

Nurvita Risdiana
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
e-mail: nurvita.risdiana@gmail.com

*Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol
Delphinium Grandiflorum Terhadap Tanda
Somatik dan Tanda Afektif Nicotine Withdrawal
Syndrome pada Tikus Sprague Dawley Betina
yang Diberi Nikotin Peroral*

ABSTRACT

Background. Nicotine abstinence will lead nicotine withdrawal syndrome in somatic signs and affective signs. Somatic signs such as body weight change. Affective signs such as sign of anxiety. Nicotine withdrawal syndrome will increasing the desire to use nicotine. Delphinium grandiflorum is a plant with methyllycaconitine (MLA). Methyllycaconitine (MLA) is antagonist competitive which block $\alpha 7$ nAChRs. It will lowering the desire to use nicotine without induce nicotine withdrawal syndrome.

Objective. To know the effect of ethanolic extract Delphinium grandiflorum in somatic signs and affective signs of nicotine withdrawal syndrome in Sprague Dawley female rats treated with oral nicotine.

Methods. This study was quasi experiment with pre and post control group design. Rats were grouped into 4 groups. The groups are OO (control), NO (nicotine+aquabides), ND 3 (nicotine+ D. grandiflorum 3 mg/kg), ND 6 (nicotine+ D. grandiflorum 6 mg/kg). Nicotine was given ad libitum. Nicotine was given via drinking water with a step wise increase of dosage every 4 days until 15 days. Somatic signs and affective signs were observed during 24 hours period after abstinencia (16th and 20th days) on dark cycle. Light cycle on 18.00- 06.00, dark cycle on 06.00-18.00. Affective signs was observed with open spent time and open arm entries by Elevated Plus Maze.

Result. There is no significant differences between group for body weight, open spent time and open arm entries on day 16 and 20.

Conclusion. There is have no effect of ethanolic extract Delphinium grandiflorum and nicotine administration for somatic signs, affective signs of nicotine withdrawal syndrome in Sprague dawley female rats.

Keywords. Nicotine, nicotine withdrawal syndrome, somatic signs, affective signs.

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Berhenti merokok sangat sulit dan merupakan suatu tantangan.⁽¹⁾ Pada sekelompok orang yang berusaha berhenti merokok hanya 3% yang betul-betul berhasil berhenti dari kebiasaan merokok.⁽²⁾ Namun pada kasus lain lebih dari 80% yang berusaha untuk berhenti merokok pada akhirnya akan kembali merokok dalam hitungan bulan atau tahun.⁽²⁾ Sulitnya seseorang untuk berhenti merokok disebabkan karena adanya zat adiktif dalam rokok yang disebut sebagai nikotin. Nikotin adalah zat psikoaktif yang bersifat adiksi.⁽³⁾

Nikotin merangsang pelepasan sebagian besar neurotransmitter ke otak⁽⁴⁾ dan berinteraksi dengan nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) pada sistem mesolimbik otak⁽⁵⁾ khususnya di area tegmental ventral.⁽⁶⁾ Area tegmental ventral merupakan area di otak yang berperan dalam adiksi obat.⁽⁷⁾ Interaksi antara nikotin dengan nAChRs akan menyebabkan adiksi.⁽⁸⁾ Pemberian nikotin eksogen secara kronis akan menyebabkan interaksi antara nikotin dengan nAChRs sehingga menyebabkan upregulation.⁽⁹⁾ Upregulation adalah suatu keadaan dimana reseptor mengalami perubahan jumlah dan fungsinya.⁽¹⁰⁾

Neuron dopaminergik akan meningkatkan neurotransmitter lebih banyak disebabkan karena masuknya nikotin. Peningkatan neurotransmitter pada neuron dopaminergik akan meningkatkan dopamin sehingga perasaan menjadi tenang.⁽¹¹⁾ Perasaan tenang tersebut sebagai efek terhadap masuknya nikotin. Efek masuknya nikotin didalam tubuh akan menurunkan

berat badan.⁽¹⁰⁾ Peningkatan neurotransmitter tersebut akan mengaktifkan binding site pada nAChRs khususnya $\alpha 7$ nAChRs⁽¹²⁾, $\alpha 4$ nAChRs dan $\beta 2$ nAChRs⁽¹³⁾ Alpha 7, $\alpha 4$ dan $\beta 2$ nAChRs berperan dalam pelepasan glutamat di area tegmental ventral.^(6,13)

Akumulasi sistem dopamin pada mesencephalon menyebabkan ketergantungan nikotin.⁽¹⁴⁾ Akibatnya jika tidak menggunakan nikotin selama beberapa jam akan menyebabkan nicotine withdrawal syndrome.⁽¹⁵⁾ Tanda nicotine withdrawal syndrome berupa depresi, irritability, penurunan kognitif ringan dan gejala-gejala psikologis.⁽¹⁵⁾ Untuk mengatasi hal tersebut maka subjek akan termotivasi untuk menggunakan nikotin. Sehingga beberapa orang mengalami kesulitan untuk menghentikan kebiasaan merokok.

Pada tikus, nicotine withdrawal syndrome ditandai dengan gejala terjadi peningkatan tanda somatik dan afektif yang tanda-tandanya sama seperti pada manusia.⁽¹⁰⁾ Tanda somatik dan afektif seperti perilaku kecemasan, peningkatan berat badan, penurunan sikap⁽¹⁰⁾, konsentrasi⁽¹⁶⁾ Nikotin merupakan salah satu jenis obat yang sering digunakan oleh remaja.⁽¹⁶⁾ (O'Dell et al., 2004). Selain itu remaja mempunyai keinginan menggunakan nikotin lebih tinggi.

Alpha 7 nAChRs berperan dalam pengaturan kecemasan dan perilaku⁽¹⁷⁾ sehingga pemberian antagonis terhadap reseptor nikotinik akan menurunkan nicotine withdrawal melalui fungsi otak secara signifikan.⁽¹⁸⁾ Delphinium spp. adalah tanaman yang mengandung alkaloid berupa methylcyaconitine (MLA) bersifat antagonis kompetitif yang menghambat $\alpha 7$ -, $\alpha 6$ -, dan $\alpha 3$ nAChRs.⁽¹⁹⁾ Delphinium spp. menyebabkan perubahan jumlah atau fungsi nAChRs dan ditunjukkan dalam respon fisiologis pada tikus sebagai akibat perubahan fungsional pada respon agonis nAChRs seperti nikotin.⁽²⁰⁾ Delphinium spp. dapat digunakan sebagai terapi ketergantungan obat seperti morfin.⁽²¹⁾ Nikotin mempunyai sifat yang sama dengan morfin dalam

menyebabkan adiksi dengan cara mengaktifkan nAChRs pada area tegmental ventral⁽⁷⁾ sehingga diharapkan dapat juga digunakan sebagai terapi adiksi nikotin. Delphinium grandiflorum adalah salah satu spesies dari Delphinium spp. yang mempunyai sifat yang sama sehingga diharapkan dapat membantu mengatasi ketergantungan nikotin.

MLA mempunyai efek memblok $\alpha 7$ nAChRs tetapi tidak menyebabkan depresi karena dapat meningkatkan level dopamin di Nucleus Accumbens (Nacc).⁽²²⁾ Oleh karena itu MLA dapat digunakan untuk terapi ketergantungan obat dengan sifatnya yang memblok $\alpha 7$ nAChRs.⁽²²⁾ Berdasarkan alasan di atas D. grandiflorum sebagai antagonis kompetitif $\alpha 7$ nAChRs diharapkan dapat menjadi suatu alternatif terapi ketergantungan nikotin kepada masyarakat. D. grandiflorum diharapkan dapat menghambat $\alpha 7$ nAChRs dan terjadi penurunan aktivasi $\alpha 7$ nAChRs yang diakibatkan oleh nikotin tanpa menyebabkan terjadinya nicotine withdrawal syndrome.⁽²¹⁾

Berdasarkan uraian tersebut di atas penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol D. grandiflorum terhadap tanda somatik dan tanda afektif nicotine withdrawal syndrome pada Sprague Dawley betina yang diberi nikotin peroral.

1.2. Rumusan Masalah

Pertanyaan penelitian ini adalah: Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak etanol Delphinium grandiflorum terhadap tanda somatik dan tanda tikus Sprague Dawley betina yang diberi nikotin peroral?

1.3. Tujuan Penelitian

Mempelajari efek pemberian ekstrak etanol D. grandiflorum terhadap tanda somatik dan tanda afektif nicotine withdrawal syndrome pada tikus Sprague Dawley betina yang diberi nikotin peroral.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini akan dilakukan dengan rancangan kuasi eksperimen dengan pre dan post control group design. Sampel tikus remaja betina jenis Sprague Dawley usia \pm 30-70 hari dengan berat 150-250 g. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok OO (aquabidestilata peroral), NO (nikotin + aquabidestilata peroral), ND 3 (nikotin + D. grandiflorum 3 mg/kg), ND 6 (nikotin + D. grandiflorum 6 mg/kg).

Seluruh tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari, selanjutnya tikus dirandom dan ditimbang. Siklus hidup tikus dibuat fase gelap terang dengan siklus jam 06.00-18.00 merupakan fase gelap sedangkan jam 18.00-06.00 merupakan fase terang. Makan dan minum ad libitum. Pemberian nikotin peroral menggunakan air minum selama 15 hari dengan cara memberikan nicotine bitartate dyhidrate dilarutkan dalam H₂O. Nikotin tersebut diberikan secara peroral melalui air minum dengan dosis bertingkat dari 10, 20, 35, 50, 65, 80, 100, 125 μ g/ mL setiap 4 hari (Rogers et al., 2008).

Setelah diberi nikotin peroral selama 15 hari, kemudian dilakukan pengukuran tanda somatik dan tanda afektif pada hari ke-16 pada fase gelap setelah 24 jam abstinensi nikotin. Pada hari ke-16 setelah pengukuran tanda somatik dan tanda afektif dilanjutkan dengan pemberian nikotin peroral dengan ekstrak etanol D. grandiflorum sampai dengan hari ke- 19. Pada hari ke- 20 pengukuran kembali tanda somatik dan tanda afektif.

Nicotine withdrawal syndrome yang diamati adalah tanda somatik dan tanda afektif. Tanda somatik berupa perubahan berat badan (Rafsanjani et al., 2012). Tanda afektif berupa kecemasan yang diukur dengan menggunakan Elevated Plus Maze. Tanda kecemasan yang diukur meliputi open spent time dan open arm entries. Tanda somatik dan tanda afektif nicotine withdrawal syndrome yang diukur dibandingkan antara sebelum dan sesudah pemberian ekstrak

etanol D. grandiflorum. Open spent time adalah waktu tikus tinggal didalam ruang terbuka dan dihitung dalam detik. Semakin lama tikus tinggal di ruang terbuka menunjukkan tingkat kecemasannya semakin rendah sehingga persentase lebih tinggi menunjukkan kecemasan yang lebih rendah. Persentase open spent time dihitung dengan rumus⁽²³⁾:

$$\frac{\text{Waktu tinggal di ruang terbuka (detik)} \times 100\%}{300 \text{ detik}}$$

Open arm entries adalah frekuensi tikus masuk kedalam ruang terbuka. Semakin sering masuk ke ruang terbuka kecemasannya semakin rendah. Persentase open arm entries dihitung dengan rumus⁽²³⁾:

$$\frac{\text{Frekuensi masuk ke ruang terbuka} \times 100\%}{\text{Jumlah keluar masuk ruang}}$$

Tanda somatik berat badan hari ke-1, 16 dan 20 menurut uji Shapiro–Wilk menunjukkan distribusi data yang normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas Levene. Pada tanda somatik berat badan hari ke-16 dan 20 dilakukan uji statistik ANOVA untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dan uji Paired T-test untuk mengetahui perbedaan pada kelompok yang sama setelah diberikan perlakuan. Tanda afektif pada open spent time pada hari ke- 16 dan ke- 20 menurut uji Shapiro–Wilk menunjukkan distribusi data yang tidak normal. Tanda afektif open spent time menggunakan uji Kruskal Wallis. Tanda afektif pada open arm entries pada hari ke- 16 dan 20 menurut uji Shapiro–Wilk menunjukkan distribusi data yang tidak normal. Tanda afektif open arm entries menggunakan uji Kruskal Wallis.

III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

III.1. Tanda somatik pada tikus Sprague Dawley betina

Tanda somatik yang diamati pada tikus Sprague Dawley betina adalah perubahan berat badan. Rerata berat badan tikus Sprague Dawley betina ditunjukkan pada Tabel 1. Berat badan tikus Sprague Dawley betina dikur pada hari ke-1, 16 dan hari ke- 20. Pada hari ke-1, 16 dan hari ke-20 hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok dengan $p=0,65$, $p=0,50$ dan $p=0,61$ ($p>0,05$). Hasil uji statistik pada kelompok OO pada hari ke-16 dibandingkan dengan hari ke- 20 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan $p=0,03$ ($p<0,03$). BB hari ke-20 menunjukkan rerata lebih tinggi dibandingkan dengan rerata hari ke-16 pada kelompok OO. Hasil uji statistik antara kelompok menunjukkan hasil yang tidak signifikan pada OO dibandingkan NO, OO dibandingkan dengan ND 3, OO dibandingkan dengan ND 6, NO dibandingkan dengan ND 3, NO dibandingkan dengan ND 6, ND 3 dibandingkan dengan ND 6 (Tabel 2).

Tabel 1. Rerata \pm SD berat badan tikus Sprague Dawley betina

Kelompok (n=6)	Berat badan (gram)		
	Hari ke-1	Hari ke-16	Hari ke-20
OO	197,5 \pm 29,96	198 \pm 24,99	203 \pm 23,86
NO	211,5 \pm 8,34	109,75 \pm 9,03	210,75 \pm 10,46
ND 3	214,25 \pm 20,23	217 \pm 21,75	218,5 \pm 19,82
ND 6	210,75 \pm 15,06	214 \pm 12,72	217,5 \pm 16,19
P values	0,65	0,50	0,61

Ket:

OO : Kontrol

NO : Nikotin

ND 3 : Nikotin + D. Grandiflorum dosis 3 mg/ kg BB

ND 6 : Kelompok nikotin + D. Grandiflorum dosis 6 mg/ kg BB

Tabel 2. Hasil uji statistik Post Hoc LSD pada berat badan tikus Sprague Dawley betina Hari ke-16 dan 20

Kelompok	P value hari ke-16	P value hari ke-20
OO vs NO	0,38	0,56
OO vs ND 3	0,16	0,25
OO vs ND 6	0,24	0,28
NO vs ND 3	0,58	0,56
NO vs ND 6	0,74	0,61
ND 3 vs ND 6	0,82	0,94

Ket:

OO : Kelompok kontrol

NO : Kelompok nikotin

ND 3 : Kelompok nikotin + D. Grandiflorum dosis 3 mg/ kg BB

ND 6 : Kelompok nikotin + D. Grandiflorum dosis 6 mg/ kg BB

III.2. Tanda afektif pada tikus Sprague Dawley betina

III.2.1. Tanda afektif pada open spent time.

Rerata tanda afektif open spent time tikus Sprague Dawley betina hari ke-16 dan 20 ditunjukkan pada Tabel 3. Pada hari ke-16 hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan $p=0,03$ ($p<0,05$), sedangkan pada hari ke- 20 hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan $p=0,48$.

Tabel 3. Tanda afektif open spent time pada tikus Sprague Dawley betina

Kelompok (n=6)	Tanda afektif open spent time	
	Hari ke-16	Hari ke-20
OO	12,51 \pm 13,52	12 \pm 14,88
NO	9,45 \pm 7,78	0,01 \pm 2
ND 3	21,71 \pm 14,1	0,1 \pm 20
ND 6	0,18 \pm 0	0,16 \pm 20,3
P values	0,03	0,48

Ket:

OO : Kelompok kontrol

NO : Kelompok nikotin

ND 3 : Kelompok nikotin + D. Grandiflorum dosis 3 mg/ kg BB

ND 6 : Kelompok nikotin + D. Grandiflorum
dosis 6 mg/ kg BB

III.2.2. Tanda afektif pada open arm entires.

Rerata tanda afektif open arm entires tikus Sprague Dawley betina hari ke-16 dan 20 ditunjukkan pada Tabel 4. Pada hari ke-16 hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan $p=0,36$ ($p>0,05$), sedangkan pada hari ke- 20 hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan $p=0,80$.

Tabel 4. Tanda afektif open arm entries pada tikus Sprague Dawley betina

Kelompok (n=6)	Tanda afektif open spent time	
	Hari ke-16	Hari ke-20
OO	42,2±28,33	48,5±3
NO	50,83±1,5	51,75±3,5
ND 3	49,6±2	51,5±3
ND 6	75±50	41,75±30,09
P values	0,36	0,80

Ket:

OO : Kelompok kontrol

NO : Kelompok nikotin

ND 3 : Kelompok nikotin + D. Grandiflorum
dosis 3 mg/ kg BB

ND 6 : Kelompok nikotin + D. Grandiflorum
dosis 6 mg/ kg BB

III.3. Pembahasan

Nikotin merupakan zat adiksi dengan mempengaruhi neurotransmitter sehingga terjadi upregulation.⁽⁹⁾ Pemberian nikotin kronis akan menghasilkan nicotine withdrawal syndrome.⁽¹⁶⁾ Nicotine withdrawal syndrome akan muncul setelah penghentian nikotin atau pemberian antagonis terhadap reseptor nikotinic asetilkolin sebagai akibat terhadap respon molekuler untuk mempertahankan nikotin didalam tubuh.⁽¹⁶⁾ Nicotine withdrawal syndrome berupa tanda somatik dan tanda afektif. Tanda somatik berupa perubahan berat badan, sedangkan tanda afektif

berupa tanda kecemasan yang diamati melalui open spent time dan open arm entries. Pada penelitian ini tikus diadiksikan selama 15 hari dengan menggunakan nikotin peroral melalui air minum dan selanjutnya diberikan terapi menggunakan ekstrak etanol D. grandiflorum.

III.3.1. Tanda somatik pada tikus Sprague Dawley betina.

Nikotin didalam tubuh akan mempengaruhi berat badan. Pemberian nikotin kronis akan menekan nafsu makan sehingga berefek menurunkan berat badan.⁽¹⁶⁾ Namun, pada kondisi withdrawal atau pada saat penghentian nikotin akan muncul hiperfagi dan peningkatan berat badan.⁽²⁴⁾

Pada penelitian ini hasil uji statistik terhadap berat badan antar kelompok pada hari ke-1 menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan $p=0,65$ ($p>0,05$), demikian juga pada hari ke-16 dan 20 dengan $p=0,50$ dan $p=0,61$ ($p>0,05$). Pemberian nikotin kronis pada penelitian ini tidak memberikan dampak pada perubahan berat badan. Kelompok OO dibandingkan dengan kelompok NO, ND 3 dan ND 6 juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok (Tabel 2). Penelitian Penelitian lain menunjukkan bahwa pada kelompok tikus yang diberi nikotin akan terjadi peningkatan berat badan yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak diberikan nikotin.⁽²⁵⁾ Sedangkan pada penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok baik yang diberi nikotin ataupun tidak diberi nikotin. Tanda somatik pada tikus remaja pada penelitian tertentu dari beberapa temuannya tidak terlalu tampak.⁽¹⁶⁾ Berat badan merupakan salah satu tanda somatik. Pada penelitian ini menggunakan tikus remaja sehingga pada penelitian ini juga tidak tampak nicotine withdrawal syndrome pada berat badan dibuktikan dengan hasil uji statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Pada hari ke- 20 setelah pemberian ekstrak etanol *D. grandiflorum* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok. Hal ini menunjukkan *D. grandiflorum* belum memberikan efek pada tikus Sprague Dawley betina terhadap tanda somatik nicotine withdrawal syndrome. MLA tidak menimbulkan efek pada perubahan berat badan⁽²⁶⁾ sehingga hasilnya sama dengan hasil penelitian ini. *Delphinium grandiflorum* mengandung MLA sehingga pada penelitian ini tidak tampak tanda somatik berat badan pada tikus Sprague Dawley betina.

III.3.2. Tanda afektif pada open spent time dan open arm entries.

Nikotin sebagai zat adiksi akan memberikan dampak positif berupa perasaan tenang. Masuknya nikotin ke dalam plasma akan memberikan efek antidepresan.⁽²⁷⁾ Pada kondisi abstinensi terhadap nikotin akan muncul nicotine withdrawal syndrome salah satunya adalah tanda afektif berupa kecemasan. Tanda kecemasan pada diamati dengan menggunakan open spent time dan open arm entries. Nicotine withdrawal akan menimbulkan kecemasan pada tikus dewasa, sedangkan pada tikus remaja tidak tampak adanya tanda kecemasan.⁽²⁸⁾ Hal ini sesuai dengan penelitian ini bahwa tidak tampak tanda kecemasan pada pemberian nikotin hari ke-16 dengan hasil uji statistik tidak ada perbedaan yang signifikan baik pada open spent time ataupun pada open arm entires (Tabel 3 dan 4).

Pada hari ke-20 hasil uji statistik juga menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan (Tabel 3 dan 4). Hal ini dimungkinkan karena efek negatif dari nikotin yaitu berupa withdrawal syndrome pada remaja kurang sensitif sehingga tidak tampak jelas.⁽¹⁶⁾ Remaja mempunyai sensitivitas yang rendah terhadap depresi.⁽²⁹⁾ Alasan tersebut menyebabkan efek negatif dari nikotin tampak kurang jelas. Demikian juga dengan pemberian *D. grandiflorum* menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Sistem

kolinergik yang belum berkembang pada remaja dianggap sebagai alasan yang menyebabkan pemberian nikotin tidak begitu mempengaruhi nAChRs.⁽¹⁶⁾ Demikian juga dengan pemberian *D. grandiflorum* belum memberikan efek terhadap nicotine withdrawal syndrome. Dari penelitian ini *D. grandiflorum* sebagai antagonis terhadap $\alpha 7$ nAChRs belum bisa mempengaruhi nAChRs karena sistem kolinergik yang belum berkembang pada tikus remaja.

IV. KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada tanda somatik maupun tanda afektif nicotine withdrawal syndrome pada tikus Sprague Dawley betina yang diberi nikotin peroral. Belum tampak manfaat pemberian ekstrak etanol *D. grandiflorum* pada tikus Sprague Dawley betina yang diberi nikotin peroral.

V. DAFTAR PUSTAKA

1. Balluz, L., Ahluwalia, I.B., Murphy, W., Mokdad, A., Giles, W., & Harris, V.B., 2004. Surveillance for certain health behaviors among selected local areas—United States, Behavioral Risk Factor Surveillance System. *MMWR CDC Surveill. Summ.* 53:1-100.
2. Benowitz, N.L., 2010. Nicotine addiction. *N. Engl. J. Med.* 362(24):2295-2303.
3. Bertrand, D., 2010. Neurocircuitry of the nicotinic cholinergic system. *Dialogue. In. Clin. Neurosci.* (12) : 4.
4. McGehee, D.S., Role, L.W., 1995. Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 521-546
5. Markou, A., 2011. Neural mechanisms underlying development of nicotine dependence: Implications for novel smoking-cessation treatments. *Addiction. Sci. Clin. Pract.*

-
6. Engelman, H.S., MacDermott, A.B., 2004. Presynaptic ionotropic receptors and control of transmitter release. *Nat. Rev. Neurosci.* 5:135-145.
 7. Berke, J.D., Hyman, S.E., 2000. Addiction, dopamine and the molecular mechanisms of memory. *Neuron.* 25:515-532
 8. Mansvelder, H.D., McGehee, D.S., 2002. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. Wiley Interscience.
 9. Govind, A.P., Vezina, P., & Green, W.N., 2009. Nicotine-induced upregulation of nicotinic receptors: Underlying mechanisms and relevance to nicotine addiction. *Biochem. Pharmacol.* 78:756-765.
 10. Markou, A., 2008. Neurobiology of nicotine dependence. *Phil.Trans.R.Soc.B* 363: 3159-3168.
 11. Balfour, D.J.K., 2009. The neuronal pathways mediating the behavioral and addictive properties of nicotine. *Handb. Exp. Pharmacol.* 192:209-233.
 12. Schilstrom, B., Svensson, H.M., Svensson, T.H., & Nomikos, G.G., 1998. Nicotine and food induced dopamine release in the nucleus accumbens of the rat: putative role of $\alpha 7$ nicotinic receptors in the ventral tegmental area. *Neuroscience.* 85:1005-1009.
 13. Ohmura, Y., Kimura, I.T., & Yoshioka, M., 2012. Impulsive behavior and nicotinic acetylcholine receptors. *J. Pharmacol. Sci.* 118: 413-422.
 14. Dani, J.A., Biasi, M.D., 2001. Cellular mechanism of nicotine addiction, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 7:439-446
 15. Shiffman, S., West, R., & Gilbert, D., 2004. Recommendation for the assessment of tobacco craving and withdrawal in smoking cessation trials. *Nicotine Tob. Res.* 6: 599-614.
 16. O'Dell, L.E., Buijnzeel, A.W., Ghosland, S., Markou, A., & Koob, G.F., 2004. Nicotine withdrawal in adolescent and adult rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1021:167-174.
 17. Picciotto, M. R., Alreja, M., Jentch, J. D., 2002. Acetylcholine. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress.*
 18. George, O., Ghosland, S., Azar, M.R., Cottone, P., Zorrilla, E.P., Parsons, L.H., O'Dell, L., Richardson, H.N., & Koob, G.F., 2007. CRF-CRF₁ system activation mediates withdrawal-induced increases in nicotine self-administration in nicotine-dependent rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104(43):17198-17203.
 19. Albuquerque, E.X., Pereira, E.F.R., Alkondon, M., & Rogers, S.W., 2009. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: From structure to function. *Physiol. Rev.* 1:73-120.
 20. Mexal, S., Jenkins, P. M., Lautner, M. A., Jacob, L., Crouch, E., Stitzel, J. A., 2007. Alpha7 nicotinic receptor gene promoter polymorphisms in inbred mice affect expression in a cell type-specific fashion. *J. Biol.Chem.* 282:13220-13227.
 21. Rahman, S.Z., Khan, R.A., Kumar, A., 2006. Preclinical Study of Delphinium denudatum Wall. in Morphine De-Addiction. *BMC Compl Altern Med* 2 (6). doi:10.1186/1472-6882-2-6
 22. Solinas, M., Scherma, M., Fattore, L., Strok, J., Wertheim, C., Tanda, G., Fratta, W., Goldberg, S, R., 2007. Nicotinic $\alpha 7$ Receptors as a New target for Treatment of Cannabis Abuse. *J Neurosci* 27(21)5615-5620.
 23. Flausino, O., Santos, L.de A., Verli, H., Pereira, A.M., Bolzani, V.da S., & Nunez-de-Souza., 2007. Anxiolytic effects of erythrinian alkaloids from *Erythrina mulungu*. *J. Nat. Prod.* 70:45-53.
 24. Dandekar, M.P., Nakhate, K.T., Kokare, D.M., & Subhedar, N.K., 2011. Effect of nicotine on feeding and body weight in rats: involvement of cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide. *Behav. Brain Res.* 16;219(1):31-8.
 25. Chiolerio, A., Faeh, D., Paccaud, F., & Cornu, J., 2008. Consequences of smoking for body

- weight, body fat distribution, and insulin resistance. *Am. J. Clin. Nutr.* 87:801-9.
26. Escubedo, E., Chipana, C., Perez-Sanches, M., Camarasa, J., & Pubill, D., 2005. Methyllycaconitine Prevents Methamphetamine-Induced Effects in Mouse Striatum: Involvement of 7 Nicotinic Receptors. *JPET.* 315:658–667.
27. Tizabi, Y., Overstreet, D.H., Rezvani, A.H., Louis, V.A., Clark, E., Janowsky, S., & Kling, M.A., 1999. Antidepressant effects of nicotine in animal model of depression. *Psychopharmacol.* 142: 193-199.
28. Wilmoth, C.E., Spear, L.P., 2006. Withdrawal from chronic nicotine in adolescent and adult rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 85(3):648-657.
29. Inigues, S.D., Warren, B.L., Parise, E.M., Alcantara, L.F., Schuh, B., Maffeo, M. L., Manojlovic, Z., & Bolanoz-Guzman, C.A., 2009. Nicotine exposure during adolescence induces a depression-like state in adulthood. *Neuropsychopharmacol.* 34:1609–1624.