

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

**NIKOTİN TOKSİSİTESİ ÜZERİNE SEÇİCİ  
SİKLOOKSİJENAZ-2 İNHİBİSYONUNUN ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Songül ÜNÜVAR  
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Göknur AKTAY**

**Bu tez, İnönü Üniversitesi B.A.P.B. tarafından 2005-80 proje numarası  
ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2007**

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans programım süresince büyük desteğini gördüğüm saygı değer hocam Prof. Dr. GÖKNUR AKTAY'a, deneysel çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen ve İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Merkezi olanaklarını kullanmamı sağlayan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. ZEHRA KÜÇÜKBAY'a ve uzman ONUR ÖZGÜL'e, akademik hayatımda hep yanımda olan sevgili arkadaşlarım İDİL KARACA, EBRU KUYUMCU'ya, meslek hayatımda da büyük desteğini gördüğüm sevgili eşim BURAK ÜNÜVAR'a ve fedakarlıklarını benden esirgemeyen kayınvalidem ve kayınpederim Ecz. Reyhan ve Ecz. Turan ÜNÜVAR' ve tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Nikotin.....	3
2.1.1. Nikotinin Tarihçesi.....	3
2.1.2. Kimyasal Özellikleri.....	4
2.1.3. Nikotinin Farmakokinetiği.....	4
2.1.3.1. Absorpsiyonu.....	4
2.1.3.2. Dağılımı.....	5
2.1.3.3. Metabolizması.....	6
2.1.3.4. Kotinin.....	9
2.1.3.5. Nikotinin atılımı.....	10
2.1.4. Nikotinin Farmakodinamiği.....	10
2.2. Nikotin ve Sigara.....	13
2.2.1. Nikotin ve Kardiyovasküler Sistem.....	13
2.2.2. Nikotin ve Solunum Sistemi.....	16
2.2.2. Nikotin ve Sindirim Sistemi.....	16
2.2.3. Nikotin ve Hormonal Sistem.....	17
2.2.4. Nikotin ve SSS.....	19
2.3. Nikotinin Toksik Etkileri.....	20
2.4. Nikotin Bağımlılığı.....	21
2.4.1. Nikotin Bağımlılığının Tedavisi.....	22
2.4.1.1. Nikotin Sakızı.....	22
2.4.1.2. Transdermal Nikotin Bandı.....	23
2.4.1.3. Nazal Nikotin Spreyi.....	23
2.4.1.4. Nikotin bağımlılığında güncel tedavi yöntemleri.....	24
2.5. Nikotin ve Enflamasyon.....	26
2.5.1. 5-Lipoksijenaz Yolağı.....	27
2.5.2. Siklooksijenaz Yolağı.....	29

2.5.3. Prostanoid ve Eikozanoidler.....	33
2.5.4. Eikozanoidlerin Fizyolojik ve Patofizyolojik Rolü.....	37
2.5.5. COX-2 ve Kanser.....	38
2.5.6. Tümörlerde COX-2 Artışı.....	39
2.6. Nikotin ve Oksidatif Stres.....	40
2.7. Nikotin ve Antioksidan Savunma Enzimleri.....	43
2.8. Nikotin ve Antioksidanlar.....	45
2.9. Nikotin ve Lipit Peroksidasyon.....	45
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>48</b>
3.1. Gereçler.....	48
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	48
3. 1. 2. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar .....	49
3.2. Yöntemler.....	50
3.2.1. Lipit Peroksidasyon Tayini.....	51
3.2.2. Dokuda Glutasyon Tayini.....	53
3.2.3. Dokuda Total Tiyol Gruplarının Tayini.....	55
3.2.4. Doku Çinko ve Bakır Tayini.....	56
3.2.5. Serum Çinko Düzeylerinin Tayini.....	57
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>58</b>
4.1. Lipit Peroksidasyon Düzeyleri.....	58
4.2. Doku Glutasyon Düzeyleri.....	60
4.3. Doku Total Tiyol Gruplarının Düzeyleri.....	62
4.4. Doku Çinko ve Bakır Düzeyleri.....	64
4.4.1. Çinko Düzeyleri.....	64
4.4.2. Bakır Düzeyleri.....	66
4.5. Serum Çinko Düzeyleri.....	68
4.6. Karaciğer Ağırlıkları.....	75
4.7. Vücut Ağırlıkları.....	76
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>77</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>87</b>
<b>7. ÖZET.....</b>	<b>88</b>
<b>8. SUMMARY.....</b>	<b>90</b>
<b>9. KAYNAKLAR.....</b>	<b>92</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>103</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Nikotinin Kimyasal Formülü.....	4
Şekil 2.2. Nikotin Metabolizması.....	8
Şekil 2.3. 5-Lipoksijenaz Yolağı.....	28
Şekil 2.4. Siklooksijenaz Yolağı.....	34
Şekil 2.5. Oksidatif stresin hücrel döngüsü.....	41
Şekil 2. 6. Hücrel oksidatif stres maruziyeti .....	44
Şekil 2. 7. Oksidatif strete antioksidan savunma enzimleri.....	44
Şekil 2. 8. TBARS kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi.....	52
Şekil 2. 9. Glutasyon kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi.....	54
Şekil 2. 10. Total Tiyol kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi.....	55
Şekil 4.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının TBARS Düzeyleri.....	59
Şekil 4.2. Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının GSH Düzeyleri.....	61
Şekil 4.3. Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının T-SH Düzeyleri.....	63
Şekil 4.4. Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının Çinko Düzeyleri.....	65
Şekil 4.5. Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının Bakır Düzeyleri.....	67
Şekil 4.6. Kontrol ve Deney Gruplarının Serum Çinko Düzeyleri.....	68

## **TABLolar DİZİNİ**

<b>Tablo 4.1.</b> Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Dokularında TBARS Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	69
<b>Tablo 4.2.</b> Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Dokularında GSH Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	70
<b>Tablo 4.3.</b> Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Dokularında T-SH Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	71
<b>Tablo 4.4.</b> Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Dokularında Zn Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	72
<b>Tablo 4.5.</b> Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Dokularında Cu Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	73
<b>Tablo 4.6.</b> Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Serumunda Zn Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	74
<b>Tablo 4.7.</b> Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer Ağırlıkları.....	75
<b>Tablo 4.8.</b> Sıçanların Diyet Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları Arasındaki Farkın Eşleştirilmiş Student's t Testi İle Değerlendirilmesi.....	76

## **SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>AA:</b>	Araşidonik Asit
<b>ACTH:</b>	Adrenokortikotropik Hormon
<b>CAT:</b>	Katalaz
<b>CDNB:</b>	1-Klor-2,4-Dinitro-Benzen
<b>COX:</b>	Siklooksijenaz
<b>CRH:</b>	Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
<b>CYP:</b>	Sitokrom p-450
<b>ÇDDL:</b>	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>DDL:</b>	Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>DHA:</b>	Dokosa Heksaenoik Asit
<b>DOPAC:</b>	Dihidroksifenilasetik Asit
<b>GABA:</b>	Gama Amino Butirik Asit
<b>GPx:</b>	Glutasyon Peroksidaz
<b>GR:</b>	Glutasyon redüktaz
<b>GSH:</b>	Glutasyon
<b>GSH-Px:</b>	Glutasyon Peroksidaz
<b>GST:</b>	Glutasyon-S-Transferaz
<b>5-HIAA:</b>	5-Hidroksi İndol Asetik asit
<b>4-HNE:</b>	4-Hidroksinonenal
<b>HPA:</b>	Hipofiz Adrenal
<b>5-HPETE:</b>	5 (S)-Hidro Peroksi Eikoz-6E,8Z,11Z,14Z-Tetra Enoik Asit
<b>5-HT:</b>	Serotonin
<b>HVA:</b>	Homovanilik Asit
<b>IFN:</b>	İnterferon
<b>İNOS:</b>	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
<b>kDa:</b>	Kilo dalton
<b>LD<sub>50</sub>:</b>	Deney hayvanlarının %50'sini öldüren doz.
<b>5-LO:</b>	5-Lipoksijenaz
<b>LPO:</b>	Lipit Peroksidasyon
<b>LPS:</b>	Lipopolisakkarit
<b>LT:</b>	Lökotrien
<b>MAO:</b>	Mono Amino Oksidaz
<b>MDA:</b>	Malon Dialdehit

<b><math>\mu\text{mol}</math>:</b>	Mikro mol
<b>n:</b>	Denek sayısı
<b>NADH:</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>Ng:</b>	Nanogram
<b>nm :</b>	Nano metre
<b>NNK:</b>	4-Methylnitrosoamino-1-(3-Pyridinyl)-1-1butanon
<b>NO:</b>	Nitrik Oksit
<b>NOS:</b>	Nitrik Oksit Sentaz
<b>PG:</b>	Prostaglandin
<b>ROS:</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>SOD:</b>	Süper Oksit Dismutaz
<b>T<sub>3</sub>:</b>	Triiyodotironin
<b>T<sub>4</sub>:</b>	Tiroksin
<b>TBARS:</b>	Tiyobarbitürik Asit Türevleri
<b>T-SH:</b>	Total Tiyol Grupları
<b>TSH:</b>	Tiroid Uyarıcı Hormon
<b>TX:</b>	Tromboksan
<b>UDP:</b>	Üridin Di Fosfat
<b>YDL:</b>	Yüksek Dansiteli Lipoprotein



## 1- GİRİŞ

Günlük yaşamda tütün dumanına aktif veya istemsiz olarak maruz kalınması nedeniyle, sigara içme dünya çapında, insan sağlığını etkileyen yaygın sorunlardan biri haline gelmiştir. Nikotin, doğal olarak tütün bitkisinin yapraklarında yüksek yoğunlukta bulunan, piridin ve pirolidin halkası içeren üçüncül amin yapısında bir sıvı alkaloiddir (1, 2).

Başlıca akciğer, pankreas, soluk borusu, ağız, mide ve mesane kanserine neden olmasının yanı sıra kalp-damar sistemi, hematopoitik sistem, santral sinir sistemi gibi değişik sistemler üzerine olumsuz etkileri gösterilmiş olan nikotin, insan sağlığını tehdit eden önemli toksik maddelerden biridir (3-6).

Nikotinin insan sağlığı üzerindeki kanıtlanmış olumsuz etkilerine sürekli yenileri eklenmektedir. Dolayısıyla, tıp ve eczacılık alanında nikotinin zararlı etkilerini önlemeye yönelik çalışmalar, aydınlatılan yeni etki mekanizmaları üzerinden hareketle ilaç geliştirme yönünde yoğunlaşmaya başlamıştır.

Planlanan bu çalışma, aktif veya pasif olarak sıklıkla maruz kalınan nikotinin;

- 1- Toksik etkilerinin serbest radikal hasarı bakımından değerlendirilmesi,
- 2- Siklooksijenaz (COX) yolağındaki rolünün araştırılması,
- 3- Seçici siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibisyonu ile toksik etkilerinin önlenileme olasılığının tartışılması açısından konuyla ilgili çalışmalara katkıda bulunacaktır.

Bu çalışmada; nikotinin, COX-2 enzimini indükleyerek oksidatif strese neden olan serbest radikal oluşumunu artırabileceği ve doku enflamasyonu ile toksik etkilerinin bir bölümünden serbest oksijen radikallerinin sorumlu olabileceği bilgisine dayanarak, COX-2 inhibitörleri ile bu yoldan radikal oluşumu baskılanarak nikotin toksisitesinin önlenilebileceği veya azaltılabileceği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalar, nikotinin neden olduğu doku ve organ hasarında enflamasyonun önemli rolü olduğunu göstermektedir. Siklooksijenaz, enflamasyon ve ağrı oluşmasında klinik önemi olan bir enzimdir. İki izoformu bulunan COX enziminin

malig n t m r patojenezinden sorumlu oldu ğ u d ũ ũ n ũ lerek son yıllardaki karsinogenezis ile ilgili ç alı ũ malar, prostaglandinler ve COX izoformları (COX-1 ve COX-2) üzerine yo ğ unla ũ maktadır (7, 8).

Di ğ er taraftan, nikotinin COX-2 mRNA ve enflamasyonda rol ũ olan PGE<sub>2</sub> (prostaglandinE<sub>2</sub>) gibi lokal mediyat rlerin sentezini artı rması, sigara i ç imine ba ğ lı olarak ortaya ç ı kan hastalıkların patojenezinde COX-2 aktivasyonunun potansiyel bir rol ũ olabilece ğ ini d ũ ũ nd ũ rmektedir (9).

Siklooksijenaz, ara ũ idonik asit yola ğ ının anahtar enzimi olmasının d ı ũ nda reaktif oksijen metabolitlerinin olu ũ masından sorumlu enzimlerden biridir (10). Siklooksijenaz inhibit rlerinin enflamasyona e ũ lik eden serbest radikal hasarını rnlerek enflamasyonun tedavisine katkı da buldukları g rsterilmi ũ tir (11).

Lipit peroksidasyon, serbest oksijen radikalleri tarafından ba ũ latılan ve h ũ cre membran yapısındaki ç oklu doymamı ũ ya ğ asitlerinin oksidasyonuna neden olan zincirleme bir kimyasal reaksiyon olup, kanser, enflamasyon gibi doku ve organ hasarına ba ğ lı dejeneratif hastalıkların patojenezinden sorumlu mekanizmalardan biri olarak de ğ erlendirilmektedir (12, 13). Serbest radikallerin h ũ cresel kontrol ũ ve zararlı etkilerinin azaltılması plazma ve dokularda bulunan antioksidanlarla olmaktadır (14).

Organizmadaki biyolojik fonksiyonlarda rnelmi g rrevleri olan temel iz elementlerden ç inko ve bakır, biyokimyasal savunma mekanizmaları i ç inde yer alan metalloenzimlerin vazgeç ilmez elemanlarıdır. H ũ crelerde serbest radikal artı ũ ının, iz element transport sistemini bozarak dokulardaki element da ğ ılım profilini de ğ i ũ tirdi ğ i g rsterilmi ũ tir. rzelikle ç inko ve bakır gibi elementlerin dokulardaki dengesinin bozulması, antioksidan savunma sistemi i ç inde yer alan metalloenzimlerin aktivitesinde azalmaya neden olarak h ũ cre membran b ũ t ũ nl ũ ğ ün ũ n bozulmasına katkı da bulunur (12, 13, 15).

Bu ç alı ũ manın amacı; h ũ cresel hasarın temel g rstergesi olan lipit peroksidasyon, antioksidan savunma sistemlerinden glutatyon (GSH) ve total tiyol grupları (T-SH) ile doku ve serumda ç inko ve bakır da ğ ılımlarını de ğ erlendirerek nikotin toksisitesi ve toksisite üzerine se ç ici COX-2 inhibisyonunun etkisini oksidatif stres a ç ısından irdelemektir.

## 2- GENEL BİLGİLER

### 2. 1. Nikotin

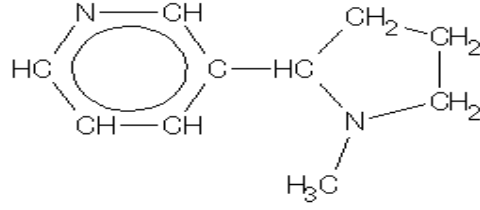
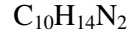
İlk defa 1828'de izole edilen nikotin organik bir bileşiktir. Doğal olarak tütün bitkisinin yapraklarında yüksek yoğunlukta bulunan nikotin, yanmış tütünün distilasyonu ile elde edilir. Bununla birlikte, nikotin düşük miktarlarda *Solanaceae* familyasından domates, patates, patlıcan ve yeşil biberde de bulunmaktadır (16).

İlk kez, kemirgenlerde ülser ve kabızlığın tedavisinde kullanılmak amacıyla araştırılan nikotin; kontakt insektisit, mide zehiri, fumigan olarak sülfat tuzu veya diğer türevleri şeklinde kullanılmıştır. Ticari olarak nikotin, *Nicotiana tabacum* ve *Nicotiana rustica* yapraklarının alkaliyle muamalesi ve buhar distilasyonu ile veya benzen, trikloroetilen, dietileterle ekstraksiyonu ile elde edilir. Nikotin, ticari tütündeki 97 alkaloidten biridir ve genellikle toksiktir, sıçanlardaki akut oral LD<sub>50</sub>'si (deney hayvanlarının %50'sini öldüren doz) 50-60 mg/kg'dır. Konvülsiyonlara ve solunum kaslarının felci sonucu ölüme neden olur. Nikotin tüm ganglionik sinapslarda ve nöromusküler kavşaklarda asetilkolinin etkilerini taklit ederek etki gösterir. Böceklerde motor sinirlerini bloke ederek insektisit etkisi gösterir (3).

#### 2. 1. 1. Nikotinin Tarihçesi

Tütün, Amerikalılar tarafından binlerce yıl önce içilmiş ve sosyal seremonilerinin bir parçası haline gelmiştir. Christopher Columbus 1492'de Bahamalar'dan tütün getirerek Avrupa'ya tanıtmıştır. Daha sonra tütün Jean Nicot tarafından Fransa ve Portekiz'e yayılmıştır. 1556'da Fransa ilk kez tütünle tanışmış ve Jean Nicot kısa zamanda tütün içmeyi popüler hale getirmiştir. Bu nedenle, 19. yüzyıl bilim adamları "nikotin" olarak tanınan kimyasal maddeye onun adını vermişlerdir (16-18).

## 2. 1. 2. Kimyasal Özellikleri



3-(2-(N-methylpyrrolidinyl))pyridine

Şekil 2. 1. Nikotinin Kimyasal Formülü (16).

Nikotin, üçüncü dereceden aminlerden meydana gelen pridin ve pirolidin zincirlerinden oluşur ve iki tane stereoizomeri vardır. Aktif izomeri kolinerjik reseptörleri tutan ve sigarada bulunan S-nikotindir. R-nikotin ise, kolinerjik reseptörlerin zayıf bir agonistidir. R izomer total nikotinin sadece %0.1-0.6'sı kadardır. Sigara içme sırasında içicide az miktarda açığa çıkan R-nikotin sonucu bazı rasemizasyonlar oluşur (3, 17).

Nikotin suda çözünebilen ve doğranmış tütün yapraklarının bir bardak suda 12 saat ekstraksiyonuyla elde edilebilen, renksiz, buharlaşabilen, oksidasyon sonucu kahverengiye dönüşen ve yanmış tütün gibi kokan sıvı bir alkaloiddir.

Nikotinin molekül ağırlığı 162.23 kDa'(kilo dalton) dur. Atmosfer basıncı altında 246 °C'de kaynar. Su, eter ve alkolle karışabilir (18).

## 2. 1. 3. Nikotinin Farmakokinetiği

### 2. 1. 3. 1. Absorpsiyonu:

Sigara içimiyle nikotin ilk önce solunum yollarına ve akciğer alveollerine ulaşır ve hızlı bir şekilde absorplanır. Absorpsiyondan sonra, dolaşıma girer ve beyin de dahil farklı dokulara hızlı bir şekilde yayılır. Nikotin beyne 10-20 dakika içinde ulaşır, bu sürede beyne ulaşan nikotin miktarıyla arterlerdeki miktar aynıdır. Sigara içimi sırasında arter ve beyindeki nikotin düzeyi venedeki düzeyinin 2-6 kat fazlasıdır. Beyin ve plazmadaki nikotin düzeyi, periferal dokulara dağılım ve eliminasyon nedeniyle hızla azalır (3, 19).

İçicilerde nikotin ilk olarak pulmoner çeperlerden absorbe olur. Tütün çiğneyenler nikotini hem ağız içi mukozadan hem de gastrointestinal bölgeden alırlar. Çiğnenen nikotin portal dolaşıma girer ve karaciğerde ilk geçiş eliminasyonuna uğrar. Portal dolaşımdan karaciğere giren nikotin hepatik dolaşıma girmeden önce 'kotinin'e ve diğer metabolitlerine dönüşür (20).

İçiciler gün içinde fazla sigara içtikleri zaman, plazma nikotin seviyelerinde dalgalanmalar olur. Ancak nikotinin yarı ömrü 2 saat olduğu için 6-8 saatten fazla maruziyette birikir ve gece boyunca nikotin seviyesi vücutta yüksek kalır. Bireysel farklılıklar, plazma nikotin düzeylerinin ve sigaradan vücuda alınan nikotin miktarının farklı olmasına karşın içicilerdeki nikotin düzeyinin gün boyunca ortalama 20-40 ng/ml arasında olduğu düşünülmektedir (3).

### **2. 1. 3. 2. Dağılımı**

Nikotin su ve yağda çözünebilme özelliği nedeniyle, vücuda girdiğinde kanla hızlı bir şekilde yayılır, kan-beyin bariyerini rahatlıkla geçer. Serbest formu hızlı bir şekilde solunum yollarından, dokulardan, deriden ve gastro intestinal sistemden absorbe olur. Nikotin alkali çözeltilerde noniyonize durumda bulunduğu için, deri ve mukoz membranlardan kolaylıkla geçebilir. Nikotinin en çok karaciğer, böbrek ve akciğere, en az adipoz dokuya affinitesi vardır (17).

Bir sigara ortalama 0.5-2 mg nikotin içerir. Bu miktar enjekte edildiğinde 7 erişkini öldürebilecek dozdur. Buna karşın, sigara içildiğinde çok düşük dozda alınır; arterlerde yaklaşık 100 ng/ml ve beyinde 40 ng/ml düzeyine erişir. Deney hayvanlarında nikotinin LD<sub>50</sub>'si nikotinin veriliş yoluna ve kullanılan hayvan türüne bağlıdır. İntravenöz uygulamada farelerde LD<sub>50</sub>'si 0,3-1,8 mg/kg'dır. İntraperitoneal uygulamada ise, 13-83 mg/kg'dır. Nikotinin toksik etkilerine duyarlılık yaygın olarak kemirgenlerde görülmektedir. Hayvanlardaki toksisite değerleri yorumlanırken, uygulama yolunun toksisitede önemli bir belirleyici olduğunu göz önünde bulundurmak gerekir. Hızlı i.v. enjeksiyonlar yüksek kan ve beyin konsantrasyonlarına neden olur ve en düşük dozlarda bile toksisite oluşturur. Bu uygulama oral ve i.p. uygulamalarla karşılaştırılırsa, toksisite oluşması için daha yüksek dozlara ihtiyaç duyulur. Bu durum, nikotinin presistemik metabolizmasına bağlıdır (16).

Nikotinin hücrel membranlardan geçişi pH'ya bağıdır. Eğer pH asidikse nikotin iyonize olur ve membranlardan geçişi kolay olmaz. Fizyolojik pH'da nikotinin %23-31'i noniyonizedir ve biyolojik membranları kolayca geçer (21). Soluma yoluyla alınan nikotin kan dolaşımında 5 dakika içinde doruk konsantrasyona ulaşır. Nikotinin dağılma yarılanma ömrü 7-10 dakikadır, eliminasyon yarı ömrü ise 1-4 saattir. Akciğerlerden beyne geçişi ise, 7-10 saniyedir (17, 21). Nikotin, düşük derişimlerde nikotinic reseptörlerin aktivasyonunu arttırarak adrenal salgılanmasında, kalp atış hızında, kan basıncında, solunum ve kan glikoz düzeyinde artışa neden olur. Yüksek dozlarda ise, nikotinic asetil kolin reseptörlerini bloke eder. Toksikitenin ve nikotinin insektisit olarak etkili olmasının nedeni de budur (16).

Yapılan bir araştırmaya göre, sağ ventriküle enjekte edilen nikotinin 5-10 saniye içinde akciğerdeki konsantrasyonlarında önemli bir artışa neden olmaktadır. Bunun nedeni, akciğerin geniş lipit membranının fizyolojik yapısı ve nikotinin fiziksel özelliğidir. Akciğer dokusu nikotin için kısa süreli bir depodur ve arteriyel dolaşıma geçmesini geciktiren bir etmendir (21).

### **2. 1. 3. 3. Metabolizması**

Nikotin ve kotinin metabolizmasında görev alan başlıca enzimler;

- 1- Sitokrom p-450 enzimleri, nikotin ve kotininin oksidasyonundan sorumlu en önemli enzimlerdir.
- 2- Aldehit oksidaz, nikotin iminyum iyonunun kotinine dönüşümünü sağlar.
- 3- Flavin monooksijenaz-3 (FMO<sub>3</sub>), nikotin-N-oksitin oluşumunu sağlar.
- 4- Amin N-metiltransferaz, nikotinin N-metilasyonunu katalizler.
- 5- UDP (Üridin Di Fosfat)-Glukuronil transferaz, nikotin ve kotininin faz II metabolik reaksiyonlarını katalizler (17).

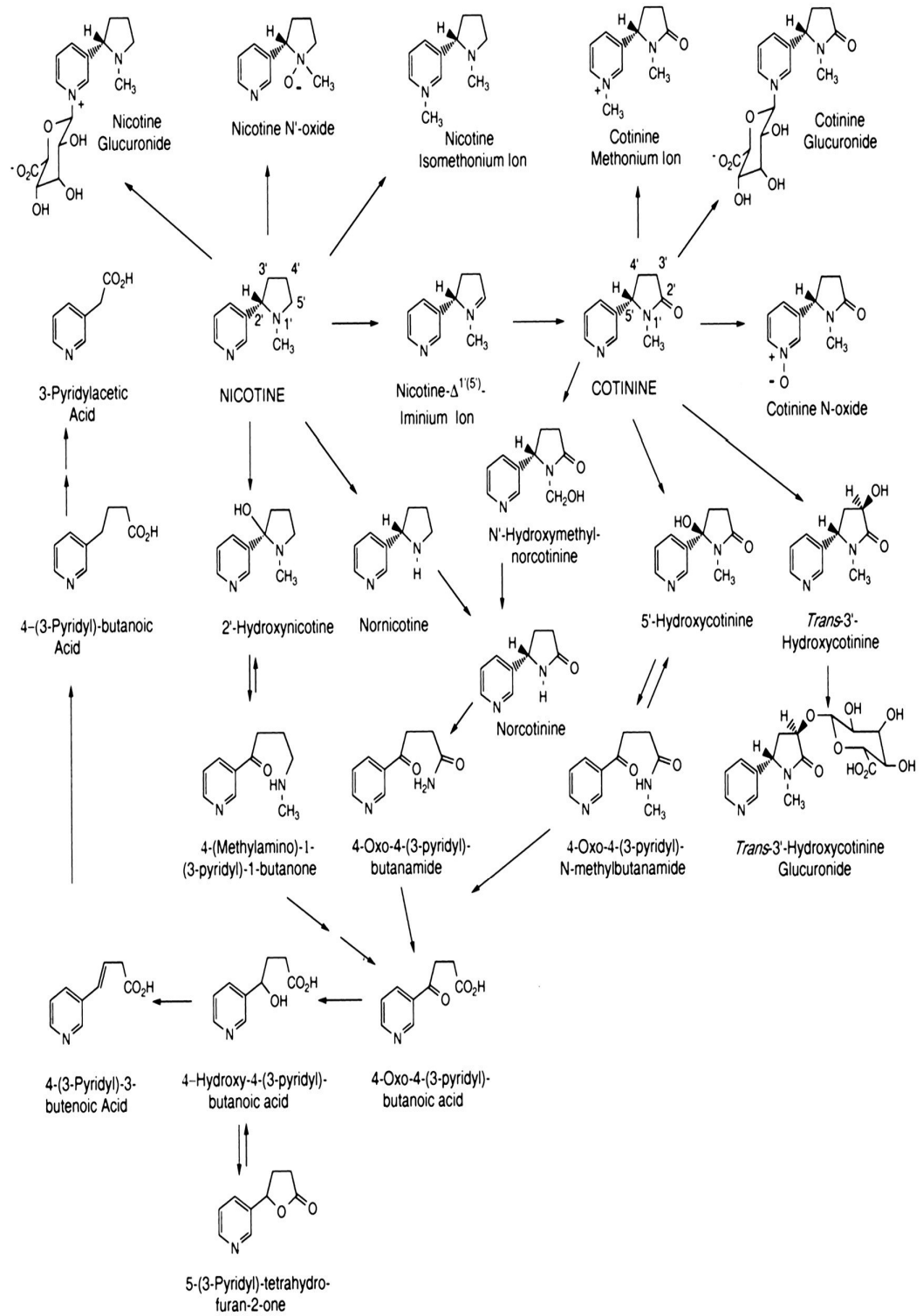
Nikotinin yaklaşık olarak %80-90'ı karaciğerde, az miktarda da akciğer ve beyinde metabolize olur. Solunan nikotinin büyük kısmı akciğerlerde metabolize olur. Nikotinin %70-80'i C-oksidasyon ile kotinine metabolize olurken, kalanın %4'ü N-

oksidasyona uğrar, %9'u ise, değişmeden idrarla atılır. %17'sinin akibeti tam olarak aydınlatılamamıştır (17, 22-26).

Yirmiden fazla nikotin metaboliti tanımlanmakla beraber, nikotinin memelilerdeki temel metabolitleri kotinin, nikotin-1-N-oksit ve trans-3-hidroksi kotinindir. Bunlar, sitokrom p-450 tarafından nikotinin hepatik oksidasyonu ile oluşan ürünlerdir. Metabolize olmamış nikotinin renal atılımı, toplam atılımın %2-20'si kadardır. Bu da idrar pH'sına ve idrar akış hızına bağlıdır. Nikotin ve kotinin kanda, tükürkte ve idrarda ölçülebilir. Kan nikotin konsantrasyonu son birkaç saat içindeki sigara içiminin, kan kotinin konsantrasyonu son bir hafta boyunca içilen sigaranın belirteçidir (24-27).

Metabolik enzimlerdeki genetik çeşitlilik, diyet, cinsiyet, yaş, hamilelik, karaciğer ve akciğer hastalıkları, ırk ve etnik farklılıklar gibi etmenler nikotin metabolizmasını etkiler. CYP2A6 (sitokrom p-450) enzimi allellerinin toplumdaki dağılımı ve düzeni nikotin metabolizmasını etkiler (17).

Etnik gruplardaki nikotin metabolizması farklılığı, CYP2A6 enzim aktivitesindeki farklılıkla ilişkilidir. Çin ve Amerika toplumlarında, CYP2A6 enzim aktivitesi, diğer beyaz ırklardan daha düşüktür. Genetik farklılıkların yanı sıra çevresel değişimlerin de CYP2A6 aktivitesi üzerinde etkileri vardır (17, 28-30).



Şekil 2. 2. Nikotin Metabolizması (17).



### 2. 1. 3. 4. Kotinin

İnsanlarda, nikotinin yaklaşık %70-80'i kotinine dönüşür. Bu dönüşüm iki basamakta olur. Birinci adımda nikotin, sitokrom p-450 enzim sistemiyle nikotin iminyum iyonuna dönüşür. İkinci adım ise aldehit oksidaz tarafından katalizlenir ve nikotin iminyum iyonu, kotinine dönüşür (17).

Kotinin, nikotinin ana metabolitidir. Hem aktif hem pasif içicilerin sigaraya maruziyet derecesinin ölçülmesi için kullanılabilen bir belirteçtir. Kotinin, kotinin-glukuronid, 3-hidroksi kotinin ve 3-hidroksi kotinin glukuronid gibi ikincil metabolitlerine metabolize olduğu için total kotinin plazma konsantrasyonunu hesaplariken bu dört metabolitin toplamı alınır (3, 22, 31). Kotininin %10'u değişmeden idrarla atılır (24).

Flavin monooksijenazlar gibi birçok sitokrom p-450 enzimi nikotin metabolizmasında rol oynar. Fakat CYP 2A6 enzimi, delta 1, 5 iminyum iyonu aracılı nikotinin kotinine dönüşümünü sağlayan asıl enzimdir. Kotinin daha sonra trans 3-hidroksi kotinine metabolize olur. Bu da idrarda bulunan en önemli nikotin metabolitidir. Kotininin yarı ömrü nikotinden daha uzundur, kan dolaşımında kalma süresi 48-96 saattir. Kan kotinin düzeyi, sigaraya maruziyetle orantılı olduğundan, nikotin maruziyetinin göstergesi olarak kotinin düzeyleri değerlendirilir. Ayrıca, kan ve tükürkte de kotininin tespit etmek mümkündür (3, 24, 29).

Kotininin yarı ömrü ve klirensi tükürkte ve plazmada aynı olup, yaklaşık olarak 20 saattir. Kotininin farmakolojik aktivitesi araştırıldığında; beyinde nörotransmitterlerin salınmasını, östrojen ve testosteron sentezini etkilediği bulunmuştur. Kotininin hayvanlarda vasküler direnci ve kan basıncını azalttığı, hafıza ve beyin işlevlerini düzelttiğini gösteren çalışmalar vardır. Kotininin hafıza bozuklukları ve hücre ölümünü engelleyebildiğini gösteren bulgular, nikotinin Alzheimer hastalığının tedavisinde, yararlılığının araştırılmasına öncü olmuştur.

Genetik farklılık, kan kotinin düzeyi üzerinde önemli bir rol oynar. Örneğin, zenci ırklardaki kan kotinin düzeyinin beyazlardan daha fazla olduğu kaydedilmiştir. Kotinin, kan, idrar ve tükürkte tespit edilebilir (20, 32, 33).

### **2. 1. 3. 5. Nikotinin atılımı**

Nikotinin böbreklerden atılımı glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyonla olur. İdrar pH'sına bağlı olarak geri emilime uğrayabilir. Nikotinin böbrek klirensi, total nikotin klirensinin % 2-35'idir. Ancak, idrar pH'sı nikotin atılımını etkiler. Çünkü pH nikotin iyonizasyonunu etkiler. Bu nedenle asidik idrarda böbrek klirensi artar, alkali idrarda ise azalır. Plazma kotinin düzeyleri ve nikotin dozu arasında güçlü bir ilişki olmasına karşın bireysel plazma nikotin düzeylerinin en güçlü göstergesi nikotin klirensidir. Ayrıca, nikotinin kotinine fraksiyonel dönüşümü de değerlendirilebilir (3, 17, 20).

### **2. 1. 4. Nikotinin Farmakodinamiği**

Nikotin kan-beyin bariyerini kolayca geçerek, nikotinik asetil kolin reseptörlerini uyarır. Nikotinik kolinerjik reseptörler, asetil kolin reseptör alt tiplerinden biridir. Bir çok nikotinik reseptör presinaptik olarak kolinerjik, dopaminerjik, glutamaterjik uçlarda lokalize olmuşlardır. Bu reseptörlerin uyarılması sonucu uç noktalarda nörotransmitterlerin salınımı artar. Nikotin, eksitator nörotransmitterlerin salınımında ve nöronal aktivasyonun artışında etkilidir. Nikotin kısmen limbik ve kortikal bölgelerde sinir uçlarını etkiler. Kronik nikotin kullanımı nikotinik reseptörlerin üretiminde ve sayılarında artışa neden olur (34, 35). Örneğin, nikotinin Alzheimer hastalığında kolinerjik sistem üzerinden koruyucu bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. İnsan ve hayvan çalışmaları öğrenmeyle ilgili işlevlerde ve öğrenme bozukluklarında nikotinik reseptörlerin önemli rol oynadığını göstermektedir. Kortikal nöronal nikotinik reseptörlerin hasarı, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının nörokimyasal bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Nikotin aynı zamanda Alzehimer, Parkinson, Tourette sendromunun, ülseratif kolitlerin, apne ve dikkat yetersizliği gibi bozuklukların tedavisinde de kullanılır (2, 3, 19).

Nikotinik reseptörler, nikotinin öforik ve güç verici etkisinden sorumlu mezolimbik dopamin sistemini aktive ederler. Nikotin bu yönüyle amfetamin, kokain opiatları ve alkol gibi diğer suistimal edilen uyuşturuculara benzer. İçiciler uyurken nikotinin plazma seviyeleri azalır ve nikotinik reseptörler dereceli olarak tekrar aktif durumlarına dönerler. İçiciler sabah saatlerinde, içmeyenlere göre daha fazla aktif reseptör bölgelerine sahiptirler ve bu da şiddetli yoksunluk semptomlarının ve nikotin

özleminin gelişmesine katkıda bulunur. Dopamin haz verici etkiden sorumlu bir nörotransmitterdir. Uzun süre reseptörlerin nikotine maruziyeti dopamin yeterliliğini azaltır. Daha sonraları aynı zevk hissini oluşturmak için giderek daha fazla nikotine ihtiyaç duyulur. Belirli bir yoksunluk (gece) döneminden sonra beyin nikotin konsantrasyonu düşer ve içici kendini rahatsız hissederek tekrar içer. Günün ilk sigarası en yüksek düzeyde zevk verir. Çünkü dopamin reseptörlerinin duyarlılığı da en yüksek düzeydedir. Daha sonra reseptörler de duyarsızlaşma olur ve tatmin duygusu azalır (34, 35).

Nikotin, beyinde otonomik ganglia ve nöromusküler kavşakta bulunan nikotinik kolinerjik reseptörler üzerinde etkilidir. Nikotinik reseptörlerin kas ve sinir reseptörleri olmak üzere iki alt sınıfı vardır. Nöromusküler nikotinik reseptörler beş alt ünitelerden oluşur ve iyon kanalları üzerinde etkileri vardır. Nöronal nikotinik reseptörler,  $\alpha$  ve  $\beta$  alt ünitelerinden oluşurlar. Alt ünite kombinasyonlarının  $\alpha_2$ - $\alpha_9$  ve  $\beta_2$ - $\beta_4$  şeklinde farklı alt üniteleri tanımlanmıştır. Bu durum, nöronal nikotinik reseptörlerin farklı tiplerinin olduğunu gösterir. Beynin farklı bölgelerinde farklı nikotinik reseptörler bulunur. Nikotinik reseptörlerin yapısal ve işlevsel farklılıkları nikotinin farklı etkilerini anlamaya yardımcı olur (3, 36-38).

Nikotin reseptörü bloke ettiğinde, reseptör alt ünitelerindeki allosterik değişimler sonucu iyon kanalları açılır ve sonra kanallar kapanarak duyarlılık azalır. Duyarlılığın azalmasının devam etmesi durumu taşiflaksinin oluştuğunu gösterir. Nikotine maruziyetinin devam etmesi sonucu, nikotinik reseptörlerin sayısında artış gözlenir (3).

Nikotinik reseptör aktivasyonu sonucu, asetilkolin, norepinefrin, serotonin, dopamin, beta endorfin, glutamat ve benzeri nörotransmitterler salıverilir. Nikotin bağımlılığı ve sigara içimine bağlı psikolojik haz duyma esas olarak dopamin salgılanmasıyla bağlantılıdır (3, 39).

Nikotinin doz-yanıt ilişkisi karmaşıktır ve nikotin alımından çok kısa bir süre sonra tolerans gelimesi söz konusudur. Küçük dozlarda nikotin, sempatik aktivasyona neden olur. Öncelikle periferik kemoreseptörlerin aktivasyonu veya beyindeki doğrudan etkilerine kalp atış hızında artış ve kan basıncında yükselme eşlik eder. Daha yüksek dozlarda, gangliyonik uyarımla doğrudan periferik nöral sistemi etkiler ve adrenallerden

kateşolamin salıverilir. Çok yüksek dozlarda ise, nikotin hipotansiyona ve bradikardiye neden olur. Gangliyonik engelleme sonucu beyinde depresif etkiler oluşturur (3, 40).

Asetilkolin, SSS boyunca sinaptik iletimde anahtar rolü olan birçok nörotransmitterden biridir. Kolinerjik nöronlar tarafından sentezlenir, salıverilir ve depolanır. Nikotinik ve muskarinik reseptörler SSS'de yaygın olarak dağılırlar. Asetilkolin CRH'nin (Kortikotropin salgılatıcı hormon) hem nikotinik hem de muskarinik asetil kolin reseptörleriyle salıverilmesini uyarır. Nikotin ön salgı kortikotropolarından ACTH (Adrenokortikotropik hormon) salıverilmesini uyarmak için merkezi mekanizmaları etkiler. Nikotin hipotalamik adrenal salgı ekseninde stresten sorumlu hormonların salıverilmesi için güçlü bir uyarıcıdır. Stresin uyarılması aynı zamanda HPA (Hipofiz adrenal) aktivitesini etkileyen santral kolinerjik sistemi uyarır (35-41).

Nikotin, HPA ekseninin düzenlenmesinden sorumlu beyin yapılarını aktive eder. HPA ekseninin aktivasyonunda önemli rol oynayan nikotinik asetilkolin reseptörlerinin uyarılması amacıyla i.p. nikotinin işlevsel seçiciliğini tespit etmek için kolinerjik antagonistlerin kullanıldığı çalışmalarda, nikotinin ACTH ve CRH salıverilmesinden sorumlu santral nikotinik asetilkolin reseptörlerini seçici olarak uyardığı gösterilmiştir. Nikotin, diğer sempatik bölümlerdeki gibi adrenal bezlerinden de adrenal salıverilmesine neden olur (39).

Nikotin bazı duyuşal reseptörleri önce uyarır sonra bloke eder. Örneğin geniş arterlerde bulunan kimyasal reseptörler, dil ve derideki termal ağrı reseptörleri önce uyarılır sonra deprese olur. Nikotinin etkilerinin bazılarının daha iyi anlaşılması, araştırmacıların bu kimyasalı taklit ederek spesifik ve yararlı yeni ilaçları tasarlamasına yardım eder. Nikotinin pirol halkasının üzerine azot yerleşmiş aktif şeklinin asetil koline karşı affinitesi düşüktür. Nikotinin beyindeki temel transmitter olan asetilkolinin yerini aldığı bilinmektedir (42).

Asetilkolin farklı iki reseptörü bağlayabilme özelliğine sahiptir. Bunlar nikotin tarafından aktive edilen nikotinik reseptörler ve muskarin tarafından aktive edilen muskarinik reseptörlerdir. Nikotin ve muskarin kolinerjik reseptörlerin spesifik agonistidirler. Nikotin yarışmalı olarak nikotinik kolinerjik reseptörleri bağlar. Bu bağlanma sonucu birkaç mili saniye içinde iyon kanalları açılır. Bu açılma

depolarizasyona öncülük eder. Daha sonra kanal kapanarak duyarsızlaşma ve ardından reseptör dinlenme durumuna geçer. Normal fizyolojik koşullarda asetilkolinin bağlanmasıyla kanal açılır, daha sonra reseptör dinlenmeye çekilmeden önce desensitizasyon durumu oluşur veya yeniden döngüye katılır. Nikotinle maruziyet durumunda ise, nikotin asetilkolinin yerini alarak nikotinik reseptörleri uyarır. Reseptör uzun süre inaktive olur ve tekrar döngüye katılması nikotin tarafından önlenir (43).

## **2. 2. Nikotin ve Sigara**

Sigara içme dünya çapında yaygın bir sağlık problemidir. Nikotin sigara dumanındaki bağımlılık yapan asıl vazoaaktif bileşendir. Nikotin vücuttaki kolinerjik reseptörleri etkileyerek birçok kardiyovasküler ve toksik etkilere karşı tolerans oluşumuyla birlikte karışık bir doz-yanıt ilişkisi sergiler (3).

Sigara içimi sırasında hem gaz hem sıvı halde değişik bileşikler oluşur. Gaz fazı sigara dumanı ağırlığının %95'ini oluşturur. Diğer partiküler faz ise %5 oranındadır. Sigara dumanının gaz fazı yapısında başta azot (N), karbonmonoksit (CO), karbondioksit (CO<sub>2</sub>), amonyak (NH<sub>3</sub>), hidrojen siyanür (HCN) ve benzen olmak üzere 500 civarında toksik gaz bulunmaktadır. Partiküler fazda ise yaklaşık 3500 kadar farklı bileşik bulunur. Nikotin, sigaranın SSS üzerindeki etkilerine, vasküler etkilerine ve bağımlılığa neden olan en önemli bileşenidir. Diğer alkaloidler nornikotin, anatabin, anabazin ve 'tar'dır. Tar, birçok karsinojende bulunan N-nitrozaminler ve aromatik aminler gibi polinükleer aromatik hidrokarbonları içeren bir bileşiktir (3, 44, 45).

Sigara içimi sırasında, soluk borusundan ve bronşlardan geçen sigara dumanı göğse iner. Sigara dumanındaki HCN, bronşların çeperini yakar ve kronik öksürük ortaya çıkar. Bronşlar zayıfladıkça, bu bölgede pek çok hastalık oluşur. Akciğer salgılarının azalması da kronik öksürüğe yol açan bir etmendir. Sigara içenler, içmeyenlere oranla on kat daha fazla akciğer kanseri olma riski taşırlar (46, 47).

### **2. 2. 1. Nikotin ve Kardiyovasküler Sistem**

Sigaranın gaz ve katran fazı büyük oranda reaktif serbest radikaller ve radikal oluşturan bileşikler içermektedir. Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonun kardiyovasküler hastalıklar dahil birçok kronik ve dejeneratif hastalığın patojenezinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. Öte yandan, sigaranın

gaz fazında bulunan serbest radikallerin antioksidan savunma sistemlerini baskılayarak protein ve lipit gibi makromoleküllerde hasar oluşturduğu bilinmektedir. Ayrıca, sigaranın gaz ve katran fazının ürettiği radikaller antioksidan sistemleri baskılayarak, trombosit hiperreaktivitesini de artırarak doku hasarına yol açar. Serbest oksijen radikalleri serebral iskeminin patofizyolojisinde önemli rol oynarlar (48, 49).

Nikotin kan basıncını yükseltir ve kanın daha çabuk pıhtılaşmasına sebep olur. Sigarada bulunan karbon monoksit kandaki oksijenin tüketimine yol açarak, damarlarda kolesterol depolanmasına, sonuçta kalp krizi riskinin artmasına neden olur. Bunun yanı sıra, kan dolaşımı bozukluklarına bağlı olarak; felç, parmaklarda kangren ve iktidarsızlık, sigara içenlerde sıklıkla görülür (50).

Sigarayla birlikte solunan karbondioksit, kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobine bağlanarak oksijenin aynı bölgeye bağlanmasını engellemektedir. Bu durumu telafi etmek için kırmızı kan hücreleri sayısında artış olur. Sigara içme, vasküler olayları etkileyerek; hiperkoagülasyonu indükler, myokardiyal işleyişi artırır, kanın karbonmonoksit aracılı oksijen taşıma kapasitesini azaltır, periferik ve koroner vazokonstriksiyona ve kateşolamin salıverilmesine neden olur. Nikotin bu etkilerinin bazılarını doğrudan sempatik nöral aktiviteyi artırarak gerçekleştirir. Dolaylı olarak da kateşolaminlerin dolaşımdaki düzeylerini artırarak etki gösterir (51).

Nikotin, deri ve diğer bazı vasküler tabakalarda vazokonstriksiyona neden olurken, iskelet kası gibi dokularda ise vazodilatasyona neden olur. El ve ayaklarda sigara içimi süresince cilt damarlarındaki vazokonstriksiyon sonucu sıcaklık azalması olur. Sigara içimi ve nikotin sakızı cilt kan akımını azaltır. Cilde yeterli kan akışının olması yaraların iyileşmesi için önemlidir. Nikotin yerine koyma tedavisinin yaraların iyileşmesini geciktirebildiği gösterilmişse de henüz bu konuda yeterince araştırma yoktur. Koroner kan akışı üzerindeki etkileriyle de iskemiye ve aritmilere neden olur. Son zamanlarda yapılan intrakoroner Doppler ölçümleri, sigara içiminin epikardiyal arterleri büzdüğünü ve total koroner vasküler direnci artırdığını göstermiştir. Böylece hem epikardiyal kasılma hem de kan damarlarındaki direncin sonucu olarak sigara içme nedeniyle koroner kan akışında bozukluk görülür (3, 6).

Nikotin, kateşolaminlerin salıverilmesi yoluyla lipolizi artırır ve karaciğer tarafından tutulan serbest yağ asitleri dolaşıma salınır. Bunun sonucu olarak ÇDDL(Çok

Düşük Dansiteli Lipoprotein) sentezi artar ve YDL(Yüksek Dansiteli Lipoprotein) sentezi azalır. ÇDDL, DDL'deki (Düşük Dansiteli Lipoprotein) artış ve YDL kolesteroldeki azalışla birlikte lipit dağılımındaki değişiklikler, nikotinin ateroskleroza indüklediği önemli mekanizmalardır. Sigara, akciğer ve miyokardiyal enfarktüs, periferel arteriyel ateroskleroz gibi birçok kardiyovasküler hastalık için önemli bir risk faktörüdür. Sigara içimi ve sigaranın içerdiği nikotin gibi aktif bileşikler bu hastalıklara katkıda bulunan esas nedenlerdir. Mekanizma, arasıdonik asit metabolizmasını ve kateşolamin düzeylerini değiştirerek, lökosit ve platelet aktivasyonlarının artmasına bağlıdır (3, 19, 52, 53).

Nikotin ve karbonmonoksit arteriosklerotik vasküler hastalıklara katkıda bulunur. Nikotin serbest yağ asitlerinin salınımını etkileyerek ve ÇDDL'nin DDL'ye dönüşümünü artırarak, DDL klirensini azaltarak ve/veya YDL metabolizmasını hızlandırarak etki gösterir. Trombozun oluşumu arteriogeneizde önemli rol oynar. Trombositler arteriosklerotik plağın desteğiyle vasküler endotel hücrelerin büyümesini sağlayan büyüme hormonunu salgılayabilirler. Sigara içenlerde, pıhtılaşma, içmeyenlere göre daha hızlıdır. Yapılan çalışmalar, sigara içenlerin trombositlerinin içmeyenlerinkine göre daha reaktif ve daha kısa ömürlü olduğunu göstermektedir. Nikotin, trombosit reaktivitesini artıran adrenalinin saliverilmesini uyararak trombositleri etkiler. Prostatiklini inhibe ederek veya doğrudan etkileyerek endotel hücrelerden bir antiagregan hormon saliverilmesine neden olur. Nikotine maruz bırakılan deney hayvanlarının aortik endotel hücrelerinde yapısal hasar ve mitotik aktivitede artış olduğu bildirilmiştir. Nikotinin aynı zamanda vasküler hücre kültürlerinin yapısal ve işlevsel özelliklerini azalttığı bulunmuştur. İntravenöz veya p.o. nikotin verilmesi farelerde doza bağlı olarak endotel hücrelerinin çekirdeksiz kısımlarının dolaşımında artmasına neden olur. İnsanlarda *in vitro* çalışmalar hayvan çalışmalarını desteklemektedir. Bu çalışmalar, nikotinin birçok potansiyel mekanizma sonucu oluşan arteriogeneizde önemli rolü olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, pipo içicilerinin kan nikotin düzeyleri sigara içenlerle karşılaştırıldığında aynı bulunmasına karşın, kan karbonmonoksit düzeylerinin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ancak koroner kalp hastalıkları riski aynı ölçüde bulunmamıştır. Sigaradan solunan nikotinin hızlı emilimine bağlı olarak pulmoner afferent sinirler etkilenir. Pipo ve sigaranın kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri, mukoz membranlardaki emilim farklılıkları nedeniyle aynı değildir (50, 54, 55).

Sigara içme, tek başına kronik hipertansiyon için bir risk faktörü olmamakla birlikte sigara içme ve nikotin kan basıncını artıran önemli etmenlerdendir. Kronik hipertansiyon gidişatını veya sigara içicilerindeki hipertansiyonu hızlandırmasının yanı sıra nikotin vazokonstriksiyonu ve sempatik aktivasyonu artırarak, prostaglandin sentezini baskılayarak, kronik hipertansiyon gelişimine katkıda bulunur. Hipertansif vasküler hastalıklara bağlı olarak böbrek kan akışının değiştiği hastalarda nikotinin, renal iskemiye ve hipertansiyonun şiddetlenmesine neden olarak, böbrek kan akışını azalttığı görülmüştür. Hipertansiyonlu hastalarda nikotine bağlı olarak, kan basıncı 10 dakikada 110/70mmHg'dan 300/103 mm/Hg'ya ve kalp atışı 70'den 110'a yükselir (56).

### **2.2.2 Nikotin ve Solunum Sistemi**

Sigara içimi esas olarak kronik akciğer hastalıklarına neden olur. Nikotin doğrudan ve dolaylı olarak içicilerde dokular arasında hava kalmasına neden olur. Hızla pulmoner epitel hücrelerde birikir ve bazı metabolitleri uzun süre akciğerlerde tutulur. Sigaraya sürekli maruziyette, alveollerde makrofajların birikimiyle ve polimorfonükleofillerin akciğere girişiyle, kronik bronşiyal duvar enflamasyonu gelişir. Makrofajlar ve nötrofiller alveoler yapıyı yıkan bir enzim olan 'elastaz' salgılar. Nikotinin solunması sonucunda solunum yollarında ödem oluşumu indüklenir. Nikotin, aynı zamanda akciğer hastalığı olan içicilerde pulmoner işlevleri daha da kötüleştirir. Nikotine akut maruziyet hem periferel hem santral yolların büzülmesine neden olur. Solunum yollarındaki direnç artışı nikotinin vagal refleksleri bağlamasına ve bronş duvarındaki parasempatik gangliayı uyarmasına bağlıdır. Nikotin kemotaktik etkisi sonucunda akciğer enflamasyonunu indükler ve kronik akciğer hastalıklarının gelişmesine yol açar (19, 26, 57).

### **2. 2. 3. Nikotin ve Sindirim Sistemi**

Nikotin, gastrointestinal sisteme alındıktan sonra, çok düşük düzeylerde nikotin türevi nitrozaminlere dönüşür (19). Sigara içimi, mide asit salgısını artırarak, mide yanmaları ve ülsera neden olur. Sigara bağımlılarında pankreas kanserine çok sık rastlanır ve bunlar büyük ölçüde ölümla sonuçlanır. Sigaranın içerdiği kanserojen maddeler, idrarla atıldığı için, mesane kanserleri sıklıkla görülür. Sigara yüzünden oluşan yüksek kan basıncı ise böbreklere büyük zarar verir. Nikotin, sindirim sisteminin



üst kısmı, pankreas, renal pelvis ve serviks kanserleri için de risk oluşturmaktadır. Sigara dumanında, birçok karsinojenik madde tanımlanmıştır. Deneysel çalışmalar, polinükleer aromatik hidrokarbonların ve N-nitrozaminlerin içicilerde kanseri indüklemeye önemli rollerinin olduğunu göstermektedir (58).

Peptik ülserli hastalarda, sigara içimi ülserin ilerlemesine neden olarak, tedavinin yetersiz kalmasına ve ülserin tekrarlanmasına yol açar. Deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda, nikotinin histamin ve pentagastrin salıverilmesini uyararak peptik ülserle neden olduğu gösterilmiştir. Kronik nikotin uygulaması, sıçanlarda parasempatik mekanizmalarla ilişkili olarak bazal asit salgılanmasını artırır. Kronik sigara içimi asit hipersekresyonunu uyarırken, ince bağırsağa gelen asiti nötralize eden pankreatik bikarbonat sekresyonunu azaltır. Sigara içimi mukozal kan akımını azaltarak ve mukozal prostaglandin sentezini baskılayarak, mideyi asite karşı koruyan gastrik mukozal bariyerin etkisini zayıflatır. Diğer taraftan, özefagal ve pilor sfinkteri basıncında azalma görülür (58, 59).

#### **2. 2. 4. Nikotin ve Hormonal Sistem**

Etki mekanizması net olarak ortaya konmamışsa da, nikotinin osteoporoz için de bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Sigara kullanan postmenopozal kadınlarda östrojen yerine koyma tedavisinde bile sigara kullanmayanlara göre daha düşük östrojen düzeyleri bulunmuştur. Östrojen seviyesindeki düşüş, sigara içimiyle östrojen metabolizmasında rolü olan enzimlerin induksiyonuna bağlı olabilir (60).

Nikotinin plasentayı kolaylıkla geçebilmesi, çok yüksek dozlarında teratojenik etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Fare ve tavuk embriyosuna zarar verdiğini gösteren çalışmalar vardır. Kronik nikotin maruziyeti sıçanlarda gebelik boyunca yavruda davranışsal ve elektrofizyolojik değişikliklerle kendini gösteren gizli nörolojik değişimler oluşturur. Yapılan çalışmalar prenatal ve postnatal nikotin maruziyetinin fetal fare akciğerlerinde yapısal değişimlere yol açtığını göstermektedir. Annenin nikotine maruziyeti fetal akciğer dokusunda glikoz metabolizmasını baskılar. Bu tür bulgular, yüksek doz nikotinin fetüs üzerinde toksik etkilere neden olduğunu kanıtlamaktadır (61, 62).

Gebelik döneminde sigara içimi, düşük kilolu bebek, prematüre doğum, düşük yapma ve prenatal ölüm ile belirgin 'fötal sigara sendromu' riskini artırır. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, nikotin implantasyonunun embriyo gelişimini etkilediği gösterilmiştir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, gebeliğin 14. gününden bitimine kadar düşük doz nikotin (0.1 mg/kg/gün s.c.) uygulamasının fötal gelişim üzerinde etkisinin olmadığı bulunmuştur. Ancak, daha yüksek dozlarda (1 mg/kg/gün), kuşlarda yavruların boyutunda azalma ve yavru sayısında artış gözlenir. Sigaradaki karbonmonoksit ve nikotin, fetüse giden oksijen miktarını azaltarak fetüsün gelişimini olumsuz etkilerler. Karbonmonoksit solunması sonucu, hem maternal hem fötal karboksihemoglobin düzeyi yükselir. Gebe koyunlarda nikotinin, kateşolamin salgılanmasını uyararak, uterusun vasküler direncini artırdığı ve uterusun kan akımını azalttığı gösterilmiştir. Sigara içimi ve nikotin sakızının gebeliğin ikinci üç aylık dönem boyunca sempatik aktivasyon sonucu fötal kalp atışını artırdığı bildirilmiştir. Üçüncü üç aylık dönem boyunca sigara içimi veya nikotin sakızı çiğneme fötal kalp atışını ve solunum hareketlerini azaltmaktadır. Bu durum, fötal hipoksinin bir göstergesidir. Sigara içen gebelerde üçüncü üç aylık dönem boyunca amniyotik sıvıdaki kateşolamin düzeyindeki artış, fetüsteki sempatik aktivasyonu uyarır (62).

Sigaranın insülin direncini artırması, glikoz toleransını azaltması, kortizol ve büyüme hormonu gibi glikoza karşı düzenleyici hormonların düzeylerini artırması, tip II diyabete zemin oluşturur. Uzun süreli sigara kullananlarda gözlenen hiperinsülinemiye sigaradaki hangi bileşiğin neden olduğu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak bu hormonal değişiklikten nikotinin sorumlu olduğu düşünülmektedir (63).

Sağlıklı içicilerde nikotinin, insülin, glikoz, kortizol ve büyüme hormonu üzerindeki etkilerini anlamak için nikotin bantlarının kullanıldığı bir çalışmada, nikotinin glikoz ve insülin düzeylerinde artışa yanıt olarak kortizol ve büyüme hormonu düzeylerinde değişime neden olduğu ortaya konmuştur. Buna karşın, sağlıklı erkeklerde i.v. düşük doz nikotinin insülin ve glikoz düzeylerini değiştirmedini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Transdermal nikotin bantları nikotini yavaş ve düzenli olarak salıverdiği için sigara içenlerle kıyaslandığında, hiperglisemiye daha az neden olduğu ileri sürülmektedir (4).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, sigara içen kadınlarda hipotiroidizm görülme sıklığının arttığını göstermektedir. Sigaranın guatrojen tiyosiyanat olarak bilinen

bileşimin düzeylerini artırarak, hipotiroidizme neden olduğu düşünülmektedir. Ancak, görülme sıklığının artışı bu mekanizmayla açıklamak olanaksızdır. Nikotin dışındaki sigara bileşenlerinin olarak tiroid işlevleri üzerinde buna benzer bir etkisinin olduğu konusunda yeterli bilgi yoktur. Nitekim, deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, nikotin infüzyonunun hipotiroidli sıçanlarda serum T4 (Tiroksin), T3 (Triiyodotironin), TSH (Tiroit uyarıcı hormon) ve kolesterol düzeyleri üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Aynı zamanda, nikotinin tiroid bezi çıkarılmış sıçanlarda da serum T4, T3, TSH ve kolesterol düzeylerini değiştirmediği gözlenmiştir. Bu nedenle, nikotinin insanlarda tiroid üzerindeki olumsuz etkilerden sorumlu olduğunu iddia etmek için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır (64).

## **2. 2. 5. Nikotin ve SSS**

Sigaranın dikkat, öğrenme ve problem çözme yeteneğini artırdığına dair teoriler vardır. Sigara içenler sigaranın morallerini yükselttiğini, gerilimlerini ve depresif duygularını azalttığını söylemektedirler. Ancak, kısa dönemde nikotinin, beyinde kan akımını arttırırken uzun dönemde, azalmaya yol açması ile ilgili bulgular nedeniyle, bu tür savların geçerliliği tartışmalıdır (26).

Diğer taraftan, kimi psikiyatrik hastalara göre şizofrenlerin sigara içme prevalansı genel toplumdaki sigara içme prevalansından üç kat, diğer psikiyatrik hastalardan ise %40-100 daha fazla bulunmuştur. Kliniksel çalışmalar şizofrenlerdeki negatif semptomların sigara içimi sonrasında frontal korteksten dopamin salgılanması nedeniyle azaldığını ve sigara içiminin bırakıldığı zaman şizofrenik semptomların daha kötüye gittiğini göstermektedir. Şizofrenler için sigara içimi bir nevi kendi kendine tedavi haline gelmiştir (33, 41).

Yunanistanda yapılan bir çalışmada, şizofrenlerin sigara kullanma oranının genel toplumdan %42-58 daha fazla olduğu görülmüştür. Sigara içme ve şizofreni arasındaki ilişkiye bakıldığında, sigaranın hastalığın semptomlarını veya kullanılan ilaçların yan etkilerini düzelttiği düşünülebilir. Diğer bir alternatif hipotez, alfa-7 nikotinik reseptör üzerindeki sigaranın ve hastalığın biyolojik etkisinin olduğu yönündedir. Bu hastalar yüksek miktarda nikotin içeren sigaraları tercih ederler ve sigarayı nikotinin en fazla bulunduğu sigaranın en sonuna kadar içerler. Başka bir çalışmada, sigara içen şizofrenlerin idrarındaki kotinin seviyelerinin çok yüksek olduğu

bulunmuştur. Bu durum muhtemelen, hastaların sigara dumanını derin solumalarıyla bağlantılıdır.

Nikotinin SSS üzerindeki etkileri karmaşıktır ve kısmen nörotransmitterlerle etkileşmeyi kapsar. Nikotinin SSS'deki depresan etkisi dopamin ile değil, karbonhidrat ve asetilkolin metabolizmasındaki değişimlerle ilgili olabilir (33, 65).

Nikotin sigarayı bırakma tedavisinde kullanılmakla beraber ülseratif kolitlerde, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında da tedavi edici alternatif bir madde olarak kullanılır. Ancak, ilaç geliştirmede nikotinin faydalı etkilerinin yanı sıra risklerinin de değerlendirilmesi gerekir (17). Epidemiyolojik çalışmalar, nikotinin immün sistemi baskılayıcı etkileri sayesinde Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesine karşı koruyucu olduğuna dikkat çeker (2, 26, 66).

### **2.3. Nikotinin Toksik Etkileri**

Nikotinin, 60 mg'ı bir erişkini birkaç dakika içinde solunum felci sonucu öldürebilir. Nikotinin hepsi içiciye geçmez veya insanı öldürecek kadar yeterli bir sürede emilmez.

Düşük dozlarda nikotin toksisitesinin bulguları; bulantı, kusma, salivasyon (tükrük salgısında artış), periferik vazokonstriksiyona bağlı soluk almada zorluk, güçsüzlük, bağırsak hareketlerinin artışına bağlı karın ağrısı, diyare, soğuk terleme, baş ağrısı, kan basıncında artma, taşikardi, tremor ve baş dönmesidir (67).

Nikotin toksisitesi sonucu ortaya çıkan diğer bazı durumlar dikkat toplamada güçlük, konfüzyon ve duyuşsal algı bozukluklarıdır. Ayrıca, nikotin REM uykusunda azalmaya yol açar (68).

Sigaradaki tar ve diğer kimyasallar kanserin asıl nedenidir. Fakat yeni yapılan çalışmalar nikotinin tek başına da kanserojenik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Nikotin metabolitleri; N-nitrozonornikotin ve 4-(N-metil-N-nitrozamin)-1-(3-pridil)-1-bütanon sigara dumanındaki majör kanserojenlerdir (69).

Nitrozamin yapısındaki metabolitler, DNA iplikçiklerindeki kırılmalarda belirgin bir artışa neden olurlar. Uygun dozda, E vitamini veya beta-karotenin, DNA

kırılmalarına karşı önemli bir koruyucu etki sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca, oksijen radikalini uzaklaştıran SOD (Süper oksit dismutaz), CAT (Katalaz) gibi enzimler de önemli ölçüde DNA hasarını azaltırlar (67).

İnsan çalışmalarında, nikotin alımına bağlı zehirlenme ve ölümlerin nedeninin çoğunlukla nikotin içeren pestisitlerden kaynaklandığı ortaya konmuştur. Ölüm, genellikle solunum yollarındaki kasların paralizine ve solunum yetmezliğine bağlıdır. Nikotin intoksikasyonu aynı zamanda ciltle temas sonucunda da görülebilir. Buna benzer maruziyetler nikotin içeren insektisitlerle derinin veya kıyafetlerin teması sonucu ve tütün yapraklarıyla temas edilen işlerle meşgul olanlarda görülür. “Yeşil tütün hastalığı”, arazilerdeki tütün yapraklarıyla çalışan işçilerde görülen bir meslek hastalığıdır ve tütün yapraklarının üzerindeki çiğlerde bulunan nikotinin ciltten emilimi sonucu oluşur. İşçiler arasında hiç sigara içmeyenlerin idrarındaki kotinin düzeyi arka arkaya üç sigara içildiğinde oluşacak kotinin seviyesi kadardır. Yeşil tütün hastalığının semptomlarına benzer belirtiler, Asya ve Hindistan’da, tütün yaprakları toplayan işçilerde de görülmüştür. Tütün ürünlerini harmanlayan işçilerde sigara kullananlardaki gibi tolerans gelişir. Zehirlenmelerde nikotin kan düzeyi yaklaşık olarak 200-300 ng/ml olarak bulunmuştur (59).

#### **2. 4. Nikotin Bağımlılığı**

Nikotin intoksikasyonu için bir tanı kategorisinin olmamasına karşın yoksunluğu için kriterler belirlenmiştir. Yoksunluk belirtileri genellikle son sigaradan sonraki 2 saat içinde ortaya çıkar ve 24-48 saat içinde zirveye ulaşır. Yoksunluk belirtileri, haftalar ve aylar boyunca devam edebilir. Sık görülen bulgular şiddetli bir açlık hissi, gerilim, irritabilite, konsantrasyon güçlüğü, uyku hali, uyumakta güçlük, kalp hızının ve kan basıncının düşmesi, iştahın artması ve kilo alma, motor aktivitede azalma, depresyon ve kas gerginliğinde artmadır (3, 26).

Nikotin yoksunluk sendromu insanlarda başlangıçta hızlı olur ve 24 saat içinde doruk düzeye ulaşır. Nikotin bağımlılığının mekanizmalarını araştırmak için hayvan modelleri yararlı olsa da sadece birkaç model kullanılabilir. Sıçanlarda s.c nikotin infüzyonu lokomotor aktiviteyi azaltmakta ve dış gıcırdatma, nefes kesikliği, üst göz kapağının düşmesi gibi davranış değişikliklerine neden olmaktadır (65).

Sürekli sigara kullananlar fiziksel bağımlı haline gelirler. Nikotin bağımlılığının eroin ve kokain bağımlılığına benzer bir bağımlılık olduğu bildirilmiştir. Nikotinin beyin çevresindeki MAO (Mono amino oksidaz) üretimini baskılayarak dopamin düzeyini artırması, kişide zevk verici bir his oluşturur. Bu yanıt, kokainin ve eroinin oluşturduğu etkilere benzer. Nikotin bağımlılığının nedenlerinden biri de insanların dopamin seviyelerini yüksek tutmaya çalışması çabasıdır (16).

Bağımlılık mekanizmasının tam bilinmemesine karşın, normal elektron transfer zincirleriyle iminyumların birbirini etkilemesinin veya beyinde reseptör bloğu sonrasında elektriksel etkilerin sonucu olduğu düşünülür (67).

Akut nikotin uygulaması, dopamin, noradrenalin, 5-HT (Serotonin) gibi beyin monoaminlerinin salınımını değiştirmektedir. Nikotinin lokomotor uyarıcı etkisi, mezolimbik dopamin salınımını uyarma yeteneğine bağlıdır. Son çalışmalar, nikotinin lokomotor aktivite üzerindeki uyarıcı etkileriyle mezolimbik dopamin arasındaki ilişkinin karmaşık olduğunu göstermektedir. Sigaranın bırakılması ile ortaya çıkan sinirlilik ve depresyonda, 5-HT'nin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (65).

Kronik nikotin uygulaması farelerde 5-HT metaboliti olan 5-HIAA'nın (5-Hidroksi indol asetik asit) striatum, hipotalamus ve korteksteki düzeylerinin belirgin derecede artışına neden olur. Araştırma sonuçlarına göre nikotinin lokomotor uyarıcı etkilerinin onun mezolimbik dopaminerjik nöronları uyarma yeteneğiyle ilgili olduğunu öne sürer. Bu nedenle nikotin verilen farelerde dopaminerjik aktivitenin artışı, DOPAC, (Dihidroksifeni asetik asit) HVA (Homovanilik asit) konsantrasyonlarının artışı ve dopamin metabolizmasının artışıyla ilişkilidir (65-67).

İnsan ve hayvan çalışmalarında, nikotinin davranışsal ve kardiyovasküler etkilerinin bazılarını karşı tolerans geliştiği gösterilmiştir. Örneğin, taşikardiye karşı hızlı tolerans gelişimi söz konusudur (68-71).

## **2. 4. 1. Nikotin Bağımlılığının Tedavisi**

### **2. 4. 1 .1. Nikotin Sakızı**

Nikotin sakızındaki nikotin, oral mukozadan emilir. Plazma nikotin seviyeleri, 30 dakika sonra plato düzeyine ulaşır ve 2 saat içinde de azalmaya başlar. Nikotin, sakız

çiğneme sırasında devamlı olarak salınır. Nikotinin sistemik dozu, sakızın içerdiği asıl nikotin miktarından çok daha azdır. Bu nedenle sakız çiğneme ve sigara içme kıyaslandığında nikotin sakızlarının plazma nikotin seviyeleri çok daha düşüktür (3).

#### **2. 4. 1. 2. Transdermal Nikotin Bandı**

Transdermal nikotin bantları, bandın tipine bağlı olarak günde ortalama 15-22 mg nikotin salıverir, emilimi yavaş olur ve 6-10 saat içinde doruk düzeye ulaşır. Bu düzeyde 7-8 saat boyunca sabit kalır. Bant kullanımı sırasında nikotinin plazma düzeyi, nikotin klirensindeki değişimler izlenerek tayin edilir. Transdermal nikotin emilimi cilt kan akımıyla doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle vazoaaktif ilaçlar, uygulama sırasındaki farklılıklar, deri sıcaklığındaki değişimler, vazokonstriksiyon, vazodilatasyongibi etmenler, nikotinin transdermal emilimini etkiler (3, 72, 73).

#### **2.4.1.3. Nazal Nikotin Spreyi**

Nikotinin nazal spreyleri 1 mg nikotin salıverirler. Bunun %20-50'si uygulamadan hemen sonra emilir. Uygulandıktan yaklaşık 5 dakika sonra arteriyel plazma düzeyleri doruk düzeye ulaşır. Nazal spreyle, sigara içme ve transdermal bantlardan 5-6 kat daha fazla nikotin emilimine neden olurlar. Ancak, plazma nikotin düzeyleri sigara içmeyle kıyaslandığında daha düşüktür. Sigara içiminde olduğu gibi, nazal spreyle de arteriyel nikotin plazma düzeyi venöz düzeylerden 2-3 kat daha fazla olur (72, 73).

Nikotin yerine koyma tedavileri nikotin bırakıldığında yoksunluk sendromlarını azaltır. Ancak, nikotin yerine koyma replasman tedavisi sırasında da kardiyovasküler komplikasyonlar görülebilir. Sigara bırakmada kronik nikotine alternatif olarak nikotin yerine koyma tedavisinin kullanılması konusu ve nikotin yerine koyma tedavisinin eikozanoid sentezi üzerindeki etkileri yeterince bilinmemektedir. Yerine koyma tedavisi sırasında eikozanoid sentezindeki değişiklikler kardiyovasküler hastalıklara katkıda bulunabilir. Yerine koyma tedavisinde nikotin sakızı ve nikotin bandının erkeklerde araşidonik asit metabolizmasında, COX ve 5-LO (5-lipoksijenaz) yolları üzerinde etkileri olduğu bildirilmiştir (73, 74).

Nikotinin transdermal sistemden salındığında plazma düzeyindeki artış yavaş ve derecelidir ve arteriyel doruk düzeyi alçaktır. Bu nedenle, takviye etkilerin çoğu

kaybolur ve bırakma toleransı gelişebilir. Transdermal nikotin bantları ve nikotin sakızlarından nikotin salıverilmesinin devam etmesi durumu nikotin bağımlılığının gelişmesinde risk faktörü olarak düşünülmektedir. Nazal spreylerde de sigara içmeye benzer olarak arteriyel plazma nikotin düzeyinin hızla yükseldiği görülür ve vendeki seviyeden 2-3 kat daha fazla olur (3, 75, 76).

#### **2.4.1.4. Nikotin bağımlılığında güncel tedavi yöntemleri**

**Bupropion:** Bupropion tütün bağımlılığının tedavisinde etkisi gösterilen ilk non-nikotin bir antidepresandır. Yapılan çalışmaların çoğu bupropionun uzun süre yoksunlukta yaklaşık 2 kat başarı sağladığını göstermektedir. Bupropion lokus ceruleusda adrenerjik nöronların uyarılmasında azalma, nükleus accumbenste ekstrasellüler dopaminde artış, dopamin geri alımında azalma ve nikotinic asetilkolin reseptörlerinde fonksiyonel antagonizmayı içeren çeşitli mekanizmalar ile etkili olur (77).

**Nortriptilin:** Nortriptilin noradrenalinin (ve olası serotonin, 5HT) geri alınımını bloke ederek yoksunluk ve depresif semptomları azaltır (70).

**Klonidin:** Hipertansiyon tedavisinde kullanılan bir alfa-2- noradrenerjik agonisttir. Alkol ve opioid yoksunluk semptomlarında azalma göstermektedir (78).

**Varenicline:** Varenicline ile yapılan faz II ve faz III klinik çalışmaların sonuçları umut verici bulunmuştur (79).

**Rimonabant:** Hayvan çalışmalarında nikotinin alınımını ve nükleus accumbensde nikotinin neden olduğu dopamin salınımını azaltır. En önemlisi korteks ve nükleus accumbenste dopamin, noradrenalinin ve 5-HT seviyelerinin artışının görülmesidir. Ayrıca sigaraya tekrar başlama riskini de azalttığı öne sürülmektedir (80).

**Nikotin aşıları:** Nikotinin kendisi çok antijenik olmayan küçük bir moleküldür. İmmün yanıtı artırmak amacıyla nikotin büyük moleküllere, genellikle proteinlere bağlanabilir ve antijeniteyi artırır. Nikotin molekülü beyine rahatça geçecek kadar küçük olmasına rağmen nikotin-antikor kombine yapısı kan-beyin bariyerinden geçiş için çok büyüktür. Bu nedenle beyinde nikotinin etkisini azaltır veya elimine eder. Bu teorik olarak nikotinin psikoaktif etkisinin önemli kısmını önlemektedir (81).



**Bromokriptin:** Araştırcılar nikotin içeren stimulan ilaçların güçlendirici etkilerinin dopamin aracılığıyla olduğunu öne surmektedirler. Bu dopamin antagonistlerinin sigara iimini artıracadığını, agonistlerin azaltacığını göstermektedir. Bromokriptin, Parkinson hastalığı için onaylanan bir tedavi olan dopamin agonistidir ve sigara içme isteğinde azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur (82).

**Selegiline:** MAO-B inhibitörü selegiline, bir Parkinson tedavisi ve dopaminerjik agonistidir, gelecekte sigara bırakma araştırmaları için umut göstermektedir. Nikotin bantlarına selegiline ilavesi sigara içme isteğini anlamlı bir şekilde azaltmakla birlikte nikotin replasmanı için ihtiyacı da azalttığı gösterilmektedir (83).

**Reboxetine:** Hayvan çalışmalarında reboxetinin nikotinic asetil kolin reseptörlerinin fonksiyonlarını inhibe ettiği bulunmuş ve sigara bırakma aracı olarak potansiyel etkili olabileceği gösterilmektedir (84).

**Naltrexone:** Plasebo kontrollü laboratuvar çalışmalarında naltrexone kullanımı, özellikle sedasyon gibi yan etkilerde anlamlı artışa rağmen içilen sigara miktarda azalma ile ilişkili bulunmuş ve CO seviyesini azaltmış ancak sigara isteği veya akut yoksunluk semptomlarında etkili bulunmamıştır (85).

**Glikoz:** Oral dekstrozun (glikoz) sigara bırakmaya yardım edebileceği olasılığı ileri sürülmüştür. Avantajları ucuz, güvenli bir alternatif olabilmesi ve diğer tütün bağımlılığı tedavilerine ilave edilebilir olmasıdır. Aktivasyon mekanizması açık değildir, fakat sigarayı bıraktıktan sonra karbonhidrat alımının arttığı gözlemlenmiştir. Glikoz karbonhidrat için isteği azaltır. Plasebo kontrollü çalışmalar glikoz tabletlerin sigaraya yoksunluk süresince isteği azaltabileceği hipotezi için bazı destekler sağlamıştır (86).

**Potansiyel yeni nikotin tedavileri:** Nikotin bukları (87), nikotin solüsyonu (88), bukkal yapışan nikotin tabletleri (89) ve pulmoner salınımlı nikotin inhaler formlar üzerinde çalışılan formlasyonlardır (90).

## 2. 5. Nikotin ve Enflamasyon

Enflamasyon, hayatta kalmak için dahili ve harici etmenlere karşı oluşturulan önemli bir immün yanıttır. Ancak, kimi hastalıkların ve ölümlerin esas nedenini de oluşturabilir. Enflamasyon öncüsü, gerçekte yararlıdır ve organizmayı hasara ve enfeksiyonlara karşı koruyucu rolü vardır. Buna karşın, sitokinlerin aşırı decede üretilmesi normal enfeksiyonlardan daha tehlikeli olabilir ve ölümcül sistemik enflamasyonla sonuçlanabilir. Fizyolojik olarak antienflamatuvar mekanizmalar immün sistem tarafından kontrol edilir ve enflamatuvar hastalıkların tedavisinde immün sisteme etkili ilaçlar kullanılır (90).

Enflamasyon nitrik oksit (NO) sentezini ve siklooksijenazı (COX) kapsayan genlerin aktivasyonunu içeren karmaşık bir mekanizmadır. Nitrik oksit sentazın (NOS) 3 tipi tanımlanmıştır; endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz, nöral nitrik oksit sentaz ve indüklenebilir nitrik oksit sentazdır (İNOS). Ayrıca siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2'yi (COX-2) içeren iki tip siklooksijenaz tanımlanmıştır (91, 92).

Nitrik oksitin, organizmada fizyolojik olaylarda önemli rolü vardır. SSS'de nörotransmitter olarak görevlidir. Kan basıncını, kas gerilimini düzenleyen güçlü bir vazorelaksandır. Nitrik oksit, enflamasyon ve sepsis mekanizmalarında İNOS'tan türeyen zararlı bir moleküldür. Lipopolisakkarit gibi dış bakteriyel toksinlere maruziyet hücrel enflamasyonları uyarır ve İNOS aktivasyonu tarafından indüklenen NO salınımında artış olur. Nitrik oksite benzer olarak prostaglandin E2'nin enflamasyon bölgelerinde COX-2 tarafından üretilmesi ve indüklenebilir enzim arasıdonik asitin PGH2'ye, prostasikline ve tromboxan A-2'ye dönüşümü artar (93, 94).

Nikotin; arterler, venler, kolitler ve sinirler gibi birçok dokuda NO salınımını indükleyebilir. Sigaradaki NO nikotin emilimini ve post-sinaptik dopamin düzeylerini arttırabilir. Nikotinin birçok biyolojik etkisinin tanımlanmasına rağmen nikotinin LPS (Lipopolisakkarit) indüklü enflamasyon mekanizmasındaki etkileri henüz net olarak aydınlatılmamıştır (95).

Özet olarak nikotin LPS/IFN (İnterferon) indüklü NO üretimini, İNOS proteini arttırarak, İNOS enzim aktivitesini ve İNOS protein stabilitesini değiştirmeksizin arttırır. Ayrıca nikotin, LPS/IFN'nun sitotoksik etkisini uyarır. Bu sonuçlar, nikotinin

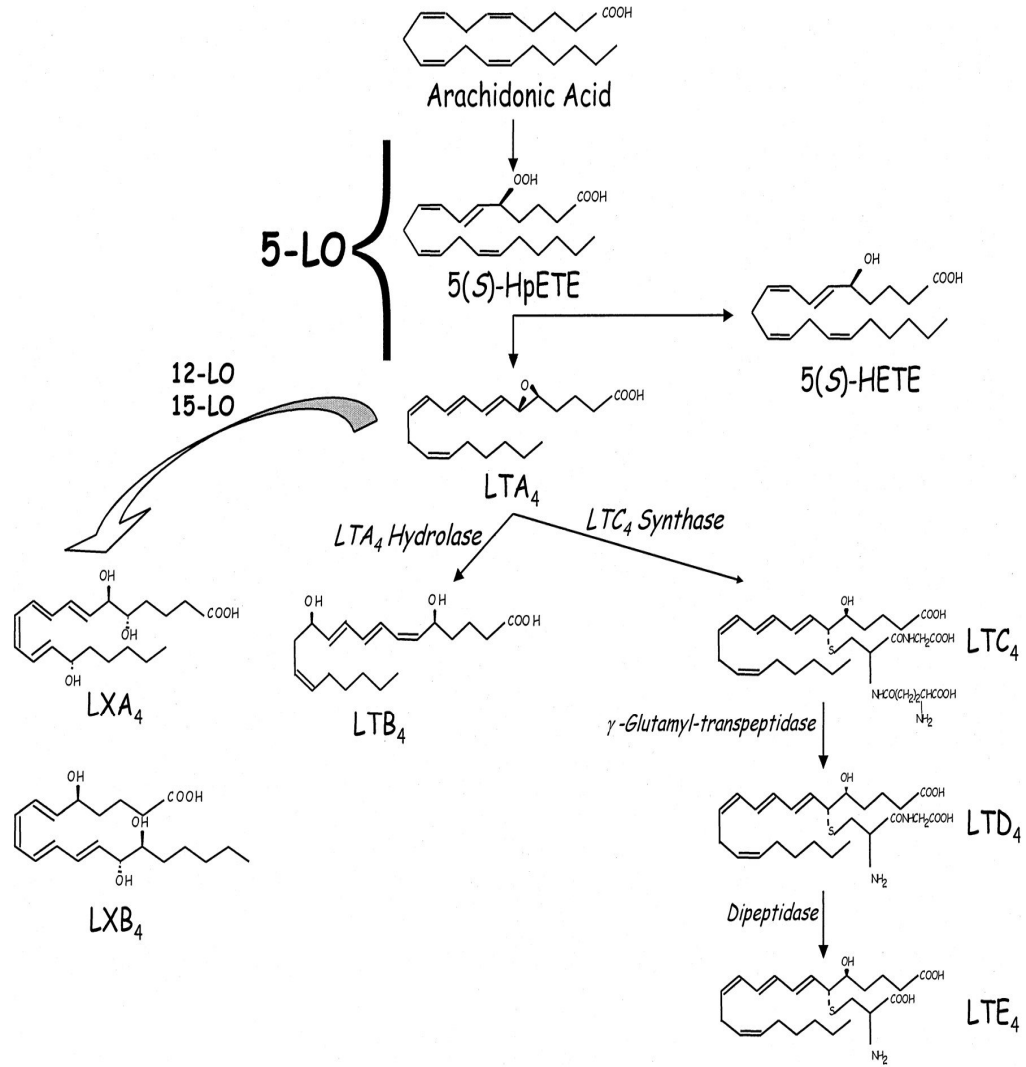
enflamasyon sırasındaki sitotoksik etkisini ve NO indiksiyonunu kapsayan mekanizmasını açıklamaya yardım eder. Yapılan çalışmalarda nikotinin LPS/IFN indüklü NO üretimini ve peritoneal makrofajları arttırdığı bulunmuştur. Nikotin NOS enzim aktivitesini dolaylı olarak etkilemese de ve NOS aktivite değerlerini doğrudan olarak etkilemediği halde, İNOS protein stabilitesi nikotin tarafından değişmez. LPS'nin düşük dozlarında nikotin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında İNOS proteinini 1,5 kat daha fazla uyarır. Bu veri NO'nin nikotin tarafından stimüle edildiğini kanıtlar (94)..

### **2. 5. 1. 5-Lipoksijenaz Yolağı**

5-LO aktivitesi ilk defa 1976 yılında Borgeat ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. İnsan 5-LO geni, Funk ve arkadaşları tarafından ilk defa 1989'da izole edildi. 78 kilodaltonluk bir protein olup potansiyel biyoaktif eikozanoidlerin biyosentezini katalizler. İnsanlarda 5-LO, fizyolojik olarak miyeloid link hücrelerinde, fakat aynı zamanda B lenfositlerinde ve pulmoner arter endotel hücrelerde bulunur. Lipoksijenaz yolağında, ilk olarak AA(Araşidonik asit), 5-LO tarafından 5-HPETE'ye (5 (S)-Hidro Peroksi Eikoz-6E,8Z,11Z,14Z-Tetra Enoik Asit) metabolize olur. 5-HPETE aynı enzim tarafından 5, 6-epoksite ve LTA4'e (Lökotrien) metabolize olur. Lökotrien sentezi bir zincirleme reaksiyonu şeklinde olur. İlk önce 5-LO stimüle olur ve hücre membranına geçer. Hücre membranındaki çözünebilir enzimler 5-LO aktive edici proteinle etkileşir. Hem 5-LO hem de 5-LO aktive edici protein lökotrien sentezi için gereklidir (7). 5-LO aktivasyonu için kalsiyum, ATP ve 5-LO aktivite edici proteine ihtiyaç vardır. Bu aktive edici protein araşidonik asitin 5-LO'ya dönüşümünü kolaylaştırır. 5-LO hücre tipine göre ya sitoplazmada ya da nükleer ökromatide lokalize olur. Ancak, hücrenin sürekli uyarılması durumunda nükleer membranda da bulunur. 5-LO'nun nükleer önemi 5-HETE ve lökotrien biyosentezinde çok önemlidir (8, 9).

5-LO'nun bilinen en önemli rolü immün enflamatuar yanıtı düzenlemesidir. Son yapılan çalışmalar sonucunda 5-LO eksikliği olan fareler normal yaşamlarını sürdürürken dikkat çekici bir işlev bozukluğunun olmadığı tespit edilmiştir. Genellikle, enflamatuvar hasara karşı dirençli ancak bakteremiye karşı duyarlıdırlar. Araştırmalara göre 5-LO hücre bölünmesi ve apoptoz sonucu oluşur. 5-LO'ya farklı kanser türlerinde rastlanmıştır. Kolon, akciğer, kalp, prostat, pankreas, kemik, beyin ve mezotelyumda 5-LO düzeyinde artış gözlenmiştir. İnsan mezotelyum ve pankreatik kanser hücre veya

dokularında çok düşük veya belirsiz 5-LO tespit edilmesine rağmen bazı benzer transforme olmuş hücre veya dokularda yüksek derecede 5-LO ve 5-LO aktivitesi tespit edilmiştir. Bu nedenle, 5-LO ara sıra neoplastik transformasyon sırasında up-regüle olur ve kanser gelişimi gözlenir (26, 96).



Şekil 2.3. 5-Lipoksijenaz Yolağı (96).

## 2. 5. 2. Siklooksijenaz Yolağı

İnsan hücrelerinde COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki COX izoformu olduğu 1990'lı yılların başında tespit edilmiştir. COX-1 ve COX-2 insanlarda 9. ve 1. kromozomlarda lokalize olmuş iki farklı genin ürünleridir. COX-1 doğal bir glikoproteindir. COX-1 ve COX-2'nin dokulara dağılımı farklıdır. COX-1 her yerde mevcuttur ve esas olarak GIS'de, böbreklerde, vasküler ağız kaslarında, plateletlerde bulunur. Tam tersine COX-2 birçok dokuda belirsizdir. COX-2 ise başlıca beyinde, böbrekte, megakaryositlerde ve plateletlerde bulunur. Subselüler fraksiyonlarda COX-1, COX-2'ye immüno elektron mikroskopuyla ve Wistern boyama ile bakıldığında endoplazmik retikulum ve nükleer membranların dış kısmında lokalize oldukları görülür (58, 96).

COX -1 yolağı 1964'te Bergstrom ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş ve ardından Funk ve arkadaşları tarafından insan COX-1 DNA proteini klonlanmıştır. 1990'da aynı araştırmacılar tarafından COX-2'nin varlığı keşfedilmiştir. 1992'de insan COX-2 DNA proteini klonlanmıştır. Siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz (LO) metabolik yolakları, hücre bölünmesinde ve neoanjiogeneizde anahtar rolü oynarlar. Potansiyel antikanser ilaçlar olarak bilinen COX ve LO inhibitörlerinin kullanımı kliniksel denemeler sonucu teşvik edilir (26).

NSAID (non-steroidal antienflamatuvar ilaçların) için esas yolak COX'tur. COX-2 inhibitörleri enflamasyonu, ağrıyı, ateşi ve aterotrombozisi önlemek için kullanılırlar. COX izoenzimlerinin esas katalitik aktiviteleri birbirine benzerdir. COX siklooksijenasyon ve peroksidasyon olarak adlandırılan PG'lerin ve TX'in (Tromboksan) biçimlenmesine öncülük eden yolaklarda ilk basamağı katalizleyen bir enzimdir. COX iki oksijen molekülünü araşidonik asite ekler, aynı zamanda PGG-2 ve PGH-2'yi redükler. PGH-2 karasız bir endoperoksittir. Görevi ise; TXA-2, PGI-2, PGE-2, PGF-2'nin izomerazlar ve spesifik sentazlar tarafından biyosentezleri için ara ürün olarak görev yapmaktır. Bu reaksiyonlar hücre ve dokulara göre spesifiktir. Genel olarak COX-2 alternatif sübstratlarla birlikte daha etkilidir. Örneğin COX-2 sübstrat olarak 2-arşidonilgliserol ve anandamidi kapsayan endokannabinoidleri ve ağır yağ asitlerini kullanır. Son yapılan çalışmalar asetilenmiş aspirinli COX-2'nin araşidonik asiti HETE'ye ve daha sonra 15-epi-lipoksinlere çevirdiğine dikkat çeker. Ayrıca aspirin alındıktan sonra COX-2 enzimatik olarak omega-3 DHA (Dokosa heksaenoik

asit) türevi bileşiklere dönüştürür. Örneğin yeni bir bileşik olan hidroksilipoksinlerin 17-R serisine dönüştürür. Hem epi-lipoksinler hemde hidroksi-DHA'lar potent antienflamatuvar özellikler taşırlar ve enflamasyonun çözülmesinde anahtar rolleri vardır (96, 97).

Sigara içimi dişeti hastalıklarının gelişmesi ve ilerlemesinde temel risk faktörüdür. COX-2'nin enflamasyon bölgelerinde prostaglandin sentezine sebep olabilen enzim olduğuna inanılır. Son zamanlarda sigara içimi ve dişeti hastalıkları arasındaki ilişkinin açıklanması için COX-2 konusunda moleküler çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmaların amacı mRNA geni ve insan dişeti fibroblastlarındaki COX-2 üzerinde nikotinin etkilerinin ve nikotin sebepli sitotoksitenin COX-2 ile ilişkili olup olmadığının açıklanmasıdır. Seçici COX-2 inhibitörünün nikotin ile birlikte alımı, nikotinin sorumlu olduğu dişeti hastalıkları patojenlerinde COX-2 aktivasyonunda nikotinin potansiyel rolünü açıklar. Ayrıca nikotinin sebep olduğu sitotoksitenin doğrudan COX-2 indüksiyonuyla olmadığını açıklar. Enflamatuvar yanıtı sebep olan nikotinin COX-2 enzimini nasıl aktive ettiği netlik kazanmamıştır. Ama kronik enflamatuvar rahatsızlıkların patojenezinde en önemli faktör PG'lerin ürettiği COX-2'dir (9).

Prostaglandin ve tromboksan sentezinde siklooksijenazın COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu etkilidir. Bu bileşiklerin keşfiyle birlikte COX-2 izoformunu inhibe eden seçici ve spesifik ilaçlar geliştirilmiştir. COX-1 gastrointestinal mukoza ve platelet gibi birçok hücrede sabit miktarlarda bulunur. Birçok hücrede düşük miktarlarda bulunan COX-2 izoformu enflamatuvar sitokinler, bakteriyel toksinler, büyüme faktörleri gibi uyarıcılarla düzenlenir. Bu nedenle COX-2 enflamasyonda, enfeksiyonlarda, hücresel büyümede önemli rol oynar. Yeni geliştirilen ilaçlar, COX-2'yi baskılayan, fakat COX-1'i baskılamayan antienflamatuvar özellikleri olan, gastrointestinal prostaglandinlerin ve platelet tromboksanın sentezini inhibe etmek amacıyla düzenlenmişlerdir. COX-1 ve COX-2'yi baskılayan geleneksel non-steroidal antienflamatuvar ilaçların gastrointestinal ülser ve kanama gibi yan etkileri vardır (7-9, 91, 92, 95).

Meloksikam ve nimesulid gibi seçici COX-2 inhibitörleri geleneksel NSAID'ler kadar etkilidirler, fakat aynı gastrointestinal yan etkileri vardır. Selekoksib ve rofekoksib, seçici COX-2 inhibitörleri de geleneksel NSAID'ler kadar etkilidir. Bununla

birlikte bu iki ilacın antiplatelet aktivitesi yoktur. İbuprofen veya naproksen gibi geleneksel NSAID'lere göre daha az gastrik ve düodenal ülser neden olurlar (98).

NSAID'lerin yeni bir ailesi olarak COX-2 inhibitörleri geliştirilmiştir. Bu ilaçlardan ikisi Selekoksib ve rofekoksibdir. Bunlar genellikle osteoartritli hastalar tarafından kullanılmaktadır. Selekoksib romatoid artritte kullanılmak üzere ve rofekoksib ise akut ağrı ve menstrual ağrıda kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Diğer iki COX-2 inhibitörü meloksikam ve nimesuliddir. Geleneksel NSAID'ler ve aspirin COX-1 ve COX-2'yi inhibe eder. Bunlar prostaglandinlerin gastrointestinal sentezini ve tromboksan A<sub>2</sub> üretimini azaltır. Uzun süreli geleneksel NSAID tedavisi alan hastalarda hemoraji, diğer ülser benzeri komplikasyonlar ve ölüm görülür (99, 100).

Hayvanlarda COX-2 böbrekte, beynin serebral korteksinde ve limbik bölümündeki nöronlarda bulunur. Diğer birçok hücrede de COX-2 çok düşük miktarlarda bulunur fakat düzenlenmesi, üretilmesi birçok uyarıcıya bağlıdır. Bu uyarıcılar tümör nekroz faktör (TNF), interlökin-1, mitojenler, platelet türevi büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, bakteri türevi lipopolisakkarid gibi enflamatuvar sitokinlerdir (101).

Seçici COX-2 inhibitörleri ve COX-1, COX-2 inhibitörleri enflamasyon bölgesinde sitokin-aracılı COX-2 türevi prostaglandin üretiminde azalmaya neden olurlar. COX-2 inhibitörleri gastrointestinal ülser ve kanama riskini azaltırlar. Geleneksel NSAID kullanımına bağlı olarak görülen hastalıklarda ve ölümlerde azalmayı sağlarlar. COX-2 farelerde ovülasyonda, fertilizasyonda, embriyo implantasyonunda önemli rol oynar. Ancak, insanlarda COX-2 inhibitörlerinin böyle bir fonksiyonu olup olmadığı yeterince bilinmemektedir. Bunlar hamileliğin ileri dönemlerinde kullanılmamalıdır, çünkü prematüre doğumlara neden olabilirler. Geleneksel NSAID'ler renal sodyum tutulmasına, kilo kaybına, ödeme, hiperkalemiyle birlikte potasyum tutulumuna, akut böbrek yetmezliğine neden olurlar. COX-1 ve COX-2 böbreklerde bulunur ve seçici COX-2 inhibitörlerinin bu etkileri önleyip önlemediği açık değildir. COX-2 inhibitörleri, COX-1, COX-2 inhibitörleri sıvı tutulumu olan, kalp yetmezliği, hipertansiyonu olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. Çünkü prostaglandinlerin sentezi COX-2 türevi prostaglandinlerden olur. COX-2 mRNA birçok kolorektal tümör ve kolon poliplerinde bulunur. COX-2 inhibitörleri kolon polipleri ve polipoz sendromları olan hastalarda kullanılmaktadır. COX-1, COX-2

inhibitörü olan aspirin ve süлиндak gibi ilaçlar kolorektal adenom ve karsinomların oluşma riskini azaltır. Ailesel adenomatöz polipleri olan hastalarda poliplerin sayısını azaltır (92, 98, 102-104).

Bir ilacın COX-2 akivitesini inhibe etme yeteneği, enzim tarafından katalizlenen reaksiyon ürünlerindeki azalmayla ölçülür. Lökositler bakteriyel lipopolisakkaridlere maruz kaldığında COX-2, PGE-2 sentezini katalizler. Beyinde COX-2 aktivitesi ve PGE-2 üretimi, seviyelerindeki indüksiyona bağlıdır. COX-2'inin indüklenebilir izoformunun PGE-2 sentezinin ilk basamağında rolü vardır (104-107).

Birçok kontrollü klinik çalışmada, COX-2'nin spesifik baskılanması enflamasyon, ağrı ve ateşini birlikte azaltmaya yardımcı olur. Bu bilgi yeterince açık değildir, çünkü birçok COX-2 inhibitörü terapötik dozlarda COX-1'i de inhibe eder. Örneğın nimesulid terapötik dozlarda güçlü bir COX-2 inhibitörüdür ve plazmadaki seviyeleri COX-1'i inhibe etmek, platelet tromboksan üretimini azaltmak için yeterlidir. Kemirgenlerde COX-2'nin tek başına inhibisyonu enflamasyonun çözülmesi ve ağrının giderilmesi için yeterli değildir. Benzer çalışmalar insanlarda net değildir. Pençelerine karagen enjekte edilerek enflamasyon oluşturulan sıçanlara, çok düşük dozlarda nimesulid verilmesi enflamasyonu azaltmasının yanı sıra COX-1 aktivitesini de inhibe eder ve gastrik mukozal prostaglandin sentezini azaltarak gastrik mukozaya hasar verir. Selekoksis plasebodan daha etkilidir fakat hem COX-1 hem de COX-2 inhibitörü olan ilaçlardan daha az etkilidir (92, 98).

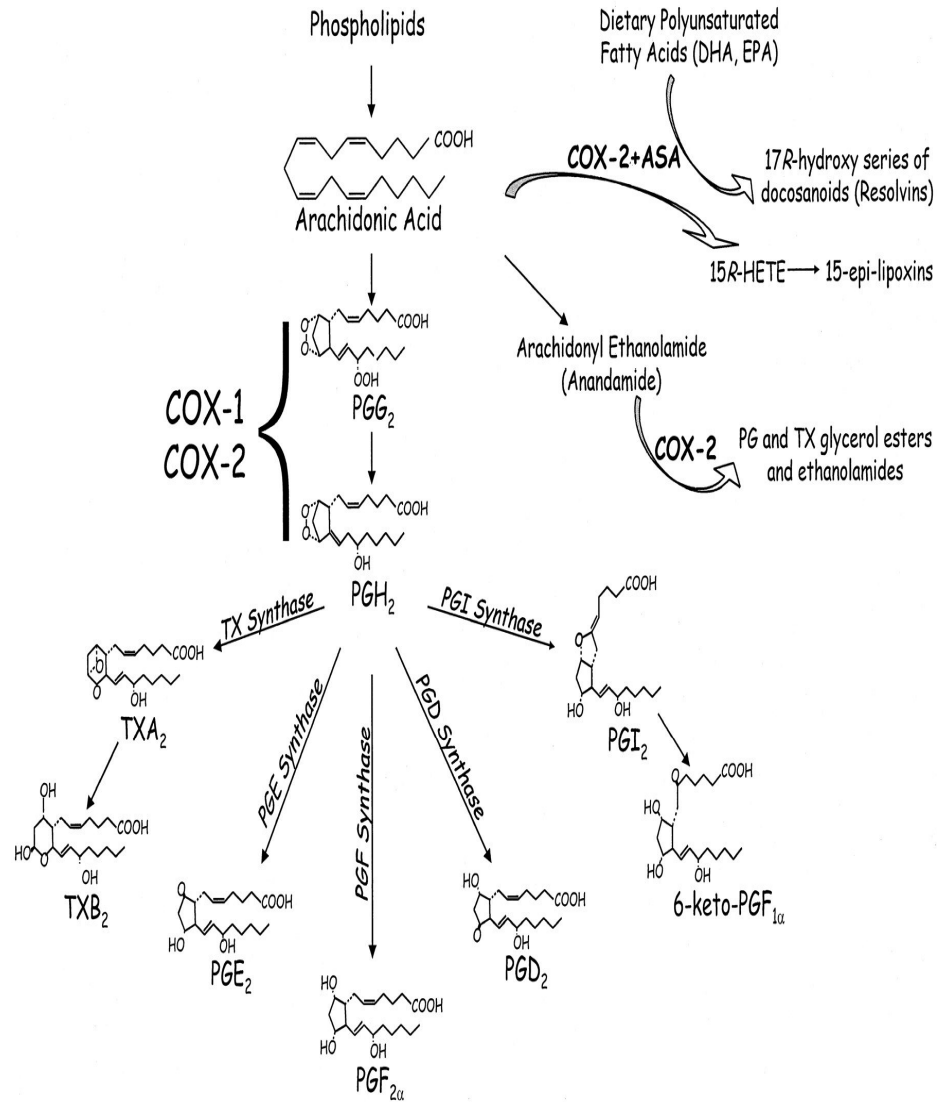
Bazı bulgular COX-1 gibi COX-2'nin de normal gastrik mukozada bulunduğunu iddia eder, fakat bütün çalışmalar aynı sonucu bulmaz. Eğer COX-2 normal gastrik mukozada bulunsaydı, burada fizyolojik bir rolü olurdu. Örneğın normal gastrik mukozası olan sıçanlar dilüe etanol gibi hafif gastrik irritana maruz kaldıklarında, absölü etanol gibi güçlü irritanlara karşı kendini korur. Bu koruma endojen prostaglandin sentezinin artışıyla ilişkilidir. Hayvanlarda seçici COX-2 inhibitörleri bu koruyucu yanıtı iptal ederler. COX-2 türevi prostaglandinler gastrik mukoza savunma reaksiyonlarında kritik rol oynarlar. Başka bir bilgi COX-2 türevi PG'lerin gastrik ülser iyileşmesinde önemli olduğudur. Kemirgenlerde gastrik erozyon veya ülser durumunda COX-2 mRNA ve protein ülser bölgesinde birikir ve tümör nekroz faktör- $\alpha$  ve interlökin-1 aktivitesi artar. Birçok COX-2 inhibitörü ve bazı COX-1, COX-2 inhibitörleri bu deneysel lezyonların iyileşmesinde birlikte kullanılırlar (99).



COX-2 inhibitörleri terapötik dozlarda enflamasyonu azaltırken gastrik hasara ve COX-1 inhibisyonuna neden olurlar. Kemirgenlerdeki çalışmalar gastrik erozyon ve ülserlerin iyileşmesinde COX-2'nin önemli rolü olduğunu tespit etmişlerdir (99,102).

### **2. 5. 3. Prostanoid ve Eikozanoidler**

PGH-2'ler, TXA-2 ve PGI-2'ye metabolize olurlar. PG'ler 1930'ların başında keşfedilmiş ve insanlarda düz kaslarda, kan basıncı üzerinde biyolojik etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Biyolojik olarak aktif lipit bileşikleri PG'ler olarak isimlendirilmiştir. İlk PG, 1960'larda izole edilmiş ve yapısı Bergstrom ve arkadaşları tarafından aydınlatılmıştır (26).



Şekil 2. 4. Siklooksijenaz Yoluğu (96).

Prostanoidler dokuya ve hücreye spesifik reseptörleri aktive ederler. Prostaglandin reseptörlerinin son dokuz tanesi bilinmektedir. Reseptör alt tiplerinin dördü PGE-2'ye (EP1-EP4) ve PGD-2'ye (DP1 ve DP2) bağlıdır. PG'ler çekirdek membranında lokalize olmuş COX-2'den oluşur ayrıca G proteine bağlı reseptörleri uyarmasıyla peroksizom proliferatör aktivasyon reseptörleriyle etkileşerek nükleer yolaklardaki kontrolü sağlarlar. Prostanoid reseptörlerin aktivasyonunun uyarılması vasküler dirençten, geçirgenlikten ve pıhtılaşma fonksiyonundan, hiperaljezinin ve ağrının indüksiyonuna kadar birçok farklı biyolojik etkilerde genel bir düzen sağlar (103).

Eikozanoidler, 20 karbonlu doymamış yağ asitlerinden ve esas olarak araşidonik asitten türerler. Eikozanoidlerin diğer prekürsörü, dihomo- $\gamma$ -linolenik, eikozapentanoik, dokosatetranoik asitlerdir. Serbest araşidonik asit miktarı, eikozanoid sentezine bağlı olarak sınırlıdır. Araşidonik asitler fosfolipaz A-2 ve C tarafından hücre membranı fosfolipitlerinden salıverilirler. AA; prostaglandin H sentaz, bazı lipoksijenazlar, sitokrom P-450 ve serbest radikal katalizleyen yolaklarla eikozanoidlere metabolize olur. Eikozanoidler potent biyolojik mediyatörlerdir. Bunlar astım, gastrik ülser, sedef hastalığı, iskemik kalp hastalıkları, migren ve trombozis gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alırlar. Eikozanoidler içinde prostaglandin E-2 ve lökotrien B-4 enflamatuar hastalıklarda rolleri vardır. Tromboksan A-2'nin, plateletler üzerinde ve vasküler ağız kaslarının kasılma aktivitesi üzerinde potent bir proagregatör aktivitesi vardır. Antiagregatör ve vazodilatör PGI-2 ve AA metabolizmasının esas ürünlerinden biri olan proagregatör TXA-2 arasındaki denge astım ve reperfüzyon hasarı gibi hastalıklarda önemlidir (19, 26, 39).

PGD-2, PGD sentaz veya prostaglandin endoperoksit-PGD-izomeraz tarafından oluşur. PGD-2 sentezi insanlarda SSS, GIS, mast hücrelerinde, alveoler makrofajlarda, uterusu, deride, plateletlerde ve böbrek medullasında gerçekleşir. İnsan plazmasında PGD-2'nin yarı ömrü 5 dakikadan azdır. PGE-2, prostaglandin endoperoksit-PGD-izomeraz tarafından oluşur. PGE-2'nin büyük çoğunluğu seminal vezikülde oluşur. GIS, uterus, böbrekler, vasküler düz kas hücreleri, gibi diğer dokular da PGE-2 içerirler. İnsan solunum yolu epiteli ve solunum yolu düz kasları büyük oranda PGE-2 üretirler. Plateletlerde, monositlerde ve granüositlerde az miktarda PGE-2 üretilir. Plazmada PGE-2'nin yarılanma ömrü 1 dakikadan daha azdır. PGF-2, hem doğrudan PGH-2'nin

redüksiyonuyla, hemde prostaglandin 9-keto redüktaz tarafından 9-keto grubunun redüksiyonu sonucu veya prostaglandin endoperoksitlerin nonenzimatik olarak spontan hidrolizi sonucu PGE-2'nin izomerizasyonuyla oluşur. PGF-2'nin yarılanma ömrü 1 dakikadan azdır (107-110).

TXA-2, TXA-2 sentaz tarafından oluşur. Bir CYP-450 enzimidir. Plateletlerde, endotelyumda, adrenal bezlerinde, beyinde, kalın ve ince bağırsaklarda, böbreklerde, karaciğerde, akciğerde, lenf nodüllerinde ve dalakta bulunur. TXA-2 ilk önce tavşan aortasında kasılmayı sağlayıcı bir bileşik olarak bulunmuş. Kimyasal yapısı Hamberg ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Fizyolojik pH'da TXA-2'nin yarılanma ömrü 30 saniyedir, ancak plazma proteinlerine özellikle albümine nonkovalan bağlandığında yarılanma ömrü uzar.

PGI<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> sentaz tarafından oluşur. PGI-2 aortada, beyinde, endotelyumda, böbreklerde, kalpte, karaciğerde, akciğerde, ovaryumda, prostatta, iskelet kaslarında, midede, timusta ve dilde bulunur. PGI-2, PGX olarak adlandırılır. Biyolojik sistemlerde 6-keto-PGF-1'e kimyasal dönüşümü hızlıdır. Fizyolojik pH'da sulu solüsyonlar içinde PGI-2'nin yarılanma ömrü 3 dakikadır (19,103).

PGE-2'nin sentetik türevlerinin uterusu yüksek affiniteleri vardır ve PGF-2 $\alpha$ 'nin sentetik türevleri klinikte doğumda, düşük oluşturmada kullanılırlar. PGI-2 ve onun stabil analoglarının aterosklerozis, miyokardiyal iskemi, periferel vasküler hastalıklarda ve tromboziste yararlı etkileri vardır. Hem TXA-2 hem de PGI-2 biyosentezleri, miyokardiyal enfarktüs, periferel vasküler hastalıklar, hamileliğin indüklediği hipertansiyon, anjina gibi birçok patofizyolojik durumda artar. Ayrıca, TXA-2 biyosentezindeki artış serebral iskemi, tip II diyabetes mellitus, tip IIa hiperkolesterolemi, pulmoner hipertansiyon ile de ilişkilidir. Araşidonik asit metabolitlerinin vazodilatasyon, vazokonstriksiyon, Na, K-ATPaz inhibisyonu, iyon transportu ve hücre büyümesinin düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik etkileri vardır (103).

Nikotinin, AA metabolizması üzerindeki etkileri farklı hayvan türlerinde tavşan, sıçan ve hamsterlerde ve olarak çalışılmış. Buna karşın sigara içiminin ve nikotinin AA metabolizması üzerindeki etkileri özellikle 5-LO yolağındaki etkileriyle sınırlıdır.

Kotininin etkileri daha da sınırlıdır ve (+) nikotinin etkileri hemen hemen hiç bilinmemektedir.

Tütündeki ve sigara dumanındaki farklı bileşiklerin AA metabolizması üzerindeki rolü nikotin içermeyen sigaralar, etanolik ve sıvı sigara dumanı ekstraktları, yoğunlaştırılmış sigara dumanı kullanılarak çalışılmıştır. İnsan umbilikal arterlerinde etanolik ve sıvı sigara dumanı ekstraktlarının doza bağlı olarak PGI-2 sentezini ve AA'in PGI-2'ye dönüşümünü inhibe ettiği bulunmuştur. İnsan endotel hücre kültürlerinde sigara dumanı, trombin indüklü PGI2 üretimini inhibe eder, fakat AA'ten ekzojen PGI-2 üretimini etkilemez. Çeşitli PG'lerin üretimi içicilerin bronkoalveoler lavaj sıvısını ve COX aktivitesini artırır. Nikotin içeren tütün dumanı inhale edildiğinde 6-keto-PGF1 $\alpha$ 'nın idrar atılımı içicilerde azalır, fakat içmeyenlerde azalmaz. Sigara içiminden hemen sonra ex vivo TXB-2 serum konsantrasyonları aniden yükselir. Sigara bağımlılarında TXB-2'nin idrar atılımı artar. Serum LTB-4 konsantrasyonları içicilerde içmeyenlere göre daha yüksektir ve akut sigara içimi kan LTE-4, LTC-4, LTD-4, LTB-4 seviyelerini artırır (26, 110, 111).

#### **2. 5. 4. Eikozanoidlerin Fizyolojik ve Patofizyolojik Rolü**

Eikozanoidlerin fizyolojik etkileri iyi bilinmekle birlikte birçok hastalığın patofizyolojisinde eikozanoidlerin rol aldığı farzedilmektedir.

PGD-2; Bronkokonstriksiyon, platelet antiagregasyonu, sistemik damar direncinde vazodilatasyon, pulmoner arter ve ven konstriksiyonu, uterus ve GIS düz kaslarında relaksiyon gibi etkileri vardır (26).

PGE-2; Bronkodilatasyon, vasküler geçirgenlikte artış, proinflamatuvar mediyatörlerin salınımında inhibisyon, vazodilatasyon, platelet antiagregasyonu, uterus düz kaslarında relaksiyon (26, 107).

PGF-2; Bronkokonstriksiyon, solunum yolu sekresyonunda artış, uterus düz kaslarında kontraksiyon.

PGI-2; Vazodilatasyon, fibrinolizde artış, platelet antiagregasyonu.

TXA-2; Vazokonstriksiyon, platelet agregasyonu, solunum yolu düz kaslarında konstriksiyon.

LTB-4; Kemotaksis, kemokinesis, lökosit aktivasyonu, plazma eksüdasyonu, nötrofillerin vasküler endotelyuma adhezyonu, lizozomal enzimlerin ve süperoksit anyonların sekresyonu.

LTC-4; Düz kaslarda konstriksiyon

LTD-4; Bronkokonstriksiyon

LTE-4; Mikrovasküler geçirgenlikte artış, solunum yolu sekresyonunda artış

(26, 113).

## **2. 5. 5. COX-2 ve Kanser**

Çalışmalar her ne kadar COX-1'in kanser gelişimine katkısı olduğunu ispatlasa da tümör oluşumunda ve kısmen kolon kanserinde asıl izoform olarak COX-2 görülür. Daha sonraları elde edilen bulgular PG'lerin ve COX-2'nin karsinogeneziste farklı yollardan sorumlu olduğunu öne sürmüşlerdir.

Çalışmalar, sigara içiminin gastrik kanser büyümesini COX-2'yi indükleyerek arttırdığını araştırmıştır. Nikotin sigaradaki aktif bileşenlerden biridir ve mideye zararlı etkileri vardır. Gastrik tümör büyümesinde nikotinin etkilerini ölçmek için ve karsinojenik mekanizmalarını aydınlatmak için doğrudan bir delil yoktur (104).

Sigara kullanımıyla bağlantılı olan ilk hastalık kanserdir. Kanser ve sigara kullanımı arasındaki ilişki yaygın olarak araştırıldığında N'-nitrozonornikotin ve 4-metilnitrozamino-1-3-pridil-1-butanon gibi birçok kanserojenin tütünden izole edildiği ve nikotinin akciğer tümörlerine katkısı olduğu bulunmuştur. Ayrıca tütün kullanımı boyun, baş, akciğerde etki gösteren kanser hücrelerini etkileyebilirler (69, 94, 104).

## 2. 5. 6. Tümörlerde COX-2 Artışı

Sigara dumanında polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrozaminler, aromatik aminler, nikotin gibi birçok karsinojeni içerir. Nonsteroidal antienflamatuvar ilaçlar, kanserli hastalarda COX-2 aktivitesini inhibe eden antitümör ajanlardır. Araştırmalar nikotinin COX-2 yolağı aracılığıyla tümör oluşumuna neden olduğunu tespit etmişlerdir (104).

Çalışmalarda COX-2'nin kanserdeki rolünü ispatlamak için NSAID'ler ve Coxib'ler kullanılmış. Araştırmacılar seçici COX-2 inhibitörlerinin iki insan kolon kanseri hücreleri dizisi üzerindeki etkilerini test etmişler ve yalnızca birinde COX-2 protein seviyeleri ve aktivitelerinin yüksek olduğunu tespit etmişler. Bu araştırmacılar seçici COX-2 inhibitörünün sadece COX-2 proteininin olduğu hücrelerde hücre büyümesini azalttığını öne sürmüştür. Öbür taraftan diğer araştırmacılar başka bir seçici COX2 inhibitörünün kolon kanseri hücrelerinde COX-2'yi oluşturmadığını ifade etmişlerdir. Bu çelişkili bulgular, NSAID'lerin COX'a bağımlı olmayan yollarda da etkilerinin olduğunu gösterir. Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar sonucu aspirin gibi NSAID'lerin düzenli olarak uzun süreli alınmasının kolon kanseri insidensini azalttığı tespit edilmiştir. Düzenli NSAID'lerin kullanımı kolon kanseri riskini azaltır. Kliniksel bir çalışmada selekoksibin belirgin derecede adenomatöz poliplerin büyümesini inhibe ettiği ve hastalardaki mevcut poliplerin geri çekilmesine neden olduğu tespit edilmiştir. Kemirgenlerdeki çalışmalarda COX-2 aktivitesinin farmakolojik olarak inhibisyonu karsinogenezin indüklenmesini engeller. Fare ve sıçanlarda kimyasal karsinojenlere maruziyette COX-2 inhibitörleri apoptozisi indükler ve epitelyum kanser hücrelerinin büyümesini baskılar. COX-2 aynı zamanda başta, boyunda, karaciğerde ve pankreatik tümörlerde de bulunabilir. Coxib'lerin yararlı etkileri, bu kanserlerde de kullanılabilir. COX-2 inhibisyonu, kemoterapötik ajanların antitümör aktivitesini potansiyelize eder. Bu mekanizma COX-2'nin genotoksik stres-indüklü apoptozisi bloke etme yeteneğiyle ilgilidir (102-106).

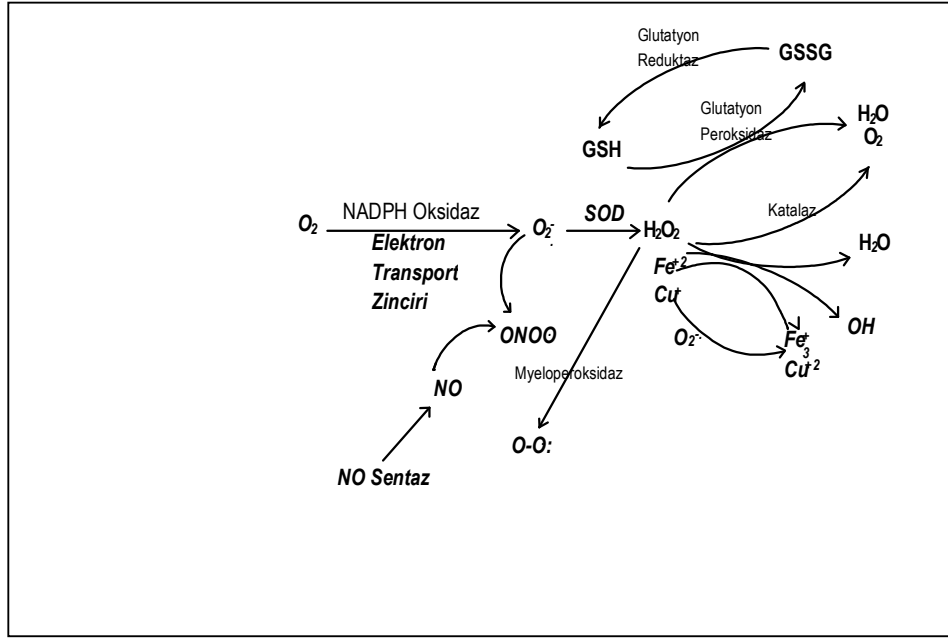
Seçici ve seçici olmayan COX-2 inhibitörleri ve kanser ilerlemesini bloke etmek amacıyla kullanılırlar. Hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalar bu ilaçların kolorektal poliplerde teşvik edildiklerini buna rağmen henüz yan etkileri ve tam mekanizmaları bilinmediğini ifade eder. NSAID'ler COX-2 inhibisyonundan bağımsız olarak kanser hücrelerinin apoptozisini indükleyebilirler. Örneğin özefagus kanser hücrelerindeki

NSAID indüklü apoptozisler, 15-LO'nun up-regülasyonuna bağlıdır. Öbür yandan COX-2 inhibisyonuna bağlı mekanizmalarda metabolize olmamış ya da serbest araşidonik asit konsantrasyonlarında artış olabilir. Bu hipoteze göre araşidonik asit metabolizmasının blokajı esterleşmemiş araşidonatın intraselüler seviyelerini arttırabilir. Bu durumda aynı hücrede araşidonik asit metabolizmasında birden fazla yolak varsa kanserdeki COX-2 ve 5-LO gibi, yararlı serbest araşidonik asit seviyelerinin arttırılması için her iki enziminde blokajı sağlanmalıdır. Bununla birlikte COX-2 ve 5-LO'nun inhibisyonu, NSAID'ler tarafından COX-2 bloke edildiğinde araşidonatın 5-LO'ya doğru yönünü değiştirmesi engellenebilir. Böylece 5-oxo-HETE, 5S-HETE ve LTA-4 gibi 5-LO türevi mitojenik proanjiojenik eikozanoidlerin üretilmesi baskılanır. Kanser hücrelerinde COX-2 ve LO arasında bir etkileşme olur. Kanser tedavisinde en ideal yol COX-2, 5-LO, 12-LO ve 15-LO<sub>1</sub>'in araşidonik asit metabolizmasındaki yolaklarının blokajı ve 15LO<sub>2</sub>'nin indüksiyonu veya değiştirilmemesi. COX ve 5-LO inhibitörlerinin kombine edilmesine rağmen henüz hiçbir ilaç bu yeteneklere sahip değildir (96, 104, 106).

## **2. 6. Nikotin ve Oksidatif Stres**

Reaktif oksijen türleri/serbest radikaller doğal olarak intraselüler metabolik olaylar sırasında oluşurlar. Bu zararlı türler, hücrelerde birçok molekülün oksidatif hasarına neden olurlar. Bu moleküller membran lipitleri, proteinler, nükleik asitlerdir. Bu türlerin potansiyel zararlı etkileri hücresele antioksidan savunma sistemleri tarafından kontrol edilir. Redükte glutatyon (GSH), vücudun farklı dokularında serbest radikallere karşı başlıca savunucudur. Ayrıca SOD, CAT, GSH-Px (Glutatyon peroksidaz), GR (Glutatyon redüktaz) gibi antioksidan enzimler de hem serbest radikallere karşı korunmada hem de hücrenin kararlılığında yararlıdırlar.





Şekil 2. 5. Oksidatif stresin hücresel döngüsü (35).

Normal şartlar altında hücrenin redükte ve oksidatif yeteneği oksidasyon yararlıdır. Antioksidan savunma sisteminin azaldığı hücrede ROS oluşmuşsa veya antioksidan sisteminin onları elimine edebileceğinden fazla ROS oluşmuşsa bu durum oksidatif stresle sonuçlanır. Birçok ilaç ve kimyasal madde vücudun spesifik organlarında ROS oranının artışına neden olur. Nikotin ROS oluşmasındaki esas nedenlerden biridir. Nikotin sigara dumanındaki majör toksik maddedir. Kronik nikotin maruziyeti, lipid peroksidasyon ürünlerinin artışıyla ve serbest radikal süpürücü enzimlerin aktivitelerinin azalmasıyla sonuçlanır. Buna rağmen diğer araştırmacılar, nikotinin oksidatif stres üzerinde ve koruyucu özelliği olduğunu savunmuşlardır. Bazı araştırmacılara göre nikotinin, verilen nikotin dozuna ve etki mekanizmalarındaki farklılığa bağlı olarak oksidatif stres üzerinde iki farklı rolü olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle, yüksek dozlardaki nikotin nörotoksisiteyi indükleyerek oksidatif stresi uyabilir. Düşük dozlarda verildiğinde ise antioksidan olarak etki gösterebilir ve önemli bir nöroprotektif etkiye sahiptir (2, 35, 108).

Ayrıca nikotin Fe<sup>+2</sup>'yi ayırarak Fenton reaksiyonunu inhibe eder. Bir araştırmacı grubu nikotinin mitokondriyal elektron transport sisteminde NADH'ın (Nikotinamid adenin dinükleotid) bağlanmasını inhibe ettiğini, süperoksit anyon oluşumunu indüklediğini bulmuşlardır. Daha sonra yapılan bir çalışmada ise 6-hidroksidopaminin

neden olduğu oksidatif stres üzerinde nikotinin koruyucu etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bu etki, 6-hidroksidopaminle muamele edilen grupta TBARS (Tiyobarbitürik asit türevleri) seviyelerindeki azalmayla karakterizedir. Bütün bu bulgular sonucunda nikotinin koruyucu etkilerinin olabileceği öne sürülür (2, 107).

Özet olarak, düşük doz nikotin oksidatif stresi azaltırken süksinat dehidrojenaz aktivitesini artırır. Bu bulgu nikotinin yararlı etkilerine dikkat çeker. Daha sonraki kapsamlı çalışmalarla hastalıklarda nikotinin rolünü tespit etmek ve mekanizmasını aydınlatmak mümkün olacaktır (2).

Sigara dumanı hem partiküler hemde gaz fazında serbest radikaller içerir. Gaz fazı radikalleri; inorganik ve organik reaktif oksijen türleridir epoksitler, peroksitler, nitrik oksit, azot dioksit, peroksinitrit ve çeşitli diğer serbest radikaller. Gaz fazı alkil, alkoksil, peroksil tipi  $10^{15}$  radikal içerir. Nitrik oksit sigara dumanında 500-1000 ppm konsantrasyonda bulunur. Nitrik oksit çok çabuk süperoksit anyonu ile birlikte reaksiyona girer ve peroksinitrite dönüşür, alkil peroksinitritleri vermek için organik peroksil radikalleriyle reaksiyona girer. Partiküler fazda, kararlı ve organik reaktifler hakimdir. Diğer ROS'leri hidroksil radikali ve hidrojen peroksittir. Sigara dumanındaki partiküler faz, gram başına  $10^{18}$ 'den fazla serbest radikal içerir.

Özet olarak sigara dumanındaki redoks reaksiyonları hayli fazla miktardadır. Oksidatif stres içicilerde ve kronik obstruktif akciğer hastalarında artar. Sigara içmek ve kronik bronşit her ikisinde solunum yollarında aktif nötrofil ve makrofajların sayısında artışla bağlantılıdır ve bu kişilerde süperoksit anyonu salınımı sağlıklı bireylere göre çok daha fazladır. Süperoksit anyonu salınımı, periferik kan nötrofilleri ve hastalardaki bronşiyal hiperreaktivite arasındaki korelasyon solunum yolu anormalliklerinin patojenezinde ROS'un rolünü anlamaya yardımcı olur. Serbest radikallerin atak yaptığı majör bölge doymamış yağ asitleri ve hücre membranlarıdır, sonuçta lipit peroksidasyona neden olurlar. Malondialdehit, etan, pentan gibi lipit peroksidasyonun son ürünleri içicilerde belirgin derecede artar. Bu ürünlerin miktarındaki artış lipit peroksidasyonun derecesini belirler (18, 108, 110).

Nikotin enantiyomerlerinin serbest radikal oluşumundaki mekanizmaları tam olarak bilinmemesine rağmen, nikotinin mitokondriyal solunum zincirinde süperoksit anyonlarının ve hidrojen peroksidin oluşumundaki artışa katkıda bulunduğu tespit

edilmiştir ve nikotin enantiyomerlerinin intraselüler metabolizması sırasında oluşan serbest radikallere karşı sitokrom P-450 enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir (108).

## **2. 7. Nikotin ve Antioksidan Savunma Enzimleri**

Kronik nikotin maruziyeti, karaciğer ve testislerdeki GSH'ü tüketir. Nikotin ilk olarak karaciğerde kotinine okside olur. Dokularda serbest radikaller oluşur ve oksidatif doku hasarı indüklenir. Karaciğerde nikotin metabolizmasına bağlı olarak hepatik GSH tüketimi, reaktif metabolitlerin oluşumdaki artışa ve oksidatif doku hasarına neden olur. Kronik nikotin alımı sonucu testiküler GSH tüketimi, oksidatif doku hasarının göstergesidir. Testiküler oksidatif hasar, sigara içicilerinde daha etkilidir.

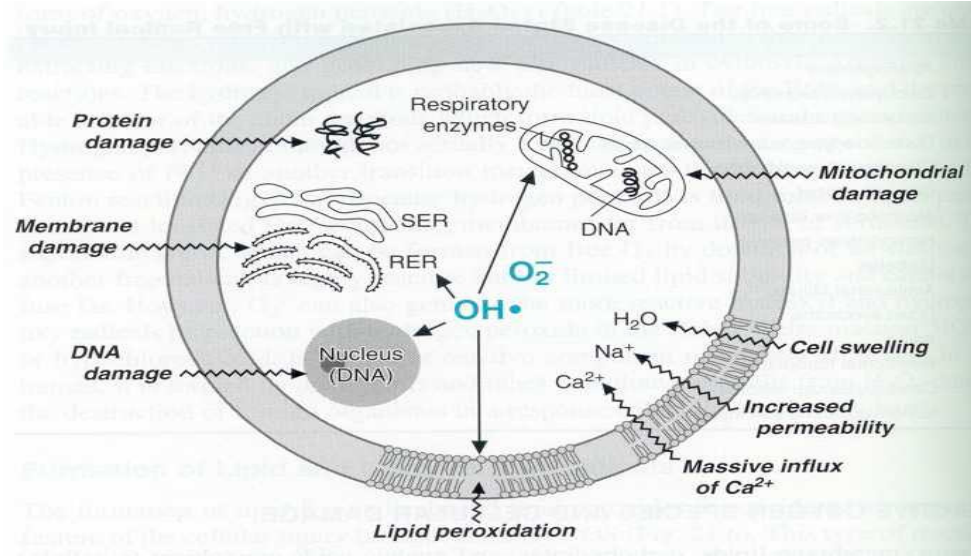
Kronik nikotin alımı, hepatik SOD aktivitesindeki artışla ve testiküler, renal SOD aktivitesinin depresyonuyla sonuçlanır. Hepatik SOD aktivitesindeki artış, nikotin metabolizması sonucu oluşan ROS artışıyla ilgili olabilir. SOD aktivitesi dokulardaki ROS tarafından düzenlenir. Renal ve testiküler SOD aktivitelerinde azalma, enzim proteinlerinin denova sentezinin azalması sonucu olabilir veya enzim proteinlerinin oksidatif inaktivasyonu sonucu olabilir.

Kronik nikotin alımı sonucu, hepatik CAT aktivitesindeki azalma, enzim proteininin oksidatif inaktivasyonu ile ilgili olabilir. Buna rağmen kronik nikotin alımından sonra akciğerde, böbrekte ve testislerde CAT aktivitesinin azalması dokulardaki toksik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin eliminasyonunun yeterli oluşunun göstergesidir (104).

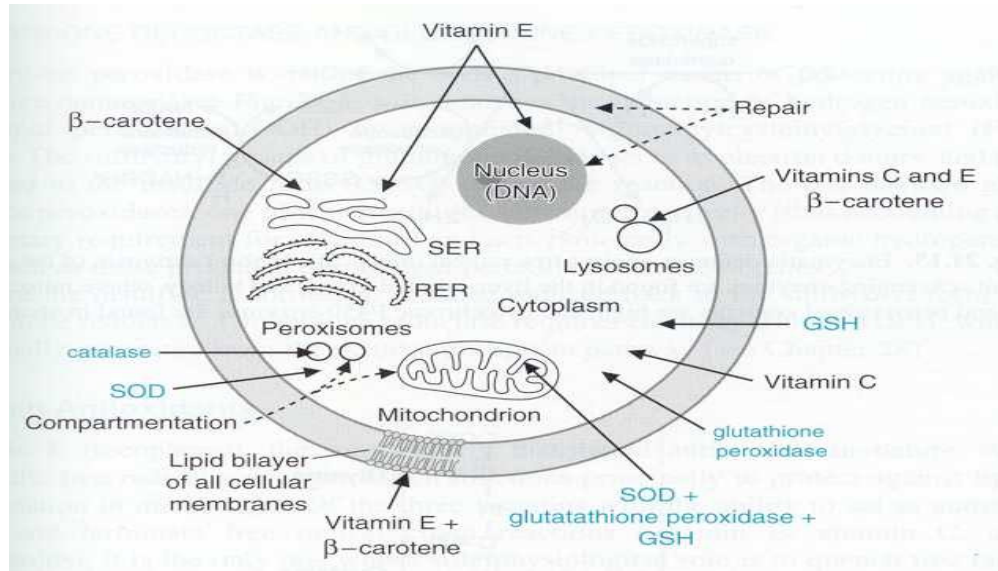
Kronik nikotin alımı sonucu karaciğerde TBARS seviyelerinde önemli derecede artış gözlenir. Karaciğerdeki lipid peroksidasyonun artışı, kronik nikotin alımından sonra hepatik membranın oksidatif doku hasarıyla dikkat çeker (109).

Nikotinin 7 gün boyunca sürekli s.c. infüzyonunun aortik segmentlerde prostasiklin üretimini azalttığını gösteren çalışmalar vardır. Prostrasiklin üretiminin azalması, nikotinle inkübe edilen izole tavşan kalbinde, tavşan arterlerinde, insan venlerinde, sıçan arterlerinde ve sıçan umbilikal arterlerinde gözlenmiştir. Nikotinin prostaglandin endoperoksitlerinin formasyonlarına engel olan siklooksijenazı yarışmalı olarak inhibe ettiği öne sürülmüştür. Yapılan bir araştırmaya göre sigara içenlerin plazma ve lipid peroksit düzeyleri ve GST (Glutasyon-S-transferaz) aktiviteleri içmeyenlere göre anlamlı olarak yüksek, buna karşılık GPx (Glutasyon

peroksidaz)aktivitelerinin düşük olduğu bulunmuştur. Plazma T-SH düzeyleri ise sigara içenlerde anlamlı olarak düşüktür. Bu durum, sigaranın gaz ve katran fazının ürettiği radikallerin antioksidan sistemleri baskıladığını ve trombosit hiperreaktivitesini artırarak doku hasarına yol açtığını düşündürmektedir (27).



Şekil 2. 6. Hücresel oksidatif stres maruziyeti (27)



Şekil 2. 7. Oksidatif streste antioksidan savunma enzimleri (27).

## 2. 8. Nikotin ve Antioksidanlar

Birçok hastalığın ve rahatsızlığın patojenezinde lipit peroksidasyon önemli bir rol oynar. Lipit peroksidasyonun başlangıcında hidroksil radikalleri, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi diğer reaktif oksijen türleri birçok nedenle oluşur, membran enzimlerini ve reseptörlerini inaktive ederek, fragmentasyon ve protein çapraz bağlanması, polisakaridlerin depolimerizasyonu gibi hücre hasara neden olurlar. Bununla birlikte, hücre fonksiyonlarının korunması ve bütünlüğü için membran lipitlerinin canlı kalması gerekir. Membran fosfolipitlerinin yıkılması ve lipit peroksidasyonun serbest radikallere bağlı olarak birçok hastalığa katkıda bulunması dikkat çeker. Bu mekanizmada eğer doymamış yağ asitleri, membran fosfolipitlerinden salgılanırsa, membran yapısında, akıcılığında, geçişinde ve antijenik karakterinde istenmeyen değişimler oluşur (109-111).

Antioksidanlar, oksidatif stresin indüklediği dejeneratif hastalıklarda son derece önemlidir. E vitamini veya  $\alpha$ -tokoferolün lipit peroksidasyona karşı önemli biyolojik antioksidanlardan biri olduğuna inanılır. Birçok çalışma, doku hasarındaki lipit peroksidasyon aracılı serbest oksijen radikaline karşı koruyucu rolünün olduğuna dikkat çeker. Çalışmalar akut sigara içiminin, plazma lipoproteinleri üzerinde oksidatif stres oluşturduğunu ve hem sigara içicilerinde hemde içmeyenlerde E, C vitamini ve  $\beta$ -karotene zengin diyetler lenfosit DNA'daki endojen oksidatif hasarı önemli ölçüde azaltır (27, 108-110).

Nikotin maksimum oksidatif stresi beyin mitokondrisinde oluşturur. TBARS miktarında 9 kat artış, GST'de 2 kat artış ve GST aktivitesinde de değişiklikler oluşturur. Bu değişikliklerle beraber reaktif oksijen türlerinde %25-40 artış görülür (110).

## 2. 9. Nikotin ve Lipit Peroksidasyon

Nikotin ve onun nitrozasyon ürünü NNK (4-Methylnitrosoamino-1-(3-Pyridinyl)-1-1butanon), sigara dumanındaki majör bileşiklerdir. Akciğer kanseri ve kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde rol oynarlar. Akciğer patojenezinin altında lipit peroksidasyon yatar ve doğal olarak sigara içicilerinde lipit peroksidasyon düzeylerindeki artışın nedenini ortaya koyar.

Lipit peroksidasyon, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıkların patojenezinde önemli bir faktördür. Nikotinin hedef organlarda oksidatif stresi indüklemek için bağımlılık yapıcı özeliğinin olduğu konusunda hiçbir çalışma yoktur. Etanol ve kokain gibi bağımlılık yapıcı maddeler, GSH'ü azaltarak veya lipit peroksidasyonu arttırarak oksidatif stresi indüklerler, her iki etki de mitokondriyal fonksiyonu etkiler. Bu nedenle nikotin ve NNK verilen sıçan karaciğer, akciğer ve beyinlerinde, mitokondriyal ve mikrozomal kompartmanlarda TBARS seviyeleri artar, fakat 4-HNE (4-Hidroksinonenal) spesifik GST aktivitesini sadece mitokondriyal fraksiyonda indükler, sitozolik fraksiyonlarda indüklemeyiz. Genel olarak oksidatif stresin GSH seviyelerinde azalmayla, lipit peroksidasyonda ve GST aktivitelerindeki artışla ilgili olduğuna inanılır. Sonuçlar, hem nikotinin hemde NNK'nın birçok farklı GST izoenzimlerini geçici olarak farklı derecelerde etkilediğini göstermektedir. Nikotin ve NNK sübstrat olarak 4-HNE'yi kullandığında GST aktivitelerini indüklerken sübstrat olarak CDNB (1-klor-2,4-dinitro-benzen) ile GST aktivitelerini önemsiz derecede inhibe etmektedir (110).

Yaşa bağılı nörodejeneratif hastalıklar, lipit peroksidasyon ve ROS (Reaktif oksijen türleri) artışıyla ilişkilidir. Özet olarak nikotine bağılı beyindeki lipit peroksidasyon seviyelerindeki artış, nikotinin doğrudan olarak nörodejenerasyona neden olduğuna dikkat çeker. Nikotinin bazı hastalarda, özellikle nörodejeneratif hastalıklarda terapötik etkileri ve SSS'de nöroprotektif etkilerinin olduğu araştırılmıştır. Bununla birlikte nikotin verilmesi perifer ve santral sinir sisteminde reaktif oksijen türlerinin oluşumuyla indüklenen oksidatif stres oluşumuyla sonuçlanır. Nikotinin SSS'de antioksidan özelliklerinin olabileceği kanıtları bulunmuştur. Nikotinin antioksidan özellikleri, kotinik reseptörlerin intraselüler aktivasyonu, estraselüler demiri bağlayarak, serbest radikal süpürücü olarak etkiyerek etkisini gösterebilir (18, 35, 108, 110).

Her ne kadar oksidatif stres deyimi yaygın olarak kullanılsa da, sadece kabaca tarif edilmektedir. Bu deyimi araştırmacılar, pro-oksidan / antioksidan dengesinde potansiyel hasara öncülük eden rahatsızlık olarak ifade etmektedirler. Bu dengesizlik ne antioksidan seviyelerindeki azalmanın sonucudur, ne de ROS veya reaktif azot türlerinin düzeylerinin artışın sonucudur. Oksidatif stres nikotinin kendiliğinden bir etkisidir ve bir hastalık olmaksızın gerçekleşir. Nikotin verilen hücrelerde GSH

seviyelerinde belirgin bir azalma, TBARS seviyelerinde ve laktat dehidrojenaz aktivitesinde artış tespit edilmiştir. GSH seviyelerindeki azalma antioksidan savunma sistemine zarar verir. Çünkü GSH serbest radikal, hidrojen peroksiti suya çevirerek detoksifiye eder. TBARS seviyelerindeki artış lipit peroksidasyonun göstergesidir. Laktat dehidrojenaz aktivitesindeki artış ise lipit peroksidasyonun neden olduğu sitoplazmik sızıntı sonucu selüler membranların oksidatif hasarına neden olur. Radikal detoksifiye eden enzimler SOD, CAT nikotin indüklü GSH azalmasını inhibe eder. Bu bulgu nikotin ve onun enantiyomerlerinin oksidatif stresi indüklediğini gösterir (35, 108-111).

Karaciğer, nikotin metabolizmasında, majör metabolik bölümdür ve bu nedenle nikotin toksisitesinde oksidatif olaylara yüksek derecede hassastır. Akciğer, sigara dumanına ilk maruz kalan organdır ve serbest radikal oluşumuna karşı büyük oranda hassastır. Akciğer aynı zamanda karaciğerin plazma içine GSH salımından da etkilenir. Karaciğer reaktif metabolitlerin tutulumunda ve elimine edilmesinde sorumlu bölümdür. Aynı zamanda nikotin metabolitlerinin etkisinde de kalır.

Hepatik GSH ilaçların detoksifikasyonunda ve ROS temizlenmesinde önemli rol oynar. Glutasyon doğrudan olarak ROS ve elektrofilik metabolitler ile reaksiyona girer ve yararlı tiyol gruplarını oksidasyondan korur ve GSH-Px gibi birçok enzim için sübstrat olarak yardımcı olur. Doku hasarı ve hücrel savunma sisteminin azaldığı durumlarda karaciğer %20 veya daha fazla oranda GSH tüketiminin olduğu bölümdür (110, 111).

### 3- MATERYAL VE METOT

#### 3. 1. Gereçler

##### 3. 1. 1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- % 0.9 İzotonik sodyum klorür solüsyonu.....İ.E ULAGAY
- Nikotin ditartarat.....CALBİOCHEM
- Selekoksib.....FAKO
- Tiyobarbitürik asit (TBA).....MERCK
- Sakkaroz.....RIEDEL-DE HAEN
- Sodyum dodesil sülfat (SDS).....MERCK
- Asetik asit.....MERCK
- Sodyum hidroksit.....J.T. BAKER
- Trikloro asetik asit (TCA).....RIEDEL-DE HAEN
- 1,1,3,3-tetra etoksi propan (TEP).....DROGSAN
- Na<sub>2</sub>EDTA.....SİGMA
- Tris.....SİGMA
- Hidroklorik asit.....MERCK
- DTNB.....SİGMA
- İndirgenmiş glutatyon.....SİGMA-ALDRICH
- Absolü metanol.....MERCK-BAKER
- Konsantre nitrik asit.....J.T. BAKER
- Çinko atomik absorpsiyon stok  
standart çözeltisi.....CUSTOM-GRADE STANDARD
- Bakır atomik absorpsiyon stok  
standart çözeltisi.....CUSTOM-GRADE STANDARD



### 3. 1. 2. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

- Sekiz lambalı, döteryum lambalı, bilgisayar kontrollü, çift oto örnekleyicili atomik absorpsiyon spektrofotometresi.....PERKİN ELMER AANALYST 800
- Alevli atomlaştırıcı ve buna bağlı  
160'lık atomik örnekleyici.....PERKİN EMLER AS91
- Bilgi işlem ünitesi.....TETRA
- Yazıcı.....DELL
- Çinko ve bakır için oyuk katod lambalar.....PERKİN EMLER, LUMİNA-LAMP
- Spektrofotometre.....SHIMADZU-1240
- Manyetik karıştırıcı.....ART SH-3
- Vorteks karıştırıcı.....NÜVE NM-110
- Santrifüj cihazı.....SİGMA 1-14
- Elektrikli hassas terazi.....OHAUS NV-210
- Su banyosu.....NÜVE BM-402
- Homojenizatör.....HEİDOLPH-2021
- Etüv.....NÜVE FN-120
- PH metre.....HANNA-211
- Polipropilen (PVC) tüpler.....SİGMA
- Değişik hacimde balonjojeler.....PAYREX
- Otomatik pipet ve uçları.....ACCUMAX
- Enjektörler.....SET İNJECT
- Cam tüpler.....KİMAX

### 3. 2. Yöntemler

Çalışmada, Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar (n=18) kullanıldı. Çalışma için, her biri 5-7 sıçandan oluşan üç grup (Kontrol n=5, Nikotin n=7, Nikotin+Selekoksib n=6) oluşturuldu. Deney hayvanları ayrıldıktan sonra ortama uyum sağlamaları için bir hafta beklendi, yem, ısı ve ışık düzeneği kontrol altında tutuldu. Deneyin yapılacağı zamana kadar hayvanların beslenmesi *ad libitum* oldu. Çalışma protokolü uygulanmadan 12-16 saat öncesinde deney hayvanlarına yem verme kesildi ve sadece su almalarına izin verildi. Üç gruba ayrılan sıçanlar sırasıyla birinci grup kontrol olarak alındı ve % 0,9 i.p. NaCl, ikinci gruba 1,5 mg/kg i.p. Nikotin, üçüncü gruba seçici COX-2 inhibitörü (Selekoksib; 15 mg/kg, i.p.) ve Nikotin 1,5 mg/kg i.p. enjekte edildi.

Tüm maddeler % 0.9 NaCl içinde çözülerek hazırlandı. Grup III'e nikotin enjeksiyonundan bir saat önce seçici COX-2 inhibitörü olan selekoksib uygulandı ve bu uygulamaya 7 gün süreyle devam edildi. Son enjeksiyondan 24 saat sonra anestezi altında bayıltılan sıçanların intrakardiyak kanları alınarak serumları ayrıldı; göğüs kafesi açılarak karaciğer, akciğer, kalp, böbrek dokuları alınarak ve beyinleri çıkarılarak -70 °C'de saklandı.

Vena porta'dan, soğuk %0.9 NaCl kullanılarak perfüze edilerek çıkarılan karaciğer dokularının ve soğuk %0.9 NaCl içinde yıkanarak ayrılan diğer dokuların LPO, GSH ve T-SH düzeylerine bakılmak üzere doku homojenatları hazırlandı.

Çalışma protokolü:

Grup I: Kontrol (%0.9 NaCl, i.p.).

Grup II: Nikotin (1,5 mg/kg, i.p.).

Grup III: Seçici COX-2 inhibitörü Selekoksib (15 mg/kg, i.p.) + Nikotin (1,5mg/kg, i.p.)

### 3. 2. 1. Lipit Peroksidasyon Tayini

Yöntem seçimi; Ohkawa ve arkadaşları tarafından geliştirilen, Jamall ve Smith'in modifiye ettiği yöntem çalışıldı (112, 113). Yöntem, doku homojenatında peroksidize lipitlerin yıkım ürünü olan ve tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS), TBA ile verdiği renkli ürünün 532 nm'de miktar tayini prensibine dayanmaktadır. TBA ile reaksiyona giren maddelerin %80-85'ini TBARS oluşturduğu için kimi araştırmacılar deneysel bulgularını TBARS cinsinden ifade etmekte ise de, son çalışmalarda TBA ile reaksiyona giren tüm maddeleri ifade eden TBARS kullanımının daha doğru olacağı bildirilmektedir. Dolayısıyla, sonuçlarımız nmol TBARS /g yağ ağırlık cinsinden verildi.

Anestezi altındaki sıçanların karaciğerleri vena porta'dan soğuk % 0.9 izotonik sodyum klorür solüsyonu ile perfüze edilerek çıkarıldı ve aynı solüsyon içinde yıkandı. Kurutma kağıtları ile kurutulan organların total ağırlıkları alındı.

Dokular PVC tüplere konup -70 °C'de bekletildi. Çalışma esnasında çalışılacak dokular alındı ve homojenizasyondan önce dokular oda sıcaklığına getirildi.

0.25 mol sakaroz ile %10 a/h'lik doku homojenatları hazırlandı. Homojenat hazırlandıktan sonra sitozolik fraksiyonu ayırmak için 1000 G'de santrifüj edildi. Üstteki süpernatant alındı. 2000 G'de 4°C'de 30 dakika tekrar santrifüj edildi.

Santrifüjden sonra deney tüplerine 0.2 ml süpernatant alındı ve üzerine; %8.1 a/h SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit (sodyum hidroksit ile pH 3.5' a ayarlı) ve 1.5 ml %0.8 a/h tiyobarbitürik asit solüsyonu eklendi.

Son hacim distile su ile 4.0 ml'ye tamamlandı. Tüplerin ağzı sıkıca kapatılarak 95 °C'ye ayarlı su banyosunda 60 dakika bekletildi. Bu süre sonunda tüpler musluk suyu altında soğutuldu ve reaksiyon durduruldu.

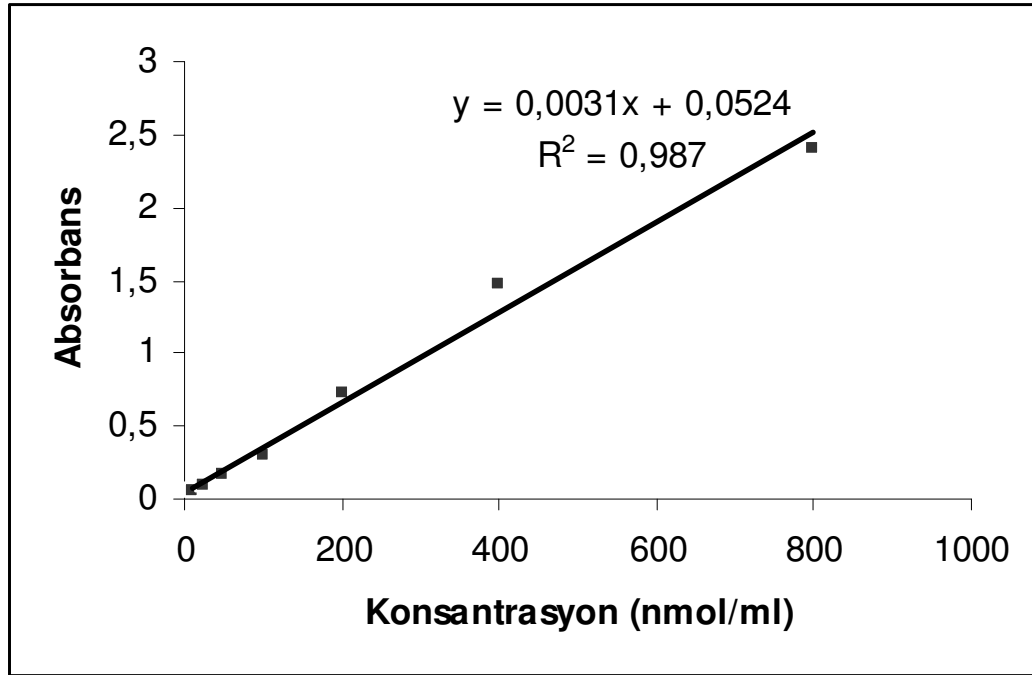
Eşit hacimde, örnek ve %10 a/h TCA karıştırılıp 1000 G'de 10 dakika santrifüj edildi.

Her örnek için doku körü; örnek üzerine eşit hacimde distile su ilave edilerek hazırlandı.

Santrifüj işlemi sonunda, tüpün üstündeki renkli ürün 532 nm’de köre karşı absorbanları okundu.

Standart çalışma için 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanıldı.

Stok çözelti, 200 nmol/ml konsantrasyonda hazırlandı. Stok çözülden 5, 10, 25, 50, 100 nmol/ml konsantrasyonda standart çözeltiler hazırlandı. Kalibrasyon eğrisi kullanılarak 1 g dokudaki TBARS konsantrasyonu hesaplandı.



Şekil 2. 8. TBARS kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

### 3. 2. 2. Dokuda Glutasyon Tayini

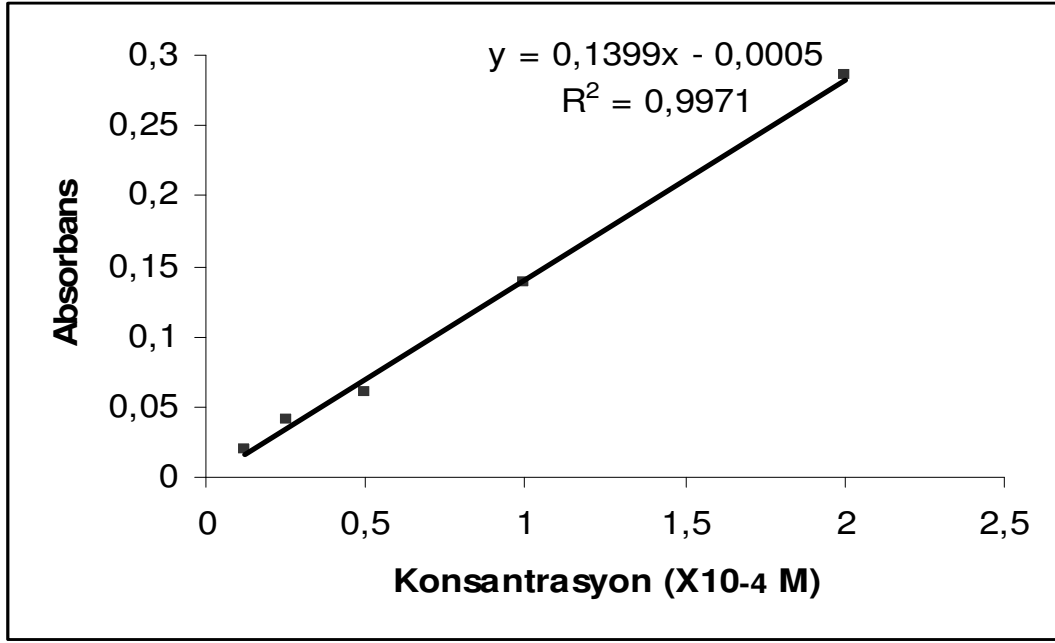
Sedlak ve Lindsay tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Yöntem, Ellman's reaktifi ile tiyol gruplarının reaksiyona girmesi sonucu oluşan nitromerkapto benzoik asitin 412 nm'de miktar tayini prensibine dayanmaktadır. Glutasyon; glisin, glutamik asit ve sisteinden oluşan bir tripeptittir. Kandaki GSH'un neredeyse tamamı eritrositlerde bulunur. İlaçların hemolitik etkisine duyarlı bireylerde eritrositlerdeki GSH miktarı stabil değildir ve azalır. GSH tayini için değişik yöntemler geliştirilmiştir. Nitroprussid yöntemi birçok açıdan yetersiz görülmüştür. Reaksiyon ısıya aşırı duyarlıdır. Nitroprussid solüsyonu stabil değildir (taze hazırlandığı andan itibaren aktivite kaybı başlar), GSH kolaylıkla oksidasyona uğradığı için GSH standart solüsyonu stabil değildir. Oysa Ellman's reaktifi, bis-p-nitrofenil disülfid (PNPD), GSH tayininde karşılaşılan bu zorlukların üstesinden gelebilmeyi sağlamıştır (114).

12-16 saat aç bırakılan hayvanlar eter anestezisi altında bayıldıktan sonra kardiyak kanları tüplere aktarıldı. Karaciğerler % 0.9'luk buzlu NaCl ile portal venden perfüze edildi. Çıkarılan dokular soğuk % 0.9'luk NaCl'de yıkanıp, kurutma kağıdı ile kurulandıktan sonra tartımları alındı. Homojenizasyon aşamasına kadar -70 °C'de PVC tüplerde saklandı. Homojenizasyondan önce dondurulmuş dokular oda sıcaklığında, küçük küçük parçalandı. Dokular 8.0 ml 0.02M Na<sub>2</sub>EDTA'da ve buz banyosu içinde homojenize edildi.

5 ml homojenat alındı ve üzerine; 4.0 ml distile su, 1.0 ml %50'lik TCA eklendi. 15 dakika 3000 G'de santrifüj edildi. Süpernatandan 2.0 ml alınıp üzerine 4.0 ml 0.4 M Tris tamponu (pH:8.9) eklendi. Okumadan hemen önce 0.1 ml DTNB eklenip 5 dakika içinde 412 nm'de homojenatsız köre karşı absorbansları okundu.

Standart çalışması için indirgenmiş glutasyonun (GSH) 2.10<sup>-4</sup> M'lık stok çözeltisinden 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 x10<sup>-4</sup> M konsantrasyonda standart çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizildi ve doku konsantrasyonlarına geçildi.

Sonuçlar µmol/g yaş ağırlık cinsinden verildi (114).



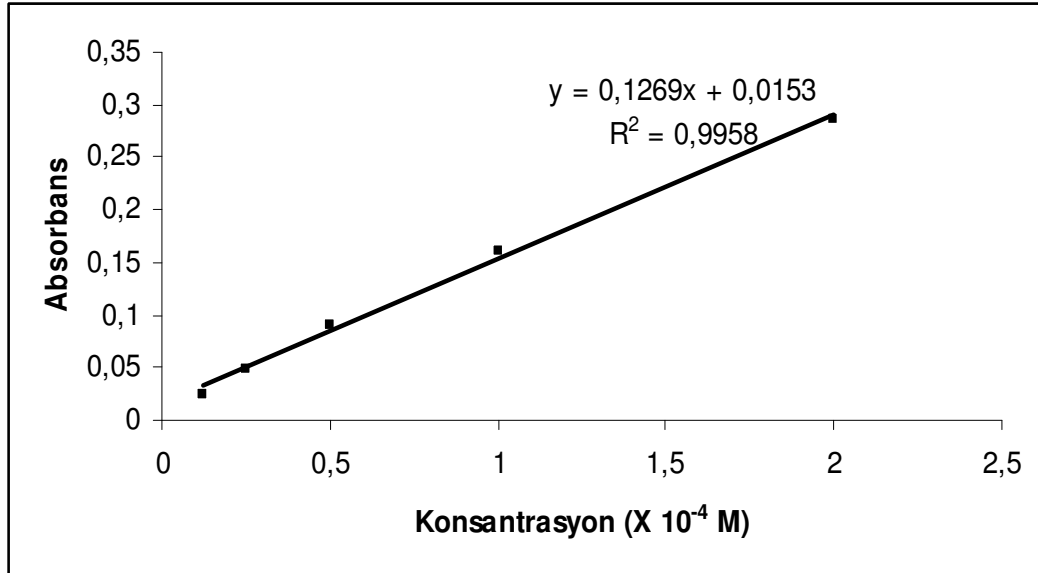
Şekil 2. 9. Glutasyon kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

### 3. 2. 3. Dokuda Total Tiyol Gruplarının Tayini

Yöntem seçimi; Jozef Sedlak ve Raymond H. Lindsay tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı (114). Yöntemin esası DTNB'nin serbest tiyol grupları tarafından yükseltgenip 2-nitro-5-merkaptobenzoik asite dönüşmesine dayanır. Bu bileşiğin renk şiddetine bağlı olarak tiyol gruplarının miktarı tespit edilir.

12-16 saat aç bırakılan hayvanlar eter anestezisi altında bayıldıktan sonra kardiyak kanları tüplere aktarıldı. Karaciğerler %0.9'luk buzlu NaCl ile portal venden perfüze edildi. Çıkarılan dokular soğuk %0.9'luk NaCl'de yıkanıp, kurutma kağıdı ile kurulandıktan sonra tartımları alındı. Homojenizasyon aşamasına kadar -70 °C'de PVC tüplerde saklandı. Homojenizasyondan önce dondurulmuş dokular oda sıcaklığında, küçük küçük parçalandı. Dokular 8.0 ml 0.02 M Na<sub>2</sub>EDTA'da ve buz banyosu içinde homojenize edildi.

0.5 ml homojenat üzerine, 1.5 ml 0.2 M Tris tamponu (pH: 8.2), 0.1 ml 0.01 M DTNB eklendi. Karışım üzerine 7.9 ml absölu metanol eklenerek hacim 10 ml'ye tamamlandı. 30 dakika çalkalanıp, renk oluşması için 15 dakika beklendi. 3000 G'de 15 dakika santrifüj edildi. 412 nm'de absorbansları okundu. Okunan absorbansdan kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyon hesaplandı. Sonuç µmol/g yaş ağırlık cinsinden ifade edildi (114).



Şekil 2. 10. Total Tiyol kalibrasyon eğrisi ve regresyon denklemi

### 3. 2. 4. Doku Çinko ve Bakır Tayini

Dokuların analize hazırlanması:

- Doku numuneleri etüvde 100-105 °C'de kurutularak sabit ağırlığa getirildi.
- Numunelerden 0.2 g civarında tam tartımlar alındı.
- Tüplere alınan numunelere 1'er ml konsantre nitrik asit eklendi ve etüvde bekletilerek dijestiyona tabi tutuldu.

#### **Dokuda çinko tayini:**

- Alevli atomik absorpsiyon tekniği ile 0.25, 0.50, 1.00, 1.50 mg/l'lik çinko standart çözeltileri ile çizdirilen kalibrasyon grafiğine göre çalışıldı.
- Numunelerde distile deiyonize su ile uygun seyreltmeler yapıldı.
- Sonuçlar, µg/g kuru ağırlık cinsinden ifade edildi.
- Ölçümlerde cihaza ait parametreler aşağıdadır:

Slit genişliği.....0.7 nm

Slit yüksekliği.....Normal

Dalga boyu.....213.9 nm

Alev.....Hava-Asetilen

Tekrarlama.....3

Zemin düzeltme.....Uygulanmadı



### **Dokuda bakır tayini:**

- Alevli atomik absorpsiyon tekniği ile 1, 2, 3, 4, 5 ppm'lik bakır standart çözeltileri ile çizdirilen kalibrasyon grafiğine göre çalışıldı.
- Numunelerde distile deiyonize su ile uygun seyreltmeler yapıldı.
- Sonuçlar µg/g kuru ağırlık cinsinden ifade edildi.
- Ölçümlerde cihaza ait parametreler aşağıdadır:

Slit genişliği.....0.7 nm

Slit yüksekliği.....Normal

Dalga boyu.....324.8 nm

Alev.....Hava-Asetilen

Tekrarlama.....3

Zemin düzeltme.....Uygulanmadı (115, 116).

### **3. 2. 5. Serum Çinko Düzeylerinin Tayini**

Serum çinko düzeyleri, AAS'de uygun seyreltmeler yapılarak değerlendirildi. Sonuçlar µg/ml cinsinden verildi (118).

### **İstatistiksel Analiz:**

Bulgular, bilgisayar ortamında INSTAT programı kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar Ort.±SH şeklinde ifade edildi. Gruplar arasındaki farkın karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile *post hoc* testlerden *Tukey's* testi ve *Students' t* testi uygulandı.

#### **4- BULGULAR:**

##### **4. 1. Lipit Peroksidasyon Düzeyleri**

Kontrol ve deney gruplarında karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp dokularında lipit peroksidasyon düzeyleri Tablo-4. 1’de gösterilmiştir.

- Karaciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Akciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Böbrek dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Beyin dokusu değerlendirildiğinde;

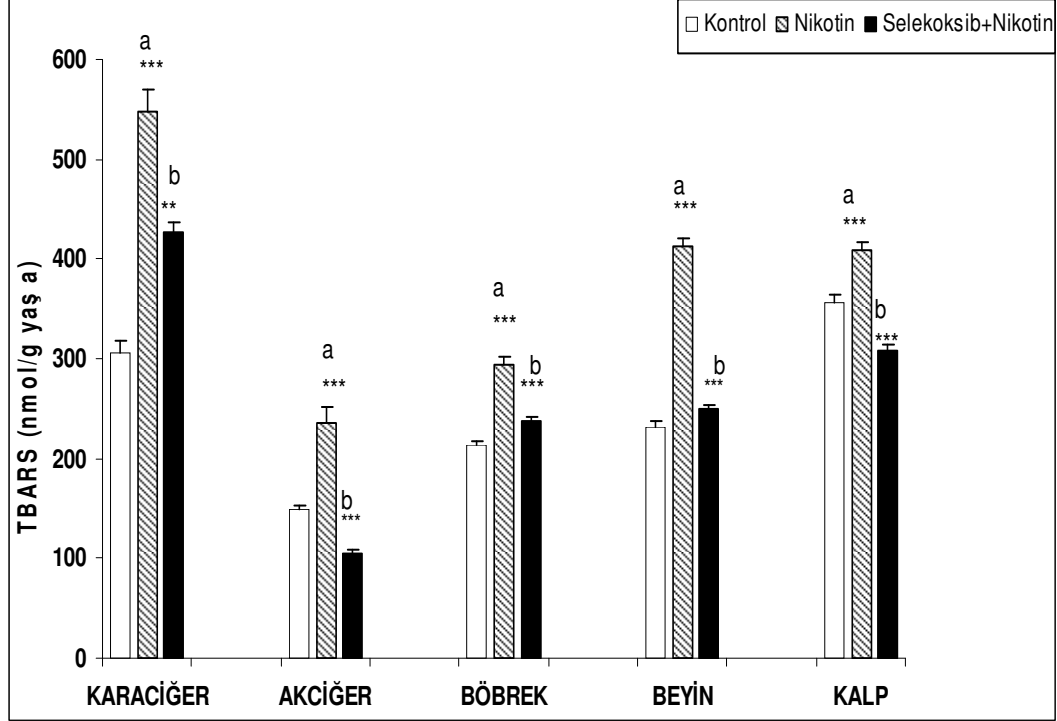
Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Kalp dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun TBARS düzeyinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun TBARS düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.



Şekil 4. 1- Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının TBARS Düzeyleri.

a Kontrol grubuna göre

b Nikotin grubuna göre

\*\* ; p<0.01

\*\*\* ; p<0.001

## 4. 2. Doku Glutasyon Düzeyleri

Kontrol ve deney gruplarında karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp dokularının GSH düzeyleri Tablo-4. 2’de gösterilmiştir.

- Karaciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Akciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Böbrek dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Beyin dokusu değerlendirildiğinde;

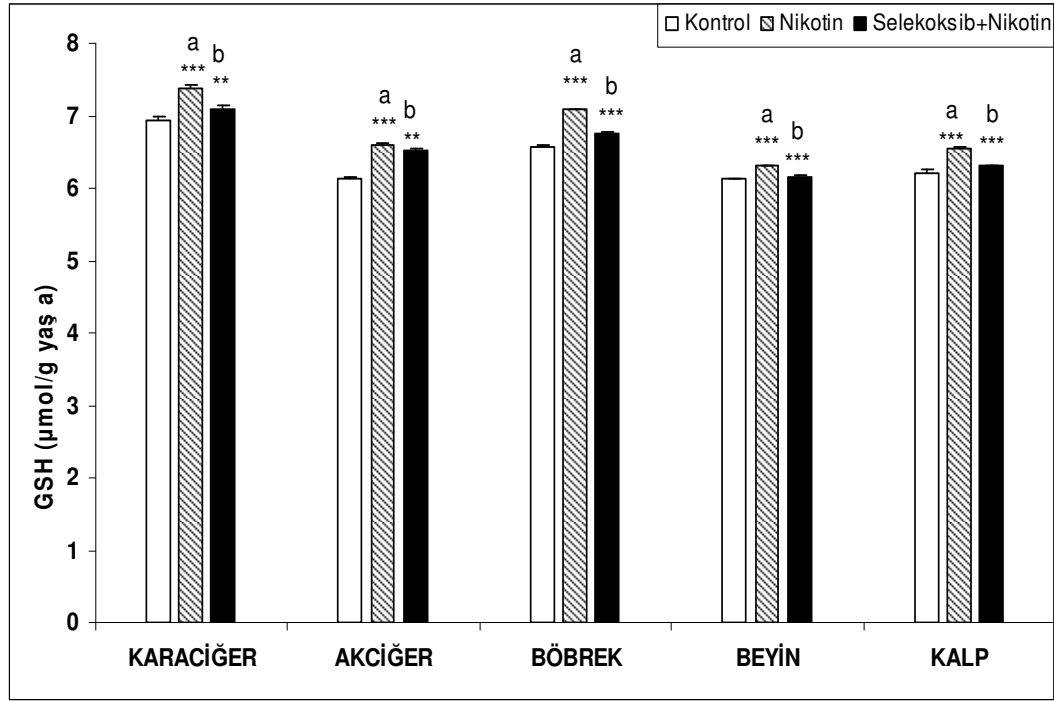
Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Kalp dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun GSH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.



Şekil 4. 2- Kontrol ve Deneç Grularının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının GSH Düzeyleri.

a Kontrol grubuna göre

b Nikotin grubuna göre

\*\* ; p<0.01

\*\*\* ; p<0.001

### 4. 3. Doku Total Tiyol Gruplarının Düzeyleri

Kontrol ve deney gruplarında karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp dokularının T-SH düzeyleri Tablo-4. 3’de gösterilmiştir.

- Karaciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun T-SH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun T-SH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Akciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun T-SH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun T-SH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Böbrek dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun T-SH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun T-SH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulundu.

- Beyin dokusu değerlendirildiğinde;

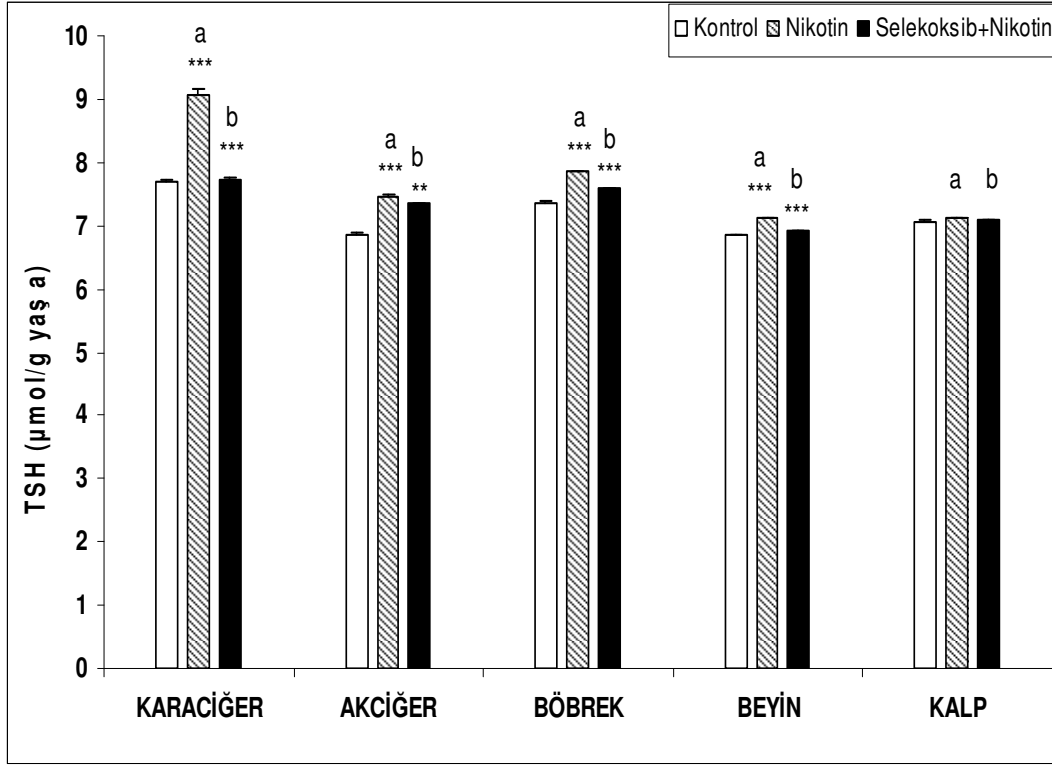
Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun T-SH düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun T-SH düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Kalp dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun T-SH düzeyinde anlamlı olmayan bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun T-SH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma bulundu.



Şekil 4. 3- Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının T-SH Düzeyleri.

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

**\*\*** ; p<0.01

**\*\*\*** ; p<0.001

## 4. 4. Doku inko ve Bakır Düzeyleri

### 4. 4. 1. Çinko Düzeyleri

Kontrol ve deney gruplarında karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp dokularının çinko düzeyleri Tablo-4. 4'te gösterilmiştir.

- Karaciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun çinko düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun çinko düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Akciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun çinko düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun çinko düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Böbrek dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun çinko düzeylerinde anlamlı olmayan bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun çinko düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Beyin dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun çinko düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış bulundu.

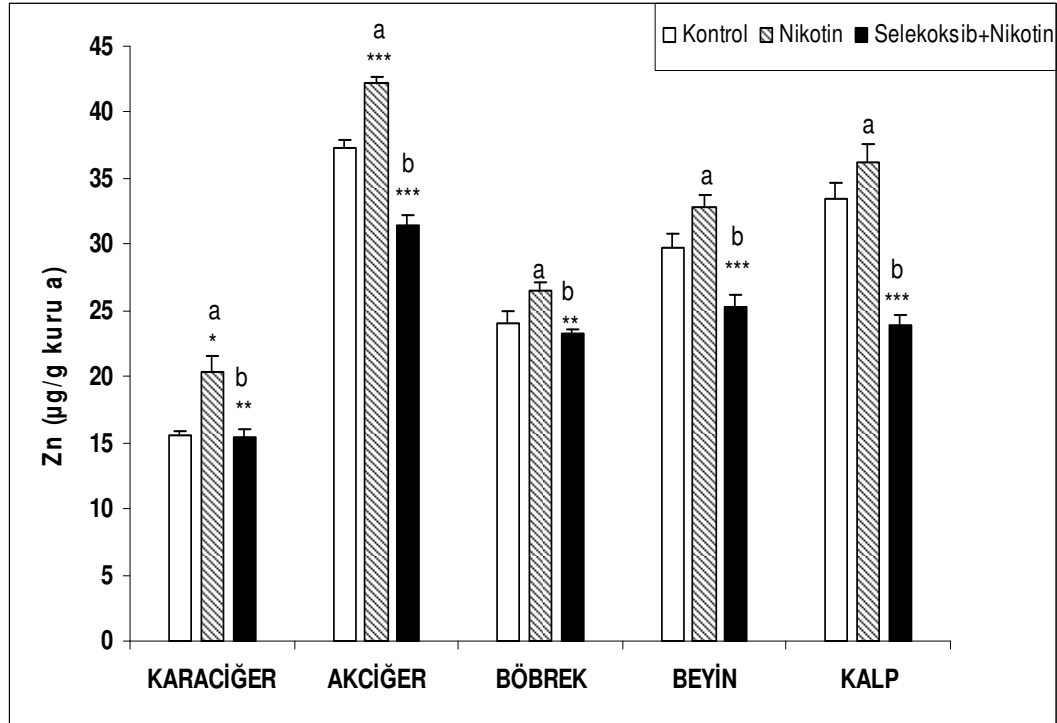
Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun çinko düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.



- Kalp dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun çinko düzeyinde anlamlı olmayan bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun çinko düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulundu.



Şekil 4. 4- Kontrol ve Deneç Gruplarının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının Çinko Düzeyleri.

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

\* ; p<0.05

\*\* ; p<0.01

\*\*\* ; p<0.001

#### 4. 4. 2. Bakır Düzeyleri

Kontrol ve deney gruplarında karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp dokularının bakır düzeyleri Tablo-4. 5'te gösterilmiştir.

- Karaciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun bakır düzeylerinde anlamlı olmayan bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun bakır düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Akciğer dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun bakır düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun bakır düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Böbrek dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun bakır düzeylerinde anlamlı olmayan bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun bakır düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

- Beyin dokusu değerlendirildiğinde;

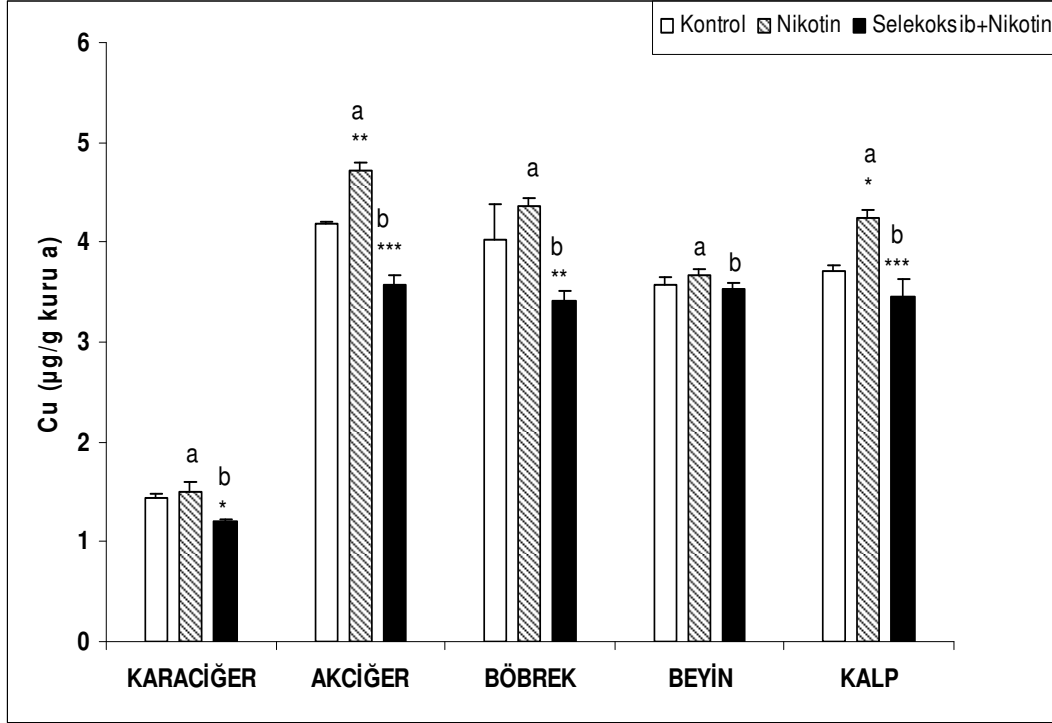
Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun bakır düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun bakır düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma bulundu.

- Kalp dokusu değerlendirildiğinde;

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun bakır düzeyinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksisib grubunun bakır düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulundu.



Şekil 4. 5- Kontrol ve Deneş Grularının Karaciğer, Akciğer, Böbrek, Beyin, Kalp Dokularının Bakır Düzeyleri.

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

\* ;  $p < 0.05$

\*\* ;  $p < 0.01$

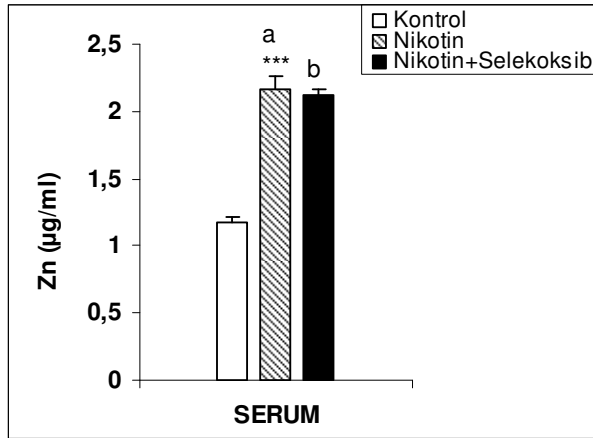
\*\*\* ;  $p < 0.001$

#### 4. 5. Serum Çinko Düzeyleri

Kontrol ve deney gruplarının serum çinko düzeyleri Tablo-4. 6'da gösterilmiştir.

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun serum çinko düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun serum çinko düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma bulundu.



Şekil 4. 6- Kontrol ve Deney Gruplarının Serum Çinko Düzeyleri.

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

\*\*\* ;  $p < 0.001$

**Tablo-4. 1.** Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Dokularında TBARS Konsantrasyonu (nmol/g yaş doku) Üzerindeki Etkileri.

<b>GRUP (n=5-7)</b>	<b>KARACİĞER</b>	<b>AKCİĞER</b>	<b>BÖBREK</b>	<b>BEYİN</b>	<b>KALP</b>
	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>
<b>KONTROL</b>	305.8 ± 11.9	148.5 ± 5.4	213.2 ± 5.1	230.8 ± 5.9	357.3 ± 6.8
<b>NIKOTİN<sup>a</sup></b>	548.3 ± 22.5 <sup>***</sup>	235.3 ± 15.5 <sup>***</sup>	294.1 ± 7.1 <sup>***</sup>	412.8 ± 8.0 <sup>***</sup>	408.6 ± 8.3 <sup>***</sup>
<b>NIKOTİN+SELEKOKSİB<sup>b</sup></b>	427.6 ± 8.5 <sup>***</sup>	105.3 ± 4.0 <sup>***</sup>	237.7 ± 3.6 <sup>***</sup>	248.7 ± 4.4 <sup>***</sup>	307.5 ± 6.9 <sup>***</sup>

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

\*\*\* p<0.001

**Tablo-4. 2.** Nikotin ve Selekoksisib Uygulamasının Sıçan Dokularında GSH Konsantrasyonu ( $\mu\text{mol/g}$  yaş doku) Üzerindeki Etkileri.

<b>GRUP (n=5-7)</b>	<b>KARACİĞER</b>	<b>AKCİĞER</b>	<b>BÖBREK</b>	<b>BEYİN</b>	<b>KALP</b>
	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>
<b>KONTROL</b>	6.9 $\pm$ 0.04	6.1 $\pm$ 0.02	6.5 $\pm$ 0.03	6.1 $\pm$ 0.03	6.2 $\pm$ 0.03
<b>NİKOTİN<sup>a</sup></b>	7.4 $\pm$ 0.06 <sup>***</sup>	6.6 $\pm$ 0.01 <sup>***</sup>	7.1 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>	6.3 $\pm$ 0.01 <sup>***</sup>	6.5 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>
<b>NİKOTİN+SELEKOKSİB<sup>b</sup></b>	7.1 $\pm$ 0.06 <sup>**</sup>	6.5 $\pm$ 0.02 <sup>**</sup>	6.7 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>	6.2 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>	6.3 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

\*\* ; p<0.01

\*\*\* ; p<0.001

**Tablo-4. 3.** Nikotin ve Selekoksisib Uygulamasının Sıçan Dokularında T-SH Konsantrasyonu ( $\mu\text{mol/g}$  yaş doku) Üzerindeki Etkileri.

<b>GRUP (n=5-7)</b>	<b>KARACİĞER</b>	<b>AKCİĞER</b>	<b>BÖBREK</b>	<b>BEYİN</b>	<b>KALP</b>
	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>	<b>Ort. <math>\pm</math> SH</b>
<b>KONTROL</b>	7.7 $\pm$ 0.03	6.8 $\pm$ 0.02	7.4 $\pm$ 0.02	6.8 $\pm$ 0.02	7.0 $\pm$ 0.02
<b>NİKOTİN<sup>a</sup></b>	9.1 $\pm$ 0.09 <sup>***</sup>	7.5 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>	7.9 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>	7.1 $\pm$ 0.02 <sup>***</sup>	7.2 $\pm$ 0.02
<b>NİKOTİN+SELEKOKSİB<sup>b</sup></b>	7.8 $\pm$ 0.3 <sup>***</sup>	7.3 $\pm$ 0.02 <sup>**</sup>	7.5 $\pm$ 0.01 <sup>***</sup>	6.9 $\pm$ 0.01 <sup>***</sup>	7.1 $\pm$ 0.02

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

\*\* ; p<0.01

\*\*\* ; p<0.001

**Tablo-4. 4.** Nikotin ve Selekoksisib Uygulamasının Sıçan Dokularında Zn<sup>+2</sup> Konsantrasyonu (µg/g kuru ağırlık) Üzerindeki Etkileri.

<b>GRUP (n=5-7)</b>	<b>KARACİĞER</b>	<b>AKCİĞER</b>	<b>BÖBREK</b>	<b>BEYİN</b>	<b>KALP</b>
	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>
<b>KONTROL</b>	15.6 ± 0.1	37.3 ± 0.6	23.9 ± 1.0	29.7 ± 1.0	33.4 ± 1.1
<b>NİKOTİN<sup>a</sup></b>	20.2 ± 1.3 <sup>*</sup>	42.2 ± 0.4 <sup>***</sup>	26.5 ± 0.6	32.8 ± 1.0	36.2 ± 1.3
<b>NİKOTİN+SELEKOKSİB<sup>b</sup></b>	15.4 ± 0.5 <sup>**</sup>	31.4 ± 0.7 <sup>***</sup>	23.2 ± 0.3 <sup>**</sup>	25.2 ± 0.9 <sup>***</sup>	23.8 ± 0.8 <sup>***</sup>

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

<sup>\*</sup> ; p<0.05

<sup>\*\*</sup> ; p<0.01

<sup>\*\*\*</sup> ; p<0.001



**Tablo-4. 5.** Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Dokularında Cu<sup>+2</sup> Konsantrasyonu (µg/g kuru ağırlık) Üzerindeki Etkileri.

<b>GRUP(n=5-7)</b>	<b>KARACİĞER</b>	<b>AKCİĞER</b>	<b>BÖBREK</b>	<b>BEYİN</b>	<b>KALP</b>
	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>	<b>Ort. ± SH</b>
<b>KONTROL</b>	1.4 ± 0.04	4.1 ± 0.02	4.0 ± 0.36	3.6 ± 0.08	3.7 ± 0.06
<b>NİKOTİN<sup>a</sup></b>	1.5 ± 0.09	4.7 ± 0.08 <sup>**</sup>	4.3 ± 0.07	3.7 ± 0.06	4.2 ± 0.07 <sup>*</sup>
<b>NİKOTİN+SELEKOKSİB<sup>b</sup></b>	1.2 ± 0.02 <sup>*</sup>	3.5 ± 0.09 <sup>***</sup>	3.4 ± 0.09 <sup>**</sup>	3.5 ± 0.06	3.4 ± 0.17 <sup>***</sup>

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

\* ; p<0.05

\*\* ; p<0.01

\*\*\* ; p<0.001

**Tablo-4. 6.** Nikotin ve Selekoksib Uygulamasının Sıçan Serumlarında Zn Konsantrasyonu ( $\mu\text{g/ml}$ ) Üzerindeki Etkileri.

<b>GRUP (n=5-7)</b>	<b>SERUM</b> <b>Ort.±SH (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>
<b>KONTROL</b>	1.2 ± 0.03
<b>NİKOTİN<sup>a</sup></b>	2.2 ± 0.08 <sup>***</sup>
<b>NİKOTİN+SELEKOKSİB<sup>b</sup></b>	2.1 ± 0.04

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

**\*\*\*** ;  $p < 0.001$

#### 4. 6. Karaciğer Ağırlıkları

Kontrol grubuna göre nikotin grubunun karaciğer ağırlıklarındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun karaciğer ağırlıklarındaki artış istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

**Tablo-4. 7.** Kontrol ve Deney Gruplarının Karaciğer Ağırlıkları. Arasındaki Farkın Eşleştirilmiş Student's t Testi İle Değerlendirilmesi.

<b>GRUP</b>	<b>Karaciğer ağırlıkları</b> <b>Ort.±SH (g/100g doku)</b>
<b>KONTROL</b>	3.46 ± 0.05
<b>NİKOTİN<sup>a</sup></b>	3.20 ± 0.04 <sup>**</sup>
<b>NİKOTİN+SELEKOKSİB<sup>b</sup></b>	3.27 ± 0.05

**a** Kontrol grubuna göre

**b** Nikotin grubuna göre

**\*\*** ; p<0.01

#### 4. 7. Vücut Ağırlıkları

Deneye başlamadan önce ve deney sonlandırılmadan önce sıçanlar tartılarak vücut ağırlıkları not edildi. Kontrol ve deney gruplarının diyet öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları arasındaki fark Tablo-4. 8’de gösterilmiştir.

Kontrol ve nikotin+selekoksib gruplarındaki deneklerin vücut ağırlıklarında artış olurken, nikotin grubunun vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma saptandı.

**Tablo-4. 8.** Sıçanların Uygulama Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları Arasındaki Farkın Eşleştirilmiş Student’s t Testi İle Değerlendirilmesi.

<b>GRUP</b>	<b>Başlangıç Ort.±SH</b>	<b>Bitiş Ort.±SH</b>	<b>Fark* Ort.±SH</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
<b>KONTROL</b>	271.6 ± 20.9	279.8 ± 19.4	8.2 ± 3.2	2.538	p<0.001
<b>NİKOTİN</b>	291.8 ±19.1	287.8 ± 17.8	-4.0 ± 1.7	2.309	p<0.001
<b>NİKOTİN+ SELEKOKSİB</b>	272.1 ± 5.0	272.8 ± 5.0	0.6 ± 2.4	0.2712	p<0.01

\* Bitiş ağırlığı – Başlangıç ağırlığı

## 5. TARTIŞMA

Lipit peroksidasyon;

Nikotinin neden olduğu serbest radikal oluşum mekanizmasının tam aydınlatılamamasına karşın araştırmacılara göre nikotin, mitokondriyal solunum zincirini etkileyerek süperoksit anyonlarının ve hidrojen peroksit radikalinin oluşumunu artırmaktadır (35, 104).

Son yapılan çalışmalar, nikotin maruziyetinin lipit peroksidasyon ürünlerinde artışa neden olurken, serbest radikal süpürücü enzim aktivitesinin azalmasıyla sonuçlandığını göstermektedir. Yani nikotin verilmesi sıçan dokularında ve serumunda lipit peroksidasyon ürünlerini artırmaktadır. Lipit peroksidasyon serbest radikal oluşumu sonucu doku membranlarında oluşan hasarın llmesi için bir gösterge olarak kullanılır. Lipit peroksidasyona bağlı oksidatif stresin llmesinde TBARS, sık kullanılan bir parametredir (27, 106-109).

Serbest radikaller doğal olarak metabolik olaylar sırasında da oluşurlar. Bu zararlı türler, nükleik asitler, proteinler ve membran lipitlerini içeren moleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar. Bunların potansiyel zararlı etkileri, hücrenel antioksidan savunma sistemleri tarafından kontrol edilir. Birçok ilaç ve kimyasal madde vücudun özgül organlarında serbest radikal oluşumunu artırmaktadır (108, 110-118).

Karaciğer nikotin metabolizmasında temel organdır. Dolayısıyla, toksik maddelere bağlı oksidatif hasara da hassas bir organdır. Karaciğer TBARS, hidroperoksit, ve konjüge dienlerin konsantrasyonundaki artış lipit peroksidasyon için en önemli göstergedir. Nikotin ilk önce karaciğerde uzun yarı-ömürlü metaboliti kotinine okside olur ve dokularda serbest radikaller oluşarak oksidatif doku hasarını indükler. Hepatik GSH tüketimi sonucu karaciğerde nikotin metabolizmasına bağlı olarak reaktif metabolitlerin arttığına dikkat çekilir (110).

Serbest radikal oluşumuna hassas diğer bir organ da akciğerdir. Akciğer sigara dumanına ilk maruz kalan organdır ve akciğer nikotin için kısa süreli bir depo olarak görev yapar. Akciğer aynı zamanda karaciğerin plazmaya salgıladığı GSH'dan da etkilenir. Böbrekler reaktif metabolitlerin tutulduğu ve atıldığı bölümdür. Nikotin metabolizmasında temel organ karaciğerdir ve TBARS'ın en yüksek bu organda oluşması beklenir, ancak, bazı

araştırmacılar, nikotinin karaciğerde belirgin bir TBARS artışına neden olmadığını göstermişlerdir. Bulgulardaki bu farklılığın nedeni; nikotinin veriliş yolundaki farklılık, maruziyet süresi, bireysel direnç gibi etmenlerdir (104, 118).

Nikotinin kronik verilişi sitokrom P-450'yi indükleyerek oksidatif doku hasarına öncülük eder. Bu nedenle TBARS konsantrasyonlarında da artış gözlenir. Dokuya özgül etkilerini araştıran bir çalışmada nikotinin beyindeki P450 2E1 seviyelerini artırırken karaciğerde değiştirmediği bulunmuştur. P450 2E1 bilindiği gibi oksido-redüksiyon reaksiyonlarını katalizlediği için ROS oluşumunu artırır ve bu nedenle lipit peroksidasyona neden olur. Lipid peroksidasyondaki artış, lipit içeren yapıları hasara uğratarak TBARS, 4-HNE gibi reaktif aldehytleri oluşturur (104, 108, 119-121).

Nikotinin oksidatif strese karşı koruyucu etkilerinin de olduğunu gösteren *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar da mevcuttur. Oksidatif stres üzerindeki iki yönlü etkinin, maruz kalınan nikotin dozu ile etki mekanizmasına bağlı olduğu düşünölmektedir. Çok yüksek dozlardaki (1-10 mM) nikotin lipit peroksidasyonu artırırken çok düşük dozlarında (10 µM) antioksidan gibi davranmaktadır. Muhtemelen, düşük dozlarda ortamdaki fazla demiri bağlayarak Fenton reaksiyonunu inhibe etmektedir. Diğer taraftan, NADH'ı bağlayarak mitokondriyal elektron transfer zincirini de bozarak süperoksit anyon oluşumunu da azaltıyor olabilir (2).

Çalışmamızda nikotin maruziyetinin tüm dokularda lipit peroksidasyonu artırdığını tespit ettik. Özellikle kalpteki lipit peroksidasyondaki artışın diğer organlara göre çok daha fazla olması, muhtemelen kronik nikotin maruziyetinin koroner vazokonstriksiyon sonucu kan basıncını artırarak kardiyomegaliye neden olması ve kanlanmanın fazla olduğu bir organ olması nedeniyle dolaşımdaki reaktif radikallere kalbin daha fazla maruz kalmasından kaynaklanıyor olabilir.

Nikotin maruziyetinde hedef organın hangisi olduğunu literatür bilgilerine ve elimizdeki bulgulara dayanarak söylemek mümkün olmamakla birlikte, uzun süreli nikotin maruziyetinde hemen hemen tüm organların olumsuz etkilendiğini söyleyebiliriz.

Dokuda glutatyon düzeyleri;

GSH memeli hücrelerinin tümünde bulunur. Antioksidan savunma mekanizmasının asıl bileşenidir ve görevi serbest radikallerin ve oksijen radikallerinin detoksifikasyonu, tiyol-disülfid değişimi, sisteinin depolanması ve taşınması gibi birçok görevi vardır. GSH tüm memeli hücrelerinde bulunur, ancak ekzojen toksinlere maruz kalındığında karaciğer akciğer ve böbrek gibi organlarda özellikle önemlidir. Hücrelerde mitokondriyal GSH oksidantlara karşı esas savunucudur. GSH homeostazı karışıktır ve karaciğer, akciğer, böbrekler tarafından düzenlenir (106, 120).

Redükte glutatyon, vücudun farklı organlarında başlıca serbest oksijen radikallerine karşı antioksidan savunma bileşenlerinden biridir. Bu radikallerin oluşumu sonrasında, antioksidan savunma sistemi onları elimine etmek için harekete geçer ve konsantrasyonları artar. GSH esas antioksidan savunma sistemi bileşenidir ve doğrudan reaktif serbest radikal süpürücü olarak etki gösterir. Aratırmacılar, sigara dumanı solunması sonucu karaciğerde TBARS düzeyi, GSH ve GSH Px düzeyinin arttığını tespit etmişlerdir (110, 118, 121).

Kronik nikotin maruziyetinin, karaciğer ve akciğerde GSH tüketimine yol açtığını gösteren bulgular da mevcuttur. Hepatik GSH, hem ROS'un süpürülmesinde hem de ilaçların detoksifikasyonunda önemli rol oynar. GSH, doğrudan ROS ve elektrofilik metabolitlerle reaksiyona girer ve tiyol gruplarını oksidasyondan korur (35, 110).

Glutatyon içeriği diğer dokularla karşılaştırıldığında en yüksek karaciğerdedir. Çalışmamızda, böbrek GSH düzeyinin karaciğerdekine benzer oranda çıkması karaciğerin toksik kimyasallara yüksek maruziyetini düzenlemek için GSH'un renal dönüşüm oranının hızlanmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca, doku GSH konsantrasyonlarındaki artış nikotin maruziyetine bağlı olarak artmış lipid peroksidasyona karşı oluşan bir yanıt da olabilir. Diğer taraftan, GSH sentezinin feed-back (geri besleme) uyarılması ile ilişkili olabileceği de göz önünde tutulmalı ve GSH homeostazının son derece karmaşık bir süreç olduğu unutulmamalıdır.

Dokuda total tiyol gruplarının düzeyi;

Sülfidril bileşikler genel olarak çok önemli endojen antioksidanlardır. Bu bileşikler proteinlerin ve lipidlerin hücresel işlevlerinde önemli rol oynarlar. Bunlar tükendiği zaman, oksidatif stresin toksik etkileri membran ve hücre hasarını şiddetlendirir (96).

Proteinler hücre ve dokuların kuru ağırlığının %50'den fazlasını oluştururlar. Reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türlerinin seviyeleri hücresele antioksidan kapasitesini aştığı zaman oksidatif stres oluşur. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu, proteinler de dahil birçok hücresele yapıyı hasara uğratarak, apoptozis veya nekroz yoluyla hücre ölümüne neden olur. Proteinlerdeki sisteinler, sülfidril içeren aminoasit kalıntıları gibi birçok oksidant için hedefdir. Farklı dokulardaki memeli hücreleri, hücresele tiyollerin redoks durumunu düzenler ve –SH içeren proteinleri aşırı oksidasyondan korurlar. Ayrıca glutatyon sistemi tiyol konsantrasyonunun kontrolünde önemli rol oynar (122, 123).

Nikotin ve sigara dumanındaki diğer oksidantlar insan vücudunda oksidatif stres oluşumuna neden olan bileşiklerdir. Yapılan bir çalışmaya göre sigara içenlerin plazmalarında TBARS ve serbest tiyol gruplarının varlığı tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre; içicilerde içmeyenlere göre daha yüksek seviyelerde TBARS tespit edilirken, içicilerde daha az serbest tiyol grupları tespit edilmiştir. Artmış lipid peroksidasyon sonucu, antioksidan olarak görev yapan tiyol konsantrasyonlarında azalma tespit edilmiştir (119).

Nikotin verilen sıçanlarda protein S-tiyolasyon miktarının glutatyon oksidasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Protein S-tiyolasyonunun, indirgenmiş glutatyonun oksidize reaktif sülfidril proteinlerle reaksiyona girmesi sonucu oluştuğuna inanılır. Proteinlerin S-tiyolasyonu veya glutatyonun oksidasyonu sadece oksidatif stresin bir göstergesi değil aynı zamanda bu reaksiyonlar, antioksidan sistem gibi görev yaparak oksidatif strese karşı oluşan hücresele birer yanıtıdır (122, 124).

Bizim çalışmamızda elde edilen verilere göre nikotinin oluşturduğu oksidatif stres sonucu tiyol konsantrasyonu artmıştır. Bu artış muhtemelen, oksidatif strese karşı oluşan akut bir yanıt olabilir. Birçok çalışmada, kronik nikotin uygulamasının antioksidan savunma sistemini tüketirken, akut veya subakut nikotin uygulaması sonucu antioksidan savunma elemanlarının konsantrasyonlarında artış gözlenmiştir.

Nikotinin tiyol konsantrasyonunu artırması verilen doz ve uygulama süresi ile ilişkili olabilir. Diğer taraftan, GSH oksidasyonunun yanısıra protein S-tiyolasyon derecesi de oksidatif stres göstergesi olarak değerlendirilirse sonuçlarımız daha iyi yorumlanabilecektir. Bu nedenle, GSH ve TSH arasındaki ilişkiyi de açıklayabilmek için S-tiyolasyon çalışmalarının yapıldığı ve protein oksidasyonunda değerlendirildiği daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.



Dokuda çinko ve bakır düzeyleri;

Hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri, hücre farklılaşmasındaki hücre içi iletimde, apoptoziste, bağışıklıkta ve mikroorganizmalara karşı savunmada ve benzeri birçok biyokimyasal olayda önemli rol oynarlar. Bu reaktif türlerin aşırı üretilmesi sonucunda enflamasyon oluşur ve oksidatif stresle sonuçlanır. Oksidatif stres lipid peroksidasyon, enzim inaktivasyonu ve DNA hasarı gibi birçok doku hasarına neden olabilir. Organizma bu serbest radikallere karşı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri üretirler. Bu sistemler çinko ve bakır gibi elementleri de içerir.

Eser elementlerin, insan vücudunda önemli görevleri vardır. Bu elementlerin çok düşük konsantrasyonlarına bile ihtiyaç vardır, örneğin antioksidan enzimler için gereklidirler. Sitoplazmik Cu/Zn-süperoksit dismutaz enzimi kofaktör olarak Cu ve Zn'ya gereksinimleri vardır (125).

Eser elementlerin her birinin yaşamsal olaylarda farklı görevleri vardır. Bu elementlerin eksikliği hücreyel olaylarda işlev bozukluklarına neden olur. Eser elementlerin görevlerinden en önemlisi, antikarsinojenik özellik taşımalarıdır. Eser elementlerin, antioksidan potansiyeli olan enzim sisteminin indüksiyonu, DNA onarımı, bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri gibi birçok fizyolojik mekanizmaları vardır. Epidemiyolojik çalışmalara göre eser element miktarının artışı kanser riskini azaltmaktadır (126).

Hücrelerdeki oksidatif hasar normal olarak serbest radikaller tarafından gerçekleştirilir. Enzimatik ve enzimatik olmayan biyolojik antioksidan sistemler tarafından bu hasar azaltılır. Önemli antioksidanlar arasında  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$  süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, enzimatik olmayanlar arasında ise, C vitamini, alfa-tokoferol vardır (127).

Nikotin, uzun süreli kullanıldığında vitamin, mineral ve iz element dengesizliğine neden olabilir. Hem sigara içimi hem de eser element metabolizmasındaki değişiklikler kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalık için bir risk faktörüdür. Bu nedenle sigara içiminin eser element metabolizması üzerindeki etkilerinin anlaşılması önemlidir (128-130).

Yapılan bir çalışmaya göre kronik nikotin uygulamasının sıçanlarda eser element metabolizmasını değiştirdiği bulunmuştur. Bu araştırma sonucuna göre sigara içenlerin  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  konsantrasyonları içmeyenlerle karşılaştırıldığında içenlerin serum  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  konsantrasyonları daha fazla bulunmuştur. Ayrıca, nikotin verilen sıçanların serum eser element konsantrasyonlarında belirgin bir değişikliğin olmadığını gösteren bulgular da mevcuttur. Buna göre, nikotinin sıçanlarda serum eser element konsantrasyonlarını değiştirmezken; karaciğer, akciğer, böbrek ve beyinde eser element konsantrasyonlarını önemli ölçüde değiştirdiği gözlenmiştir. Ayrıca nikotin uygulamasının karaciğer glutatyon konsantrasyonlarını önemli ölçüde düşürürken  $Cu^{+2}$ , ZnSOD aktivitesini artırdığı gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre uzun süreli nikotin uygulaması (21 gün) serum eser element konsantrasyonunu değiştirmezken serbest radikal savunma sistemi bileşiklerini içeren dokuları etkilemektedir (128).

Yapılan bir diğer çalışmaya göre sigara içenlerle kontrol grubu karşılaştırıldığında sigara içenlerde  $Cu^{+2}$  konsantrasyonları kontrole göre düşük bulunmuştur (131).

Nikotin ile eser element düzeyleri arasındaki ilişkileri ortaya koymaya yönelik çok fazla çalışma yoktur. Plazma bakır düzeylerinin ve plazma lipit peroksidasyonun sigara içenlerde, içmeyenlere göre daha yüksek olduğunu gösteren bulgular vardır (132). İçilen sigara miktarıyla, lipit peroksidasyon ürünleri ve bakır düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon ortaya konmuştur. Bu bulgu, sigara içimine bağlı plazma oksidan miktarı, prooksidan bakır metalinin seviyelerindeki artışla kısmen ilişkili olabilir. Görüldüğü gibi farklı çalışmalarda sigaranın eser element düzeyleri üzerinde etkileri konusunda farklı sonuçlar mevcuttur (132, 133).

Çinko eksikliği olan bitkilere çinko takviyesi yapıldığında glutatyon redüktaz enzim aktivitesinin 8 kat arttığı ve SOD aktivitesinin de 4 kat arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda katalaz aktivitesi de azalmıştır. Çinko eksikliği olan hücrelerde SOD ve GSHPx gibi serbest radikal süpürücü enzimlerin etkinliğinde azalma olur. Çinko birçok antioksidanın gen düzenlemesini sağlar Hücrenel çinko dengesindeki bozukluklar SOD ve GSHPx gibi önemli serbest radikal süpürücü enzimlerin biyosentezini bozar. Ayrıca, tiyollerin ve GSH'un süperoksit tarafından otooksidasyonu çinko tarafından inhibe edilir. Çinko, oksijen radikallerinin varlığında sadece glutatyonu otooksidasyondan korumaz, aynı zamanda hidrojen peroksit maruz hücrelerdeki glutatyon redüktazı da düzenler. Eğer çinko diyet ihtiyacından çok fazla hücrelerde bulunursa, oksidatif stres tarafından GSH üretiminin

tetiklendiği hücrelerde, GSH konsantrasyonunun çok daha fazla oluşmasına katkıda bulunur (133).

Sigara içenlerde, içmeyenlere göre belirgin derecede düşük eritrosit CuZnSOD aktivitesi vardır. Sigara içen yetişkinlerde  $Zn^{+2}$  konsantrasyonlarının azaldığını, bunun yanı sıra  $Cu^{+2}$  konsantrasyonlarının arttığını tespit etmişlerdir. İçicilerdeki  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  homeostazının değişimi hipertansiyon gibi uzun süreli negatif etkilerin oluşmasına katkıda bulunur. Bulgulara göre çinko konsantrasyonları ve idrar  $Zn^{+2}$ /kreatinin atılımı içicilerde daha fazladır (127).

Çinko seviyelerinin en yüksek olduğu yer beyinde hipokampüstür. Çinko başlıca sinir uçlarının merkezinde bulunur. Yapılan bir çalışmaya göre yetişkin sigara içicilerinde içmeyenlere göre daha yüksek serum bakır konsantrasyonları bulunmuştur (133).

Çalışmamızda, nikotinin, karaciğerde çinko düzeyini, akciğerde ise hem çinko hem de bakır düzeyini istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde artırdığı, diğer dokulardaki çinko ve bakır düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir. Nikotinin, iz element metabolizması üzerindeki etkisinin doğrudan bir etki olmayıp neden olduğu oksidatif strese bağlı olarak iz element homesotazından sorumlu enzim ve mekanizmaları etkileyerek iz element dengesini bozduğunu düşünmekteyiz. Diğer taraftan, çinko ve bakır taşıyan enzimlerin sentezi başlıca karaciğerde olmaktadır. Bu nedenle, çinko ve bakır düzeylerindeki anlamlı değişiklikler esas olarak karaciğerde olmuştur.

Serum çinko düzeyleri;

Çinko, büyümede, protein metabolizmasında, enerji üretiminde, gen düzenlenmesinde, hücre membranlarının sağlığında anahtar rol oynar (134).

Serum  $Cu^{+2}$  düzeylerindeki düşme birçok patoloji açısından anlamlıdır. Lipit peroksidasyonu önlemeye çalışan antioksidan enzimlerin kofaktörü olarak Cu önemli role sahiptir. Cu eksikliği yanında serum Zn düzeylerindeki düşme de antioksidan savunma sistemindeki enzimlerin aktivasyonunu azaltır. Çinko yetersizliği bulunan hücreler yüksek miktarlarda süperoksit ve hidrojen peroksida maruz kaldıklarında SOD ve GSHPx gibi serbest radikallere karşı koruyucu enzimlerin gen düzenlenmesini sağlayamazlar. Bunun sonucunda kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi hastalıkların görülme sıklığı artar (131, 133).

Çinko eksikliği lipit peroksidasyonun artmasına neden olur ve çinko bileşikleri bu durumu inhibe edebilirler. Çinkonun antioksidan mekanizması akut ve kronik etkiler olmak üzere genel olarak ikiye ayrılır. Kronik etkileri organizmanın çinkoya uzun süre maruziyeti sonucunda oluşur ve metallothioneinler gibi diğer bazı antioksidan bileşiklerin indüksiyonu ile sonuçlanır. İnsan çalışmalarında çinko bileşiklerinin antioksidan duruma katkıda bulunduğu ve lipit peroksidasyonu azalttığı tespit edilmiştir. Buna rağmen çinkonun antioksidan savunma sistemindeki rolü tam netlik kazanmamıştır.

Çinkonun antioksidan etkilerini hangi mekanizmayla gerçekleştirdiği net bilinmemekle beraber serbest radikal süpürücü olarak etki gösteren metallothionein ve sisteince zengin protein sentezini arttırarak etki gösterdiği öne sürülür. Çinko hem DNA hem de RNA polimeraz enzimleri için ve glikojen, insülin, büyüme hormonu, seks hormonları gibi birçok hormonun aktivitesi için gereklidir (134).

Çalışmamızda, nikotinin serum çinko düzeylerini anlamlı şekilde artırması, çinkonun dokulara taşınma mekanizmalarında da bir bozulma olduğunu düşündürmektedir.

Doku ve serum iz element düzeyleri ile ilgili bulgularımız, nikotinin, çinko ve bakır metabolizmasından sorumlu metallothionein (134) gibi proteinlerin oksidasyonuna neden olarak doku ve vücut sıvılarındaki serbest çinko ve bakır düzeyinin artırdığını düşündürmektedir.

Karaciğer ağırlıkları;

Nikotin, kontrol ve nikotin+selekoksib gruplarının karaciğer ağırlıklarını ölçtüğümüzde nikotin uygulamasının karaciğer ağırlıklarını belirgin ölçüde azalttığını tespit ettik. Karaciğer glikojen deposu, organizmada glikoz dengesinin sağlanmasında çok önemlidir. Oral yolla kronik olarak uygulanan nikotinin, karaciğer ağırlığının her bir birimine düşen glikojen miktarında azalmaya neden olduğunu göstermektedir (135).

Vücut ağırlıkları;

Sigara içiminin iştahı baskıladığı iyi bilinmektedir. Nikotin tütündeki en aktif kimyasal bileşiktir ve yeme üzerindeki etkiden nikotinin sorumlu olduğuna inanılır. Kronik nikotin infüzyonunun sıçanlarda gıda alımını azalttığı tespit edilmiştir (136-138).

Nikotinin, hipotalamik monoamin salınımını değiştirerek gıda alımını inhibe etmekten

sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar vardır (96, 136). Nikotinin, gıda alımını azaltıcı etkisine hepatic vagal afferentlerin de katkısının olduğu da ileri sürülmektedir. Gastric vagal afferentler ince bağırsaktan kolestokinin salıverilmesine bağlı olarak doyma sinyallerinin hipotalamusa taşınmasında görevlidirler. Nikotin kolestokinin plazma konsantrasyonlarını artırır ve nikotinin bazı etkileri prostaglandin yolağıyla ilişkilidir (135, 137). Gastric vagal aktivite nikotinin sistemik verilmesine bağlıdır. Nikotinin sistemik etkisinin gıda alımını bastırıldığı düşünülmektedir (137).

Çalışmamızda, vücut ağırlıklarındaki azalma, nikotinin gastric vagal afferent aktiviteyi harekete geçirdiğini göstermektedir. Bu etkinin prostaglandinlerle ilişkili olduğu da düşünülmektedir. Ayrıca, kolestokinin gıda alımını inhibe ederek vagal afferent aktiviteyi ve gastric motilite gibi gastrointestinal fonksiyonları artırmaktadır. Nikotinin glikoz metabolizmasını bozarak, insülin salıverilmesini baskılayarak da vücut ağırlığını ve lipoprotein-lipaz aktivitesini artırması da vücut ağırlığı üzerindeki etkilerine katkıda bulunuyor olabilir (135). Ancak, nikotinin farmakokinetik ve farmakodinamik profilinin erkek ve dişi sıçanlarda aynı olmayabileceği de göz önünde tutulmalıdır (138, 139).

Nikotinin, karaciğer ve vücut ağırlığı üzerindeki etkilerinin esas olarak glikoz metabolizmasını bozması ve iştah merkezini baskılaması nedeniyle olduğu düşünülmektedir.

Selekoksinin nikotin toksisitesi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi;

Enflamasyonda COX-2'nin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Seçici COX-2 inhibitörü olan selekoksinin, birçok enflamatuvar hastalığın tedavisinde yararlı bir yaklaşım olarak görülmektedir. Ayrıca, akciğer enflamasyonuna karşı koruyucu etkilerinin olduğu da gösterilmiştir (139, 140). Selekoksinin çalışmamızda, nikotin uygulaması ile artmış olan TBARS, GSH ve TSH düzeylerini kontrol grubuna yakın düzeylere getirmesi serbest radikal süpüücü özelliği olduğunu düşündürmektedir. Muhtemelen, dokulardaki PGE2 oluşumunu da anlamlı derecede azaltmaktadır (140). PGE2 düzeyleri ile ilgili çalışmalarla bu mekanizma doğrulanabilir.

Bazı COX-2 inhibitörlerinin COX bağımlı olmayan, karbonik anhidraz enzimi gibi farklı yollar üzerinden de etkileri olduğu gösterilmiştir. Karbonik anhidraz, çinko içeren bir metalloenzimdir ve selekoksin de güçlü bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. Dolayısıyla,

selekoksib, metabolik olayların yanı sıra, potasyum, kalsiyum dengesini ve muhtemelemen çinko dengesini de bozabilmektedir (141,142).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma; nikotinin, COX-2 enzimi üzerinden oksidatif strese neden olarak serbest radikal oluşumunu artırabileceği ve doku enflamasyonuna neden olduğu bilgilerinden hareketle, COX-2 inhibitörleri ile bu yoldan radikal oluşumunun baskılanarak nikotin toksisitesinin önlenebileceği veya azaltılabileceği düşünülerek planlandı.

Bu amaçla; seçici bir siklooksijenaz-2 inhibitörü ile nikotinin neden olduğu lipit peroksidasyon derecesini ve antioksidan sistem üzerindeki etkilerini araştırdık.

Nikotinin farmakolojik etkileri dozuna ve veriliş yoluna bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Sıçanlara 7 gün süreyle uyguladığımız i.p. 1.5 mg/kg doz nikotin, lipit peroksidasyon ürünlerini artırırken, antioksidan savunma bileşenlerini harekete geçirerek bunların seviyelerinde de artışa neden olmuş, doku ve serum iz element dengesinde de bozulmalara yol açmıştır.

Seçici COX-2 inhibitörü olan selekoksib, muhtemelen PGE2 ve COX-2 inhibisyonu sağlayarak bu mekanizmalar aracılığı ile oluşan oksidatif stresi önlemektedir. Diğer taraftan, COX dışındaki mekanizmalarının da hücrel hasarı önleyici etkisine katkıda bulunduğu kanaatindeyiz.

Bulgularımıza dayanarak;

- 1- Nikotin toksisitesinin temel mekanizması olmamakla birlikte oksidatif stresin, nikotinin neden olduğu hücrel hasarda önemli bir etken olduğunu,
- 2- COX yolağının nikotin toksisitesinde önemli bir mekanizma olabileceğini,
- 3- Seçici siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibisyonu ile enflamasyonlu hastalıkların yanı sıra oksidatif stresin neden olduğu diğer patolojik durumlarda da yararlı olabileceklerini,
- 4- Kısa ve uzun süreli nikotin maruziyetinin etkilerini ve etki mekanizmalarını açıklayabilmek için daha ileri çalışmalara gereksinim olmakla birlikte, yaptığımız çalışmanın nikotin ile ilgili çalışmalara yeni bir bakış açısı kazandıracağını düşünmekteyiz.

## 7. ÖZET

Nikotinin, COX-2 enzimini indükleyerek, oksidatif stresi artırdığı bilinmektedir. Bu bilgiye dayanarak seçici bir COX-2 inhibitörünün, siklooksijenaz (COX) yolağında serbest radikal oluşumunu baskılayabileceğini ve buna bağlı olarak nikotin toksisitesinin önlenebileceğini veya azaltılabileceğini düşündük.

Bu amaçla, TBARS, GSH ve T-SH ile doku ve serumda çinko ve bakır dağılımları değerlendirildi. Nikotin toksisitesi ve toksisite üzerine seçici COX-2 inhibisyonunun etkisi incelendi.

Tüm gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında:

Kontrol grubuna göre; nikotin grubunun karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp TBARS düzeylerinde anlamlı ( $p < 0.001$ ) bir artış bulundu..

Kontrol grubuna göre; nikotin grubunun karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp GSH düzeylerinde anlamlı ( $p < 0.001$ ) bir artış bulundu.

Kontrol grubuna göre; nikotin grubunun karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve T-SH düzeylerinde anlamlı ( $p < 0.001$ ), kalp dokusunda anlamlı olmayan bir artış bulundu.

Kontrol grubuna göre; nikotin grubunun karaciğer ( $p < 0.05$ ), akciğer ( $p < 0.001$ ) çinko düzeylerinde anlamlı bir artış, böbrek, beyin ve kalp çinko düzeylerinde anlamlı olmayan ( $p > 0.05$ ) bir artış bulundu.

Kontrol grubuna göre; nikotin grubunun karaciğer, böbrek, beyin bakır düzeylerinde anlamlı olmayan bir artış ( $p > 0.05$ ), akciğer ( $p < 0.01$ ) ve kalp ( $p < 0.05$ ) bakır düzeylerinde anlamlı bir artış bulundu.

Kontrol grubuna göre, nikotin grubunun serum çinko düzeylerinde anlamlı bir artış ( $p < 0.001$ ) bulundu.

Nikotin grubuyla nikotin+selekoksib grubu karşılaştırıldığında:

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kalp TBARS düzeylerinde anlamlı ( $p < 0.001$ ) bir azalma bulundu.



Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun karaciğer( $p<0.01$ ), akciğer, böbrek, beyin ve kalp GSH düzeylerinde anlamlı ( $p<0.001$ ) bir azalma bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun karaciğer, böbrek, beyin ve akciğer dokularının T-SH düzeylerinde anlamlı ( $p<0.001$ ) bir azalma bulundu. Kalp dokusunun T-SH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun karaciğer ( $p<0.01$ ), akciğer ( $p<0.001$ ), böbrek ( $p<0.01$ ), beyin ( $p<0.001$ ), kalp ( $p<0.001$ ) çinko düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun karaciğer ( $p<0.05$ ), akciğer ( $p<0.001$ ), böbrek ( $p<0.01$ ), kalp ( $p<0.001$ ) bakır düzeylerinde anlamlı bir azalma bulundu. Beyin ( $p>0.05$ ) bakır düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma bulundu.

Nikotin grubuna göre nikotin+selekoksib grubunun serum çinko düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalma ( $p>0.05$ ) bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Nikotin, Siklooksijenaz-2, Lipit peroksidasyon, Antioksidan etki, Eser elementler.

## 8. SUMMARY

It is known that nicotine increases the oxidative stress, inducing COX-2 enzyme. With this knowledge, we thought that a selective COX-2 inhibitor could swage the free radical constitution on the way of cyclooxygenase and according to this, nicotine toxicity could be prevented or decreased.

With this aim, with TBARS-GSH and T-SH in tissue and serum, the distribution of zinc and copper were evaluated.

The effect of nicotine toxicity and the effect of selective COX-2 on toxicity were examined.

When all groups were compared to control groups;

Considering control group, a significant increase(  $P < 0.001$ ) was found on the TBARS levels of liver, lung, kidney, brain nicotine group.

Considering control group, a significant increase ( $p < 0.001$ ) was found on the levels of liver, lung, kidney and heart GSH of nicotine group.

Considering control group, a significant increase ( $p < 0.001$ ) was found on the levels of liver, lung, kidney, brain, heart T-SH of nicotine group.

Considering control group, a significant increase was found on the levels of liver ( $p < 0.05$ ), lung ( $p < 0.001$ ), zinc and a non-significant increase ( $P < 0.05$ ) was found on the levels of kidney, brain, heart, zinc of nicotine group.

Considering control group, a non-significant ( $P < 0.05$ ) increase on the levels of liver ( $P < 0.01$ ) and heart ( $P < 0.05$ ), copper was found.

Considering control group, a significant increase (  $P < 0.001$ ) was found on the levels of serum zinc.

When nicotine group and celecoxibe groups were compared :

Considering nicotine group, a significant decrease ( $P < 0.001$ ) was found on the levels of liver, lung, kidney, brain and heart TBARS of nicotine + celecoxibe group.

Considering nicotine group, a significant decrease ( $P<0.001$ ) was found on the levels of liver ( $P<0.01$ ), lung, kidney, brain and heart GSH of nicotine + celecoxibe group.

Considering nicotine group, a significant ( $P<0.001$ ) was found on the T-SH levels of liver, kidney, brain tissues. A statistically significant decrease ( $P<0.001$ ) was found on the T-SH levels of lung and heart tissues.

Considering nicotine group, a significant decrease was found on the levels of liver ( $P<0.01$ ), lung ( $P<0.001$ ), kidney ( $P<0.001$ ), heart ( $P<0.001$ ) zinc of nicotine celecoxibe group.

Considering nicotine group, on the levels of liver ( $P<0.05$ ), lung ( $P<0.001$ ), kidney ( $P<0.01$ ), heart ( $P<0.001$ ), copper, a significant level was found. A non-significant decrease was found on the levels of brain ( $P>0.05$ ) copper of nicotine + celecoxibe group.

Considering nicotine group, a non-significant decrease was found on the serum zinc levels of nicotine + celecoxibe group.

**Keywords:** Nicotine, Cyclooxygenase-2, Lipid peroxidation, Antioxidant effect, Trace elements

## 9. KAYNAKLAR

- 1) Hoffman, D., Wynder, E.L.: Chemical constituents and bioactivity of tobacco smoke. *IARC Sci Publ* 74, 145-165, 1986.
- 2) Tunez, I., Montilla, P., Munoz, M.C., Drucker-Colin, R.: Effect of nicotine on 3-nitropropionic acid-induced oxidative stress in synaptosomes. *Eur J Pharmacol* 504, 169-175, 2004.
- 3) Zevin, S., Gourlay, S.G., Benowitz, N.L.: Clinical pharmacology of nicotine. *Clin Dermatol* 16, 557-564, 1998.
- 4) Morgan, T.M., Crawford, L., Stoller, A., Toth, D., Yeo, K.T.J., Baron, J.A.: Acute effects of nicotine on serum glucose, insulin, growth hormone and cortisol in healthy smokers. *Metabolism* 53, (5), 578-582, 2004.
- 5) Thomas, G.A., Davies, S.V., Rhodes, J.: Is transdermal nicotine associated with cardiovascular risk? *J. R. Coll. Physicians* 29, (5), 392-6, 1995.
- 6) Benowitz, N.L., Hansson, A., Jacob, P.III. : Cardiovascular effects of nasal and transdermal nicotine and cigarette smoking. *Hypertension* 39, 1107-1112, 2002.
- 7) Im, J.W., Kim, H.K., Kim, N.D., Choi, J.S., Yu, B.P., Yang, H.S., Chung, H.Y.: Activation of cyclooxygenases by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and *t*-butylhydroperoxide in aged rat lung. *Biotechnol Lett* 26, (21), 1665-9, 2004.
- 8) Fujimoto, Y., Uno, E., Sakuma, S.: Effects of reactive oxygen and nitrogen species on cyclooxygenase-1 and -2 activities. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 71, (5), 335-340, 2004.
- 9) Chang, Y.C., Tsai, C.H., Yang, S.H., Liu, C.M., Chou, M.Y.: Induction of cyclooxygenase-2 mRNA and protein expression in human gingival fibroblasts stimulated with nicotine. *J Periodont Res* 38, (5), 496-501, 2003.
- 10) Rouzer, C.A., Marnett, L.J.: Mechanism of free radical oxygenation of polyunsaturated fatty acids by cyclooxygenases. *Chem Rev* 103, (6), 2239-304, 2003.
- 11) Kara, E., Var, A., Vatansever, S., Cilaker, S., Kaya, Y., Coşkun, T.: Effects of rofecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor on endothelial dysfunction, lipid peroxidation, and hepatocyte morphology in rats with sepsis-induced liver damage. *Curr Ther Res* 65, (3), 278-291, 2004.
- 12) Horton, A.A., Fairhurst, S. : Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Crit Rev Toxicol* 18, (1), 27-79, 1987.
- 13) Slater, T.F. : Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 222, 1-15, 1984.

- 14) Mardones, P., Rigotti, A.: Cellular mechanisms of vitamin E uptake: relevance in  $\alpha$ -tocopherol metabolism and potential implications for disease. *J Nutr Biochem* 15, (5), 252-260, 2004.
- 15) Ho, E.: Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. *J Nutr Biochem* 15, (10), 572-578, 2004.
- 16) Specialty Definition: Nicotine (from *Wikipedia*, the free encyclopedia)
- 17) Hukkanen, J., Jacob, P., Benowitz, N.L.: Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev* 57, 79-115, 2005.
- 18) Wang, M.: Nicotine: The masked killer. *Iowa-University Pres*, 1-9, 2001.
- 19) Benowitz, N.L.: The role of nicotine in smoking-related cardiovascular disease. *Prev Med* 26, 412-417, 1997.
- 20) Ebbert, J.O., Dale, L.C., Nirelli, L.M., Schroeder, D.R., Moyer, T.P., Hurt, R.D.: Cotinine as a biomarker of systemic nicotine exposure in spit tobacco users. *Addict Behav* 29, 349-355, 2004.
- 21) Brewer, B.G., Roberts, A.M., Rowell, P.P.: Short-term distribution of nicotine in the rat lung. *Drug Alcohol Depend* 75, 193-198, 2004.
- 22) Benowitz, N.L., Jacob, P., Fong, I., Gupta, S.: Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 268, (1), 296-303, 1994.
- 23) Yildiz, D. : Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicol* 43, 619-632, 2004.
- 24) Dawson, E.B., Evans, D.R., Haris, W.A., et al.: The effect of ascorbic acid supplementation on the nicotine metabolism of smokers. *Prev Med* 29, 451-454, 1999.
- 25) Dhar, P.: Measuring tobacco smoke exposure: quantifying nicotine/cotinine concentration in biological samples by colorimetry, chromatography and immunoassay methods. *J Pharm Biomed Anal* 35, 155-168, 2004.
- 26) Saareks, V. Nicotine-induced changes in eicosanoid synthesis in man. Effects of smoking cessation, nicotine substitution, pyridoxine and nicotinic acid. Tampere: *Tampere University Pres*, 1-33, 2000.
- 27) Kelly, G.: The interaction of cigarette smoking and antioxidants. Part III: Ascorbic acid. *Altern Med Rev* 8, (1), 43-54, 2003.
- 28) Benowitz, N.L., Jacob, P. III. : Trans-3'-hydroxycotinine: Disposition kinetics, effects and plasma levels during cigarette smoking. *J Clin Pharmacol* 51, 53-59, 2001.

- 29) Oscarson, M., McLellan, R.A., Gullsten, H., et. al.: Identification and characterisation of novel polymorphisms in the CYP2A6 locus: implications for nicotine metabolism. *FEBS Letters* 460, 321-327, 1999.
- 30) Pirisi, A.: Nicotine metabolism varies between different ethnic groups. *Lancet* 359, 234, 2002.
- 31) Zevin, S., Jacob, P., et al.: Cotinine effects on nicotine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 61, (6), 649-54, 1997.
- 32) Zevin, S., Jacob, P., Geppetti, P., Benowitz, N.L.: Clinical pharmacology of oral cotinine. *Drug Alcohol Depend* 60, 13-18, 2000.
- 33) Bozikas, V.P., Niopas, I., Kafantari, A., et al.: No increased levels of the nicotine metabolite cotinine in smokers with schizophrenia. *Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29, (1), 1-6, 2005.
- 34) Biala, G., Weglinska, B.: Calcium channel antagonists attenuate cross-sensitization to the locomotor effects of nicotine and ethanol in mice. *Pol J Pharmacol* 56, 391-397, 2004.
- 35) Newman, M.B., Arendash, G.W., Shytle, R.D., et al.: Nicotine's oxidative and antioxidant properties in CNS. *Life Sci* 71, 2807-2820, 2002.
- 36) Unwin, N.: Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4 Å resolution. *J Molecular Biol* 346, (4), 967-989, 2005.
- 37) Klink, R., Exaerde, A.K., Zoli, M., Changeux, J.P. : Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *The Journal Neuroscience* 21, (5), 1452-1463, 2001.
- 38) Gotti, C., Clementi, F.: Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Prog Neurobiol* 74, (6), 363-396, 2004.
- 39) Bugajski, J., Gadek-Michalska, A., Bugajski, A.J.: Involvement of prostaglandins in the nicotine-induced pituitary-adrenocortical response during social stress. *J Physiol Pharmacol* 53, (4), 847-857, 2002.
- 40) Ilback, N.G., Stalhandske, T.: Nicotine accumulation in the mouse brain is age-dependent and is quantitatively different in various segments: *Toxicol Lett* 143, (2), 175-184, 2003.
- 41) Ingram, N., Martin, S., Wang, J.H., et al.: Interaction of corticosterone and nicotine in regulation of prepulse inhibition in mice. *Neuropharmacology* 48, (1), 80-92, 2005.
- 42) Cooke, J.P.: Angiogenesis and the role of the endothelial nicotinic acetylcholine receptor. *Life Sciences* 2007.
- 43) Mandl, P., Kiss, J.P.: Role of presynaptic nicotinic acetylcholine receptors in the

- regulation of gastrointestinal motility. *Brain Research Bulletin* 72, (4-6), 194-200, 2007.
- 44) Hoffmann, D., Djordjevic, M.V., Hoffmann, I.: The changing cigarette. *Prev Med* 26, (4), 427-34, 1997.
- 45) Baker, R.R., Massey, E.D., Smith, G. : An overview of the effects of tobacco ingredients on smoke chemistry and toxicity. *Food and Chemical Toxicology* 42, (1), 53-83, 2004.
- 46) Baker, R. R., Pereira, J.R., Smith, G.: The effect of tobacco ingredients on smoke chemistry. Part I: Flavourings and additives *Food and Chem. Toxicol.* 42, 3-37, 2004.
- 47) Schuller, H.M.: Nitrosamines as nicotinic receptor ligands. *Life Sciences* 2007.
- 48) Yanpallewar, S., Rai, S., Kumar, M., Chauhan, S., et al.: Neuroprotective effect Of *Azadirachta indica* on cerebral post-ischemic reperfusion and hypoperfusion in rats. *Life Sci* 76, (12), 1325-1338, 2005.
- 49) Kaplana, C., Menon, V.P.:Curcumin ameliorates oxidative stres during-nicotine induced lung toxicity in Wistar rats. *Ital J Biochem* 53, (2), 82-86, 2004.
- 50) Moffatt, R.J., Chelland, S.A., Pecott, D.L.: Acute exposure to environmental tobacco smoke reduces HDL-C and HDL<sub>2</sub>-C. *Preventive Medicine* 38, (5), 637-641, 2004.
- 51) Pogocki, D., Ruman, T., Danilczuk, M.: Application of nicotine enantiomers, derivatives and analogues in therapy of neurodegenerative disorders. *European Journal of Pharmacology* 563, (1-3), 18-39, 2007.
- 52) Benowitz, N.L., Gourlay, S.G. : Cardiovascular toxicity of nicotine: Implications for nicotine replacement therapy. *J American College of Cardiology* 29, (7), 1422-1431, 1997.
- 53) Tall, A.R., Blum, C.B., Forester, G.P., Nelson, C.A.: Changes in the distribution and composition of plasma high density lipoproteins after ingestion of fat. *The Journal of Biological Chemistry* 257, (1), 198-207, 1982.
- 54) Cluette-Brown, J., Mulligan, J., Doyle, K., Hagan, S., et al.: Oral nicotine induces an atherogenic lipoprotein profile. *Proc Soc Exp Biol Med* 182,(3), 409-413, 1986.
- 55) Criqui, M.H., Cowan, L.D., Heiss, G., Haskell, W.L., et al.: Frequency and clustering of nonlipid coronary risk factors in dyslipoproteinemia. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* 73, 140-50, 1986.
- 56) Swislocki, A.L.M., Tsuzuki, A., Tait, M., Khuu, D., Fann, K.: Smokeless nicotine administration is associated with hypertension but not with a deterioration in glucose tolerance in rats. *Metabolism* 46, (9), 1008-1012, 1997.

- 57) Caldirola, D., Bellodi, L., Cammino, S.: Smoking and respiratory irregularity in panic disorder. *Biological Psychiatry* 56 (6,15), 393-398, 2004.
- 58) Shin, V.Y., Cho, C.H.: Nicotine and gastric cancer. *Alcohol* 35, 259-264, 2005.
- 59) Benowitz, N.L., Lake, T., Keller, K.H., Lee, B.L.: Prolonged absorption with development of tolerance to toxic effects after cutaneous exposure to nicotine. *Clin Pharmacol Ther* 42, (1), 119-120, 1987.
- 60) Oncken, C., Cooney, J., Feinn, R., Lando, H.: Transdermal nicotine for smoking cessation in postmenopausal women. *Addictive Behaviors* 32, (2), 296-309, 2007.
- 61) Haddow, J.E., Knight, G.J., Palomaki, G.E., Kloza, E.M., Wald, N.J.: Cigarette consumption and serum cotinine in relation to birthweight. *Br J Obstet Gynaecol* 94, (7), 678-81, 1987.
- 62) Wang, N.S., Chen, M.F., Schraufnagel, D.E., Yao, Y.T.: The cumulative scanning electron microscopic changes in baby mouse lungs following prenatal and postnatal exposures to nicotine. *J Pathol* 144, (2), 89-100, 1984.
- 63) Liu, R.H., Mizuta, M., Matsukura, S.: Long-term oral nicotine administration reduces insulin resistance in obese rats. *European Journal of Pharmacology* 458, (1-2), 227-234, 2003.
- 64) Colzani, R., Fang, S.L., Alex, S., Braverman, L.E.: The effect of nicotine on thyroid function in rats. *Metabolism* 47, (2), 154-7, 1998.
- 65) Gaddnas, H., Pietila, K., Ahtee, L.: Effects of chronic oral nicotine treatment and its withdrawal on locomotor activity and brain monoamines in mice. *Behav Brain Res* 113, (1-2), 65-72, 2000.
- 66) Simone, R.D., Ajmone-Cat, M.A., Carnevale, D., Minghetti, L.: Activation of  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor by nicotine selectively up-regulates cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in rat microglial cultures. *J Neuroinflammation* 2, (4), 2005.
- 67) Kovacic, P., Cooksy, A.: Iminium metabolite mechanism for nicotine toxicity and addiction: Oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses* 64, 104-111, 2005.
- 68) Haro, R., Drucker-Colín, R.: Effects of long-term administration of nicotine and fluoxetine on sleep in depressed patients. *Archives of Medical Research* 35, (6), 499-506, 2004.
- 69) Bhagwat, S.V., Vijayasarathy, C., Raza, H., et al.: Preferential effects of nicotine and 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone on mitochondrial glutathione S-transferase A4-4 induction and increased oxidative stress in the rat brain. *Biochem Pharmacol* 56, (7), 831-839, 1998.



- 70) Cryan, J.F., Gasparini, F., Heeke, G.: Non-nicotinic neuropharmacological strategies for nicotine dependence: beyond bupropion. *Drug Discov. Today* 8, 1025-34, 2003.
- 71) MacPhail, R.C., Farmer, J.D., Jarema, K.A.: Sensitization and tolerance with episodic (weekly) nicotine on motor activity in rats. *Neurotoxicology and Teratology* 29, (3), 341-347, 2007.
- 72) Aytemur Solak, Z., Gündüz Tellİ, C., Erdiñç, E.: Sigarayı Bırakma Tedavisinin Sonuçları. *Toraks Dergisi* 4, 73-7, 2003.
- 73) Salepçi, B., Fidan, A., Oruç, Ö.: Sigara bırakma polikliniğimize başarı oranları ve başarıda etkili faktörler. *Toraks Dergisi* 6, 151-8, 2005.
- 74) Silagy, C., Lancaster, T., Stead, L.: Nicotine replacement therapy for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev* 4, 2002.
- 75) Hajek, P., West, R., Foulds, J.: Randomized comparative trial of nicotine polacrilex, a transdermal patch, nasal spray and an inhaler. *Arch Intern Med* 159, 2033-8, 1999.
- 76) Schneider, N.G., Terrace, S., Koury, M.A.: Comparison of three nicotine treatments: initial reactions and preferences with guided use. *Psychopharmacology* 182, 545-50, 2005.
- 77) Hughes, J.R., Stead, L.F., Lancaster, T.. Antidepressants for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev* 4, 2004.
- 78) Gossop, M.: Clonidine and the treatment of the opiate withdrawal syndrome. *Drug Alcohol Depend* 21, 253-9, 1988.
- 79) Foulds, J.: The neurobiological basis for partial agonist treatment of nicotine dependence: varenicline. *Int J Clin Pract.* 60, 571-6, 2006.
- 80) Cohen, C., Perrault, G., Gribel, G.: Nicotine-associated cues maintain nicotine-seeking behavior in rats several weeks after nicotine withdrawal: reversal by the cannabinoid (CB1) receptor antagonist, rimonabant (SR141716). *Neuropsychopharmacology* 30, 145-55, 2005.
- 81) Bunce, C.J., Loudon, P.T., Akers, C.: Development of vaccines to help treat drug dependence. *Curr Opin Mol Ther* 5, 58-63, 2003.
- 82) Jarvik, M.E., Caskey, N.H., Wirshing, W.C.: Bromocriptine reduces cigarette smoking. *Addiction* 95, 1173-83, 2000.
- 83) Biberman, R., Neumann, R., Katzir, I.: A randomized controlled trial of oral selegiline plus nicotine skin patch compared with placebo plus nicotine skin patch for smoking cessation. *Addiction* 98, 1403-7, 2003.

- 84) Miller, D.K., Wong, E.H., Chesnut, M.D.: Reboxetine: functional inhibition of monoamine transporters and nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 302, 687-95, 2002.
- 85) Epstein, A.M., King, A.C.: Naltrexone attenuates acute cigarette smoking behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 77, 29-37, 2004.
- 86) West, R., Willis, N.: Double-blind placebo controlled trial of dextrose tablets and nicotine patch in smoking cessation. *Psychopharmacology* 136, 201-4, 1998.
- 87) D'Orlando, K.J., Fox, B.S.: Tolerability and pharmacokinetics of single and repeated doses of nicotine with The Straw, a novel nicotine replacement product. *Nicotine Tob Res* 6, 63-70, 2004.
- 88) Westman, E.C., Tomlin, K.F., Perkins, C.E.: Oral nicotine solution for smoking cessation: a pilot tolerability study. *Nicotine Tob Res* 3, 391-6, 2001.
- 89) Park, C.R., Munday, D.L.: Development and evaluation of a biphasic buccal adhesive tablet for nicotine replacement therapy. *Int J Pharm* 237, 215-26, 2002.
- 90) Simone, R.D., Ajmone-Cat, M.A., Carnevale, D., Minghetti, L.: Activation of alfa-7 nicotinic acetylcholine receptor by nicotine selectively up-regulates cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in rat microglial cultures. *J Neuroinflammation* 2, (4), 2005.
- 91) Tonstad, S: Rimonabant: a cannabinoid receptor blocker for the treatment of metabolic and cardiovascular risk factors. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 16, 156-62, 2006.
- 92) Tiano, H.F., Loftin, C.D., Akunda, J.: Deficiency of either cyclooxygenase (COX)-1 or COX-2 alters epidermal differentiation and reduces mouse skin tumorigenesis. *Cancer Research* 62, 3395-3401, 2002.
- 93) Bugajski, J., Gadek-Michalska, A., Bugajski, A.J.: Nitric oxide and prostaglandin systems in the stimulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis by neurotransmitters and neurohormones. *J Physiol Pharmacol* 55, (4), 679-703, 2004.
- 94) Chen, Y.C., Shen, S.C., Lin, H.Y., Tsai, S.H., et al.: Nicotine enhancement of lipopolysaccharide/interferon- $\gamma$ -induced cytotoxicity with elevating nitric oxide production. *Toxicol Lett* 153, (2), 191-200, 2004.
- 95) Pietila, K., Salminen, O., Leikola-Pelho, T., Ahtee, L.: Tolerance to nicotine's effects on striatal dopamine metabolism in nicotine-withdrawn mice. *Eur J Pharmacol* 27, 318(1), 17-22, 1996.
- 96) Romano, M., Claria, J.: Cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase converging functions on cell proliferation and tumor angiogenesis: implications for cancer therapy. *FASEB J* 17, 1986-1995, 2003.

- (97) Patrignani, P.: Aspirin insensitive eicosanoid biosynthesis in cardiovascular disease. *Thrombosis Research* 110, (5-6), 281-286, 2003.
- 98) Pang, R.P., Zhou, J.G., Zeng, Z.R.: Celecoxib induces apoptosis in COX-2 deficient human gastric cancer cells through Akt/GSK3 $\beta$ /NAG-1 pathway. *Cancer Letters* 251, 2, ( 28), 268-277, 2007.
- 99) Kawamori, T., Rao, C.V., Seibert, K., Reddy, B.S.; Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis. *Cancer Res.*, 58, 409-412, 1998.
- 100) Marnett, L.J.: Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer. *Cancer Res.*, 52, 5575-5589, 1992.
- 101) Vane, J.R., Bakhle, Y.S., Botting, R.M.: Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38, 97-120, 1998.
- 102) Feldman, M., McMahon, A.T.: Do cyclooxygenase-2 inhibitors provide benefits similar of traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs, with gastrointestinal toxicity? *Ann Intern Med* 132, (2), 134-143, 2000.
- 103) Smith, W.L., DeWitt, D.L.: Prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Adv. Immunol.*, 62, 167-215, 1996.
- 104) Shin, V.Y., Wu, W.K., Ye, Y.N., et al.: Nicotine promotes gastric tumor growth and neovascularization by activating extracellular signal-regulated kinase and cyclooxygenase-2. *Carcinogenesis* 25, 2487-2495, 2004.
- 105) Guan, Z.Z., Yu, W.F., Nordberg, A.: Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells. *Neurochem Int* 43, (3), 243-249, 2003.
- 106) Yıldız, D., Ercal, N., Armstrong, D.W.: Nicotine enantiomers and oxidative stress. *Toxicology* 130, 155-165, 1998.
- 107) Kim, D.H., Suh, Y.S., Mun, K.C.: Tissue levels of malondialdehyde after passive smoke exposure of rats for a 24-week period. *Nicotine Tob Res* 6, (6), 1039-1042, 2004.
- 108) Helen, A., Krishnakumar, K., Vijayammal, P.L., Augusti, K.T.: Antioxidant effect of onion oil (*Allium cepa*. Linn.) on the damages induced by nicotine in rats as compared to alpha-tocopherol. *Toxicol Lett* 116, 61-68, 2000.
- 109) Şener, G., Şehirli, A.Ö., İpçi, Y., Çetinel, Ş., et al.: Taurine treatment protects against chronic nicotine-induced oxidative changes. *Clin Pharmacol* 19, 155-164, 2005.
- 110) Helen, A., Vijayammal, P.L.: Vitamin C supplementation on hepatic oxidative stress induced by cigarette smoke. *J Appl Toxicol* 17, (5), 289-295, 1997.

- 111) Saareks, V., Mucha, I., Sievi, E., Vapaatalo, H., et al.: Nicotine stereoisomers and cotinine stimulate prostaglandin E<sub>2</sub> but inhibit tromboxane B<sub>2</sub> and leukotriene E<sub>4</sub> synthesis in whole blood. *Eur J Pharmacol* 353, 87-92, 1998.
- 112) Jamall, I.S., Smith, J.C.: Effects of cadmium on glutathione peroxidase, süperoxide dismutase and lipid peroxidation in the rat heart: A possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 80, 33-42, 1985.
- 113) Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95, 351-358, 1979.
- 114) Sedlak, J., Lindsay, R.H.: Estimation of total protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 25, 192-205, 1968.
- 115) Friel, J.K., Ngyuen, C.D.: Dry and wet ashing techniques compared in analyses for zinc, copper, manganese and iron in hair. *Clin Chem* 32, (5), 739-742, 1986.
- 116) Luterotti, S., Zanic-Grubisic, T., Juretic, D.: Rapid and simple method for the determination of copper, manganese and zinc in rat liver by direct Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Analyst* 117, 141-144, 1992.
- 117) Ulmer, D.D.: Trace elements. *Engl J Med* 29, (6), 318-321, 1977.
- 118) Husain, K., Scott, B.R., Reddy, S.K., Somani, S.M.: Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol* 25, 89-97, 2001.
- 119) Mircea, C., Agoroaei, L., Butnaru, E., et al.: Malondialdehyde and free thiol groups from smokers' plasma. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 107, 184-7, 2003.
- 120) DeLeve, L.D., Kaplowitz, N.: Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacol Ther* 52, (3), 287-305, 1991.
- 121) Çolakoğlu, N., Ozan, E., Sönmez, M.F., et al.: Sigaranın karaciğerde oluşturduğu yapısal değişiklikler üzerine melatonin ve C vitamini'nin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi* 10, (3), 108-112, 2005.
- 122) Aksenov, M.Y., Makesbery, W.R.: Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 302, (2-3), 141-145, 2001.
- 123) Giustarini, D., Rossi, R., Milzani, A., Colombo, R., Dalle-Donne, I.: S-Glutathionylation: from redox regulation of protein functions to human diseases. *J Cell Mol Med* 8, (2), 201-212, 2004.
- 124) Park, E.M., Park, Y.M., Gwak, Y.S.: Oxidative damage in tissues of rats exposed to cigarette smoke. *Free Radic Biol Med* 25, (1), 79-86, 1998.
- 125) Ünal, M., Tamer, L., Pata, Y.S., Kilic, S., et al.: Serum levels of antioxidant vitamins, copper, zinc and magnesium in children with chronic rhinosinusitis. *J Trace Elem Med Biol* 18, (2), 189-192, 2004.

- 126) Koyama, H.: Trace elements: mechanistic aspects of anticarcinogenic action. *Japanese Journal of Clinical Medicine* 54, (1), 52-8, 1996.
- 127) Kim, S.H., Ensunsa, J.L., Zhu, Q.Y., et al.: An 18-month follow-up study on the influence of smoking on blood antioxidant status of teenage girls in comparison with adult male smokers in Korea. *Appl Nutritional Invest* 20, 437-444, 2004.
- 128) Dubick, M.A., Keen, C.L.: Influence of nicotine on tissue trace element concentrations a tissue antioxidant defense. *Biol Trace Elem Res* 31, 97-109, 1991.
- 129) Bui, L.M., Keen, C.L., Dubick, M.A.: Comparative effects of 6-week nicotine treatment on blood pressure and components of the antioxidant system in male spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar Kyoto (WKY) rats. *Toxicology* 98, (1-3), 57-65, 1995.
- 130) Bui, L.M., Keen, C.L., Dubick, M.A.: Influence of 12-week nicotine treatment and dietary copper on blood pressure and indices of the antioxidant system in male spontaneous hypertensive rats. *Biol Trace Elem Res* 46, (1-2), 67-78, 1994.
- 131) Gülcü, F., Polat, S.A., Gürsu, M.F.: Aşırı sigara kullanımının tiroid fonksiyon testleri ile eser element düzeylerine etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 23, 386-391, 2003.
- (132) Lapenna, D., Mezzetti, A., Gioia, S.D., Pierdomenica, S.D., et al.: Plasma copper and lipid peroxidation in cigarette smokers. *Free Radic Biol Med* 19, (6), 849-852, 1995.
- 133) Reid, G.M., Tervit, H.: Sudden infant death syndrome: oxidative stress. *Med Hypotheses* 52, (6), 577-580, 1999.
- 134) Kucukbay, Z., Yazlak, H., Sahin, N., Tuzcu, M., et al.: Zinc picolinate supplementation decreases oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 257, (1-4), 465-469, 2006.
- 135) Liu, R.H., Mizuta, M., Matsukura, S.: Long-term oral nicotine administration reduces insulin resistance in obese rats. *Eur J Pharmacol* 458, 227-234, 2003.
- 136) Nijima, A., Miyata, G., Sato, T., Meguid, M.M.: Hepato-vagal pathway associated with nicotine's anorectic effect in the rat. *Auton Neurosci* 93, (1-2), 48-55, 2001.
- 137) Kurosawa, M., Taniguchi, T., Yoneda, M.: Cholecystokinin and prostaglandins inhibit responses of vagal afferent activity to systemic administration of nicotine in anesthetized rats. *Neurosci Lett* 362, (3), 213-215, 2004.
- 138) Klein, L.C., Stine, M.M., Vandenbergh, D.J., Whetzel, C.A., et al.: Sex differences in voluntary oral nicotine consumption by adolescent mice: a dose-response experiment. *Pharmacol Biochem Behav* 78, (1), 13-25, 2004.

- 139) Frankham, P., Cabanac, M.: Nicotine lowers the body-weight set-point in male rats. *Appetite* 41, (1), 1-5, 2003.
- 140) Cuzzocrea, S., Mazzon, E., Sautebin, L.: Protective effects of Celecoxib on lung injury and red blood cells modification induced by carrageenan in the rat. *Biochemical Pharmacology* 63, (4), 785-795, 2002.
- 141) El-Medany, A., Mahgoub, A., Mustafa, A.: The effects of selective cyclooxygenase-2 inhibitors, celecoxib and rofecoxib, on experimental colitis induced by acetic acid in rats. *European Journal of Pharmacology* 507, (1-3), 291-299, 2005.
- 142) Knudsen, J.F., Hammarstrom, P., Sokol, G.H., Cantilena, L.R.: The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib is a potent inhibitor of human carbonic anhydrase II.. *Inflammation* 28, (5), 285-90, 2004.

## **10. ÖZGEÇMİŞ**

1979 yılında Malatya'da doğdum. İlköğrenimimi Şehit Hasan Öztürk İlköğretim Okulu'nda ve lise tahsilimi Turgut Özal Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 2003 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden mezun oldum. 2004 yılında İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım ve aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evliyim ve bir çocuk annesiyim.