

## Prof.Dr. İ. Tayfun UZBAY

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Psikofarmakoloji Araştırma Ünitesi,

# MADDE BAĞIMLILIĞI ÇALIŞMALARINDA KULLANILAN DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

## Giriş

Maddelere bağımlılık gelişiminde ortak olarak yaşanan süreç “ilaç arayışı davranışı”nın (drug seeking behavior) oluşumudur. Bu davranış büyük ölçüde bağımlılık yapıcı maddelerin pozitif pekiştirici ve diskriminatif (kendilerini başka maddelerden ayırt ettirici) etkiye sahip olmaları gibi motivasyonel özelliklerine bağlı olarak gelişir. Öte yandan bağımlılık yapıcı maddelerin belli bir süre kullanımı santral sinir sisteminde mekanizması henüz net olarak belirlenememiş olan bir nöroadaptasyona neden olur ve bunun sonucu olarak “fiziksel bağımlılık” gelişir. Maddelere fiziksel bağımlılık gelişimi sürecinin en önemli kanıtı maddenin sürekli kullanımının ani kesilmesini izleyen dönemde ortaya çıkan yoksunluk sendromu (veya yoksunluk krizi) denilen davranışsal reaksiyonlardır.<sup>1,2</sup> Madde bağımlılığı ile ilişkili deneysel çalışmalarda da, deney hayvanlarında, bağımlılığın ya madde arayışı davranışı ya da yoksunluk krizi belirtileri üzerinden çeşitli modeller oluşturulabilir.

Bağımlılık araştırmalarında deney hayvanları ve deneysel modeller kullanma nedenlerini ise maddeler halinde şöyle sıralayabiliriz:<sup>3</sup>

1. Bağımlılık psikopatolojisi ile ilişkili kritik sorulara yanıt arayan deneysel çalışmaların çoğunun insanlar üzerinde gerçekleştirilmesi etik olarak olanaksızdır.

2. Deneysel hayvan modelleri üzerinde çeşitli değişkenler temel etkileri bakımından ve diğer değişkenlerle etkileşimleri bakımından ayrı ayrı değerlendirilebilirler.

3. Deney hayvanlarında gerçekleştirilen çalışmalarda özgül davranış tiplerini izole ederek, tedavi tekniklerine verdikleri cevapları, fizyopatolojileri ve orijinleri üzerinde çalışmalar ve değerlendirmeler yapmak mümkündür.

4. Hayvanlar üzerindeki çalışmalarla tedavi tekniklerinin etki düzenekleri saptanabilir.

## Deneysel bağımlılık çalışmalarının özellikleri

### Etik koşullar

Bağımlılık çalışmaları deney hayvanlarına eziyet verici niteliktedir. Bu nedenle gelişigüzel olarak deney hayvanları üzerinde çalışma organize edilmemelidir. Bu tip araştırmalar için en azından yerel etik komitelerden onay alınması zorunludur.

Kullanılacak yöntemin kullanılacak deney hayvanına uygunluğu, üzerinde çalışılacak hipotezi objektif bir şekilde test edebilirliği ve yerine konulabilecek daha az eziyet veren başka bir yöntemin bulunmaması deney hayvanları ile gerçekleştirilecek olan bağımlılık araştırmalarında etik kurul kararı alınırken özellikle üzerinde durulması gereken konulardır.

### Laboratuvar koşulları

Deneklerin yaşadığı koşulların kalitesi sadece etik bir zorunluluk değil aynı zamanda yapılacak deneylerin güvenilirliğini de doğrudan etkileyen bir faktördür. Bu nedenle deneysel bağımlılık araştırmaları uluslararası ölçütlere sahip nitelikli laboratuvarlarda yürütülmelidir.

Bağımlılık çalışmalarının yürütüleceği laboratuvarın özellikleri aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır:

1. Laboratuvar dış etkenlere karşı tamamen izole edilmiş olmalıdır.
2. Laboratuvarın ısı ve bağıl nemi sabit tutulmalıdır. Isının  $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$  ve bağıl nemin  $\%60 \pm 5$ 'te tutulması idealdir.
3. Laboratuvarın aydınlatılması otomatik bir sistemle 12 saati aydınlık 12 saati karanlık dönem olacak şekilde ayarlanmalıdır.
4. Denekler çevreyi rahatlıkla görebilecekleri ve sosyal etkileşimlerini kolaylıkla sürdürebilecekleri büyüklükte kafeslere konmalıdır.
5. Kafesler içindeki denek sayısı rahat hareket etmelerine ve beslenmelerine olanak sağlayacak ölçüde olmalıdır.
6. Laboratuvarında uzman bir veteriner hekim bulunmalıdır. Bu gerek deney hayvanlarının gerekse laboratuvar çalışanlarının sağlığı açısından son derece önemlidir.
7. Deneklerin ve laboratuvarın temizliği sürekli ve hep aynı dönemlerde yapılmalıdır.
8. Laboratuvar temizliğinden sorumlu olan kişilerin de deney hayvanları hakkında yeterli bilgi ve sorumluluğa sahip olmaları gerekir.
9. Deneklere verilen yem ve içme suyu standardize edilmelidir. Günlük yem miktarındaki değişiklikler ve farklı olduğunu deneklere duyumsattırarak derecede değişik tat ve içeriğe sahip içme suyu verilmesi ve su kalitesinin sık sık değişmesi deney hayvanlarının davranışlarında öngörülemeyen ve deney sonuçlarını da etkileyebilen değişikliklere neden olabilir.

### Deneysel çalışmalarla ilişkili genel kurallar

Bağımlılık çalışmalarında dikkat edilmesi gereken kurallar aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır:

1. Kullanılacak yöntem model olarak seçilen deney hayvanına etik koşullar ve değerlendirilebilirlik bakımından uygun olmalıdır.
2. Kullanılacak denek sayısı yeterli olmalıdır. Bağımlılık çalışmaları ile ilişkili özellikle davranışsal modeller söz konusu ise her gruptaki denek sayısının en az 8 tane olması uygun olur. Daha az sayıda denekle çalışma bireysel farklılıklar nedeni ile istenen sonuçların alınamamasına neden olacaktır.
3. Deneylerin yapılış saatleri arasında özellikle birbiri ile karşılaştırılacak gruplar bakımından önemli farklılıklar olmamalıdır.
4. Skoramalarda deneyimli bir tarafsız gözlemci kullanılmalıdır. Deney yapan kişinin testler sırasında uygulanacak ilaçların veya kontrol maddelerinin (salin vb.) ne olduğunu bilmesi de bir ölçüde tarafsızlık sağlayabilir.
5. Özellikle kombine ilaç uygulamalarında kontrol grubundaki deneklere de ilaç grubundaki ile aynı sayıda salin veya vehikül injeksiyonunun yapılması tüm kontrol grubuna da aynı stresin uygulanması bakımından gereklidir.
6. Kullanılacak deney hayvanının yöntemine adapte edilmesi (Örneğin, lokomotor aktivite ölçümlerinde deneklerin deneysel çalışmalara başlamadan önce aktivite cihazına alınarak ortama alışmalarını sağlamak gerekir).
7. Deneklerin deneyi yapacak kişiye adaptasyonları (Çalışmanın başında deneyi yapacak kişinin kendisine alıştırmak için belli bir süre deneklere dokunması –handling- gereklidir.)

### Madde bağımlılığı çalışmalarında kullanılan yöntemler:

Son 30 yılda madde bağımlılığının mekanizmasının anlaşılmasına ve rasyonel tedavisine

yönelik deneysel hayvan modelleri üzerindeki çalışmalar giderek yoğunlaşmış ve birçok deneysel model geliştirilmiştir. Bağımlılık yapıcı maddelerin etkilerini ve bunların tedavisini incelemek üzere deney hayvanlarında gerçekleştirilebilecek çalışmalar ve yöntemler Tablo 1’de görülmektedir:

Tablo 1- Deney hayvanlarında madde bağımlılığı çalışmalarında kullanılabilecek yöntemler

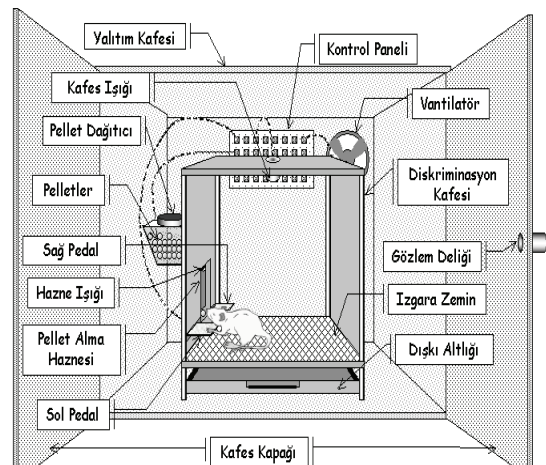
- Nörotransmitter tayini (Özellikle, dopamin, noradrenalin, serotonin, glutamat ve GABA)
- Bazı beyin bölgelerinde morfolojik ve histolojik incelemeler (Özellikle striatum, hipokampus ve serebral korteks)
- Kötüye kullanılan maddenin tayini
- Pozitif pekiştirme saptanması
- Diskriminatif etkinin değerlendirilmesi
- Yoksunluk sendromu belirtilerinin değerlendirilmesi
- Maddenin psikostimulan veya depresan özelliklerin değerlendirilmesi

### Maddelerin diskriminatif (kendilerini ayırt ettirici / duyumsatici) etkilerinin değerlendirilmesi

Deney hayvanlarında alkol,<sup>4</sup> benzodiazepinler,<sup>5</sup> kokain,<sup>6</sup> ve nikotin<sup>7</sup> gibi bağımlılık yapıcı maddelerin belli bir süre kullanımı sonrası ortaya çıkan yoksunluk sendromunun pentilentetrazol benzeri anksiyojen diskriminatif stimulus oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca tüm bu maddelerin ve ilave olarak opioidler ve kafeinin rodentlerde diskriminatif stimulus oluşturduğu bilinmektedir.<sup>8</sup> Bu modelin esası deneklerin iki adet pedal aracılığı ile yem alarak karnını doyurabildiği bir düzenekte (Şekil 1) sol veya sağ pedal aracılığı ile yem alımı ile bağımlılık yapma potansiyeli olan veya bağımlılık yapan maddenin diskriminatif etkisinin veya salin (kontrol) enjeksiyonunun etkisizliğinin örtüşürülmesidir.

Bu modeli oluşturmak için deneklerde önce beslenme kısıtlanır. Daha sonra

kafeslere alınan denekler ilk iki gün üst üste 24 saat kafeslerde bırakılır ve böylece pedala basarak yem almayı öğrenmeleri sağlanır. İlk eğitim döneminde sistem denek hangi pedala basarsa bassın yem alacak şekilde ayarlanır. Bu süreçte hiç pedala basmayan ve yem almayı öğrenemeyen denekler deney dışında bırakılır. Pedala basarak yem almayı öğrenen deneklere ise seanslar halinde salin veya bağımlılık yapan herhangi bir madde (alkol, kokain, morfin vb.) enjekte edilerek sistem bu enjeksiyonlara göre farklı pedallar aracılığı ile beslenmenin sağlanabileceği şekilde ayarlanır. Örneğin salin enjekte edildiğinde denek sol pedala basarak, madde enjekte edildiğinde ise sağ pedala basarak yem almayı öğrenir. Deneklerin tümü salin ve madde pedallarını tam olarak ayırt edecek şekilde eğitildikten sonra asıl deneye geçilir. Test esnasında yine başlangıçta olduğu gibi sistem hangi pedala basılırsa basılsın deneklerin yem alabilmesine olanak verecek şekilde ayarlanır. Denekler test edilecek ilacın enjeksiyonunu izleyerek sanki salin almış gibi sol pedala basarak yemlerini alırlarsa test edilen ilacın bağımlılık yapan ilaca benzer diskriminatif stimulusa sahip olmadığı, yani bağımlılık yapma potansiyeli olmadığı anlaşılır. Kokain gibi güçlü diskriminatif stimulus oluşturan bir ilacı ayırt etmeyi bu sistemde öğrenen deneklere kokainden önce test ilacı enjekte edildiğinde denekler salin pedalından



Şekil 1– İlaçların diskriminatif (kendini ayırt ettirici) etkilerini değerlendiren düzenek.<sup>3</sup>

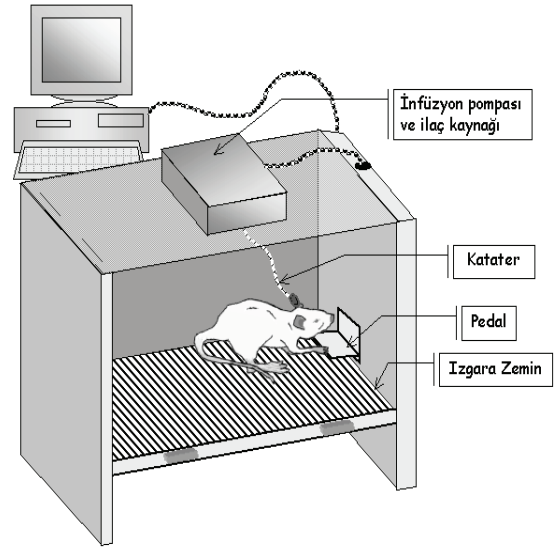
yem alırlarsa test ilacının kokainin diskriminatif stimulus oluşturuca etkisini bloke ettiğine karar verilir. Test edilen madde kokain verilmeksizin tek başına verildiğinde deney hayvanı kokain pedalına basarak yem almayı sürdürüyorsa bu test maddesinin kokain benzeri diskriminatif veya bağımlılık oluşturuca stimulusa sahip olduğu anlamına gelir.

Anksiyete bağımlılık yapıcı maddelerin kullanımının kesilmesi sırasında gerek insanlarda gerekse deney hayvanlarında yoksunluk krizinin önemli semptomlarından biri olarak ortaya çıkar. Deney hayvanlarında, bağımlılık yapıcı maddelerden bazıları yoksunluk sendromu esnasında pentilentetrazol benzeri anksiyete uyarısı oluşturur. Diskriminasyon düzeneği üzerinde ilaçların pentilentetrazol benzeri uyarıyı bloke edip etmedikleri, dolayısı ile yoksunluk sendromunun anksiyete komponenti üzerinde tedavi edici etkiye sahip olup olmadıkları da araştırılabilir.

### Pozitif pekiştiri ölçümü

Bağımlılık yapıcı maddelerin pozitif pekiştiri özellikleri diskriminatif özellikleri ile birlikte "ilaç arayışı davranışının" oluşmasına dolayısı ile bağımlılığın gelişmesine önemli ölçüde katkı yapar. Pozitif pekiştiri etki diskriminatif etki gibi büyük ölçüde maddenin keyif verici ve motivasyonel özellikleri ile ilişkilidir.<sup>9</sup> İlaçların pozitif pekiştiri özelliklerinin olup olmadığının saptanması bağımlılık yapma potansiyelleri olup olmadığı hakkında bilgi verici niteliktedir. Öte yandan bağımlılık yapıcı maddelerin pozitif pekiştiri yapıcı etkilerini bloke edebilen ilaçlar madde bağımlılığının tedavisinde kullanım potansiyeline sahip olabilirler. İlaçların pozitif pekiştiri özellikleri kendine verme (self-administration) deneyleri ile test edilebilir. Deney hayvanı bir pedala bastığında intravenöz infüzyon yolu ile veya başka bir yolla bağımlılık yapan maddeyi alabileceği, başka bir pedala bastığında da serum fizyolojik gibi inert bir madde alabileceği bir kafese yerleştirilir. İlaç intravenöz yoldan alınacaksa bir infüzyon

pompasına bağlı bir katater ile jugüler vene girilir. Deneğin pedala basması ile infüzyon pompası devreye girerek madde alınır (Şekil 2). Deney hayvanının hangi pedalı tercih ettiği veya pedala basış sıklığı onun pozitif pekiştiri etkisi ve bu etkisinin şiddeti hakkında fikir verir. Amfetamin ve kokain gibi psikostimulanlar, morfin ve heroin gibi opioidler, barbitüratlar, benzodiazepinler, alkol, nikotin ve uçucu solventlerin güçlü pozitif pekiştiri etkileri bulunmaktadır.<sup>1,9</sup>



Şekil 2- Kendine-verme test düzeneği.<sup>3</sup>

Özellikle alkol gibi oral yoldan kötüye kullanılan maddeler ile pozitif pekiştiri çalışmalarında pedala basarak oral yoldan alkol alımına izin veren düzenekler kullanılabilir. Burada aç bırakılmış deney hayvanları önce pedala basarak yiyecek almayı öğrenecek şekilde eğitildikten sonra, bir pedala bastıklarında alkol, başka bir pedala bastıklarında serum fizyolojik gibi inert bir madde veya pozitif pekiştiri etkisi alkolle karşılaştırılabilecek başka bir madde alabilirler.<sup>10</sup>

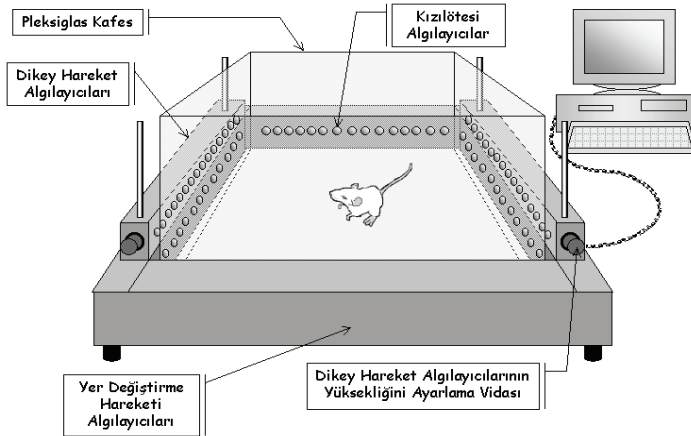
Deney hayvanlarının pedala basışları ve madde alımı arasındaki ilişkiyi ayarlayan hassas bilgisayar programları ile pedallar kontrol edilir. Denek pekiştiri özelliği olan bir maddeyi ilk seferde bir kez basarak alabilir. Daha sonra aynı dozu alabilmek için pedala giderek daha

fazla basmak zorunda kalır. Örneğin, pozitif pekiştirici etkisi çok şiddetli olan kokainin bir dozunu alabilmek için maymunların 10.000 kereden fazla pedala bastıkları bilinmektedir.<sup>1</sup>

### Rodentlerde bağımlılık yapıcı maddelerin motor aktivite üzerine etkilerinin değerlendirilmesi

Amfetamin, kokain, nikotin, kafein, opioidler, barbitüratlar, alkol, benzodiazepinler ve fensiklidin gibi maddelerin psikomotor stimulan etkilerinin bağımlılık gelişimine önemli katkısı olan motivasyonel ve öforizan özellikleri ile yakından ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.<sup>9,11</sup> Bu noktadan hareketle psikostimulanların rodentlerde lokomotor aktiviteyi ve motor koordinasyonu arttırıcı etkilerine gelişen duyarlılaşma ve tolerans psikostimulanlara gelişen bağımlılığın incelenmesinde kullanılmaktadır.<sup>12,13</sup>

Bu test kullanılarak ilaçların sedatif, kas gevşetici ve psikostimulan etkileri hakkında fikir edinilebilir. Ayrıca deneklerin agresivitesi ve anksiyetesi de lokomotor aktivite ölçümleri ile değerlendirilebilir (Şekil 3).



Şekil 3 – Lokomotor aktivite ölçüm cihazı.<sup>3</sup>

Lokomotor aktivite ölçüm sisteminin esası her bir kenarı üzerinde kızılötesi (IR) ışık kaynakları içeren kare şeklinde bir dörtgendir. Bu dörtgenin içine sığacak büyüklükte kare şeklinde pleksiglas bir kafes yerleştirilir. Bu kafesin boyutları çeşitli ölçülerde olabilir. Deney hayvanı kafes içinde bir hareket yaptığında karşılıklı IR sensörler

arasındaki iletişimi keser ve bu deneyin yaptığı hareketin şekline göre cihaza bağlı bir kaydedici tarafından kaydedilir. Bu sistem yardımı ile rodentlerin horizontal, vertikal ve ambulatuvar aktiviteleri kaydedilebilir. Horizontal hareket, deneyin yer değiştirme ve dikilme hareketleri yapmaksızın olduğu yerde yaptığı hareketlerdir. Vertikal hareket, dikilme hareketidir ve bantlar üzerindeki vertikal sensörler yardımı ile algılanır. Ambulatuvar hareket ise deneyin kafes içinde dikilme haricinde yaptığı her türlü yer değiştirme (gezinme) hareketidir. Horizontal ve vertikal aktiviteler deney hayvanının stereotipik hareketleri ve agresivitesi hakkında fikir verici özelliktedir.

Her üç aktivite ayrı ayrı değerlendirilebileceği gibi<sup>14</sup> üçünün toplamı total lokomotor aktivite olarak da ifade edilebilir.<sup>15</sup> Kokain ve amfetamin gibi psikostimulanlar ile<sup>16,17</sup> bromokriptin gibi dopaminerjik agonistler<sup>14</sup> rodentlerin lokomotor aktivitelerinde artışlara neden olurken, haloperidol gibi dopaminerjik antagonistler lokomotor aktivitede azalmalara neden olurlar.<sup>18</sup> Diazepam gibi benzodiazepinler ve etanol rodentlerde doza bağımlı bifazik etkiler oluştururlar. Bu ajanlar düşük dozlarında lokomotor aktivitede artışa neden olurken, yüksek dozlarda lokomotor aktiviteyi deprese ederler.

Rodentlerin lokomotor aktiviteleri gün içinde farklılık gösterebilmektedir. Ardışık lokomotor aktivite ölçümleri esnasında da deneklerin spontan lokomotor aktivitelerinde giderek bir azalma gözlenir ve bu azalma örneğin, her iki saatte bir 6

saat boyunca ölçülen aktivitede, 6. saatte, ilk ölçüme göre oldukça anlamlı seviyelere ulaşabilir. Bu nedenle birden fazla grupta yapılan çalışmalarda aktivite ölçümlerinin günün hep aynı saatlerinde yapılması ve paralel kontrol grubunun bulunması oldukça önemlidir.

### **Psikostimulanların motor aktivite üzerine etkilerine duyarlılaşma gelişmesinin değerlendirilmesi**

Çoğunlukla farmakolojik etkiye sahip bir maddenin tekrarlayan kullanımı esnasında maddenin bazı etkilerine tolerans gelişir. Bununla beraber, bazı durumlarda, bir maddenin bir etkisi tekrarlayan kullanımı esnasında artabilir. Bu durum “duyarlılaşma (sensitizasyon)” veya “ters (reverse) tolerans” olarak adlandırılır. Duyarlılaşma toleransın aynadaki görüntüsü gibidir.<sup>13</sup>

Duyarlılaşma kavramı toleransa göre oldukça yenidir ve duyarlılaşma ile ilişkili bilinenler tolerans kavramına göre daha sınırlıdır. Duyarlılaşma ile ilişkili bilgilerin çoğu kokain, amfetamin, nikotin, alkol, fensiklidin ve morfin gibi maddelerden elde edilen verilere dayanmaktadır.<sup>19-22</sup> Bu maddeler belli dozlarda deney hayvanlarına verildiklerinde lokomotor aktivitede artışa neden olurlar. Deney hayvanına aynı dozun tekrarlayarak verilmesi durumunda lokomotor aktivitede her seferinde giderek artan bir stimülasyon görülür ve bu durum ilacın motor aktiviteyi artırıcı etkisine gelişen duyarlılaşma olarak ifade edilir. İlaçların lokomotor duyarlılaşma oluşturu etkileri ile bağımlılık oluşturma potansiyelleri arasında bir ilişki bulunduğu kabul edilir.

Bağımlılık yapıcı maddelerin lokomotor stimulan dozları ile duyarlılaşma oluşturu dozları birbirinden farklı olabilir. Duyarlılaşma oluşumu genellikle maddelerin lokomotor aktivite üzerine subeffektif dozlarında ve aralıklı enjeksiyonları ile oluşturulabilir.

Tolerans gelişiminde olduğu gibi, bazı maddeler arasında “çapraz duyarlılaşma” söz konusudur. Bu durum özellikle bazı bağımlılık yapıcı maddelerden birine gelişen duyarlılaşmanın diğerine de gelişmiş olması ile karakterizedir. Morfin, kokain ve alkol ile<sup>19,23</sup> amfetamin, kafein ve nikotin arasında<sup>24</sup> çapraz duyarlılaşma olduğu deneysel çalışmalarla gösterilmiştir.

Çapraz duyarlılaşma çalışmaları için önce maddelerin lokomotor stimulan dozları belirlenir. Lokomotor aktiviteyi arttırıcı subeffektif doz seçilerek deneklere her gün veya aralıklarla (iki veya üç günde bir) enjekte edilir. Aralıklarla yapılan enjeksiyonlarda duyarlılaşmanın daha çabuk ve etkin bir biçimde geliştiği bildirilmiştir. İki hafta gibi daha uzun aralıklarla da enjeksiyon yapılarak duyarlılaşma çalışmaları organize edilebilir. Aralıklarla veya aralıksız tekrarlayan enjeksiyonlara lokomotor aktivitedeki artış plato yapıcaya kadar devam edilir. Kontrol grubundaki deneklere ise ilaç grubu ile paralel salın enjeksiyonları yapılır. İlaç grubunda duyarlılaşma gelişimi net olarak gözlemlendikten sonra, izleyen tekrarda hem kontrol grubuna hem de ilaç grubuna aralarında çapraz duyarlılaşma olup olmadığı test edilecek olan diğer ilacın lokomotor aktiviteyi arttırıcı bir dozu enjekte edilir (challenge enjeksiyon=karşı doz enjeksiyonu). Örneğin, test edilen ilaç amfetamin ise ve nikotin ile arasında bir çapraz duyarlılaşma olup olmadığı incelenmek isteniyorsa, önce amfetaminin tekrarlayan enjeksiyonları ile amfetamine lokomotor duyarlılaşma sağlanır ve son amfetamin dozundan sonra nikotinin lokomotor aktiviteyi arttırıcı bir dozu amfetamin yerine hem amfetamin hem de nikotin gruplarına enjekte edilir. Karşı doz enjeksiyonu yapılan ilaç grubunda ölçülen lokomotor aktivite değerinin kontrol grubundaki karşı enjeksiyon sonrası ölçülen değerden anlamlı ölçüde yüksek olması ve karşı enjeksiyon ile ölçülen değer bir önceki ilaç (örneğe göre amfetamin) enjeksiyonundan anlamlı ölçüde farklı olmaması test edilen iki ilaç arasında (örneğe göre amfetamin ve nikotin arasında) çapraz lokomotor duyarlılaşma olduğunu gösterir.

Vanderschuren ve diğ.<sup>25</sup> sıçanlarda amfetamin için ilk dozu izleyen üç haftalık bir ara sonrasında yapılan ilk enjeksiyon ile duyarlılaşma geliştiğini gözlemlemişlerdir. Kayir ve Uzbay ise etanol ile farelerde gerçekleştirdikleri çalışmada, etanolün

ilk dozunu izleyerek iki hafta aradan sonra verilen aynı dozun lokomotor aktivitede bazı artışlara neden olduğunu, ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu artışların duyarlılaşma gelişimi olarak yorumlanabilecek anlamlı bir artış oluşturmadığını göstermişlerdir.<sup>21</sup> Bu noktada duyarlılaşma çalışmalarında enjeksiyonlar arasında kullanılacak bekleme sürelerinin duyarlılaşma gelişimi ile yakından ilişkili olduğunu ve optimum bekleme süresinin deney hayvanının ve kullanılan maddenin türüne bağlı olabileceğini düşünürüz.

Tolerans gelişiminde olduğu gibi duyarlılaşma da koşullanmış türde ve özellikle çevreye bağımlı bir koşullanma ile oluşabilir.<sup>26</sup> Çevreye bağımlı koşullanmış duyarlılaşmanın iki yönü vardır: Birincisi, eğer duyarlılaşma özel bir mekanda ilaç ve/veya maddenin sürekli alınması ile oluşmuşsa, ilaç (madde) bu özel mekan dışında alındığında duyarlılaşma etkileri kısmen veya tamamen ortadan kalkabilir. İkinci olarak, özel bir mekanda maddenin sürekli olarak alınmasıyla gelişen duyarlılaşmada mekanın kendisi aynen duyarlılık gelişen madde gibi koşullanmış bir uyarı sağlayarak duyarlılaşmaya yardımcı olabilir. Örneğin, bir denek özel bir mekana koşullanarak bir maddeye duyarlılık gelişmiş ise, aynı mekanda deneye madde dışında etkisiz bir ajan (örneğin, salin) verilse bile maddeye benzer duyarlılaşma belirtileri gözlemlenebilir. Sıçanlarda bromokriptinin lokomotor aktiviteyi artırıcı etkilerine gelişen duyarlılaşmanın çevreye bağımlılık gösterdiği iyi bilinmektedir. Sıçanlara bromokriptin enjeksiyonlarının yaşadıkları ortamda yapılması ve lokomotor aktivite ölçümlerinin yaşadıkları ortamdan farklı özelliklere sahip bir mekanda gerçekleştirilmesi ilacın lokomotor etkilerine duyarlılaşmayı kolaylaştırmaktadır.<sup>27</sup>

Duyarlılaşmanın en önemli özelliklerinden biri toleransa göre daha kalıcı olmasıdır. Deney hayvanlarında bazı stimulan maddelere gelişen duyarlılaşmanın bir yıl gibi uzun bir süre sonunda bile devam ettiği gözlemlenmiştir.<sup>28</sup>

## Yoksunluk sendromunun değerlendirilmesine yönelik modeller

### Rodentlerde alkol yoksunluk sendromunun değerlendirilmesi

Alkole bağımlılık gelişimi ve alkol yoksunluk sendromu çalışmaları için alkol deney hayvanlarına inhalasyon,<sup>29</sup> intragastrik entübasyon,<sup>30</sup> ve çoğunlukla da sıvı diyet yöntemleri ile<sup>31,32</sup> verilebilir. Bütün bu yöntemler içinde aşağıda sıralanan avantajları nedeniyle sıvı diyet yöntemi rodentlerdeki alkol bağımlılığı ile ilgili çalışmalarda daha çok tercih edilir:

1. Alkolün suya karıştırılarak verilmesindeki kötü tat gibi denekin alkol alımını kısıtlayan aversif etkiler tadı cazip hale getiren katkılarla giderilebilir. Ayrıca denek bu yöntemde alkol dışında başka bir yiyecek veya içecek almadığından tüketim provoke edilir ve böylece günlük 12-18 g/kg gibi yüksek dozlarda alkol tüketimi sağlanabilir.

2. Yüksek alkol tüketimine bağlı olarak alkolü suya katarak elde edilenden üç misli daha yüksek kan alkol konsantrasyonu sağlanabilir.

3. Deneklerin besin tüketimi hassas bir şekilde değerlendirilebilir ve kontrol edilebilir.

4. Özgül deneysel gereksinimler için besin komponentlerinin kolayca değiştirilmesi mümkündür.

5. Kronik alkol alan deney hayvanlarında hepatik vitamin A düzeylerinde düşüşler görülür. Bu düşüşler büyümeyi yavaşlatıcı yönde etki yapar. Sıvı diyet yönteminde diyetin içine yeteri kadar A vitamini katılarak büyüme üzerine olumsuz etkiler ortadan kaldırılır ve karaciğer harabiyeti en düşük seviyede tutularak deneye çok daha uzun süre alkol verilebilir. Böylece alkolün çok uzun süreli kronik kullanımına bağlı etkileri de incelenebilir.

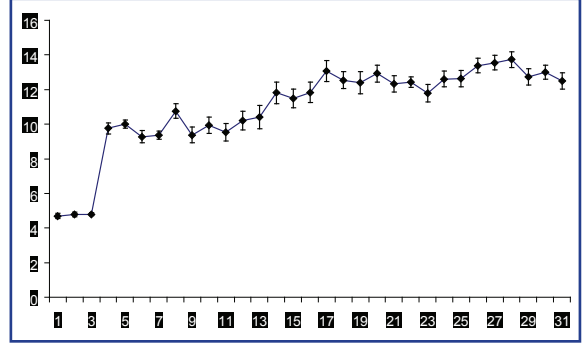
6. Sıvı diyet yöntemi diğer yöntemler gibi travmatik değildir. Ayrıca deney hayvanının alkolü kendi istediği kadar almasına olanak verdiği için insandaki alkol alımına en yakın hayvan modelidir.

Sıvı diyet ile alkolik deney hayvanı modeli yapılırken kontrol grubundaki deneklere alkol alanlara paralel olarak alkol içeren sıvı diyet ile izokalorik alkolsüz sıvı diyet verilmelidir. Alkolsüz sıvı diyetdeki kalori oranı diyetten çıkan alkolün sağladığı kaloriye eşdeğer kalori sağlayacak oranda şeker katılarak eşitlenir. Yani alkol ile şeker izokalorik olarak yer değiştirir. İdeal bir alkollü sıvı diyette total kalorisinin yaklaşık olarak % 36'sı alkolden sağlanmalıdır. Alkolün total kalorideki payının yani miktarının artması daha az alkol tüketimine ve düşük kan etanol konsantrasyonuna neden olabilir.<sup>31</sup> 1000 ml'lik bir sıvı diyet içinde v/v (hacim/hacim) hesabı ile %6-7'lik etanol konsantrasyonu vasıtasıyla bu ölçüt sağlanabilir.<sup>31,32</sup>

Sıçanlarda alkole fiziksel bağımlılık gelişimi ve alkol yoksunluk sendromu belirtilerinin ortaya çıkması için oral yoldan intragastrik entübasyon ile günlük 9-15 g/kg alkolün en az 4 gün alınması gerektiği ileri sürülmüştür.<sup>30</sup> Sıvı diyet yöntemi ile %7.2 v/v alkolün 15-21 gün arasında alınması da sıçanlarda alkol yoksunluk sendromunun tüm majör semptomlarının ve beyinde dopamin ve serotonin gibi alkol bağımlılığı ile ilişkili nörotransmitterlerin turnoverinde çeşitli değişikliklerin ortaya çıkması için yeterli olabilmektedir.<sup>15,17,32-35</sup>

56

Laboratuvarımızdaki çalışmalarda Wistar cinsi sıçanlar modifiye ederek kullandığımız sıvı diyet ile<sup>32</sup> çalışmanın 5. gününden itibaren 26 gün süre ile 9 g/kg'ın üzerinde etanol almaktadırlar (Şekil 4). Bu tüketim alkol yoksunluk sendromu belirtilerini ortaya çıkarabilecek şiddette bir fiziksel bağımlılığa neden olmaktadır. Çalışmanın başlangıcında sıvı diyetin içindeki alkol konsantrasyonu %2.4 ve % 4.8 gibi değerlerdedir. Çalışmanın 7. gününden itibaren sıvı diyet



Şekil 4- GATA Psikofarmakoloji Araştırma Ünitesi'nde modifiye sıvı diyet tekniği ile etanol verilen Wistar sıçanların etanol verilmesinin başlangıcından itibaren bir ay süre ile günlük etanol tüketimleri (n= 450 sıçan).

içindeki etanol konsantrasyonu %7.2'ye çıkarılmakta ve bu konsantrasyon ile çalışmaya devam edilmektedir (Tablo 2).

Formülasyonun her aşamasında 500 ünite vitamin A ilavesi yapılır. Bu diyet 1000 ml'sinde 1000.7 kcal içerir. Şeker ve etanol izokalorik olarak yer değiştirmek suretiyle konsantrasyonlar ayarlanır. Kontrol grubuna 1000 ml süt içinde 13.2 g şeker ve 500 ünite vitamin A konulmuş olan eşdeğer kalorili (izokalorik) etanolsüz sıvı diyet verilir.

Sıvı diyet tekniği ile çalışmada en çok dikkat edilmesi gereken hususlar aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır:

1. Modifiye sıvı diyet günlük olarak hazırlanıp hep aynı saatte verilmelidir.
2. Günlük ağırlık ve tüketim kontrolü yapılmalı, elde edilen değerlerden g/kg/gün tüketimler her denek için ayrı ayrı hesaplanmalıdır.
3. Kaliteli süt kullanılmalıdır. Dayanaksız günlük şişe sütleri ile etkili bir tüketim sağlanamayabilir. Dayanıklı karton ambalajlarda sunulan sütler tercih edilmelidir.

Tablo 2- Sıçanlara uygun modifiye sıvı diyet formülasyonu (1000 ml'lik formülasyon)

Süre ve Oran	Süt (ml)	Etanol (%96.5 v/v, ml)	Şeker (g)
İlk 3 gün, % 2.4	975	25	8.15
İzleyen 4 gün, % 4.8	950	50	4.85
7. günü izleyerek, % 7.2	925	75	1.65



4. Şişelerin ve uçların çok iyi yıkanması gereklidir. Yıkama işlemi her gün yapılmalıdır. İyi temizlenmemiş şişeler kötü koku nedeniyle tüketimi azaltabilir.

5. Şişelerin kafeslere konulduktan sonra sızıntı kontrolü yapılmalıdır. Damlatmayı önleyen bilyalı sistemle çalışma tüketimin daha sağlıklı ve kesin saptanmasına yardımcı olur.

6. Deneklerin kafes temizliğinin en az iki günde bir yapılması gereklidir.

7. Yoksunluk dönemi test edilirken laboratuvar ortamında aşırı uyarıcılardan (ses, ışık, sıradışı gürütü vb.) sakınılmalıdır.

8. Yoksunluk çalışmalarında deney hayvanlarının verebileceği zarara karşı gerekli önlemler alınmış olmalıdır.

9. Değerlendirmelerin aynı araştırmacı tarafından yapılması ve mümkünse iki ayrı tarafsız gözlemci ile skorlamaların yürütülmesi gereklidir.

Yukarıdaki kurallara uyulmaması halinde elde edilen sonuçların bilimsel geçerliliği çok yüksek olmayacaktır.

Alkol alımına yatkınlıkları olan ve alkol tercih eden (Sardinian alcohol preferring rats gibi) özel sıçan türleri ile çalışmada alkol tüketimi daha yüksektir ve alkol v/v %10 gibi yüksek konsantrasyonda deneklerin içme suyuna karıştırılarak da verilebilir.<sup>36</sup> Ancak bu tür sıçanlar pahalı olmaları ve ülkemizde yetiştirilmemeleri nedeni ile ülkemiz koşullarındaki alkolizm çalışmalarında sıvı diyet ve intragastrik entübasyon gibi teknikler daha çok tercih edilmektedir.

Yirmidört saatte tüketilen alkol miktarının hesaplanması ve deney başlangıcından sonuna kadar vücut ağırlığının değerlendirilmesi amacıyla günlük olarak tüketilen hacim kaydedilirken, vücut ağırlıkları da kaydedilmektedir. Her bir sıçanın 24 saatlik alkol tüketimi; aşağıdaki formül ile hesaplanarak g/kg/gün şeklinde kaydedilmelidir.<sup>37</sup>

$$A = d [(V \times 75)/W]$$

$$A = \text{g/kg/gün Alkol tüketimi}$$

$$d = \%96.5 \text{ Alkolün özgül ağırlığı} \\ (25 \text{ }^\circ\text{C'de } 0.81 \text{ g/cm}^3)$$

$$V = \text{Günlük tüketilen sıvı diyet miktarı (ml)}$$

$$W = \text{Deney hayvanının ağırlığı (g)}$$

### Kan etanol düzeyi ölçümü

Alkole fiziksel bağımlılık gelişebilmesi bakımından diğer önemli bir parametre de alkol alan deneklerde, alkolü hangi yöntem ve yoldan alırlarsa alsınlar kanda yeterli etanol konsantrasyonunun sağlanmasıdır. İnhalasyon yöntemi veya intragastrik entübasyon ile alkol verilmesinde hızlı ve yeterli ölçüde kan etanol düzeyine erişilir. Sıvı diyet tekniğinde deneklerin gün içinde istedikleri dönemlerde alkol almalarına izin verildiğinden gelişigüzel dönemlerde ölçülen kan etanol düzeyleri yetersiz ve çelişkili sonuçlar alınmasına neden olabilir. Sıvı diyet tekniği ile alkol verilen deneklerde kan etanol düzeyi ölçümlerinin paralel ve ayrı bir grupta en az iki haftalık %7.2'lik alkol tüketimini izleyerek tercihan 24 saatlik bir alkol içme süresinin sonunda yeni alkollü diyet verilme saatinden bir kaç saat önce yapılması uygun olur.

Deneklerden kan eter anestezisi altında intrakardiyak yoldan alınabilir. Sıçanlarda kuyruk veninden kan alınması etanol düzeyi tayini için yeterli kan alımına çok defa izin vermez. Kuyruk kesilmek suretiyle kanatılarak kan alma ise etik nedenlerle doğru değildir. Kan etanol düzeyi fluoresan polarizasyon immünoassay yöntemi ile veya spektrofotometrik yöntemle serumdan hızlı bir şekilde değerlendirilebilir. Dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta alınan kan örneklerinin açık tüplerde uzun süre bekletilmemesidir. Böyle bir durumda kandaki etanol uçarak hatalı veya düşük düzeyler ölçülmesine neden olur. En iyisi ağzı kapaklı küçük tüplere kanın alınarak bekletmeden hızlı bir şekilde testlerin yapılmasıdır.

Özellikle sıvı diyet tekniği ile gerçekleştirilen çalışmalarda 120 mg/dl'nin üzerinde kan etanol düzeyi ölçülmesi yeterli alkol alınmış olduğunu teyit eder. Laboratuvarımızda Tab-

lo 2'de tanımlanan modifiye sıvı diyet ile yaptığımız çalışmalarda sıçanlarda 120-300 mg/dl arasında yeterli ve yüksek kan etanol düzeyleri saptanmıştır.<sup>15,32,38,39</sup>

### Alkol Yoksunluk Sendromu:

Alkole fiziksel bağımlılık gelişimine yeterli süre alkol alan deney hayvanlarında alkol kesilmesini izleyen dönemde yoksunluk belirtileri ortaya çıkar. Alkol yoksunluk sendromunun belirtileri özellikle sıçanlarda çok iyi tanımlanmıştır.<sup>15,30-32</sup> Bu belirtilerin çoğu alkol yoksunluğundaki farelerde de gözlenebilir.<sup>29,40</sup> Alkol yoksunluk sendromunda gözlenen belli başlı semptomlar Tablo 3'te görülmektedir:

*Tablo 3- Rodentlerde gözlenen alkol yoksunluk sendromu belirtileri*

Lokomotor hiperaktivite
Artmış stereotipik aktivite (özellikle koklama, taranma ve baş sallama)
Postür bozukluğu
Yürüme bozukluğu
İrritabilite ve ajitasyon
Islak köpek silkinmesi (wet dog shake)
Kuyrukta sertlik ve tremor
Genel tremor
Diş çatırdaması (teeth chattering)
Katatonî
Nöbetler (seizure)

Stereotipi rodentlerin bir gözlem kafesinde ambulatuvar (gezinme) hareketi dışında kalan ve yineleyerek yaptığı hareketlerdir. Bu hareketler Tablo 4'te görülmektedir.

*Tablo 4- Rodentlerde gözlenen belli başlı stereotipik davranışlar*

Kemirme (gnawing)
Taranma (grooming)
Dikilme (rearing)
Sık sık başını havaya kaldırma (head weaving)
Havayı koklama (sniffing)
Esneme (yawning)
Yalanma (licking)
Çiğneme (chewing)
Ekseni etrafında dönme (turning behavior)

Gelişen stereotipik hareketlerin şiddeti ile paralel olarak bu hareketlerden sadece biri, bir kaçı veya tümü bir denekte ortaya çıkabilir.

Stereotipinin şiddeti birim zamanda deney hayvanının yaptığı stereotipik hareketlerin sayılması ile veya ortaya çıkan stereotipik hareketlerin çeşidi ve sayısı skorlanarak ifade edilebilir.<sup>15</sup>

Stereotipik hareketler artmış dopaminerjik aktivitenin değerlendirilmesinde bir ölçüt olarak kullanılabilir. Amfetamin ve kokain gibi indirekt etkili dopaminerjik agonistler ile bromokriptin gibi dopaminerjik reseptör agonistleri belli bir doz aralığına kadar rodentlerin lokomotor aktivitesini artırırken yüksek dozlarında lokomotor aktiviteyi azaltıp stereotipik hareketlerin ortaya çıkmasına neden olurlar.<sup>11,41-43</sup> Stereotipik hareketler alkol yoksunluk sendromunun erken dönemlerinde olduğu gibi, artmış anksiyete ve araştırmacılık (exploring) ile birlikte de ortaya çıkabilir ve rodentlerde alkol yoksunluk sendromunun bir belirtisi olarak da değerlendirilmektedir.<sup>15,30,35</sup>

Tablo 3'te görülen semptomlar alkolün kesilmesini izleyen ilk saatlerden başlayarak giderek sıklığı ve şiddeti artan bir seyir izler. Bunların görülme süresi, sırası, sıklığı ve şiddeti denekler arasında bireysel farklılıklar gösterir. Alkol yoksunluk sendromunun şiddeti de bu semptomların sayısı ve şiddeti ile orantılı olarak hafif, orta ve şiddetli olmak üzere üç grupta değerlendirilebilir. Tüm semptomların gözlendiği bir deneğin şiddetli, en az üç semptomun gözlendiği bir deneğin hafif, üçten fazla semptomun daha şiddetli gözlendiği bir deneğin ise orta şiddette yoksunluk sendromu geçirdiği kabul edilir.<sup>30</sup>

Lokomotor hiperaktivite, artmış stereotipi, tremor ve ıslak köpek silkinmesi gibi semptomlar alkol yoksunluğunun erken dönemlerinden başlayarak en azından 6-8 saat giderek hafifleyen şiddette devam ederken, epileptik nöbetler 6. saat gibi daha geç dönemde ortaya çıkar. Alkol yoksunluk sendromu esnasında nöbetler spontan olarak meydana gelebileceği gibi 100 dB şiddetinde zil uyarısı ile, anahtar şingirdatarak veya denek elle uyarılarak da oluşturulabilir.

Katatonî (katalepsi) ilaçların özellikle ekstrapiramidal santral sinir sistemi üzerine etkilerini rodentlerde değerlendirmeye yönelik bir

davranış modelidir. Nöroleptik ilaçlar gibi santral sinir sisteminde özellikle striatumda dopaminerjik aşırımı inhibe eden ilaçlar rodentlerde belirgin katatoni oluştururlar.<sup>44,45</sup>

Katatoni ölçümleri için “dikey tel testi” (vertical wire test) sık kullanılan basit ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir.<sup>38</sup> Burada 90°'lik bir açı ile dik olarak yerleştirilmiş bir tel üzerine bırakılan deney hayvanının hareketsiz kalış süresi kaydedilir. Katatoninin pozitif kabul edilebilmesi için bu sürenin 15 saniyeden fazla olması gerekir. Bu tel 45°'lik bir açı ile konabileceği gibi tamamen yatay olarak da konabilir. Tel yatay olarak yerleştirilmişse katatoninin pozitif kabul edilebilmesi için deney hayvanı en az 120 saniye pozisyonunu hiç değiştirmemelidir. Katatoni değerlendirilirken dikey testte en az 15 saniye, yatay testte 120 saniyenin üzerinde hareketsiz kalış sürelerinin ortalaması alınabileceği gibi, gruplarda katatoni belirlenen denek yüzdesi veya katatoninin süresi skorlanarak katatoni şiddeti üzerinden de değerlendirme yapılabilir. Deney hayvanının pozisyonunu değiştirmeden hareketsiz olarak kaldığı süre ne kadar artmışsa katatoninin şiddeti o ölçüde fazladır.

Dikey tel testinde katatoni şiddetinin katatoni süresi yardımıyla değerlendirilmesine yönelik bir örnek Tablo 5'te sunulmuştur.

Tablo 5- Dikey tel testinde katatoni şiddetinin skorlanması.<sup>47</sup>

Katatoni süresi	Skor
< 15 saniye	0
15 - 20 saniye	1
21 - 35 saniye	2
36 - 50 saniye	3
51 - 60 saniye	4
> 60 saniye	5

Islak köpek silkinmesi, tremor, kuyruk sertliği ve diş çatırdaması gibi semptomlar var veya yok şeklinde değerlendirilip gözlenen popülasyondaki % oluş sıklıkları ile ifade edilip değerlendirilebilirler. Postür ve yürüme bozukluğu, irritabilite ve ajitasyon gibi belirtiler oluş şiddetlerine göre skorlanarak değerlendirilebilirler.<sup>15,32</sup>

Alkol yoksunluk sendromu esnasında odijojenik epileptik nöbetler alkolik deneklerin %50-80'inde ortaya çıkar. Bu nöbetlerin latent süresi, % sıklığı veya şiddeti değerlendirilebilir. Nöbet şiddetinin değerlendirilmesinde skorlama yapılabilir.<sup>15</sup>

Yukarıda sayılan tüm semptomlar tek tek değerlendirilebileceği gibi, semptomların ayrı ayrı değerlendirilmesi sonucu deneklerde gözlenen her bir semptomu verilen skorların toplamı “total alkol yoksunluk sendromu skoru” olarak ifade edilebilir ve total alkol yoksunluk sendromu şiddeti de değerlendirilebilir.<sup>15,32</sup>

Rodentler dışında rhesus maymunlarda,<sup>46,47</sup> şempanzede<sup>48</sup> ve köpekte<sup>49</sup> de alkol bağımlılığına incelemeye yönelik modeller tanımlanmış ve kullanılmıştır. Bu modellerin kullanımı pahalı olmaları ve rodentlerdekine göre uygulama güçlükleri nedeni ile oldukça sınırlıdır ve ayrıntılarından burada söz edilmeyecektir.

### Rodentlerde morfin yoksunluk sendromunun değerlendirilmesi

Farelerde fiziksel bağımlılık geliştirmek ve yoksunluk sendromunu izlemek için subkutan yoldan üç gün süre ile günde üç kez morfin sülfat enjekte edilir. Dördüncü gün fareye yine tek doz morfin sülfat enjekte edildikten iki saat sonra opioid antagonisti nalokson 5 mg/kg dozda intraperitoneal yoldan enjekte edilerek morfin yoksunluk sendromunun farelerde en sık görülen ve kolay değerlendirilen semptomu olan sıçrama (jumping) davranışları presipite edilir. Bir gözlem kafesine alınan farede nalokson enjeksiyonunu izleyen 30 dakika boyunca sıçramaların sayısı değerlendirilir.<sup>50</sup>

Majeed ve diğ.<sup>51</sup> farelere morfini 10 mg/kg dozda ip yoldan 7 gün süre ile vermişler, bu sürenin sonunda 2 mg/kg ip nalokson enjeksiyonunu izleyerek farelerde sıçrama davranışı, dikilme (rearing) ve ağırlık kaybı gibi morfin yoksunluk sendromu belirtilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada sıçrama ve dikilme hareketleri 15 dakika süre ile sayılırken, deney öncesine göre ağırlık kayıpları da gram olarak kaydedilerek değerlendirilmiştir.

Farede morfine fiziksel bağımlılık geliştirmek için cilt altına pellet implantasyonu yöntemi

de kullanılır. Bunun için fare eter ile anesteziye edilerek 25-75 mg'lık baz morfin pelletleri küçük bir insizyonla skapula bölgesinde cilt altına yerleştirilir. Yetmiş iki saat sonra fareye 4 mg/kg ip nalokson veya 50 µg/kg naltrekson enjekte edilerek sıçrama, defekasyon ve vücut ağırlığındaki azalma gibi morfin yoksunluk sendromu belirtileri değerlendirilebilir.<sup>52-54</sup>

Sıçanlarda morfine fiziksel bağımlılık geliştirmek için, baz morfinden hazırlanan morfin pelletleri (total 150 mg olacak şekilde 2 adet 75 mg'lık) eter anestezisi altında küçük bir insizyon yapılarak skapular bölgeye yerleştirilir. Pelletlerin yerleştirilmesini izleyen 72 saat sonra sıçanlara 2 mg/kg nalokson enjekte edilerek morfin yoksunluk sendromu presipite edilir. Sıçanlarda sıçrama (jumping), ıslak köpek silkinmesi (wet dog shake), kıvranma (writhing), defekasyon, pitozis, diş çatırdaması (teeth chattering), dikilme, taranma ve çiğneme gibi artmış stereotipik hareketler ve diyare çalışmalarda gözlenen ve tanımlanan belli başlı morfin yoksunluk sendromu semptomlarıdır. Bu semptomların şiddeti veya sıklığı skorlanarak oluşan yoksunluk sendromunun şiddeti ve bunun üzerine ilaçların etkisi değerlendirilir.<sup>53-55</sup> Morfin pelletleri 25 mg dozda uygulanıp yoksunluk presipitasyonu 2 yerine 4 mg/kg nalokson ile de gerçekleştirilebilir.<sup>53</sup>

60

Rodentlerde morfine fiziksel bağımlılık gelişimi ile ilişkili deneysel çalışmalarda gözlenebilecek ve değerlendirilebilecek yoksunluk sendromu belirtileri Tablo 6'da özetlenmiştir.<sup>55,56</sup> Bu belirtilerin tümü veya bazıları gelişen fiziksel bağımlılığın şiddeti ile orantılı şiddette deneklerde gözlenebilir. Aynı alkole fiziksel bağımlılık gelişiminde olduğu gibi, morfine fiziksel bağımlılık gelişiminin şiddeti ve yoksunluk sendromu esnasında gözlenebilen belirtilerin sayısı ve şiddeti bireysel değişkenlik gösterir. Morfin yoksunluk sendromu ile ilişkili çalışmalarda Tablo 6'da sıralanan semptomlardan belirgin olarak gözlenenler değerlendirmeye alınabilir.

Tablo 6- Rodentlerde gözlenen morfin yoksunluk sendromu belirtileri

Ani kaçma davranışı (escape)  
Kıvranmalar (writhings)

Dokununca şiddetli ciyaklama (squeal on touch)

Salyada belirgin artış (salivation)  
Islak köpek silkinmesi (wet dog shake)  
Rinore  
İşemede artış (urination)  
Diyare  
Ağırlık kaybı  
Vücut ısısında kayıp  
Sıçramalar (jumpings)  
Diş çatırdaması (teeth chattering)  
Başta sürekli seyirmeler (head twitch)  
Başın yinelenerek sağa, sola ve yukarı sallanması (head weave)

### Rodentlerde nikotin yoksunluk sendromunun değerlendirilmesi

Nikotin bağımlılığına yönelik çalışmaların yapılabilmesi için uygun bir sıçan modeli Malin ve diğ.<sup>57</sup> tarafından tanımlanmıştır. Bu modelin esasları eter anestezisi altında sıçanın skapulasına içi nikotin tartarat solüsyonu ile dolu bir osmotik mini pompanın implante edilmesi ve 7 gün süre ile günde en az 9 mg/kg hızda subkutan nikotin infüzyonunun sağlanmasıdır. Yedi günlük sürenin sonunda sıçana 1 mg/kg nikotinik antagonist mekamilamin subkutan yoldan enjekte edilerek nikotin yoksunluk sendromu belirtileri presipite edilir ve ortaya çıkan Tablo 7'de görülen yoksunluk semptomlarının şiddeti ve sıklığı ile bunların üzerine ilaçların etkileri alkol ve morfin yoksunluk sendromundakine benzer yöntemlerle değerlendirilir.<sup>57-59</sup>

Tablo 7- Rodentlerde gözlenen nikotin yoksunluk sendromu belirtileri

Güçlkle soluk alma (gasps),  
Abdominal kıvranma,  
Diş çatırdaması (teeth chattering),  
Çiğneme davranışı (chewing),  
Islak köpek silkinmesi (wet dog shake)  
Tremor  
Pitozis,  
Seminal ejakülasyon,  
Esneme  
Tırmalama

Yoksunluk sendromunu presipite etmek için nikotinik antagonist olarak intraventriküler heksametyum<sup>60</sup> veya dihydro-β-eritroidin<sup>61</sup> de kullanılabilir.

## Kaynaklar

1. Gessner PK. Substance abuse treatment. In: Textbook of Pharmacology, Smith CM, Reynard AM (Eds.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1992, s. 1132-1165.
2. O'Brien CP. Drug addiction and abuse. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Rudson RW, Gilman AG (Eds.), McGraw-Hill, New York, 1996, s. 557-577.
3. Uzbay IT. Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Teknikler. Çizgi Tıp Yayınevi, Ankara, 2004.
4. Lal H, Harris CM, Benjamin D, Springfield AC, Bhadra S, Emmett-Oglesby MW. Characterization of a pentylene-tetrazol-like interoceptive stimulus produced by ethanol withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther* 247: 508-518, 1988.
5. Emmett-Oglesby MW, Mathis DA, Harris CM, Idemudia SO, Lal H. Withdrawal from diazepam substitutes for the discriminative stimulus properties of pentylene-tetrazol. *J Pharmacol Exp Ther* 244: 892-897, 1988.
6. Wood DM, Ranschaert ER, Lal H. Interoceptive stimuli produced by cocaine are blocked during diazepam withdrawal: blockade by diazepam and not haloperidol. *Drug Dev Res* 16: 269-276, 1989.
7. Harris CM, Emmett-Oglesby MW, Robinson NG, Lal H. Withdrawal from chronic nicotine substitutes partially for the interoceptive stimulus produced by pentylene-tetrazole (PTZ). *Psychopharmacology* 90: 85-89, 1986.
8. Lal H. Discriminative stimulus properties of drugs. Plenum Press, New York, 1977.
9. Stolerman I. Drugs of abuse: Behavioral principles, methods and terms. *Trends Pharmacol Sci* 13: 170-176, 1992.
10. Uzbay IT, Grewal JS, Wallis CJ, Dungan LF, Lal H. Nitric oxide synthase inhibition attenuates saccharin or ethanol reinforced responding in Long-Evans rats. *Prog. Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 22: 1411-1423, 1998.
11. Wise RA, Bozarth MA. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev* 94: 469-497, 1987.
12. Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* 18: 247-291, 1993.
13. Steward J, Badiani A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behav Pharmacol* 4: 289-312, 1993.
14. Uzbay IT, Akarsu ES, Kayaalp SO. Effects of bromocriptine and haloperidol on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 969-974, 1994.
15. Uzbay IT, Erden BF, Tapanyigit EE, Kayaalp SO. Nitric oxide synthase inhibition attenuates signs of ethanol withdrawal in rats. *Life Sci* 61: 2197-2209, 1997.
16. Çelik T, Zağlı Ü, Kayir H, Uzbay İT. Nitric oxide synthase inhibition blocks amphetamine-induced locomotor activity in mice. *Drug Alcohol Depend* 56: 109-113, 1999.
17. Uzbay IT, Wallis CJ, Lal H, Forster MJ. Effects of NMDA receptor blockers on cocaine-stimulated locomotor activity in mice. *Behav Brain Res* 108: 57-61, 2000.
18. Wadenberg ML, Ahlenius S. Effects of raclopride and haloperidol on spontaneous motor activity and on conditioned avoidance behavior in rats. A comparison of potency, efficacy and time-course of action. *Arzneimit Forsch – Drug Res* 41: 692-695, 1991.
19. Itzhak Y, Martin JL. Effects of cocaine, nicotine, dizocipiline and alcohol on mice locomotor activity: cocaine-alcohol cross-sensitization involves upregulation of striatal dopamine transporter binding sites. *Brain Res* 818: 204-211, 1999.
20. Domino, EF. Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 25: 59-72, 2001.
21. Kayir H, Uzbay IT. Investigation of a possible sensitization development to a challenge dose of ethanol after 2 weeks following the single injection in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 551-556, 2002.
22. Shim I, Kim HT, Kim YH, Chun BG, Hahm DH, Lee EH, Kim SE, Lee HJ. Role of nitric oxide synthase inhibitors and NMDA receptor antagonist in nicotine-induced behavioral sensitization in the rat. *Eur J Pharmacol* 443: 119-124, 2002.
23. Nestby P, Vanderschuren LJ, De Vries TJ, Hogenboom F, Wardeh G, Mulder AH, Schoffelmeer AN. Ethanol, like psychostimulants and morphine, causes long-lasting hyperreactivity of dopamine and acetylcholine neurons of

rat nucleus accumbens: possible role in behavioural sensitization. *Psychopharmacology* 133: 69-76, 1997.

24. Çelik E, Uzbay İT, Karakaş S. Caffeine and amphetamine produce cross-sensitization to nicotine-induced locomotor activity in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat*, 30: 50-55, 2006.

25. Vanderschuren LJM, Schmidt ED, De Vries TJ, Van Moorsel CAP, Tilders FJH, Schoffelmer ANM. A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. *J Neurosci* 19: 9579-9586, 1999.

26. Robinson TE, Berridge KC. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction* 95 (Suppl. 2): S91-S117, 2000.

27. Kelsey JE, Carlezon WA, Jr. Prior experience with bromocriptine in the home cage attenuates locomotor sensitization in rats. *Behav Brain Res* 134: 1-8, 2002.

28. McKim WA. *Drugs and Behavior: An Introduction to Behavioral Pharmacology*, Fourth Edition, New Jersey, Prentice-Hall Inc., 2000, s. 26-347.

29. Goldstein DB, Pal N. Alcohol dependence produced in mice by inhalation of ethanol: Grading the withdrawal reaction. *Science* 172: 288-290, 1971.

30. Majchrowicz E. Induction of physical dependence upon ethanol and the associated behavioral changes in rats. *Psychopharmacologia* 43: 245-254, 1975.

31. Lieber CS, DeCarli LM. Liquid diet technique of ethanol administration: 1989 Update. *Alcohol Alcohol* 24: 197-211, 1989.

32. Uzbay İT, Kayaalp SO. A modified liquid diet of chronic ethanol administration: Validation by ethanol withdrawal syndrome in rats. *Pharmacol Res* 31: 37-42, 1995.

33. Uzbay İT, Usanmaz SE, Tapaniğit EE, Aynacıoğlu S, Akarsu ES. Dopaminergic and serotonergic alterations in the rat brain during ethanol withdrawal: Association with behavioral signs. *Drug Alcohol Depend* 53: 39-47, 1998.

34. Uzbay İT, Yeşilyurt Ö, Çelik T, Ergün H, Işimer A. Effects of agmatine on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Behav Brain Res* 107: 153-159, 2000.

35. Uzbay İT, Usanmaz SE, Akarsu ES. Effects of chronic ethanol administration on serotonin metabolism in the various regions of the rat brain. *Neurochem Res* 25: 257-262, 2000.

36. Lobina C, Agabio R, Diaz G, Fa M, Fadda F, Gessa GL, Reali R, Colombo G. Constant absolute ethanol intake by Sardinian alcohol-preferring rats independent of ethanol concentrations. *Alcohol Alcohol* 32: 19-22, 1997.

37. Uzbay İT., Alkole Bağımlılık Gelişmesi ve Deneysel Alkol Yoksunluğu Sendromu Üzerinde Dopaminerjik, Antidopaminerjik ve Benzodiazepin Antagonisti İlaçların Etkisi. Doktora Tezi, T.C. Genelkurmay Başkanlığı, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Askeri Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı, Ankara, 1992.

38. Uzbay İT. L-NAME precipitates catatonia during ethanol withdrawal in rats. *Behav Brain Res* 119: 71-76, 2001.

39. Uzbay İT, Çelik T, Aydın A, Kayır H, Tokgöz S, Bilgi C. Effects of chronic ethanol administration and ethanol withdrawal on cyclic guanosine 3',5'-monophosphate (cGMP) levels in the rat brain. *Drug Alcohol Depend*, 74: 55-59, 2004.

40. Goldstein DB. Alcohol withdrawal reactions in mice: Effects of drugs that modify neurotransmission. *J Pharmacol Exp Ther* 186: 1-9, 1973.

41. Jackson DM, Ross SB, Hashizume M. Dopamine-mediated behaviors produced in naive mice by bromocriptine plus SKF 38393. *J Pharm Pharmacol* 40: 221-223, 1988.

42. Jackson DM, Jenkins OF, Ross SB. The motor effects of bromocriptine – review. *Psychopharmacology* 95: 433-446, 1988.

43. Przewlocka B, Turchan J, Machelska H, Labuz D, Lason W. Nitric oxide synthase inhibitor L-NAME prevents amphetamine-induced prodynorphin gene expression in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat* 20: 1229-1237, 1996.

44. Koffer KB, Berney S, Hornykiewicz O. The role of the corpus striatum in neuroleptic-and narcotic-induced catalepsy. *Eur J Pharmacol* 47: 81-86, 1988.

45. Sanberg PR, Bunsey MD, Giordano M, Norman AB. The catalepsy test: its ups and downs. *Behav Neurosci* 102: 748-759, 1988.

46. Ellis FW, Pick JR. Experimentally induced ethanol dependence in Rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 175: 88-93, 1970.

47. Pieper WA, Skeen MJ. Induction of physical dependence on ethanol in rhesus monkeys using oral acceptance technique. *Life Sci* 11: 989-997, 1972.

48. Pieper WA, Skeen MJ, McClure HM, Bourne PG. The chimpanzee as an animal model for investigating alcoholism. *Science* 176: 71-73, 1972.
49. Ellis FW, Pick JR. Evidence of ethanol dependence in dogs. *Fed Proc* 29: 649, 1970.
50. Zarrindast MR, Farzin D. Nicotine attenuates naloxone-induced jumping behaviour in morphine-dependent mice. *Eur J Pharmacol* 298: 1-6, 1996.
51. Majeed NH, Przewlocka B, Machelska H, Przewlocki R. Inhibition of nitric oxide synthase attenuates the development of morphine tolerance and dependence in mice. *Neuropharmacology* 33: 189-192, 1994.
52. Cappendijk SLT, de Vries R, Dzoljic MR. Inhibitory effect of nitric oxide (NO) synthase inhibitors on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-dependent mice. *Neurosci Lett* 162: 97-100, 1993.
53. Cappendijk SLT, Duval SY, de Vires D, Dzoljic MR. Comparative study of normotensive and hypertensive nitric oxide synthase inhibitors on morphine withdrawal syndrome in rats. *Neurosci Lett* 183: 67-70, 1995.
54. Thorat SN, Barjavel MJ, Matwysyn, Bhargawa HN. Comparative effects of NG-monomethyl-L-arginine and MK-801 on the abstinence syndrome in morphine-dependent mice. *Brain Res* 642: 153-159, 1994.
55. Arıcıoğlu-Kartal F, Uzbay IT. Inhibitory effect of agmatine on naloxone-precipitated abstinence syndrome in morphine dependent rats. *Life Sci* 61: 1775-1781, 1997.
56. Gray AM. The effect of fluvoxamine and sertraline on the opioid withdrawal syndrome: A combined in vivo cerebral microdialysis and behavioral study. *Eur Neuro-psychopharmacol* 12: 245-254, 2002.
57. Malin DH, Lake JR, Newlin-Maultsby P, Roberts LK, Cunningham JS, Wilson OB. A rodent model of nicotine abstinence syndrome. *Pharmacol Biochem Behav* 43: 779-784, 1992.
58. Malin DH, Lake JR, Carter VA, Cunningham JS, Herbert KM, Conrad DL, Wilson OB. The nicotinic antagonist mecamylamine precipitates nicotine abstinence syndrome in the rat. *Psychopharmacology* 115: 180-184, 1994.
59. Malin DH, Lake JR, Sheno M, Upchurch TP, Johnson SC, Schweinle WE, Cadle CD. The nitric oxide synthesis inhibitor nitro-L-arginine (L-NNA) attenuates nicotine abstinence syndrome in the rat. *Psychopharmacology* 140: 371-377, 1998.
60. Malin DH, Lake JR, Schopen CK, Kirk JW, Sailer EE, Lawless BA, Upchurch TP, Sheno M, Rajan N. Nicotine abstinence syndrome precipitated by central but not peripheral hexametonium. *Pharmacol Biochem Behav* 58: 695-699, 1997.
61. Malin DH, Lake JR, Upchurch TP, Sheno M, Rajan N, Schweinle WE. Nicotine abstinence syndrome precipitated by the competitive nicotinic antagonist dihydro- $\beta$ -erythroline. *Pharmacol Biochem Behav* 60: 609-613, 1998.