlenmesi açısından, büyük önem taşımaktadır.

2.3 Bağımlılık çalışmalarında şartlı yer tercihi

Nikotin bağımlılığının incelenmesinde değişik hayvan modelleri kullanılmaktadır. Şartlı Yer Tercihi (CPP) bunlardan biridir. Pavlov şartlanması esasına dayanan bu çalışma metodu, bağımlılık yapıcı madde etkisi ile ortam arasında kurulan etkileşimi inceler. Burada şartsız uyaran ilacın yarattığı etkidir. Şartlı uyaran, ilaç uygulaması sonrası hayvanın belirli bir süre geçirmesi için bırakıldığı kutu yani seçilmiş ortamdır.

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

Nikotin veya sigara ile ilişkilendirilen çevresel ipuçları nikotin alımının veya sigara içmenin sürdürülmesinde önemli bir etkendir. Bu etkileşim özellikle sigara içme arzusu ve

rölaps (tekrar sigaraya başlama) boyutunda önemlidir (Brody, Mandelkern et al. 2002). Bu etkileşimlerin altında yatan nöronal bağlantılar, nörotransmisyon sistemleri ve moleküler mekanizmalar henüz tam anlamıyla anlaşılabilmiş değildir. Daha önce nikotinin hoş giden özellikleri ile eşleştirilmiş olan bir ortamda bulunmak CREB (“cAMP response element binding protein”) fosforilasyonunu artırır; bu artış nikotin uygulamasını takiben görülen artışa benzemektedir (Walters, Cleck et al. 2005).

CPP düzenekleri planlanırken farklı uygulamalar yapılabilmektedir. İkili veya üçlü kutular, farklı taban yapıları kullanılabilir. İkili kutularda, deney hayvanının bir tarafta bulunmasının nedeni gerçekte diğer tarafta bulunmak istememesi de olabileceğinden, ilaçların oluşturabileceği yer tercihinin yanısıra aksiyete veya sakınma davranışlarının da etkili olabilmesi mümkündür. Üçlü kutularda ise ne ilaç ne de serum fizyolojik ile şartlama yapılmayan bir kutu daha bulunması elde edilen verilerin incelenmesinde fayda sağlar.

Geçmişte CPP kullanılarak yapılan nikotin çalışmaları incelendiğinde, bazı çalışmalarda nikotinin tercih oluşturduğu, bazılarında oluşturmadığı hatta tersine sakınma davranışları bile oluşturduğu görülebilir. Bu durum çalışma düzeneklerinin yapısı kadar kullanılan doz, enjeksiyon sonrası geçen süre ve hayvan ırkıyla da ilişkilidir (Le Foll and Goldberg 2005).

CPP oluşturmada farklı ilaçlarla yapılan denemeler sonucunda ilaç dozunun etkinin oluşmasında en önemli faktör olduğu gösterilmiştir (Bardo, Rowlett et al. 1995).

CPP çalışmalarında tercih oluşturan nikotin dozu 0.1 mg/kg ile 1 mg/kg arasında değişmektedir. Bu dozların dışında kalan denemelerde tercih görülmemiştir. Ancak bu dozları kullanılmasına rağmen tercihin görülemediği çalışmalar da vardır. Nikotinin farklı kullanım formları olması ve bazı çalışmalarda kullanılan nikotin formunun (tuz vb) açıkça belirtilmemesi nedeniyle çalışmalar arası kıyaslamalar yapılması yanıltıcı olabilmektedir (Le Foll and Goldberg 2005).

Uygulama sırasında enjeksiyon ile hayvanın kutuya bırakılması arasındaki süre de etkili bir faktördür. Enjeksiyondan hemen sonra kutuyu bırakılma en etkili yöntem olarak gözükmemektedir. 20, 60 ve 120 dakika sonra bırakılan hayvanlarda etki görülmemiştir (Fudala and Iwamoto 1986). Bu durum uygun şartlama süresinin saptanmasında yol göstericidir. Şartlama süresinin 20 dakikayı aşması hayvanın kutu içerisinde ilaç etkisi bittikten sonra da kalması anlamına gelebilir.

Kullanılan hayvan ırkı bir diğer belirleyici faktördür. Fischer (F-344) türü sıçanlar nikotin etkilerine Lewis (LEW) türü sıçanlara oranla daha az duyarlıdır. Bu farklılık ilaç diskriminasyonu ve CPP çalışmalarında ortaya koyulmuştur ve nikotinin farmakolojik ve davranışsal etkilerinde gözlenen bireysel farklılıklarda genetik bir komponent olduğunu düşündürür (Philibin, Vann et al. 2005).

CPP çalışmalarında kullanılan deney hayvanlarının yaşı da önemlidir. Son yıllarda tütün bağımlılığının adolesan döneminde etkilerine ilişkin pek çok araştırma yapıldığı görülmektedir çünkü sigaraya başlama yaşı düşmektedir. Nikotinin adolesanstaki etkilerinin bilinmesi bu yaş grubunda önleyici tedbirlerin alınmasında yol gösterici olacaktır. Bu kapsamda, nikotinin CPP etkilerinin Wistar türü sıçanların farklı gelişim dönemlerinde incelendiği bir çalışmada, nikotinin adolesans döneminde doza bağlı bir şartlama oluşturduğu görüldüğü halde erişkinlikte bu etki saptanamamıştır (Shram, Funk et al. 2006). Her ne kadar erişkin sıçanlardaki bulgular tartışmaya açıksa da, CPP etkisinin adolesans döneminde erişkinlikten farklı ve belirgin olarak saptanmış olması, bu dönemde nikotinin pekiştirici etkisinin daha kuvvetli olduğunu düşündürmektedir.

2.4 Nikotin ile oluşturulan şartlı yer tercihi

Walters ve rakadaşları (Walters, Brown et al. 2006) nikotinin CPP oluşturma etkisinde nACh reseptörlerinin $\beta 2$ alt ünitesinin kritik bir rolü olduğunu kanıtlamışlardır. Farelere CPP

öncesi nACh reseptörlerinin $\alpha 4\beta 2$ alt ünitelerinin antagonisti olan dihidro-beta-erithroidin uygulanması nikotin ile oluşturulan CPP'yi bloke ederken, $\alpha 7$ alt ünitesi antagonisti olan metilkakonitin (MLA) herhangi bir etkisi olmamıştır. Ayrıca, nACh reseptörlerinin $\beta 2$ alt ünitesinin genetik manipülasyonla çıkartılmış olduğu (“knock out”) farelerde nikotin ile CPP oluşturulamazken, benzer şekilde $\alpha 7$ alt ünitesi olmayan (“knock-out”) farelerde CPP görülmüştür.

Her ne kadar bağımlılıkta mezolimbik dopaminerjik sistemin etkisi genelde kabul ediliyorsa da, *n. accumbens* alt birimlerinde (“core” ve “shell”) bu farklılaşma ile ilgili çalışmalar yetersizdir. Bu bağlamda yapılan önemli çalışmalardan birinde CPP paradigması ile nikotin ile oluşturulan CPP’de her iki bölgede dopamin D1 ve D2 reseptörlerinin etkisi araştırılmıştır. D1 ve D2 reseptör antagonistleri (sırayla SCH 39166 ve L-sulpiride) nikotinden 10 dk önce “core” veya “shell” bölgelerinden birine uygulanmıştır. “Shell” bölgesine uygulanan D1 antagonisti CPPnin edinilmesini engellediği halde “core” da böyle bir etki oluşturmamıştır. D2 antagonisti ise, her iki bölgede de etki göstermemiştir. Bulgular, *n. accumbens* “shell” bölgesindeki dopamin D1 reseptörlerinin nikotinin şartlama etkisinde rol aldığını düşündürmektedir (Spina, Fenu et al. 2006).

Suistimal edilen birçok maddeden farklı olarak, nikotin ile CPP oluşturulmasını göstermek her zaman olumlu sonuçlar vermemiştir ve çalışma sonuçları arasında farklılıklar vardır. Grabus ve arkadaşları (Grabus, Martin et al. 2006), bu farklılıklara açıklık getirmek üzere, deney öncesi hayvanların okşanması (“handling”), çevreye uyum, ve enjeksiyonlara alıştırılma gibi faktörlerin nikotin ile oluşturulan CPP’ye etkilerini ICR farelerde araştırmışlardır. Soy farklılıklarının olası katkısını aydınlatmak üzere iki farklı türün (C57BL/6J and DBA/2J) yanıtları da etkin nikotin dozunda değerlendirilmiştir. Ayrıca nikotinik reseptör agonist ve antagonistlerinin de etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları deneylere başlanmadan önce hayvanların okşanmasının nikotin ile oluşturulan CPP için

gerekli olduğunu ortaya koymuştur, çünkü okşanmamış olan farelerde CPP oluşmamıştır. Oysa, enjeksiyonlara alışma etkili bir faktör olarak saptanmamıştır. Nikotin dozu, beklendiği gibi, etkin bulunmuştur. Mekamilamin ve dihidro-beta-erithroidin (DHbetaE) CPP'yi zayıflatmıştır. Ayrıca CPP'nin C57BL/6J farelerde izlendiği halde DBA/2J farelerde oluşmaması, soy farklılığını ortaya koymuştur. Bu durumda deney öncesi okşanma ve çevreye uyum ile genetik altyapı farelerde CPP oluşumunda etkili faktörlerdir. Ayrıca nikotinik reseptörler CPP'de rol almaktadır.

Nikotin ile oluşturulan CPP ve bir yoksunluk dönemini takiben tekrar nikotin ile CPP'nin ortaya çıkmasında (rölaps modeli) kalsiyumun rolü vardır. Kalsiyum kanal antagonistleri olan nimodipin ve flunarizin, rölapsı kısmen engellemektedir. Aynı etki morfin için de gösterilmiştir (Biala and Budzynska 2006).

Reversibl GABA transaminaz inhibitörü olan 1R,4S-4-amino-siklopent-2-ene-karboksilik asid (Chiamulera, Epping-Jordan et al.) kokain ve nikotin ile oluşturulan CPP'yi azaltmaktadır. Bu ilişkiden yeni farmakoterapilerin oluşturulmasında yararlanılabilir (Horan, Gardner et al. 2001).

Nöronal NOS inhibitörü olan 7-nitroindazol (7-NI), Swiss Webster farelerde nikotin ile oluşturulan CPP'yi önlemiştir (Martin and Itzhak 2000).

Tek doz nikotin, CPP'nin yanısıra, farelerde hiperaktivite de oluşturmakta ve postsinaptik dopamin reseptörlerinde süpersensitivite ortaya çıkmaktadır. Nikotin uygulaması öncesinde farelere ginseng total saponin (GTS) uygulanması bu yanıtların hepsini bloke etmiştir. Bu bulgu, GTS'nin nikotin bağımlılığında kullanılabileceğini düşündürmektedir (Kim, Kim et al. 1999).

Fischer 344 (F344) ve Lewis türü sıçanlarda gerek nikotin, gerek diğer bağımlılık yapıcı maddelerle oluşturulan CPP'de farklılıklar gözlenmektedir. Lewis türü sıçanlarda nikotin CPP

oluşturduğu halde, Fisher türü sıçanlarda bu gözlenmemiş, hatta aversiyon ortaya çıkmıştır (Horan, Smith et al. 1997).

Genetik açıdan heterojen olan fareler, nikotine gösterdikleri lokomotor aktivite düzeylerine göre 3 gruba ayrıldıktan sonra CPP deneylerine tabi tutulmuşlardır. Nikotin ile lokomotor aktivite artışının fazla olduğu grupta CPP yanıtının da daha kuvvetli olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu, nikotinin stimülatör etkilerinin davranış ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Schechter, Meehan et al. 1995).

CPP oluşturmak için kullanılan nikotin dozunun önemi Risinger ve arkadaşlarının (Risinger and Oakes 1995) bir çalışmasında da vurgulanmaktadır. Swiss-Webster türü farelerde 0.5 mg/kg dozunda nikotin CPP oluşturmuş, 0.25 ve 1 mg/kg dozlarda bu etki gözlenmemiş ve 2 mg/kg dozda ise aversiyon oluşmuştur.

Morfin ve nikotinin motivasyonel özellikleri iki bölmeli bir CPP düzeneğinde ve “counterbalanced” nikotin uygulamasıyla değerlendirildiğinde, 0.6 mg/kg nikotin CPP oluşturmamıştır. Deneme sayısını artırmak (4’ten 12’ye çıkartmak) da CPP oluşmasını sağlamamıştır. Ancak sıçanlara CPP’den önce 7 gün 0.4 mg/kg nikotin uygulandığında, CPP ortamında uygulanan 0.4-0.8 mg/kg nikotin CPP oluşturmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, daha önce nikotine maruz kalan sıçanlarda nikotin ile CPP oluşturulmasının kolaylaştığını ortaya koymuştur (Shoaib, Stolerman et al. 1994).

2.5 Nikotin ile nitrik oksid bağlantısı

1980’de Furchgot ve Zawadski’nin (Furchgott and Zawadzki 1980) endotel kökenli bir gevşetici faktörün (Endothelium-derived relaxing factor = EDRF) varlığını bildirmelerini takiben, bu etkinin endojen nitrik oksid (NO) salınmasına bağlı olduğu anlaşılmış (Palmer, Ferrige et al. 1987) ve vücutta çok yaygın olarak bulunan bir biyokimyasal yolun varlığı açıklığa kavuşturulmuştur. NO enzimatik yolla L-argininden NO Sentaz (NOS) enzimi ile

oluşturulur; NOS kalsiyum-kalmodulin gerektiren bir enzim olup, sitrülün reaksiyonun yan ürünüdür (Dawson, Dawson et al. 1992; Stamler, Singel et al. 1992).

NO ileri derecede lipofilik ve kimyasal stabilitesi olmayan küçük boyutlu bir moleküldür (30 D). Egzos gazı ve sigara dumanında bulunur. Oksijen ve oksijen kökenli moleküllerle süratle yıkıldığı için yarı ömrü çok kısadır (~ 5 sn) ve difüzyonla yayılır. Bu nedenle lokal transselüler haberleşme için uygundur; transporterlere veya yıkım için enzimlere gereksinim göstermez (Ignarro 1991). NO'in kısa yarı ömrü, bu maddenin otokrin ve lokal parakrin etkilerini sınırlar. Hemoglobinin (Hb) NO'e olan yüksek afinitesi, bu kısıtlamayı daha da artırır. Bütün bunlara karşın, NO'in fizyolojik etkileri ve etki süresi, protein ve diğer moleküller ile oluşturulan stabil ve biyolojik olarak aktif etkileşimlerle arttırabilir. NO, evrim sürecinde varlığını korumuş bir moleküldür ve farklı türlerde bulunmaktadır (Moncada, Palmer et al. 1989).

Santral sinir sisteminde NO'in aracılık yaptığı süreçler içinde glutamat nörotoksitesi (Dawson, Dawson et al. 1991; Izumi, Benz et al. 1992), uzun süreli potensiasyon (Bohme, Bon et al. 1991; Schuman and Madison 1991), uzun süreli depresyon (Shibuki and Okada 1991), nörotransmitter salgı regülasyonu (Lonart, Wang et al. 1992) ve nörotransmitter geri alımının düzenlenmesi (Pogun, Baumann et al. 1994; Pogun, Dawson et al. 1994) sayılabilir. Bu etkiler birlikte değerlendirildiğinde, NO'in genelde öğrenme ve bellek süreçlerinde rolü olan kimyasal iletili maddelerin sinaptik aralıkta etkinliğini arttırmaya yönelik mekanizmaları desteklediği anlaşılmaktadır.

NO'in suistimal edilen maddelerin pekiştirici etkilerinde de rol aldığına ilişkin çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Sildenafil sitrat, NOS'u aktive eder, tip 5 fosfodiesterazı aktive eder ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeylerini artırır. Bazı çalışmalarda sildenafilin pekiştirici etkileri olduğu ve bu nedenle suistimal potansiyeli olabileceği bildirilmektedir. Bu amaçla sildenafil'in etkinliği bir CPP deney düzeninde

araştırılmış ve NO-cGMP ile etkileşimi incelenmiştir. Sildenafil CPP oluşturmuş ve bu etki nonselektif NOS inhibitörü olan N(G)-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) ve guanilat siklaz inhibitörü metilen mavisi ile baskılanmıştır. Diğer yandan, NO prekürsörü olan L-arjinin, sildenafil ile oluşturulan CPP'yi desteklemiştir. Bu bulgular sildenafilin CPP oluşturduğunu ve bu etkide NO-cGMP yolunun rol alabileceğini düşündürmektedir. (Tahsili-Fahadan, Yahyavi-Firouz-Abadi et al. 2006).

Balda ve arkadaşları (Balda, Anderson et al. 2006) ise, kokain ile oluşturulan CPP'de nöronal NOS (nNOS) geninin etkisini 2 x2 x 2 faktöryel deney deseni kullanarak [gelişimsel dönem (adolesan, erişkin), cinsiyet (erkek, dişi) ve genetik manipülasyon (nNOS “knockout”, “wild type”)] farelerde incelemişlerdir. Çalışmanın sonuçları nNOS geninin her iki cinste de adölesans döneminde kokainin CPP oluşturması için gerekli olduğunu, ancak erişkinlikte bir cinsiyet farkı ortaya çıktığını ve dişilerde CPP oluşması için nNOS genine gerek olmadığını kanıtlamıştır. Demek ki, nNOS'un kokainle oluşturulan CPP üzerindeki etkileri cinsel dimorfizm ve dişilerde yaşa bağımlılık göstermektedir.

Agmatin, morfin ile oluşturulan CPP'yi kuvvetlendirir. Bu etkinin NO üzerinden olduğu öne sürülmüştür, çünkü NO prekürsörü (L-arjinin) uygulanan sıçanlarda agmatinin morfin ile oluşturulan CPP üzerindeki kuvvetlendirici etkisi artmış, aksine, NOS inhibitörleri uygulandığında bu etki azalmıştır. (Khoshnoodi, Motiei-Langroudi et al. 2006).

2.6 Nikotin bağımlılığında glutamatın ve metabotropik glutamat 5 reseptörlerinin yeri

Gasparini ve arkadaşları, (Gasparini, Lingenhohl et al. 1999) 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP)'in mGluR5 reseptörlerinin kuvvetli, selektif ve sistemik etki gösteren bir antagonisti olduğunu kanıtlamışlardır.

Sıçanda Beyin Bölgesi	mgluR5
Korteks	+++
Kaudat – Putamen	+++
Nukleus akkumbens	+++
Olfaktör tüberkül	+++
Globus pallidus	++
Substansia nigra	++
Subtalamik nukleus	+
Hipokampus	
CA1	+++
CA3	+++
dentat girus	+++
Serebellum	-

Tablo 1: Sıçan beyninde mGluR5 dağılımı (Spooren, Gasparini et al. 2001)

Glutamaterjik iletinin bağımlılıkta rol oynadığı ve mGluR5nin kokain, nikotin ve alkol tüketimini azalttığı bilinmektedir. Bu etkinin ortaya çıkmasında PI3K-bağımlı bir yolak üzerinden PKCepsilon etkili olmaktadır ve söz konusu etki mGluR5 antagonisti olan MPEP ile azaltılmaktadır (Olive, McGeehan et al. 2005).

Opiyatların nikotin bağımlılığında rol aldığını düşündüren bulgular vardır (Zarrindast, Faraji et al. 2003; Walters, Cleck et al. 2005). Örneğin nalokson, nikotin ile CPP oluşumunu engellemektedir (Zarrindast, Faraji et al. 2003; Walters, Cleck et al. 2005). Ayrıca, μ opioid reseptörü olmayan (“knock out”) (Berrendero, Kieffer et al. 2002; Walters, Cleck et al. 2005) veya preproenkefalin üretemeyen (“knock out”) (Berrendero, Mendizabal et al. 2005) sıçanlarda nikotin CPP oluşturmamaktadır. Beta endorfinden sentez edilen inhibitör bir dipeptid olan Glisil-glutamin intraserebroventriküler yolla uygulandığında nikotin ile oluşturulan CPP’yi anlamlı düzeyde inhibe etmiştir (Goktalay, Cavun et al. 2006).

Diğer yandan, bazolateral amigdala da yer alan muskarinik ve nikotinik reseptör mekanizmalarının da morfin ile oluşturulan CPP’de rol aldığı bilinmektedir; fizostigmin veya nikotin artış, atropin veya mekamilamin ise azalmaya yol açar (Zarrindast, Fattahi et al.

2005). Daha önce nikotin ile ilişkilendirilmiş bir ortamda bulunmak CREB fosforilasyonunu artırır, ancak bu durum, μ opiyoid reseptörü olmayan (“knock out”) farelerde görülmez. Ayrıca, opiyoid reseptör antagonisti olan nalokson, hem nikotin ile oluşturulan CPP’yi, hem de CREB fosforilasyonunu engeller. CREB geni etkisizleştirilmiş farelerde nikotinin pekiştirici etkilerinin gözlenmemesi, nikotin ile oluşturulan CPP’de CREB’in rolü olduğunu düşündürmektedir (Walters, Cleck et al. 2005). Bu düşünceleri destekleyen bir çalışmada (Mao and Wang 2002), NMDA ile indüklenen CREB fosforilasyonunun MPEP ile bloke edildiği gösterilmiştir.

Psikostimülanların etkilerinde hem iyonotropik, hem metabotropik glutamat reseptörleri (mGluRs) rol almaktadır, ancak mGluR reseptörlerinin alt gruplarının spesifik katkıları çok iyi açıklanabilmiş değildir. mGluR5 geni olmayan farelerde kokain *n. akkumbenste* dopamin düzeylerini artırdığı halde, fareler kendilerine kokain uygulamazlar ve uygulamadan sonra lokomotor aktivite artışı da gözlenmez. Bu bulgular mGluR5’nin kokainin davranışsal etkilerinde çok önemli rolü olduğunu ortaya koymaktadır ve bu reseptörlerin kokain bağımlılığında anahtar rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Chiamulera, Epping-Jordan et al. 2001).

Aynı postsinaptik membran üzerinde yerleşmiş olan G-protein ilişkili reseptörlerin aralarında etkileşim olabileceği kanıtlanmıştır (Agnati, Ferre et al. 2003). Son yıllarda, aynı akson terminalinde bulunan iyonotropik ve metabotropik reseptörler arasında da interaksiyon olabileceğine ilişkin görüşler vardır. Sıçan hipokampusunda noradrenerjik akson terminallerinde metabotropik glutamat reseptörlerinin (mGluRs) varlığı gösterilmiş ve yine burada bulunan nAChR ile etkileşimi sıçan sinaptozomlarında noradrenalin (NA) salgısı üzerinden araştırılmıştır. mGluR Agonisti olan (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG), tek başına etkili değilken nikotin ile birlikte uygulandığında NA salgısını uyarmıştır. Bu etki, selektif bir mGluR5 antagonisti olan MPEP ile bloke edilmiştir (Parodi, Patti et al. 2006).

Selektif bir mGluR5 antagonisti olan MPEP bağımlılık yapan pek çok maddenin alınmasını (kendine uygulama = “self administration”) azaltır Paterson and Markou (Paterson and Markou 2005) nikotin, kokainin ve yemeğin pekiştirici, ödül etkilerinde MPEP ile azalma olup olmadığını araştırmışlar ve bu tür bir etkiyi ortaya koymuşlardır. Bu bağlamda mGluR5’in nikotin, kokainin ve yemeğin pekiştirici etkilerinde aracılık ettiği sonucuna varılabilir (Paterson and Markou 2005).

Sistemik nikotin uygulamasının beyinde ödül ile ilgili bölgelerde dopamin ve glutamat düzeylerini artırmasından yola çıkarak ve nikotinin *n.akkumben*teki dopamin düzeylerinin VTA’daki dopaminerjik nöronlara gelen glutamaterjik projeksiyonlar ile sağlandığını göz önünde bulundurarak planlanan bir çalışmada, sıçanlarda sistemik nikotinin asetilkolin, dopamin, presinaptik glutamat (mGluR(2/3) ve postsinaptik glutamat (mGluRs) reseptörleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar, nikotinin ve dopamin D1 reseptörlerinin nikotinin ödül etkisinde etkili olduğunu, ancak bu bölgede dopamin D2, mGlu(2/3) ve mGlu(5) reseptörlerinin nikotin etkisini düzenlemediğini ortaya koymuştur (Harrison, Gasparini et al. 2002).

N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistlerinin nikotinle oluşturulan tolerans, sensitizasyon, bağımlılık, ve intravenöz kendine uygulama (“self-administration”) gibi etkilerini inhibe ettiği bilinmektedir. Bu etkilerin nikotin ile glutamat salgısının dopamin metabolizmasını uyarmasına bağlı olabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca ödül ve bağımlılık ile ilgili beyin bölgelerinde plastik değişikliklere yol açılması da olasıdır. Diğer taraftan, NMDA reseptör antagonistlerinin nikotinik reseptörlere bağlanarak nikotinik reseptör antagonisti olarak etkili olmaları da olasıdır. Zakharova ve arkadaşları (Zakharova, Danysz et al. 2005) , NMDA kanal blokerlerinin (+MK-801, deksstrometorfan, ve memantin) ve mGluR5 antagonisti olan MPEP’in nikotini serum fizyolojiktan ayırdetmek üzere eğitilmiş sıçanlarda diskriminasyon üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu maddelerden hiçbiri nikotinin yerini

almamış, sıçanlar tarafından nikotin gibi değerlendirilip ayırd edilmemişlerdir. Memantin ve MPEP nikotine olan yanıtı biraz azaltmış, (+)MK-801 ve dekstrometorfan ise etkili olmamıştır. Bu bulgular, NMDA kanal blokerlerinin ve mGluR5 'in nikotin diskriminasyonunda önemli bir etkisi olmadığını düşündürmektedir (Zakharova, Danysz et al. 2005).

Popik ve arkadaşları (Popik and Wrobel 2002), morfinle oluşturulan CPP üzerinde MPEP etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar 30 mg/kg MPEP'in morfinle oluşturulan CPP 'yi ortadan kaldırdığını göstermiştir. Aynı çalışmada yükseltilmiş artı labirent düzeneğinde hayvanların uzaysal öğrenmeleri incelenmiştir. NMDA antagonisti MK-801'in pozitif kontrol olarak kullanıldığı çalışmada MPEP'in öğrenme üzerine etkisi saptanmamıştır. Bu sonuçlar MPEP'in CPP üzerine etkisini hayvanın öğrenme performansını bozarak göstermediğini desteklemektedir.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney hayvanları

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda serbest su içme ve yem yeme koşullarında bakılan 4-6 aylık, ortalama 200 gr. ağırlıkta Sprague Dawley cinsi erkek ve dişi toplam 302 sıçan kullanıldı. Deney gruplarındaki sıçan sayısı 6 ile 15 arasında değişmekte idi. Erkek ve dişi sıçanlar her kafeste aynı cinsiyetten üç hayvan olacak şekilde ayrı ayrı kafeslerde, 12/12 aydınlık karanlık döngüsünde (07:00-19:00 saatleri aydınlık) barındırıldı.

Sunulan tez çalışmasında kullanılan deney protokolü Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulunca onaylandı ve deney hayvanlarının maruz bırakıldığı tüm işlemler Avrupa Birliği Konsülü Direktifleri (86/609/EEC) ile uyumlu idi.

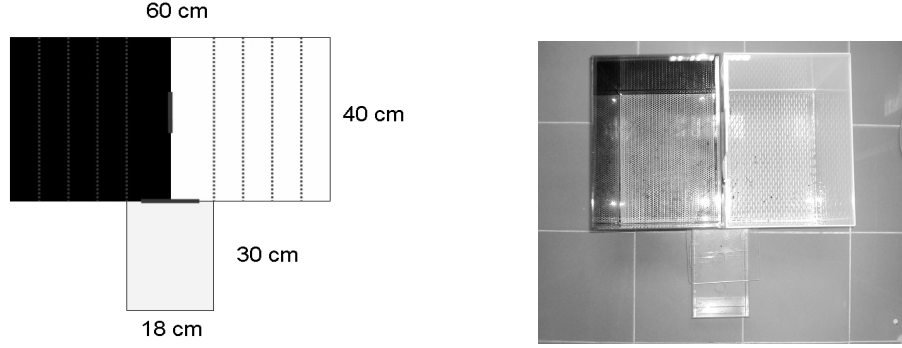
3.2 Şarh Yer Tercihi

Şarh yer tercihi (CPP) suistimal edilen maddelerin pekiştirici etkilerini şarhlama boyutu ile değerlendirmekte kullanılan bir deney düzeneğidir. Sunulan tez çalışmasında nikotin söz konusu düzenekte sınanmıştır.

3.2.1 Deney düzeneği

Deneyler altı ayrı CPP düzeneğinde (COMMAT, MAY – Place Preference) gerçekleştirildi (Şekil 2). Feromonların deneyi etkilememesi amacıyla düzeneklerden üçü sadece erkek, diğer üçü ise sadece dişi hayvanlar için kullanıldı.

Deneyde kullanılan CPP düzeneği giyotin kapılarla birbirinden ayrılan siyah, beyaz ve nötral olarak adlandırılan üç kutudan oluşmaktadır. Kutuların zeminlerinde kullanılan metal plakalar farklı desenlere sahiptir. Düzeneğin bu şekilde yapılandırılmasındaki amaç deney hayvanı için birbirinden farklı algılanabilecek üç ayrı ortam yaratmaktır.

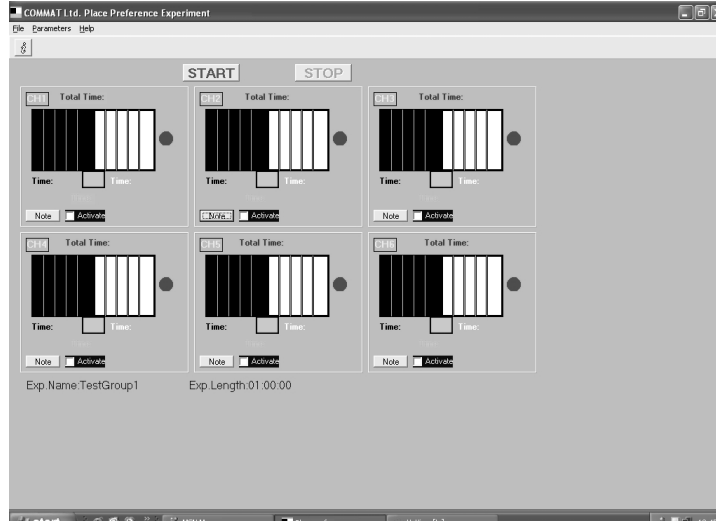


Şekil 2: Deneylerde kullanılan şartlı yer tercihi (CPP) düzeneklerinin grafik çizimi (sol) ve üstten çekilmiş fotoğrafı (sağ). Grafikteki noktalı çizgiler karşılıklı fotosellerin izlem hattını göstermektedir.



Şekil 3: CPP düzeneklerinin deney ortamında, izole bir odadaki yerleşimleri

Deneylerin gerçekleştirildiği oda davranış çalışmalarının genel prensiplerine uygun biçimde düzenlenmiştir (Şekil 3). Dışardan ses girişi engellenecek biçimde çift kapıyla izole edilmiştir. Sessiz ortamda hayvanların kutularda gezerken çıkarabileceği seslerin deneyi etkilememesi amacıyla odada bir müzik sistemi yardımıyla düşük volümde sabit gürültü (“white noise”) yaratılmıştır. Aydınlatma her düzeneğin üzerindeki 25W gücündeki ampullerle sağlanmıştır. Ampuller düzeneğin her kutusunun eşit aydınlanmasını sağlayacak biçimde yerleştirilmiştir.



Şekil 4: “COMMAT, MAY-Place preference” yazılımının bilgisayar ekranındaki görüntüsü.

Deney hayvanlarının, düzeneklerin her bir bölmesinde geçirdikleri süreleri ölçmek ve kayıt almak için bir bilgisayar yazılımı (COMMAT, MAY – Place Preference) kullanılmıştır (Şekil 4). Kutularda bulunan infrared algılayıcılar sıçanın varlığını saptamakta ve bu veriyi bilgisayara göndermektedir. Deneyin araştırmacının varlığından etkilenmemesi için bilgisayar ayrı bir odaya yerleştirilmiştir.

3.2.2 Davranışın otomatik ölçümünün validasyonu

Çalışmanın en başında sistemin güvenilirliği gözlemcilerin kronometre ile yaptıkları ölçümlerle kıyaslanarak (Validasyon) sınanmıştır.

Bilgisayar yazılımı otomatik kayıt yaparken, aynı anda iki araştırmacı naif sıçanların (n=10) her bölmede geçirdikleri süreleri izleyerek kaydetmiştir. Sıçanın bir bölmede bulunması, dört ayağının da söz konusu bölmede bulunduğu durum olarak kabul edilmiştir. Gözlemciler ile bilgisayar yazılımının otomatik olarak saptadığı değerler arasındaki uyum

arasındaki korelasyon, siyah bölme için $r = 0,899$, beyaz bölme için ise $r = 0,972$ olarak saptanmış ve her ikisinde de korelasyon için anlamlılık derecesi $p < 0.001$ olarak hesaplanmıştır. Bu durumda, validasyon çalışmasının sonuçları, gözlem ile otomatik kayıt arasındaki anlamlı korelasyon nedeni ile, olumlu olarak değerlendirilmiştir.

Deney düzenini kontrolü açısından yapılan bir diğer değerlendirme, nötral bölmede geçirilen sürelerin gruplar arası farklılaşp farklılaşmadığının araştırılması olmuştur. Seans, Cinsiyet, ve Nikotin uygulamasının bağımsız değişken, nötral kutuda geçirilen sürenin (tüm zamanın yüzdesi) bağımlı değişken olarak alındığı multifaktöryel ANOVA analizi sonucunda, cinsiyet [$F(1, 148)=14.863$, $p=0.001$ (Erkekler: 44.73 ± 2.35 , Dişiler: 57.56 ± 2.35)] ve seans [$F(1,148)=4.704$, $p=0.032$ (İlk: 54.75 ± 2.56 , Son: 47.53 ± 2.13)] faktörleri anlamlı bulunduğu halde, gruplar arası herhangi bir fark saptanmamıştır (İstatistiksel analizin detayları, ileride, ilgili bölümde belirtilmiştir). Bu durumda nikotin çalışmaları için üç bölmeli CPP düzeneğinin kullanılmasının uygun olduğuna karar verilmiştir.

3.2.3 Çalışma Protokolü

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

İlk gün sabah, deney hayvanlarının kutuyu tanınması ve tercihlerinin belirlenmesi amacıyla giyotin kapılar açık halde 30 dakikalık seanslar uygulanmaktadır. Buradan elde edilen sürelerle bakılarak, her bir deney hayvanının siyah ve beyaz kutular arasında yaptığı tercih belirlenmekte ve bu aşamadan sonra nikotin (NİK) tercih edilmeyen, serum fizyolojik (SF) ise tercih edilen tarafla eşleştirilmekte ve şartlama seansları buna göre gerçekleştirilmektedir.

Toplam sekiz adet şartlama seansı uygulanmaktadır (Tablo 2).

	1.GÜN	2.GÜN	3.GÜN	4.GÜN	5.GÜN
SABAH 9:00-11:00	Başlangıç tercihinin belirlenmesi	SF SF	SF SF	SF SF	SF SF
ÖĞLEDEN SONRA 14:00-16:00	İlaç/SF Nikotin/SF	İlaç/SF Nikotin/SF	İlaç/SF Nikotin/SF	İlaç/SF Nikotin/SF	Son tercihin belirlenmesi

Tablo 2: Deneş protokolü.

İtalik ile gösterilen uygulamalar sadece, nikotinden başka bir maddenin etkisi araştırıldığında, nikotinden önce yapılan enjeksiyonları göstermektedir. Öğleden sonra uygulamalarında “/” işaretinden sonra belirtilen SF uygulamaları kontrol grubu hayvanlardaki uygulamalardır.

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

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

3.3 İlaç uygulamaları:

- Serum fizyolojik (sc ve ip)

- Nikotin (0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mg/kg sc)
- NOS inhibisyonu için N ω -Nitro L-Arginine, L-NA; (50 mg/kg i.p)
- mGLUR5 blokajı için MPEP (2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine hydrochloride) (5, 9, 12 mg/kg i.p)

Çalışmada nikotin hidrojen tartarat tuzu (Sigma) kullanılmış, nikotin dozları hesaplanırken saf nikotine dönüştürülmüştür. Enjeksiyon için, çözeltinin pH değeri 7.4'e ayarlanmıştır.

N ω -Nitro L-Arginine (L-NA) (Sigma) serum fizyolojik içerisinde ultrasonik parçalayıcı (Branson Sonic Power) kullanılarak çözülmüştür.

MPEP (2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine hydrochloride) (Sigma) serum fizyolojik içerisinde çözümlenerek kullanılmıştır.

3.4 Deneyler

Sunulan tez çalışmasında dört farklı deney gerçekleştirilmiştir.

3.4.1 Doz yanıt

Çalışmada ilk olarak CPP etkisi oluşturan nikotin dozunun saptanması amacıyla değişik dozlarda nikotin uygulaması yapıldı. Toplam dört ayrı dozda nikotin s.c (0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mg/kg) uygulandı. Ayrıca, 0.8 mg/kg nikotin dozu da denendi, ancak bu dozda sıçanların genel durumu bozulduğu ve bu lokomotor aktivitelerine yansıdığı için 0.8 mg/kg doz çalışmaya dahil edilmedi. Bu deneyde nikotin hayvanların ilk gün tercih etmediği tarafla eşleştirilmiştir.

3.4.2 İlk gün tercih edilen tarafta nikotin uygulanan şartlama deneyleri

CPP çalışmalarında kutuların ilaçla eşleştirilmelerinde farklı yollar izlenebilir. “Counterbalanced” CPP ‘de hayvanların ilk gün tercihlerine bakılmaksızın her iki kutuyla eşit sayıda hayvan eşleştirilir. Şartlamalar bu şekilde gerçekleştirilip son gün değerlendirme yapılır. “Biased” CPP’de ise hayvanların ilk gün tercihlerine bakılır ve ilaç ilk gün tercih edilmeyen tarafta eşleştirilir. Nikotinin CPP etkisinin gösterilmesinde “Biased” metodunun daha uygun olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Le Foll and Goldberg 2005). Bu yöntem geçmişte, kullanılan ilacın olası aksiyolitik etkilerinin deneyi etkileyebileceği yönünden eleştirilebilmiştir (Tzschentke 1998). Bu nedenle araştırmamızda nikotinin şartlı yer etkisinin gösterilmesi amacıyla tercih edilen tarafta nikotinin eşitlendiği bir deney de yapıldı. Bu deneyde, ilk deneyde (doz/yanıt) en yüksek etkiyi oluşturduğu gösterilen 0.2 mg/kg nikotin kullanıldı. Burada amaç nikotinin CPP etkisinin anksiyolitik etkilerden bağımsız olduğunu göstermektir. Bu amaçla bu deneyde nikotin hayvanın ilk gün tercih ettiği bölmeyle eşleştirilmiştir.

3.4.3 NOS (Nitrik oksit sentaz) inhibisyonun nikotikle oluşturulan CPP’ye etkisinin incelenmesi

Anabilim dalımızda daha önce yapılmış çalışmalarda nikotinin beyinde nitrik oksit (NO) düzeylerini yükselttiği gösterilmiştir (Pogun, Demirgoren et al. 2000). Yapılan ileri çalışmalar, L-NA (50 mg/kg i.p) ile oluşturulan NOS inhibisyonunun , nikotinin öğrenme performansını artırıcı etkilerini ortadan kaldırdığını ortaya koymuştur (Yılmaz, Kanit et al. 2000).

Bu deneyde önceki çalışmalar ışığında, aynı ilaç ve aynı doz (L-NA, 50 mg/kg i.p) uygulanarak NOS inhibisyonunun nikotin ile oluşturulan CPP’ye olan etkisi incelenmiştir.

Ayrıca sadece NOS inhibisyonunun herhangi bir CPP oluşturup oluşturmadığı da kontrol edilmiştir.

3.4.4 MPEP uygulamasının nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisinin incelenmesi

mGluR5'in bağımlılık yapan maddelerin ödül ve şartlama etkileri arasındaki farklılaşmada rol alabileceğini destekleyen çalışmalardan yola çıkarak, mGluR5 antagonisti olan MPEP'in gerek kendisinin herhangi bir CPP oluşturup oluşturmadığı belirlenmiş, gerekse MPEP'in nikotinle oluşturulan CPP üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Nikotin için doz yanıt deneyiyle elde edilen sonuçlar dikkate alınarak en yüksek CPP etkisi görülen nikotin dozunda (0,2 mg/kg Nikotin sc) MPEP'in etkisi üç ayrı dozda (5, 9, 12 mg/kg ip) araştırılmıştır.

3.5 İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için SPSS paket programı kullanılmıştır. Veriler önce “repeated measures” multifaktöryel varyans analizi (Arnold, Allison et al.) ile değerlendirilmiş, daha sonra post-hoc analizler ve gerektiğinde ikili karşılaştırmalar için t-testleri kullanılmıştır. Validasyon çalışmasında, iki gözlemcinin kaydettiği değerler ile bilgisayar programında hesaplanan değerler arasındaki korelasyon araştırılmıştır.

3.4.1, **3.4.3** ve **3.4.4** başlıklarında açıklanan deneylerde bağımlı değişken, sıçanların başlangıçta tercih edilmeyen bölmede geçirdikleri süredir [tüm sürenin (30 dk=1800 sn) %si olarak]. **3.4.2** başlığında açıklanan deneyde bağımlı değişken sıçanların başlangıçta tercih ettikleri bölmede geçirdikleri süredir.

Bağımsız değişkenler (faktörler) ise, farklı deneylere göre, aşağıdaki gibi seçilmiştir. Ancak tüm deneylerde seans (ilk ve son denemede aynı hayvanın tercih ettiği veya etmediği bölmede geçirdiği zaman) “within subjects – denek içi” faktörü olarak değerlendirilmiştir.

Doz-yanıt: Cinsiyet (erkek, dişi), nikotin (serum fizyolojik, 0.1, 0.2, 0.4 ve 0.6 mg/kg)

İlk gün tercih edilmeyen tarafta nikotin uygulanan şartlama deneylerin: Cinsiyet (erkek dişi), nikotin (serum fizyolojik, 0.2 mg/kg nikotin)

NOS inhibisyonunun nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisinin incelenmesi: Cinsiyet (erkek dişi), nikotin (serum fizyolojik, 0.2 mg/kg nikotin), L-NA (serum fizyolojik, L-NA)

MPEP uygulamasının nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisinin incelenmesi: Cinsiyet (erkek dişi), nikotin (serum fizyolojik, 0.2 mg/kg nikotin), MPEP (serum fizyolojik, 5 ve 9 mg/kg MPEP). Ayrıca 12 mg/kg MPEP dozu sadece erkeklerde kullanıldığı için, serkeklerde, nikotin (serum fizyolojik, 0.2 mg/kg nikotin), MPEP (serum fizyolojik, 5, 9 ve 12 mg/kg MPEP).

4 BULGULAR

4.1 Doz Yanıt

İstatistiksel analiz bölümünde açıklandığı gibi yapılan ANOVA testlerinin sonuçlarına göre seans, anlamlı bir faktör olarak bulunmuştur [$F(1,63) = 37.450, p < 0.001$]. Şekil 5’de görüleceği gibi, son gün yapılan değerlendirmede, başlangıçta tercih edilmeyen bölmede geçirilen zaman son gün anlamlı olarak daha yüksek olarak bulunmuştur. Cinsiyet ve nikotin de anlamlı olarak farklılaşmıştır [Sırayla, $F(1,63) = 6.215, p < 0.05$ ve $F(3,63) = 3.318, p = 0.05$]; dişilerin tercih edilmeyen bölmede geçirdikleri zaman erkeklerden daha kısa olmuş ve nikotinin farklı dozlarının etkilerinde farklılıklar gözlenmiştir. Buna karşın tüm deney gruplarının ilk gün süreleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Sadece serum fizyolojik uygulanan sıçanların ise ilk ve son denemelerdeki değerleri arasında da herhangi bir fark yoktur. Post-hoc testlere temel oluşturmak üzere, tüm gruplarda son gün değerlerine tek yönlü ANOVA uygulandığında, gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur [$F(7, 70) = 2.975, p < 0.01$]. Duncan testlerinin sonuçlarına göre grup farklılıkları Şekil 5’de belirtilmiştir. Ayrıca her grup için ilk ve son denemelerdeki sürelerin farklılaşması t-testleri ile değerlendirilmiştir. Bu sonuçlar da Figure 1’de belirtilmiştir. Özetle, erkeklerde 0.1 ve 0.2 mg/kg nikotin dozu anlamlı bir CPP etkisi oluşturmuş, oysa dişilerde nikotin CPP oluşturmamıştır. Son gün değerlendirme süreleri incelendiğinde erkeklerde 0.2 mg/kg nikotin ile en kuvvetli olmak üzere CPP yanıtı elde edilirken ($p < 0.005$), dişilerde hiç bir dozda anlamlı CPP yanıtı gözlenmemiştir. Bu bilgi ışığında çalışmanın bundan sonraki aşamalarında her iki cinsiyette de 0.2 mg/kg nikotin ile deneyler sürdürülmüştür.

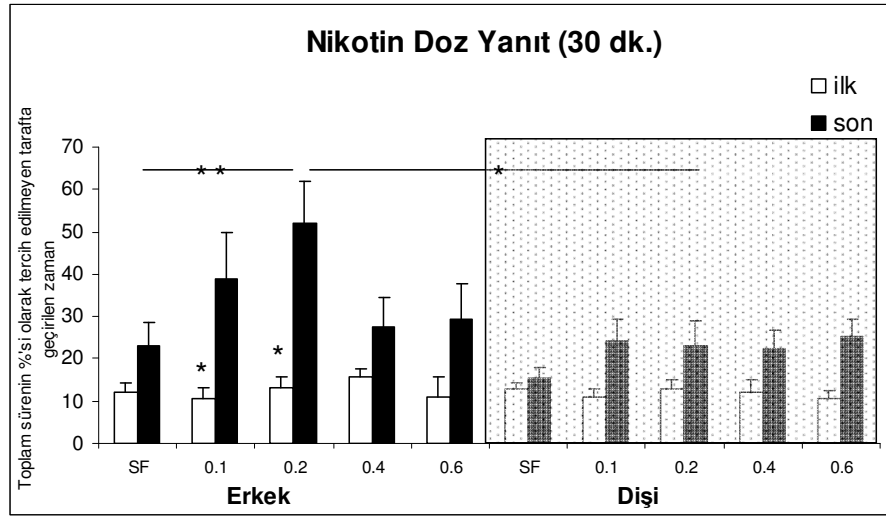
Cinsiyet

Uygulama

İlk (ort. ± sh)

Son (ort. ± sh)

Erkek	S.F. (15)	12,13 ± 2,29	23,02 ± 5,45
	0.1 (9)	10,71 ± 2,66	38,88 ± 10,96
	0.2 (9)	13,10 ± 2,54	52,05 ± 9,98
	0.4 (9)	15,85 ± 1,91	27,38 ± 7,2
	0.6 (6)	11,11 ± 4,56	29,15 ± 8,51
	Dişi	S.F. (17)	12,73 ± 1,63
0.1 (9)		10,95 ± 1,71	24,23 ± 5,25
0.2 (9)		12,83 ± 2,21	23,17 ± 5,73
0.4 (9)		11,98 ± 3,02	22,45 ± 4,38
0.6 (10)		10,58 ± 1,82	25,19 ± 4,29



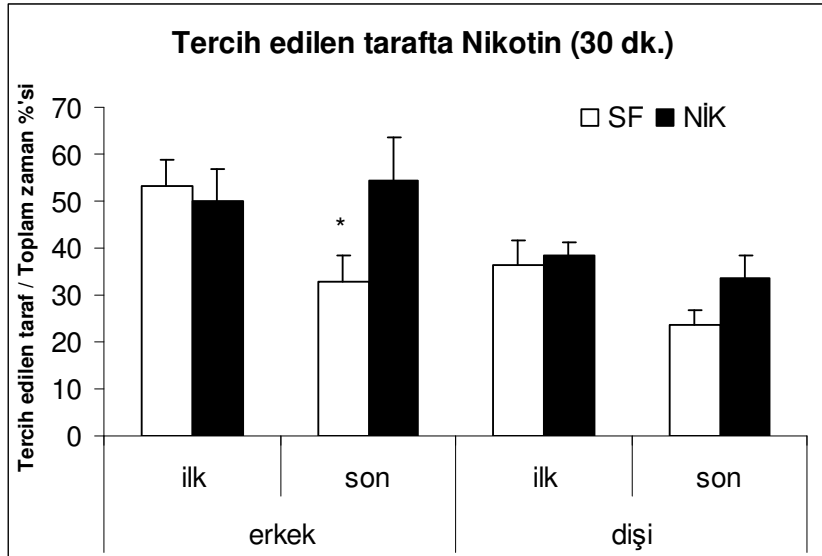
Şekil 5: Farklı nikotin dozlarında erkek ve dişi sıçanlarda oluşturulan CPP

(*p<0.05, ** p<0.005)

Beyaz barların üzerindeki semboller, o grup içinde, son gün değerlerinden farkları göstermektedir. Siyah barları bağlayan yatay çizgilerin üzerindeki semboller ise, son denemede gruplar arası farkları belirtmektedir.

4.2 İlk gün tercih edilen tarafta nikotin uygulanan şartlama deneyleri

Cinsiyet	Uygulama	İlk (ort. ± sh)	Son (ort. ± sh)
Erkek	S.F. (15)	53,06 ± 5,90	32,79 ± 5,50
	NİK (12)	50,13 ± 6,83	54,27 ± 9,33
Dişi	S.F. (15)	36,49 ± 5,14	23,61 ± 3,04
	NİK (12)	38,39 ± 2,94	33,45 ± 4,97



Şekil 6: Tercih edilen tarafta nikotin ile yapılan şartlama sonuçları (*p<0.05; nikotiden farklı)

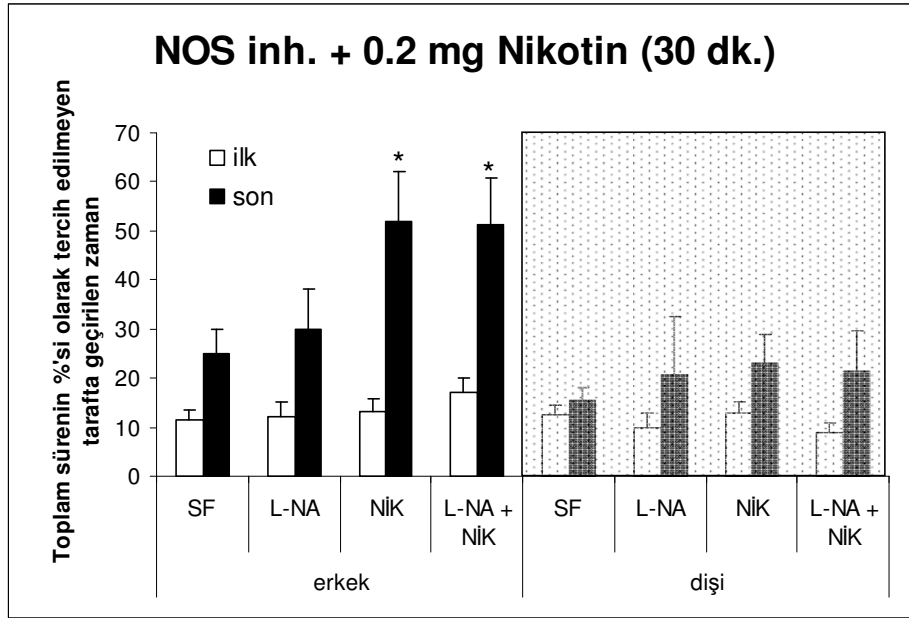
Tercih edilen tarafta yapılan şartlamalar sonucunda seans [F(1,107) = 4.448, p<0.05], cinsiyet [F(1,107) = 13.125, p<0.001] ve nikotin [F(1,107) = 3.543, p<0.05] anlamlı faktörler

olarak bulunmuştur. Ayrıca seans ile nikotin arasında anlamlı bir etkileşim saptanmıştır [F(1,107) = 4.040, p<0.05]. Özetle, erkeklerde SF grubu ile nikotin grubu arasında son gün, tercih edilen tarafta geçirilen süreler açısından, istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur (Şekil 6). SF grubu ilk gün tercih ettiği kutuda son gün daha az zaman geçirirken, nikotin grubunda süre artmıştır.

Bu sonuç 0,2 mg/kg nikotin ile CPP etkisinin hem ilk gün tercih edilen hem de tercih edilmeyen tarafta yapılan şartlamalarla gösterilebildiğini ispatlamıştır. Dişilerde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu durum tercih edilmeyen tarafta yapılan şartlama deneylerinin sonuçlarıyla uyumludur (Şekil 5).

4.3 NOS (Nitrik oksit sentaz) inhibisyonunun nikotinle oluşturulan CPP'ye etkisi

Cinsiyet	Uygulama	İlk (ort. ± sh)	Son (ort. ± sh)
Erkek	S.F. (15)	11,63 ± 1,98	25,01 ± 5,05
	L-NA (6)	12,19 ± 3,07	29,77 ± 8,44
	NİK (9)	13,10 ± 2,54	52,05 ± 9,98
	L-NA NİK (6)	17,03 ± 3,09	51,24 ± 9,41
Dişi	S.F. (17)	12,58 ± 1,85	15,57 ± 2,48
	L-NA (6)	9,97 ± 2,89	20,63 ± 12,07
	NİK (9)	12,83 ± 2,21	23,17 ± 5,73
	L-NA NİK (6)	8,92 ± 1,81	21,29 ± 8,20



Şekil 7: NOS inhibisyonunun 0,2 mg nikotin ile oluşturulan CPP'ye etkisi

(* p<0.05, SF'den farklı)

Deney gruplarının ilk gün süreleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Şekil 7). NOS inhibisyonu tek başına tercih ve sakınma yanıtı oluşturmamıştır. Erkeklerde nikotinle

oluşturulan CPP yanıtını etkilememiştir. Bu sonuç NOS inhibisyonunun nikotin etkilerinin kognitif boyutuna etkili olsada (Yılmaz, Kanit et al. 2000), şartlanma boyutunda görev almadığını göstermektedir.

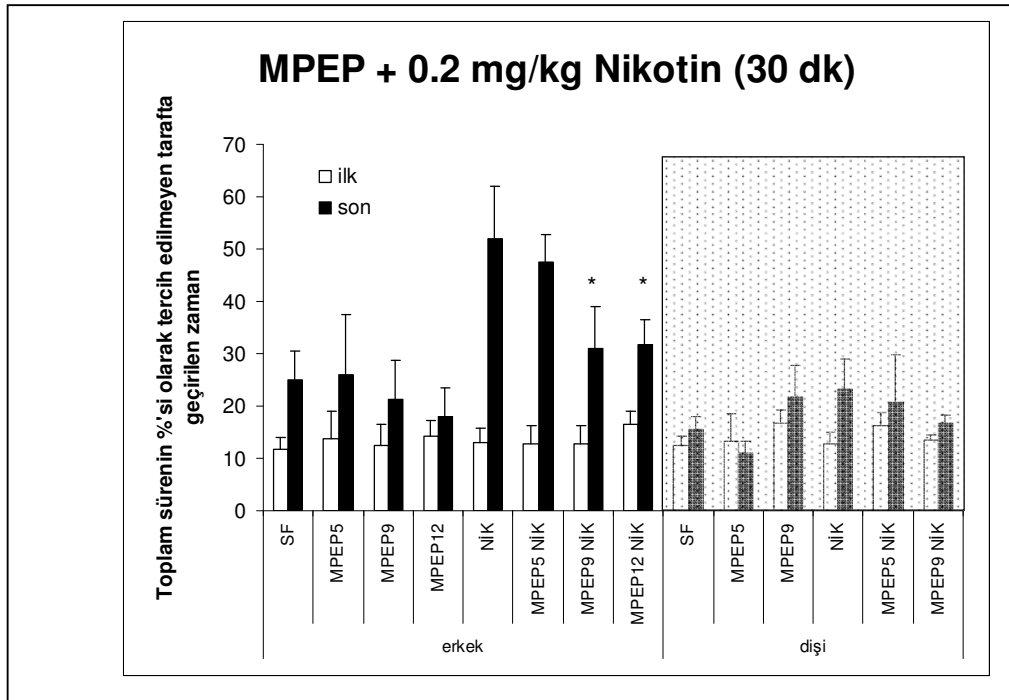
NOS inhibisyonu sonucunda, seans [F (1,142) = 41.914, p<0.001], cinsiyet [F (1,142) = 16.101, p<0.001] ve uygulama [F (3,142) = 3.548, p<0.05] anlamlı faktörler olarak bulunmuştur. Özetle, ilk seans değerleri son seanstan, erkeklerdeki değerler dişilerdekilerden ve nikotin alan gruplardaki değerler almayanlardan daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca cinsiyet ile seans arasında [F (1,142) = 9.756, p<0.005] ve seans ile uygulama arasında [F (3,142) = 2.775, p<0.05] anlamlı etkileşimler bulunmuştur. Erkeklerde iki seans arasındaki fark dişilerdekilerden ve nikotin uygulanan gruplarda iki seans arasındaki fark uygulanmayanlardakinden daha fazladır.

Post-hoc testlerde, erkeklerde, salin ve nikotin grupları (L-NA'lı ve L-NA'sız) arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur (şekil 7).

Dişi grupları arasında fark bulunamamıştır.

4.4 MPEP uygulamasının nikotinin oluşturulan CPP'ye etkisi

Cinsiyet	Uygulama	İlk (ort. ± sh)		Son (ort. ± sh)	
Erkek	S.F (15)	11,63	± 2,29	25,01	± 5,45
	MPEP5 (6)	13,82	± 5,11	37,00	± 14,29
	MPEP9 (6)	12,38	± 4,22	21,18	± 7,57
	MPEP12 (12)	14,22	± 3,04	17,91	± 5,50
	NIK (9)	13,10	± 2,54	52,05	± 9,98
	MPEP5 NİK (6)	12,76	± 3,54	47,44	± 5,39
	MPEP9 NİK (6)	12,68	± 3,53	31,06	± 8,02
	MPEP12 NİK (12)	16,49	± 2,52	31,81	± 4,77
Dişi	S.F (17)	12,58	± 1,63	15,57	± 2,48
	MPEP5 (6)	13,35	± 5,15	10,97	± 2,17
	MPEP9 (6)	16,64	± 2,55	21,79	± 6,05
	NIK (9)	12,83	± 2,21	23,17	± 5,73
	MPEP5 NİK (6)	16,34	± 2,39	20,76	± 9,03
	MPEP9 NİK (6)	13,59	± 1,03	16,81	± 1,32



Şekil 8: MPEP uygulamasının 0,2 mg/kg nikotin ile oluşturulan CPP'ye etkisi (*

p<0.05, NİK'den farklı)

Deney gruplarının ilk gün süreleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Cinsiyet faktörünün kapsandığı, nikotin ve 5 ve 9 mg/kg MPEP dozlarının etkilerinin araştırıldığı ANOVA testlerinde MPEP uygulamasının tek başına anlamlı bir tercih veya sakınma yanıtı oluşturmadığı görülmüştür. Seans [F(1, 83) = 40.092, p<0.001] anlamlı bir faktör olarak bulunmuş ve gerek cinsiyet, gerek nikotin ile etkileşmiştir [Sırayla, F(1, 83) = 19.817, p<0.001 ve F(1, 83) = 5.223, p<0.05)]. Ayrıca cinsiyet [F(1, 83) = 12.106, p<0.001] ve nikotinin [F(1, 83) = 4.938, p<0.05] de anlamlı etkileri olduğu bulunmuştur. Özetle, ikinci seansta süreler birinci seanstan daha uzun olmuş, nikotin uygulaması süreleri uzatmış, dişilerin değerleri erkeklerden düşük bulunmuştur. Etkileşimler de şöyle açıklanabilir: İkinci seanstaki artış erkeklerde görüldüğü halde dişilerde bulunmamaktadır; nikotinin de ikinci seansta oluşturduğu artış etkisi tüm gruplarda gözlenmemektedir (Şekil 8).

Sadece erkek gruplarında üç farklı MPEP dozu uygulanarak yapılan ANOVA testlerinde ise Seans [F(1, 59) = 55.164, p<0.001] anlamlı bir faktör olarak bulunmuş ve gerek nikotin, gerek MPEP ile etkileşmiştir [Sırayla, F(1, 59) = 7.450, p<0.01 ve F(3, 59) = 3.410, p<0.05)]. Ayrıca nikotinin [F(1, 59) = 6.308, p<0.05] de anlamlı etkisi olduğu bulunmuştur. Erkek gruplarında da ikinci seans değerleri birinciden daha yüksektir ve nikotin uygulaması nikotin ile eşleştirilen bölmedeki süreleri uzatmaktadır. Ancak gerek nikotin gerek MPEP uygulamalarının tüm gruplarda iki seans arasındaki farkın aynı düzeyde olmaması etkileşimlere yol açmıştır. Post hoc analizlerin sonuçları grafik üzerinde incelenebilir. MPEP uygulamalarında 5 mg/kg'lık dozda nikotin grubundan farklılık saptanmamıştır. 9 ve 12 mg/kg dozlarda MPEP, nikotinle oluşturulan CPP yanıtını baskılamıştır.

5 TARTIŞMA

Sunulan tez çalışmasının sonuçları aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- 1) Laboratuvarımızda geliştirilmiş olan üç bölmeli CPP düzeneği nikotin bağımlılığının araştırılmasında güvenle kullanılabilir.
- 2) Nikotin 0,2 ve 0,1 mg/kg dozlarda erkeklerde CPP oluşturduğu halde, dişilerde bu etki hiçbir dozda gözlenmemiştir.
- 3) NOS inhibisyonu oluşturan L-NA veya mGluR5 blokajı sağlayan MPEP, CPP oluşturmamaktadırlar.
- 4) Nikotinden önce NO sentezinin NOS inhibisyonu ile baskılanması erkeklerde oluşan CPP üzerinde etkili olmamıştır; dişilerde ise esasen nikotinle oluşturulamayan CPP'de herhangi bir farklılaşmaya yol açmamıştır.
- 5) Nikotinden önce mGluR5 reseptörlerinin farklı dozlarda MPEP ile bloke edilmesi, erkek sıçanlarda MPEP dozuna bağlı olarak nikotin ile oluşan CPP'yi baskılamıştır; dişilerde ise nikotinle oluşturulamayan CPP ile ilgili herhangi bir etkisi olmamıştır.

Şartlı yer tercihi çalışmalarında gerek nikotin, gerek diğer bağımlılık yapıcı maddeler araştırılırken kullanılan deney düzenekleri, deney hayvanları ve deney protokolleri açısından büyük farklar olduğu görülmektedir. Özellikle nikotin ile yapılan çalışmalarda bu farklılık çok belirgindir. Bu nedenle bazı laboratuvarlarda nikotin ile CPP oluşumu gösterilememiştir (Tzschentke 1998). Sunulan tez çalışmasında CPP düzeneğinin geliştirilmesi aşamasında farklı seçenekler irdelenmiş ve üç bölmeli bir düzeneğin en güvenilir sonuçlar verdiği saptanmıştır. CPP'de etkili olan diğer faktörler, örneğin hayvanların laboratuvar ve deney ortamına alıştırılması, deneylerden önce okşanması gibi koşullar sağlanmıştır. Diğer yandan kullanılan düzeneğin otomasyonu kontrollü çalışmalarla doğrulanmış ve bulgular konservatif bir yaklaşımla analiz edilmiştir. Örneğin bazı çalışmalarda, üç bölmeli CPP düzenekleri

kullanıldığında sadece şartlamanın yapıldığı ortamlardaki süreler istatistiksel analizlerde kullanıldığı halde, çalışmamızda her bölmede geçirilen zaman toplam sürenin yüzdesi olarak değerlendirilmeye alınmıştır. Bu bağlamda, deney düzenimizin güvenilirliğini kanıtlayan bir diğer veri, nötral bölmede geçirilen sürelerin ortalamalarının tüm deney gruplarında benzer olması, aralarında herhangi bir farklılık bulunmamış olmasıdır.

Çalışmamızda nikotin ile erkeklerde doza bağlı CPP oluşturulduğu halde dişilerde bu etki saptanmamıştır. Nikotin etkilerinde, giriş ve genel bilgiler bölümünde söz edilmiş olan cinsiyet farkları bilindiği halde, CPP ile ilgili cinsiyetin de faktör olarak değerlendirildiği herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu bağlamda çalışmamızın sonuçlarının literatüre önemli bir katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

CPP paradigmasında cinsiyet farklarının araştırıldığı çalışma sayısı çok azdır. Literatürde mevcut çalışmaların büyük bölümü kokain ile oluşturulan CPP'yi incelemektedir.

Kokaine verilen davranışsal ve sübjektif yanıtlarda cinsiyet farkları olduğu bilinmektedir. Kokainin ödül etkilerinde cinsiyet farkları olduğu CPP çalışmalarında gösterilmiştir. Dişi sıçanlarda daha düşük kokain dozlarında ve daha az sayıda uygulama ile CPP oluşur. Kokain ile oluşturulan CPP de gözlenen cinsiyet farklarında dopamin reseptörlerinin etkisi araştırıldığında, kokainden önce D1 reseptör antagonisti olan SCH 23390 verildiğinde, erkek sıçanlarda CPP tamamen baskılandığı halde, dişilerde etki daha zayıf olmuştur. Oysa D2 reseptörlerinin etikloprid ile bloke edilmesinin her iki cinsiyette de CPP üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır. Bu bulgular kokain ile oluşturulan CPP'de gözlenen cinsel dimorfizmin, D1 reseptör duyarlılığındaki farklılıktan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir (Nazarian, Russo et al. 2004).

Over hormonlarının dopamin salgısı üzerinde etkili olduğu ve bağımlılıkla ilgili olarak mezolimbik dopaminerjik sistemde (özellikle n. akkumbens) dopamin salgısını arttırdığı bilinmektedir. Bu bilgilerin ışığında kokain ve amfetamin ile oluşturulan CPP'de cinsiyet

farkları araştırılmış ve gonadektomi yapılmış erkek ve dişi farelerde östradiolün ve progesteronun rolü irdelenmiştir. Kokain etkisinde önemli bir cinsiyet farkı bulunmadığı halde, amfetamin ile oluşturulan CPPde dişilerde erkeklere oranla daha büyük bir yanıt elde edilmiştir. Östrojen bu etkiyi dişi farelerde kuvvetlendirdiği halde, erkeklerde benzer bir etki oluşturmamıştır. Progesteronun ise her iki cinsiyette de etkili olmamıştır. Bu bulgular, östradiolün sadece dişilerde amfetamin ile oluşturulan CPP üzerinde kuvvetlendirici bir etkisi olduğunu düşündürmektedir (Tzschentke and Schmidt 2003). Kokain ile oluşturulan CPP'ye gonad hormonlarının etkisinin araştırıldığı bir diğer çalışmada gonadektomi yapılmış veya intakt sıçanlarda kokain ile CPP oluşturulabilmiş, ancak gonadektomi CPP etkisini zayıflatmıştır. Bu duruma serum kortikosteron düzeylerindeki düşüş eşlik etmiştir. Eksojen yolla verilen progesteron kokain ile CPP oluşumunu inhibe ederken östrojen arttırmıştır. Ayrıca, gonadektomi ve over hormonlarının replasmanı dişi sıçanlarda ventral tegmental alan (VTA) ve n. Akumbens "shell" kısmında serotonin/dopamin düzeylerini ve dönüşümünü ("turnover") baskılamıştır. Dişilerde progesteron replasmanı VTA'da serotonin ve dopamin düzeylerini azalttığı halde estrojen ile progesteronun birlikte uygulanması n. akumbens'de dopamin düzeylerini yükseltmiştir. Bu bulgular, over hormonlarının monoaminerjik sistemler üzerinden etkili olduğunu ve bu etkinin kokaine yanıtta cinsiyet farklarına yol açtığını düşündürmektedir (Russo, Festa et al. 2003).

Balda ve arkadaşları (Balda, Anderson et al. 2006), cinsiyeti de bir faktör olarak aldıkları çalışmalarında farelerde, adölesanstan (24-45 gün) erişkinlik (70 gün) dönemine kadar kokain ile oluşturulan CPP'nin özelliklerini, sürdürülmesini ve ara verildikten sonra tekrar ortaya çıkışını araştırmışlardır. Adölesans döneminde farelerde her iki cinste de kokain ile CPP oluşturulmuş, daha sonra erişkinlikte bir tek kokain enjeksiyonu ile tekrar CPP olduğu saptanmıştır. Ancak erişkinlikteki CPP'nin dişilerde erkeklerden daha kuvvetli olduğu gözlenmiştir.

Russo ve arkadaşları, kokaine veren yanıtta cinsiyet farklılıklarında adrenal hormonların etkisini CPP ile araştırmışlardır. İntakt sıçanlarda CPP dişilerde erkeklere oranla daha az deneme ile ve daha düşük dozlarda oluşturulmuştur. Ayrıca dişi sıçanlarda serum kortikosteron düzeyleri de daha yüksektir. Ancak, adrenalektomi her iki cinsten de CPP üzerinde etkili olmamıştır. Bu sonuçlar, dişilerdeki farklı davranışın hypothalamus-hipofiz-gonadal eksenenden kaynaklanmadığını düşündürmektedir (Russo, Jenab et al. 2003).

Diğer taraftan, cinsiyet farkları olduğunu ortaya koyan ve serotonerjik sistem açısından yetersizlikleri olan “Fawn Hooded” sıçanlarda LSD ile yapılmış bir çalışmada, LSD erkeklerde şartlı yer tercihi oluşturduğu halde dişilerde bu etki gözlenmemiştir (Meehan and Schechter 1998).

Çalışmamızda, bağımlılığın şartlama boyutunda cinsiyet etkisi açısından, nikotinin kokainden farklı LSD ile ise benzer sonuçlar verdiği saptanmıştır. Bu farklılaşma ve örtüşmelerin altında yatan mekanizmaların aydınlatılması nikotin bağımlılığı ile mücadelede yol gösterici olacaktır.

Çalışmamızda L-NA ile oluşturulan NOS inhibisyonu nikotin ile oluşturulan CPP üzerinde etkili olmamıştır. Oysa, Martin ve Itzhak (Martin and Itzhak 2000) erkek Swiss Webster farelerde spesifik bir nöronal NOS inhibitörü olan 7-nitroindazolün (7-NI) nikotin ile oluşturulan CPP’yi tamamen bloke ettiğini bildirmektedirler. Yine farelerde yapılan bir çalışmada hem nikotin, hem de NO prekürsörü olan L-arjinin ile CPP oluşturulduğu, NOS inhibitörü olan L-Nitro-amino-metil-esterin (L-NAME) ise bu tür bir etkisi olmadığı saptanmıştır (Sahraei, Falahi et al. 2004). Aynı çalışmada, L-NAME’in nikotin ile oluşturulan CPP’yi inhibe ettiği gösterilmiştir.

Farelerde yapılan bu çalışmalar NO’in nikotin ile oluşturulan yer tercihinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Oysa çalışmamızda L-NA ile NOS inhibisyonunun erkek sıçanlarda nikotin ile oluşturulan CPP üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı saptanmıştır.

NOS inhibisyonun kendi başına CPP oluşturmuyor olması açısından çalışmalar arasında uyum varsa da, nikotin ile oluşturulan CPP üzerindeki bulgulardaki farklılığın kullanılan hayvan türlerinden kaynaklanması olasıdır.

Sunulan tez çalışmasında nikotin ile oluşturulan CPP'nin, mGluR5 reseptörleri MPEP ile bloke edildiğinde engellenmesi, özellikle ileride tedaviye yönelik yararlar sağlayabilme açısından önemlidir. Literatürde MPEP ve CPP arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmalar son yıllarda mGluR5'in bağımlılıktaki rolünün anlaşılması ve spesifik bir inhibitör olan MPEP'in bulunmasına koşut olarak görülmeye başlanmıştır.

McGeehan ve Olive (Meehan and Schechter 1998) bağımlılık yapıcı maddelerle oluşturulan CPP üzerine MPEP etkisini farelerde incelemişlerdir. MPEP'in sadece kokain ile oluşturulan CPP'yi baskıladığını, amfetamin, nikotin, morfin veya etanol ile oluşturulan CPP üzerinde etkili olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan MPEP dozları 1, 5, ve 20 mg/kg 'dır. İki çalışma arasındaki farklılık kullanılan deney hayvanlarına bağlı olabileceği gibi, kullanılan MPEP dozlarından da kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda 5 mg doz etkili olmazken 9 ve 12 mg/kg dozlarında MPEP'in baskılayıcı etkisi saptanmıştır. McGeehan ve Olive'in çalışmalarında ise 5 ve 20 mg/kg arası dozlar atlanmıştır; pek çok ilaç etkisinde ters "U" şeklinde doz-yanıt etkisi olduğu göz önünde bulundurulduğunda, söz konusu çalışmada da bu tür bir faktörün etkinliği mümkündür.

Diğer taraftan, literatürde McGeehan ve Olive (McGeehan and Olive 2003)'ın çalışma sonuçları ile uyumlu olmayan başka çalışmalar da mevcuttur. Herzig ve arkadaşları (Herzig and Schmidt 2004), mGluR5'in kokain ve morfin ile ortaya çıkan davranışlar üzerindeki olası rolünü MPEP kullanarak araştırmışlardır. Bu kapsamda, MPEP'in sıçanlarda kokain ile oluşturulan CPP üzerinde etkili olmazken, morfin ile oluşturulan CPP'yi engellediğini göstermişlerdir. Bu bulgudan yola çıkarak, MPEP'in morfin bağımlılığının tedavisinde, özellikle rölapsın önlenmesinde kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Aynı grubun bir diğer

çalışmasında (Herzig, Capuani et al. 2005) sıçanlarda, MPEP'in yemek ödülü, MDMA (ekstazi) ve amfetamin ile olan ilişkisi araştırılmış ve MPEP'in amfetamin ile oluşturduğu CPP'yi engellediği, oysa yemek ödülü ve MDMA ile oluşturulan CPP üzerinde etkili olmadığını gösterilmiştir.

Bu bulgular MDMA'nin kullanılan kemirgen türüne göre (fare ve sıçan) farklı etkileri olabileceğini, MPEP'in CPP'yi engelleyici etkilerinin tüm bağımlık yapıcı maddelere genelleştirilemeyeceğini ortaya koymaktadır.

Farelerde yapılan bir diğer çalışmada da yine MPEP'in yüksek dozda uygulandığında (30 mg/kg) morfin ile oluşturulan CPP'yi engellediği gösterilmiştir. Popik ve arkadaşları (Popik and Wrobel 2002) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada ayrıca MPEP'in spasyal öğrenmeye olan etkisi araştırılmış ve herhangi bir etkisi olmadığı sağtanmıştır. Buna göre, MPEP'in morfin ile oluşturulan baskılayıcı etkisinde öğrenme veya bellek farklılaşmalarının rolü olmadığı sonucuna varılmıştır.

Özetle, sunulan tez çalışması MPEP'in sıçanlarda nikotin ile oluşturulan CPP'yi baskıladığını gösteren ilk çalışmadır. McGeehan ve Olive (McGeehan and Olive 2003) farelerde MPEP'in sadece kokain ile oluşturulan CPP'yi baskıladığını, morfin amfetamin, nikotin, morfin veya etanol ile oluşturulan CPP üzerinde etkili olmadığını bildirmişler ise de, daha sonra yapılan çalışmalar farelerde MPEP'in morfin ile oluşturulan CPP'yi baskıladığını (Popik and Wrobel 2002) ve sıçanlarda ise, MPEP'in kokainin yanısıra morfin (Herzig and Schmidt 2004) ve amfetamin (Herzig, Capuani et al. 2005) ile oluşturulan CPP'yi engellediğini ortaya koymuştur. Sunulan tez çalışmasında da morfin ve amfetaminin yanısıra sıçanlarda MPEP'in nikotin ile oluşturulan CPP'yi baskıladığı gösterilmektedir. Nikotin etkilerinde opiyoidlerin rolü dikkate alınırrsa, MPEP nikotin üzerindeki etkisinin de direkt olabileceği kadar indirekt bir etki olması da olasıdır.

Bağımlılık tüm dünyanın en önemli sağlık sorunudur; bu sorun sadece bağımlı kişiyi değil çevresini ve toplumu da etkilemektedir. Nikotin bağımlılığı, sigara ve tütün kullanımı şeklindedir. Tütün yasal yollardan temin edilebilen bir madde olduğu için farklı ülkelerde değişik oranlarda olmakla birlikte tütün bağımlılığı toplumda %30-%60 dolaylarındadır. Ülkemiz tütün endüstrisi açısından çok iyi bir pazar olduğu için, sigara bağımlılığı ile mücadele diğer gelişmiş ülkelere oranla daha az başarılı olmaktadır. Ülkemizde kadınlar arasında ve erken yaşlarda sigara kullanımı giderek artmaktadır. Oysa sigarayı bırakmada kadınlar daha az başarılıdırlar. Bu durumda önümüzdeki yıllarda sorunun daha da büyüyeceğini varsayabiliriz. Bağımlılıkla mücadele için bağımlılığın mekanizmalarının iyi anlaşılması gerekmektedir. Nikotinin akut etkileri ile alışkanlık oluşturan etkileri arasında santral nörotransmitter sistemler açısından bir farklılık olması olasıdır. Bu tür bir farklılık kokain için gösterilmiştir.

Sunulan tez çalışmasının sonuçlarının gerek nikotin bağımlılığının mekanizmalarının anlaşılmasında, gerek olası klinik yansımalarıyla bilime ve toplum sağlığına katkı sağlayabileceği ümit edilmektedir.

6 REFERANSLAR

- Agnati, L. F., S. Ferre, C. Lluís, R. Franco and K. Fuxe (2003). "Molecular mechanisms and therapeutical implications of intramembrane receptor/receptor interactions among heptahelical receptors with examples from the striatopallidal GABA neurons." Pharmacol Rev **55**(3): 509-50.
- Algan, O., J. J. Furedy, S. Demirgoren, A. Vincent and S. Pogun (1997). "Effects of tobacco smoking and gender on interhemispheric cognitive function: performance and confidence measures." Behav Pharmacol **8**(5): 416-28.
- Arnold, B., K. Allison, S. Ivanova, P. R. Paetsch, T. Paslawski and A. J. Greenshaw (1995). "5HT₃ receptor antagonists do not block nicotine induced hyperactivity in rats." Psychopharmacology (Berl) **119**(2): 213-21.
- Balda, M. A., K. L. Anderson and Y. Itzhak (2006). "Adolescent and adult responsiveness to the incentive value of cocaine reward in mice: Role of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) gene." Neuropharmacology.
- Bardo, M. T., J. K. Rowlett and M. J. Harris (1995). "Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis." Neurosci Biobehav Rev **19**(1): 39-51.
- Berrendero, F., B. L. Kieffer and R. Maldonado (2002). "Attenuation of nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and dependence in mu-opioid receptor knock-out mice." J Neurosci **22**(24): 10935-40.
- Berrendero, F., V. Mendizabal, P. Robledo, L. Galeote, A. Bilkei-Gorzo, A. Zimmer and R. Maldonado (2005). "Nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and physical dependence are decreased in mice lacking the preproenkephalin gene." J Neurosci **25**(5): 1103-12.
- Besson, M., V. David, S. Suarez, A. Cormier, P. Cazala, J. P. Changeux and S. Granon (2006). "Genetic dissociation of two behaviors associated with nicotine addiction:

- Beta-2 containing nicotinic receptors are involved in nicotine reinforcement but not in withdrawal syndrome." Psychopharmacology (Berl).
- Biala, G. and B. Budzyska (2006). "Reinstatement of nicotine-conditioned place preference by drug priming: Effects of calcium channel antagonists." Eur J Pharmacol **537**(1-3): 85-93.
- Bohme, G. A., C. Bon, J. M. Stutzmann, A. Doble and J. C. Blanchard (1991). "Possible involvement of nitric oxide in long-term potentiation." Eur J Pharmacol **199**(3): 379-81.
- Brody, A. L., M. A. Mandelkern, E. D. London, A. R. Childress, G. S. Lee, R. G. Bota, M. L. Ho, S. Saxena, L. R. Baxter, Jr., D. Madsen and M. E. Jarvik (2002). "Brain metabolic changes during cigarette craving." Arch Gen Psychiatry **59**(12): 1162-72.
- Brunzell, D. H., D. S. Russell and M. R. Picciotto (2003). "In vivo nicotine treatment regulates mesocorticolimbic CREB and ERK signaling in C57Bl/6J mice." J Neurochem **84**(6): 1431-41.
- Chiamulera, C., M. P. Epping-Jordan, A. Zocchi, C. Marcon, C. Cottiny, S. Tacconi, M. Corsi, F. Orzi and F. Conquet (2001). "Reinforcing and locomotor stimulant effects of cocaine are absent in mGluR5 null mutant mice." Nat Neurosci **4**(9): 873-4.
- Davenport, K. E., A. A. Houdi and G. R. Van Loon (1990). "Nicotine protects against mu-opioid receptor antagonism by beta-funaltrexamine: evidence for nicotine-induced release of endogenous opioids in brain." Neurosci Lett **113**(1): 40-6.
- Dawson, T. M., V. L. Dawson and S. H. Snyder (1992). "A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide." Ann Neurol **32**(3): 297-311.
- Dawson, V. L., T. M. Dawson, E. D. London, D. S. Bredt and S. H. Snyder (1991). "Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures." Proc Natl Acad Sci U S A **88**(14): 6368-71.

- Dhatt, R. K., K. P. Gudehithlu, T. A. Wemlinger, G. A. Tejwani, N. H. Neff and M. Hadjiconstantinou (1995). "Preproenkephalin mRNA and methionine-enkephalin content are increased in mouse striatum after treatment with nicotine." J Neurochem **64**(4): 1878-83.
- Di Chiara, G. (2000). "Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction." Eur J Pharmacol **393**(1-3): 295-314.
- Fendt, M. and S. Schmid (2002). "Metabotropic glutamate receptors are involved in amygdaloid plasticity." Eur J Neurosci **15**(9): 1535-41.
- Fiore, M. C. and D. E. Jorenby (1992). "Optimizing nicotine-dependence treatment: a role for inpatient programs." Mayo Clin Proc **67**(9): 901-2.
- Frank, E., L. L. Carpenter and D. J. Kupfer (1988). "Sex differences in recurrent depression: are there any that are significant?" Am J Psychiatry **145**(1): 41-5.
- Fudala, P. J. and E. T. Iwamoto (1986). "Further studies on nicotine-induced conditioned place preference in the rat." Pharmacol Biochem Behav **25**(5): 1041-9.
- Fudala, P. J., K. W. Teoh and E. T. Iwamoto (1985). "Pharmacologic characterization of nicotine-induced conditioned place preference." Pharmacol Biochem Behav **22**(2): 237-41.
- Furchgott, R. F. and J. V. Zawadzki (1980). "The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine." Nature **288**(5789): 373-6.
- Gasparini, F., K. Lingenhohl, N. Stoehr, P. J. Flor, M. Heinrich, I. Vranesic, M. Biollaz, H. Allgeier, R. Heckendorn, S. Urwyler, M. A. Varney, E. C. Johnson, S. D. Hess, S. P. Rao, A. I. Saccaan, E. M. Santori, G. Velicelebi and R. Kuhn (1999). "2-Methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP), a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist." Neuropharmacology **38**(10): 1493-503.

- Goktalay, G., S. Cavun, M. C. Levendusky, J. R. Hamilton and W. R. Millington (2006). "Glycyl-glutamine inhibits nicotine conditioned place preference and withdrawal." Eur J Pharmacol **530**(1-2): 95-102.
- Grabus, S. D., B. R. Martin, S. E. Brown and M. I. Damaj (2006). "Nicotine place preference in the mouse: influences of prior handling, dose and strain and attenuation by nicotinic receptor antagonists." Psychopharmacology (Berl) **184**(3-4): 456-63.
- Guitart, X., M. A. Thompson, C. K. Mirante, M. E. Greenberg and E. J. Nestler (1992). "Regulation of cyclic AMP response element-binding protein (CREB) phosphorylation by acute and chronic morphine in the rat locus coeruleus." J Neurochem **58**(3): 1168-71.
- Harrison, A. A., F. Gasparini and A. Markou (2002). "Nicotine potentiation of brain stimulation reward reversed by DH beta E and SCH 23390, but not by eticlopride, LY 314582 or MPEP in rats." Psychopharmacology (Berl) **160**(1): 56-66.
- Heishman, S. J., F. R. Snyder and J. E. Henningfield (1993). "Performance, subjective, and physiological effects of nicotine in non-smokers." Drug Alcohol Depend **34**(1): 11-8.
- Herzig, V., E. M. Capuani, K. A. Kovar and W. J. Schmidt (2005). "Effects of MPEP on expression of food-, MDMA- or amphetamine-conditioned place preference in rats." Addict Biol **10**(3): 243-9.
- Herzig, V. and W. J. Schmidt (2004). "Effects of MPEP on locomotion, sensitization and conditioned reward induced by cocaine or morphine." Neuropharmacology **47**(7): 973-84.
- Horan, B., E. L. Gardner, S. L. Dewey, J. D. Brodie and C. R. Ashby, Jr. (2001). "The selective sigma(1) receptor agonist, 1-(3,4-dimethoxyphenethyl)-4-(phenylpropyl)piperazine (SA4503), blocks the acquisition of the conditioned place preference response to (-)-nicotine in rats." Eur J Pharmacol **426**(1-2): R1-2.

- Horan, B., M. Smith, E. L. Gardner, M. Lepore and C. R. Ashby, Jr. (1997). "(-)-Nicotine produces conditioned place preference in Lewis, but not Fischer 344 rats." Synapse **26**(1): 93-4.
- Houdi, A. A., K. Pierzchala, L. Marson, M. Palkovits and G. R. Van Loon (1991). "Nicotine-induced alteration in Tyr-Gly-Gly and Met-enkephalin in discrete brain nuclei reflects altered enkephalin neuron activity." Peptides **12**(1): 161-6.
- Ignarro, L. J. (1991). "Signal transduction mechanisms involving nitric oxide." Biochem Pharmacol **41**(4): 485-90.
- Izumi, Y., A. M. Benz, D. B. Clifford and C. F. Zorumski (1992). "Nitric oxide inhibitors attenuate N-methyl-D-aspartate excitotoxicity in rat hippocampal slices." Neurosci Lett **135**(2): 227-30.
- Jerrold S. Meyer, L. F. Q. (2005). "Psychopharmacology Drugs, The Brain and Behavior."
- Kano, T., Y. Suzuki, M. Shibuya, K. Kiuchi and M. Hagiwara (1995). "Cocaine-induced CREB phosphorylation and c-Fos expression are suppressed in Parkinsonism model mice." Neuroreport **6**(16): 2197-200.
- Khoshnoodi, M. A., R. Motiei-Langroudi, P. Tahsili-Fahadan, N. Yahyavi-Firouz-Abadi, M. H. Ghahremani and A. R. Dehpour (2006). "Involvement of nitric oxide system in enhancement of morphine-induced conditioned place preference by agmatine in male mice." Neurosci Lett **399**(3): 234-239.
- Kim, H. S., K. S. Kim and K. W. Oh (1999). "Ginseng total saponin inhibits nicotine-induced hyperactivity and conditioned place preference in mice." J Ethnopharmacol **66**(1): 83-90.
- Lane-Ladd, S. B., J. Pineda, V. A. Boundy, T. Pfeuffer, J. Krupinski, G. K. Aghajanian and E. J. Nestler (1997). "CREB (cAMP response element-binding protein) in the locus

- coeruleus: biochemical, physiological, and behavioral evidence for a role in opiate dependence." J Neurosci **17**(20): 7890-901.
- Le Foll, B. and S. R. Goldberg (2005). "Nicotine induces conditioned place preferences over a large range of doses in rats." Psychopharmacology (Berl) **178**(4): 481-92.
- Le Foll, B. and S. R. Goldberg (2006). "Nicotine as a typical drug of abuse in experimental animals and humans." Psychopharmacology (Berl) **184**(3-4): 367-81.
- Lee, O., C. J. Lee and S. Choi (2002). "Induction mechanisms for L-LTP at thalamic input synapses to the lateral amygdala: requirement of mGluR5 activation." Neuroreport **13**(5): 685-91.
- Lerman, C., P. G. Shields, E. P. Wileyto, J. Audrain, A. Pinto, L. Hawk, S. Krishnan, R. Niaura and L. Epstein (2002). "Pharmacogenetic investigation of smoking cessation treatment." Pharmacogenetics **12**(8): 627-34.
- Levin, E. D., S. J. Briggs, N. C. Christopher and J. E. Rose (1992). "Persistence of chronic nicotine-induced cognitive facilitation." Behav Neural Biol **58**(2): 152-8.
- Lonart, G., J. Wang and K. M. Johnson (1992). "Nitric oxide induces neurotransmitter release from hippocampal slices." Eur J Pharmacol **220**(2-3): 271-2.
- Lynch, W. J., M. E. Roth and M. E. Carroll (2002). "Biological basis of sex differences in drug abuse: preclinical and clinical studies." Psychopharmacology (Berl) **164**(2): 121-37.
- Maldonado, R., J. A. Blendy, E. Tzavara, P. Gass, B. P. Roques, J. Hanoune and G. Schutz (1996). "Reduction of morphine abstinence in mice with a mutation in the gene encoding CREB." Science **273**(5275): 657-9.
- Mao, L. and J. Q. Wang (2002). "Interactions between ionotropic and metabotropic glutamate receptors regulate cAMP response element-binding protein phosphorylation in cultured striatal neurons." Neuroscience **115**(2): 395-402.

- Martin, J. L. and Y. Itzhak (2000). "7-Nitroindazole blocks nicotine-induced conditioned place preference but not LiCl-induced conditioned place aversion." Neuroreport **11**(5): 947-9.
- McGeehan, A. J. and M. F. Olive (2003). "The mGluR5 antagonist MPEP reduces the conditioned rewarding effects of cocaine but not other drugs of abuse." Synapse **47**(3): 240-2.
- Meehan, S. M. and M. D. Schechter (1998). "LSD produces conditioned place preference in male but not female fawn hooded rats." Pharmacol Biochem Behav **59**(1): 105-8.
- Miyata, H., J. Kono and T. Yanagita (2005). "[Clinical features of nicotine dependence]." Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi **25**(5): 213-9.
- Moncada, S., R. M. Palmer and E. A. Higgs (1989). "Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication." Biochem Pharmacol **38**(11): 1709-15.
- Nazarian, A., S. J. Russo, E. D. Festa, M. Kraish and V. Quinones-Jenab (2004). "The role of D1 and D2 receptors in the cocaine conditioned place preference of male and female rats." Brain Res Bull **63**(4): 295-9.
- Olive, M. F., A. J. McGeehan, J. R. Kinder, T. McMahon, C. W. Hodge, P. H. Janak and R. O. Messing (2005). "The mGluR5 antagonist 6-methyl-2-(phenylethynyl)pyridine decreases ethanol consumption via a protein kinase C epsilon-dependent mechanism." Mol Pharmacol **67**(2): 349-55.
- Palmer, R. M., A. G. Ferrige and S. Moncada (1987). "Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor." Nature **327**(6122): 524-6.
- Pandey, S. C., A. Roy, T. Xu and N. Mittal (2001). "Effects of protracted nicotine exposure and withdrawal on the expression and phosphorylation of the CREB gene transcription factor in rat brain." J Neurochem **77**(3): 943-52.

- Parodi, M., L. Patti, M. Grilli, M. Raiteri and M. Marchi (2006). "Nicotine has a permissive role on the activation of metabotropic glutamate 5 receptors coexisting with nicotinic receptors on rat hippocampal noradrenergic nerve terminals." Neurochem Int **48**(2): 138-43.
- Paterson, N. E. and A. Markou (2005). "The metabotropic glutamate receptor 5 antagonist MPEP decreased break points for nicotine, cocaine and food in rats." Psychopharmacology (Berl) **179**(1): 255-61.
- Perkins, K. A., A. DiMarco, J. E. Grobe, A. Scierka and R. L. Stiller (1994). "Nicotine discrimination in male and female smokers." Psychopharmacology (Berl) **116**(4): 407-13.
- Perkins, K. A., E. Donny and A. R. Caggiula (1999). "Sex differences in nicotine effects and self-administration: review of human and animal evidence." Nicotine Tob Res **1**(4): 301-15.
- Perkins, K. A., J. E. Grobe, R. L. Stiller, C. Fonte and J. E. Goettler (1992). "Nasal spray nicotine replacement suppresses cigarette smoking desire and behavior." Clin Pharmacol Ther **52**(6): 627-34.
- Perkins, K. A., J. E. Grobe, D. Weiss, C. Fonte and A. Caggiula (1996). "Nicotine preference in smokers as a function of smoking abstinence." Pharmacol Biochem Behav **55**(2): 257-63.
- Philibin, S. D., R. E. Vann, S. A. Varvel, H. E. Covington, 3rd, J. A. Rosecrans, J. R. James and S. E. Robinson (2005). "Differential behavioral responses to nicotine in Lewis and Fischer-344 rats." Pharmacol Biochem Behav **80**(1): 87-92.
- Pierzchala, K., A. A. Houdi and G. R. Van Loon (1987). "Nicotine-induced alterations in brain regional concentrations of native and cryptic Met- and Leu-enkephalin." Peptides **8**(6): 1035-43.

- Pogun, S. (2001). "Sex differences in brain and behavior: emphasis on nicotine, nitric oxide and place learning." Int J Psychophysiol **42**(2): 195-208.
- Pogun, S., M. H. Baumann and M. J. Kuhar (1994). "Nitric oxide inhibits [3H]dopamine uptake." Brain Res **641**(1): 83-91.
- Pogun, S., V. Dawson and M. J. Kuhar (1994). "Nitric oxide inhibits 3H-glutamate transport in synaptosomes." Synapse **18**(1): 21-6.
- Pogun, S., S. Demiregoren, D. Taskiran, L. Kanit, O. Yilmaz, E. O. Koylu, B. Balkan and E. D. London (2000). "Nicotine modulates nitric oxide in rat brain." Eur Neuropsychopharmacol **10**(6): 463-72.
- Pomerleau, O. F. and C. S. Pomerleau (1984). "Neuroregulators and the reinforcement of smoking: towards a biobehavioral explanation." Neurosci Biobehav Rev **8**(4): 503-13.
- Popik, P. and M. Wrobel (2002). "Morphine conditioned reward is inhibited by MPEP, the mGluR5 antagonist." Neuropharmacology **43**(8): 1210-7.
- Risinger, F. O. and R. A. Oakes (1995). "Nicotine-induced conditioned place preference and conditioned place aversion in mice." Pharmacol Biochem Behav **51**(2-3): 457-61.
- Rodrigues, S. M., E. P. Bauer, C. R. Farb, G. E. Schafe and J. E. LeDoux (2002). "The group I metabotropic glutamate receptor mGluR5 is required for fear memory formation and long-term potentiation in the lateral amygdala." J Neurosci **22**(12): 5219-29.
- Rosecrans, J. A. and L. D. Karan (1993). "Neurobehavioral mechanisms of nicotine action: role in the initiation and maintenance of tobacco dependence." J Subst Abuse Treat **10**(2): 161-70.
- Russo, S. J., E. D. Festa, S. J. Fabian, F. M. Gazi, M. Kraish, S. Jenab and V. Quinones-Jenab (2003). "Gonadal hormones differentially modulate cocaine-induced conditioned place preference in male and female rats." Neuroscience **120**(2): 523-33.

- Russo, S. J., S. Jenab, S. J. Fabian, E. D. Festa, L. M. Kemen and V. Quinones-Jenab (2003). "Sex differences in the conditioned rewarding effects of cocaine." Brain Res **970**(1-2): 214-20.
- Sahraei, H., M. Falahi, M. R. Zarrindast, M. Sabetkasaei, H. Ghoshooni and M. Khalili (2004). "The effects of nitric oxide on the acquisition and expression of nicotine-induced conditioned place preference in mice." Eur J Pharmacol **503**(1-3): 81-7.
- Salt, T. E., K. E. Binns, J. P. Turner, F. Gasparini and R. Kuhn (1999). "Antagonism of the mGlu5 agonist 2-chloro-5-hydroxyphenylglycine by the novel selective mGlu5 antagonist 6-methyl-2-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) in the thalamus." Br J Pharmacol **127**(5): 1057-9.
- Samet, J. M. (2005). "Smoking kills: experimental proof from the Lung Health Study." Ann Intern Med **142**(4): 299-301.
- Schechter, M. D., S. M. Meehan and J. B. Schechter (1995). "Genetic selection for nicotine activity in mice correlates with conditioned place preference." Eur J Pharmacol **279**(1): 59-64.
- Schulz, B., M. Fendt, F. Gasparini, K. Lingenhohl, R. Kuhn and M. Koch (2001). "The metabotropic glutamate receptor antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) blocks fear conditioning in rats." Neuropharmacology **41**(1): 1-7.
- Schuman, E. M. and D. V. Madison (1991). "A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation." Science **254**(5037): 1503-6.
- Shibuki, K. and D. Okada (1991). "Endogenous nitric oxide release required for long-term synaptic depression in the cerebellum." Nature **349**(6307): 326-8.
- Shoaib, M., I. P. Stolerman and R. C. Kumar (1994). "Nicotine-induced place preferences following prior nicotine exposure in rats." Psychopharmacology (Berl) **113**(3-4): 445-52.

- Shram, M. J., D. Funk, Z. Li and A. D. Le (2006). "Periadolescent and adult rats respond differently in tests measuring the rewarding and aversive effects of nicotine." Psychopharmacology (Berl) **186**(2): 201-8.
- Spina, L., S. Fenu, R. Longoni, E. Rivas and G. Di Chiara (2006). "Nicotine-conditioned single-trial place preference: selective role of nucleus accumbens shell dopamine D1 receptors in acquisition." Psychopharmacology (Berl) **184**(3-4): 447-55.
- Spooren, W. P., F. Gasparini, T. E. Salt and R. Kuhn (2001). "Novel allosteric antagonists shed light on mglu(5) receptors and CNS disorders." Trends Pharmacol Sci **22**(7): 331-7.
- Stamler, J. S., D. J. Singel and J. Loscalzo (1992). "Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms." Science **258**(5090): 1898-902.
- Tahsili-Fahadan, P., N. Yahyavi-Firouz-Abadi, A. H. Orandi, B. Esmaeili, Z. Basseda and A. R. Dehpour (2006). "Rewarding properties of sildenafil citrate in mice: role of the nitric oxide-cyclic GMP pathway." Psychopharmacology (Berl) **185**(2): 201-7.
- Terwilliger, R. Z., D. Beitner-Johnson, K. A. Sevarino, S. M. Crain and E. J. Nestler (1991). "A general role for adaptations in G-proteins and the cyclic AMP system in mediating the chronic actions of morphine and cocaine on neuronal function." Brain Res **548**(1-2): 100-10.
- Tzschentke, T. M. (1998). "Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues." Prog Neurobiol **56**(6): 613-72.
- Tzschentke, T. M. and W. J. Schmidt (2003). "Glutamatergic mechanisms in addiction." Mol Psychiatry **8**(4): 373-82.

- Walters, C. L. and J. A. Blendy (2001). "Different requirements for cAMP response element binding protein in positive and negative reinforcing properties of drugs of abuse." J Neurosci **21**(23): 9438-44.
- Walters, C. L., S. Brown, J. P. Changeux, B. Martin and M. I. Damaj (2006). "The beta2 but not alpha7 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor is required for nicotine-conditioned place preference in mice." Psychopharmacology (Berl) **184**(3-4): 339-44.
- Walters, C. L., J. N. Cleck, Y. C. Kuo and J. A. Blendy (2005). "Mu-opioid receptor and CREB activation are required for nicotine reward." Neuron **46**(6): 933-43.
- Wonnacott, S. and M. J. Marks (1999). "Nicotine: not just for cigarettes anymore." Drug Discov Today **4**(11): 490-492.
- Yilmaz, O., L. Kanit, B. E. Okur, E. D. London and S. Pogun (2000). "Nitric oxide synthetase inhibition hinders facilitation of active avoidance learning by nicotine in rats." Behav Pharmacol **11**(6): 505-10.
- Yilmaz, O., L. Kanit, B. E. Okur and S. Pogun (1997). "Effects of nicotine on active avoidance learning in rats: sex differences." Behav Pharmacol **8**(2-3): 253-60.
- Zakharova, E. S., W. Danysz and A. Y. Bessalov (2005). "Drug discrimination analysis of NMDA receptor channel blockers as nicotinic receptor antagonists in rats." Psychopharmacology (Berl) **179**(1): 128-35.
- Zarrindast, M. R., N. Faraji, P. Rostami, H. Sahraei and H. Ghoshouni (2003). "Cross-tolerance between morphine- and nicotine-induced conditioned place preference in mice." Pharmacol Biochem Behav **74**(2): 363-9.
- Zarrindast, M. R., Z. Fattahi, P. Rostami and A. Rezayof (2005). "Role of the cholinergic system in the rat basolateral amygdala on morphine-induced conditioned place preference." Pharmacol Biochem Behav **82**(1): 1-10.

NİKOTİN BAĞIMLILIĞINDA ŞARTLI YANITLARIN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Dr.Görkem YARARBAŞ

Doktora Tezi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Şakire PÖĞÜN

Haziran 2006

Sigara dünya genelinde çok sayıda ölüm ve sağlık sorununa neden olmaktadır. Sigara kullanımının temeli nikotin bağımlılığıdır. Sigara bıraktırmaya yönelik tedavi yaklaşımları henüz beklenen başarıya ulaşamamıştır. Yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi için nikotin bağımlılığının nörobiyolojik temelleri aydınlatılmalıdır.

Çalışmamızda Conditioned Place Preference (CPP) – Şartlı Yer Tercihi düzeneği kullanılarak nikotin bağımlılığı ile ortam ilişkisi araştırıldı. Her iki cinsiyette, değişik dozlarda nikotin uygulamaları yapılarak nikotinin yer tercihi üzerine etkisi gösterildi. Nikotinin yer tercihi üzerine etkisine nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonunun ve metabotropik glutamat 5 reseptör (mGluR5) antagonizmasının etkileri araştırıldı.

Deneyler sonucunda, nikotinin yer tercihi etkisinde cinsiyet farkı saptandı; nikotin erkeklerde doza bağımlı olarak CPP oluşturduğu halde dişilerde bu etki gözlenmedi. NOS inhibisyonunun yer tercihini etkilemediği görüldü. mGluR5 antagonizmasının nikotinle oluşturulan yer tercihini engellediği gösterildi.

Çalışmamızın sonucunda, nikotinin bağımlılığında şartlı yanıtların önemli rol oynadığı ve bu yanıtlarda cinsiyet farklılıkları olduğu görüldü. mGluR5 antagonizmasının nikotinle oluşturulan yer tercihini engellemesinden yola çıkarak, sigarayı bıraktırma programlarında ilaç tedavileri geliştirilmesinde yeni stratejiler izlenebileceği görüşüne varıldı.

Anahtar sözcükler: Bağımlılık, nikotin, CPP, mGluR5, NO

e-mail: gorkem.yararbas@ege.edu.tr

INVESTIGATING THE ROLE OF CONDITIONING IN NICOTINE DEPENDENCE

Dr. Görkem YARARBAŞ

PhD Thesis in Department of Physiology

Supervisor: Prof. Dr. Şakire Pgn

Haziran 2006

Smoking causes several death and health problems worldwide. The major reason underlying the maintenance of smoking is nicotine addiction. Although there are some therapies for smoking cessation, the rate of success is not as high as expected. In order to develop new strategies for smoking cessation, the neurobiological basis of nicotine addiction should be further elucidated.

In this study, Conditioned Place Preference (CPP) paradigm was used to determine the relation between nicotine addiction and environment where the subject is exposed to nicotine in rats. Different doses of nicotine were used in both sexes to show the effect. Nicotine induced CPP in male rats in a dose dependent fashion but this effect was not observed in females. After demonstrating CPP, the effect of nitric oxide synthase (NOS) inhibition and metabotropic GluR5 antagonism were investigated to elucidate the mechanism underlying nicotine induced CPP.

Our data showed that the conditioning effect of nicotine is sexually dimorphic and while NOS inhibition did not effect nicotine induced CPP in males, mGluR5 antagonism attenuated the response.

In summary, our findings indicate that conditioning plays an important role in nicotine addiction and there is sex difference with males being more vulnerable than females. Metabotropic GluR5 are involved in the conditioning effects of nicotine and mGluR5 antagonists may be useful for developing novel treatment strategies to aid in smoking cessation.

Key words: Addiction, nicotine, CPP, mGluR5, NO

e-mail: gorkem.yararbas@ege.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Dr.Görkem YARARBAŞ

Kişisel Bilgiler:

İş Adresi: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD Bornova – İZMİR

Görevi: Araştırma Görevlisi

Telefon: (232) 3903321

Faks: (232) 3746597

E-mail: gorkem.yararbas@ege.edu.tr

Doğum Tarihi ve Yeri : 06.05.1974, İzmir

Medeni hali: Evli (Deniz YARARBAŞ, İşletme Yönetimi)

Eğitim:

2000 - : Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD doktora programı

1992 – 1998 : Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üyelikler:

Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, 2001

Türkiye Beyin Araştırmaları ve Sinirbilimleri Derneği (TÜBAS), 2001

Society for Research on Nicotine and Tobacco (SRNT), 2005

Society for Neuroscience, 2004

Yabancı Dil: İngilizce

Katıldığı Kurs ve Workshop:

International Summer School on Neural Plasticity: June 2001, Izmir, TR

Deney Hayvanları Kursu: 2001, Izmir TR

IBRO VLTP Course on Neuroscience: 10-18 Sept., 2003, Izmir, TR

Post graduate Course on “Starting-up Neurobiological Research on Nicotine and Tobacco”:
Society for Research on Nicotine and Tobacco, November, 2003, Padua-Italy

Stereolojik Metod ve Uygulamalar Kursu: Feb 2004, Izmir, TR

Araştırma Alanları:

Bağımlılık

Nikotinin santral etkileri

Öğrenme ve bellek

CART peptidi

Uluslararası Yayınlar:

Kanit, L., Koylu, E.O., Yararbas, G., Furedy, J.J., Pogun, S. (2003) The effect of nitric oxide synthase inhibition on cognitive ability and strategies employed for place learning in the water maze: sex differences. Brain Res. Bull. 62: 151-159.

Burcu Balkan, Oguz Gozen, Gorkem Yararbas, Ersin O. Koylu, Serra Akinturk, Micheal J. Kuhar, Sakire Pogun (2006) CART expression in limbic regions of rat brain following forced swim stress: Sex differences. Neuropeptides 40 (2006) 185-193.

Bildiriler (Yurtdışı):

Sex Differences in the Conditioning Effects of Nicotine on Rats (Gorkem Yararbas, Aysegul Keser, Lutfiye Kanit, Sakire Pogun) - 5th European Conference of the Society for Research on Nicotine and Tobacco, Padua, Italy 2003

Sex differences in the conditioning effect of nicotine in rats (Pogun, S., Yararbas, G, Keser, A, Kanit, L) 2004 - College on Problems of Drug Dependence, 66th Annual Meeting, 73, San Juan, Puerto Rico, 2004

Nicotine-induced conditioned place preference is stronger in male rats than females
(G. YARARBAS, A. KESER, L. KANIT S. POGUN) - Society for Neuroscience 34th
Annual Meeting, San Diego, CA 2004

Nitric Oxide Synthase Inhibition Does not Modify Nicotine-Induced Conditioned Place Preference In Male and Female Rats (G.YARARBAS, S.POGUN) - 7th Annual SRNT European Conference, March 20-23, 2005 Prague, Czech Republic

Involvement of Glutamate in Nicotine-induced Conditioned Place Preference in Male and Female Rats (G.YARARBAS, S.POGUN) - Society for Neuroscience 35th Annual Meeting, Washington DC, 2005

Bildiriler (Yurtiçi):

Erkek ve Dişi Sıçanlarda Nitrik OKsitle Sentaz İnhibisyonunun Morris Su tankında Yer Bulma Öğrenmesinde Kullanılan Stratejiler Üzerindeki Etkileri (L. Kanit, E.O. Koylu, G. Yararbaş, Ş. Pöğün) – 27. Ulusal Fizyoloji Kongresi, İstanbul 2001

Sıçanlarda Nikotinin Şartlama Etkisinde Cinsiyet Farkları (Görkem Yararbaş, Ayşegül Keser, Lütfiye Kanit, Şakire Pöğün) - 3. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, Denizli 2004

Nitrik Oksitle Sentaz İnhibisyonu, Sıçanlarda Nikotin ile Oluşturulan Şartlı Yer Tercihinde Etkili Değildir (Görkem Yararbaş, Şakire Pöğün) – 4. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, Mersin 2005

Erkek ve Dişi Sıçanlarda Nikotin ile Oluşturulan Şartlı Yer Tercihinde Glutamatın Rolü - (Görkem Yararbaş, Şakire Pöğün) 31. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Gaziantep 2005

Ödül ve Burslar:

Society for Neuroscience Chapters/Eli Lilly Graduate Student Travel Award 2004

SRNT Travel Scholarship 2005

IDARS Travel Scholarship 2005