

SIÇANLARDA SİĞARA İNHALASYONU SONUCU PREFRONTAL KORTEKSTE OLUŞAN YAPISAL DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE KAFEİK ASİT FENETİL ESTER (CAPE)'İN ETKİSİ
The Effects of Caffeic Acid Phenetyl Ester (CAPE) on Structural Changes in the Prefrontal Cortex Induced by Cigarette Inhalation in Rats

**Hıdır PEKMEZ¹, İlter KUŞ², Neriman ÇOLAKOĞLU³, İsmail ZARARSIZ⁴,
Murat ÖGETÜRK², Mustafa SARSILMAZ⁵**

Özet : Bu çalışmada, sigaranın prefrontal korteks üzerine olan nörotoksik etkileri ve bu toksik etkilere karşı kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in koruyucu etkisi ışık mikroskopik düzeyde araştırıldı. Bu amaçla 21 adet Wistar cinsi erkek sıçan üç gruba ayrıldı. Grup I'deki hayvanlar kontrol grubu olarak kullanıldı. Grup II'deki sıçanlar sigara dumanına maruz bırakıldı. Grup III'deki sıçanlara ise sigaraya maruziyeti ile birlikte günlük olarak CAPE enjekte edildi. 60 günlük deney süresi sonunda tüm sıçanlar dekapitasyonla öldürüldü. Daha sonra sıçanların beyinleri çıkarıldı. % 10'luk formaldehit ile tespit edilen prefrontal korteks doku örnekleri rutin histolojik prosedürleri takiben ışık mikroskopunda incelendi. Sigara dumanına maruz bırakılan sıçanlara ait prefrontal korteks örneklerinde, moleküler tabakada vakuolizasyon, nöroglial hücre infiltrasyonu ve piknotik hücreler tespit edildi. Buna karşın, sigara maruziyeti ile birlikte CAPE enjekte edilen sıçanlarda ise, sigara maruziyetinin neden olduğu yapısal değişikliklerin büyük oranda azaldığı, ancak sigara maruziyetine benzer şekilde piknotik hücrelerin varlığını devam ettirdiği belirlendi. Sonuçta, sıçanlarda sigara dumanı maruziyetinin prefrontal kortekste hasara neden olduğu ve bu hasarın CAPE uygulaması ile önlendiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Prefrontal korteks, sigara, kafeik asit fenetil ester

Summary : In this study, neurotoxic effects of cigarette on prefrontal cortex and protective effects of caffeic acid phenetyl ester (CAPE) against these toxic effects were investigated at light microscopic level. For this purpose, 21 male Wistar rats were divided into three groups. Animals in Group I were used as control. Rats in Group II were exposed to cigarette smoke. The rats in Group III were exposed to cigarette smoke and injected daily with CAPE. At the end of the 60-days experimental period, all rats were killed by decapitation. Then the brains of rats were removed. Following routine histological procedures, the prefrontal cortex tissue specimens fixed in 10% formaldehyde were examined under a light microscope. Light microscopic examination of prefrontal cortex specimens from rats exposed to cigarette smoke revealed that vacuolization, neuroglial cell infiltration and pycnotic cells in the molecular layer. Whereas, exposure of cigarette smoke-induced structural changes were decreased in rats exposed to cigarette smoke and injected with CAPE, but only pycnotic cells were seen similar to the cigarette smoke group. In conclusion, It was determined that exposure to cigarette smoke caused damage in prefrontal cortex of rats and this damage was prevented by administration of CAPE.

Key words: Prefrontal cortex, cigarette, caffeic acid phenetyl ester

¹ Öğr.Gör.Dr.Fırat Ün. Tıp Fak, Anatomi AD, Elazığ

² Yrd.Doç.Dr.Fırat Ün. Tıp Fak, Anatomi AD, Elazığ

³ Yrd.Doç.Dr.Fırat Ün. Tıp Fak, Histoloji-Emb.AD, Elazığ

⁴ Uzm.Dr.Fırat Ün. Tıp Fak, Anatomi AD, Elazığ

⁵ Prof.Dr.Fırat Ün. Tıp Fak, Anatomi AD, Elazığ

Prefrontal korteks gyrus frontalis superior, gyrus frontalis medius ve gyrus frontalis inferior'un büyük bir kısmı ile gyri orbitales ve gyrus cinguli'nin ön yarısını kapsar. Brodmann'ın 9, 10, 11 ve 12. alanlarını içine alacak şekilde premotor alanın önünde bulunur (1, 2). Prefrontal alanlar öğrenme,

hafıza, bilgilerin analizi, motor yanıtın planlanması ve düşüncelerin olgunlaştırılması gibi fonksiyonlardan sorumludur. Ayrıca kişilik ve davranışların düzenlenmesi, yazılan sözcüklerin tanınması, diktatin sürdürülmesi, kavramı işlemeye hazırlama ve kontrol etme gibi çok değişik kognitif işlevleri de vardır. Prefrontal korteks'te meydana gelebilecek bir hasar, belirtilen fonksiyonlarda bozuklukların oluşmasına yol açabilir (3-5).

Sigara çok yaygın olarak kullanılan ve içermiş olduğu çok sayıda oksidan ajanlar aracılığıyla organizmadaki tüm sistemleri olumsuz yönde etkileyen bir maddedir (6). Sigara içenler nikotin, kadmiyum, kurşun ve civa gibi bir çok kimyasal bileşiğe maruz kalırlar (7-10). Sigaranın, santral ve periferik sinir sistemi, kardiyovasküler sistem ve endokrin sistem üzerine toksik etkileri bilinir. Ayrıca, sigara kullanımının akciğer, larinks, orofarinks, böbrek, mesane, meme kanserine neden olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (11-15).

Nikotin doğrudan ve dolaylı olarak merkezi sinir sisteminde (MSS) fizyolojik, biyokimyasal ve davranış fonksiyonlarını etkiler. Beyinde düşük dozlarda uyarıcı, yüksek dozlarda inhibe edici etkiler oluşturur (6). Düşük dozda verilen nikotinin prefrontal korteks, ventral striatum ve thalamus aktivitelerinde artışa neden olduğu belirtilmektedir (16). Ayrıca canlandırma, kompulsif davranışların tekrarlanması, duyuusal entegrasyon ve epizodik hafıza ile ilgili beyin bölgelerinin sigara içimi ile aktive olduğu bildirilmiştir (17). Madde bağımlılığında beyindeki ödül alanlarının etkilenmesi söz konusu olduğundan, mezolimbik dopaminerjik sistemin bu alanlar içerisinde önemli olduğu ve nikotinin etkilerinin büyük bir rol oynadığından söz edilmektedir (18).

Kafeik asit fenetil ester (CAPE), arıların bitkilerden topladığı özütün içerisinde bulunan keskin ve güzel kokulu propolis maddesinin aktif bileşenlerinden birisidir (19, 20). Propolis'in antimikrobik, antiinflamatuvar, immunomodülatör, antimitojenik, antioksidan etkileri çeşitli çalışmalarla ortaya kon-

muş, bu etkilerin çoğunun propolis'in etkin maddelerinden biri olan CAPE'ye bağlı olduğu gösterilmiştir (21-30).

Bu çalışmada, sigara dumanı soluyan sıçan prefrontal korteks'inde meydana gelen değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine CAPE'nin etkisi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 200-250 gr ağırlığında toplam 21 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar üç gruba ayrıldı. Grup I (n=7): temiz hava soluyan kontrol sıçanlar, grup II (n=7): sigara dumanı soluyan sıçanlar, grup III (n=7): sigara dumanı soluyan ve kafeik asit fenetil ester (CAPE, 10 µmol/kg/gün, intraperitoneal) uygulanan sıçanlar olarak belirlendi. Ebatları 100x50x20 cm olan cam kabin hazırlanarak silikon ile izole edildi. Sigaranın cam kabin içerisine doğru verilmesi için akvaryum motoru kullanıldı. Bir ucu akvaryum motoruna monte edilen plastik bir borunun diğer ucuna sigara yerleştirilip, kabin içine konuldu. Çalışmamız, her uygulamada iki sigara olmak üzere günde dört periyot (her periyotta 30 dakika maruz bırakılarak) yapıldı. Araştırmada filtresiz sigara kullanıldı. 60 günlük deney süresi sonunda sıçanlar dekapitasyon yöntemiyle öldürüldü. Hayvanlardan alınan prefrontal korteks doku örnekleri %10'luk formaldehit ile tespit edildi. Rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-eosin ile boyandı ve preparatlar Olympus BH-2 araştırma mikroskopunda incelendi. İnceleme sonucunda gruplar arası yapısal değişikliklerin farkı semiquantitative olarak gösterildi.

BULGULAR

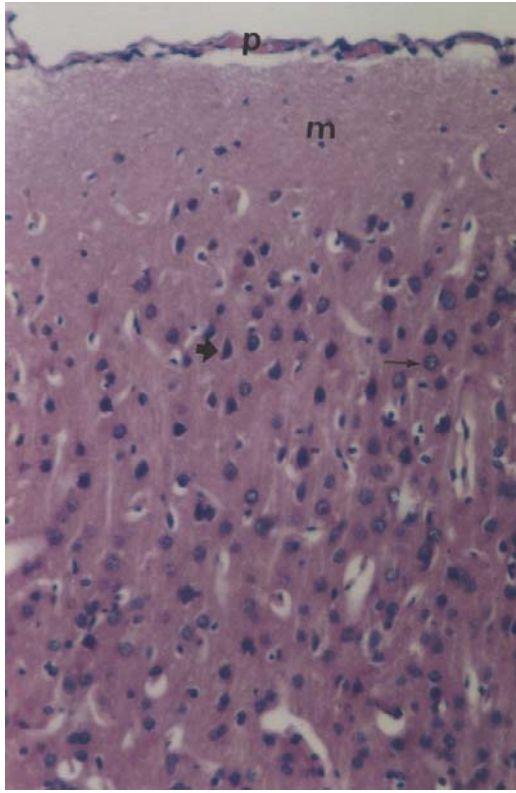
Işık mikroskopik incelemelerde, hematoksilen-eosin ile boyanan kontrol grubuna ait prefrontal korteks doku kesitleri normal görünümdeydi. Prefrontal korteks tabakaları, nöronlar, nörogial hücreler ve piameter normal yapıda gözlemlendi (Şekil 1).

İki ay süresince sigara dumanı soluyan sıçanların prefrontal korteks dokuları incelendiğinde, moleküler tabakada vakuolizasyon, nöroglial hücre infiltrasyonu ve yer yer piknotik hücre tespit edildi (Şekil 2, 3).

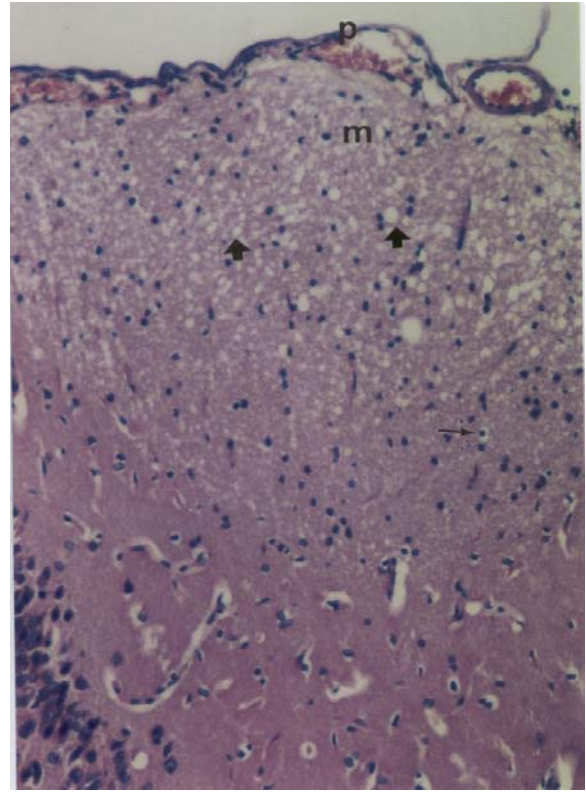
Sigara maruziyeti ile birlikte kafeik asit fenetil ester (CAPE) uygulanan sıçanların prefrontal korteks preparatları incelendiğinde ise, sigara

maruziyetinin neden olduğu yapısal değişikliklerin büyük oranda azaldığı ve doku görünümünün kontrol grubuna benzediği tespit edildi. Bu grupta sadece sigara maruziyetine benzer şekilde yer yer piknotik hücelere rastlandı (Şekil 4).

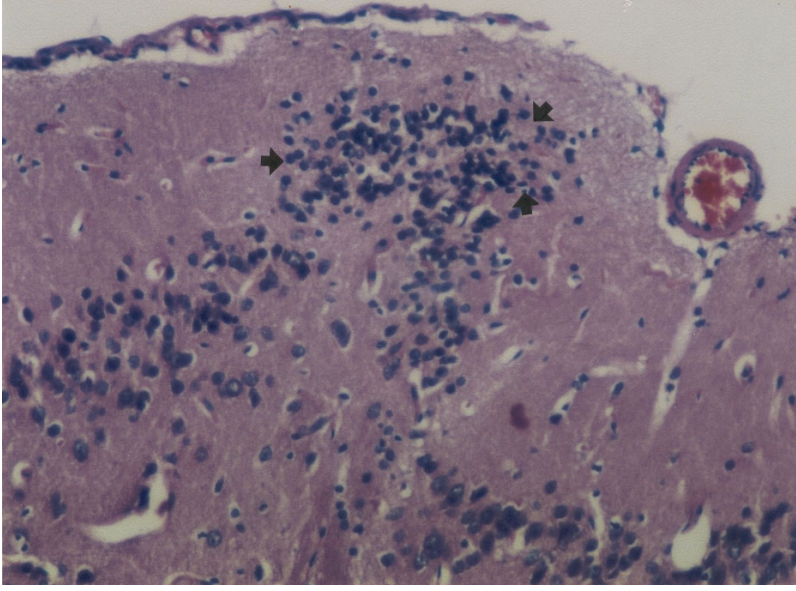
Gruplar arası yapısal değişikliklerin yoğunluk farkı Tablo I'de ifade edilmektedir.



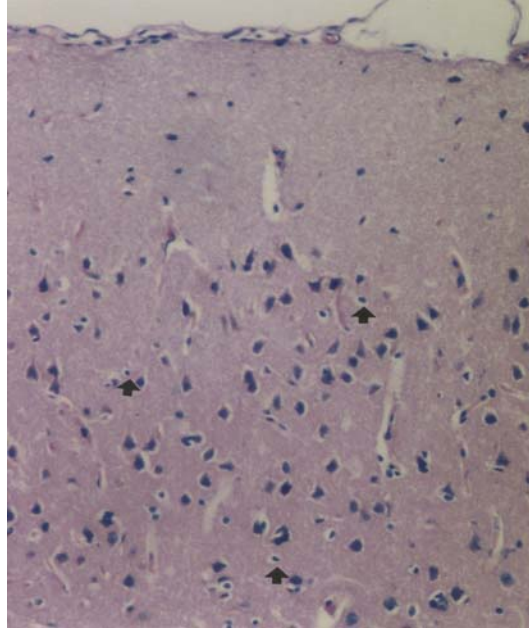
Şekil 1. Kontrol grubuna ait prefrontal korteks dokusunun görünümü. Piameter (p), moleküler tabaka (m), granüler hücreler (ince ok), piramidal hücreler (kalın ok) normal yapıda izlenmekte. H.E. X10.



Şekil 2. Sigara dumanı soluyan sıçanlarda, piamaterdeki damarların daha dolgun olduğu (p), moleküler tabakadaki (m) vakuolizasyon (kalın ok) ve piknotik hücreler (ince ok) gözlenmekte. H.E. X10.



Şekil 3. Sigara dumanına maruz kalan gruba ait prefrontal korteks preparatı incelendiğinde, moleküler tabakadaki nöroglial hücre infiltrasyonu (ok) dikkati çekmekte. H.E. X10.



Şekil 4. Sigara maruziyeti ile birlikte CAPE uygulanan sıçanlara ait prefrontal korteks dokusu incelendiğinde, normal yapıdaki nöron ve nöroglial hücreler arasında yer yer piknotik hücreler (ok) ayırt edilmekte.H.E. X10

Tablo I. Prefrontal kortekste meydana gelen yapısal değişikliklerin semiquantitative analizi

Yapısal Değişiklikler	Kontrol	Sigara	Sigara + CAPE
Nöroglial hücre infiltrasyonu	-	+	-
Piknotik hücre yoğunluğu	-	++	+
Moleküler tabakada vakuolizasyon	-	+++	-

TARTIŞMA

Sigaranın beyin dokularının histolojik yapısında ve fonksiyonlarında değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Daha önce yapılmış olan çalışmalarda, nikotin verilmesinin prefrontal korteks, ventral striatum, corpus amygdaloideum ve thalamus aktivite-lerinde artışa neden olduğu ifade edilmiştir (16, 17).

Sigaranın, beyin bölgelerinde direkt ve indirekt etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Brody ve ark. (17), sigara dumanına maruz kalan şahıslarda prefrontal korteks aktivitesinde artış meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Yine Brody ve ark. (16) başka bir çalışmalarda, prefrontal kortekste sigara içen kişilerde içmeyenlere nazaran küçük kortikal gri cevher volümü ve düşük gri cevher yoğunluğunun olduğunu göstermişlerdir. Abreu-Villaca ve ark. (31) ise, sigara içiminin fetal gelişim esnasında hücre hasarına neden olduğunu, sinaptik maturasyonu ve hücrelerarası haberleşmeyi engellediğini belirtmişlerdir. Ayrıca nikotinin gelişim çağındaki beyinler için nörotoksik etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Slotkin ve ark. (32) ise, nikotin verilmesinin adolesan rodentlerin cerebral korteksinde neuron hasarına yol açtığını bildirmişlerdir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, sigara dumanına maruz kalan sıçanların prefrontal korteksinde, moleküler tabakada vakuolizasyon, nöroglial hücre infiltrasyonu görüldü. Ayrıca, yer yer piknotik hücre tespit edildi. Sonuç olarak, sigara maruziyetine bağlı olarak elde ettiğimiz bulgular yukarıdaki çalışmalarla (16, 31, 32) paralellik göstermektedir.

Organizmada normal fizyolojik şartlarda veya herhangi bir patolojik olay sonucunda oluşan serbest radikaller ile bunların koruyucusu olan antioksidan

savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stresi gösterir. Canlılar oksidatif hasara karşı enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korunur. Hücre seviyesinde etkili olan enzimatik antioksidan sistemler içerisinde süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) yer alır (33). Malondialdehit MDA lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden biridir ve oksidatif hasarı göstermede yaygın olarak kullanılan bir parametredir (33, 34).

Sigara içiminin, değişik dokularda oksidan-antioksidan dengesinin bozulmasına ve oksidatif strese bağlı olarak doku hasarına yol açtığı bildirilmiştir. Daha önce yapılmış olan bu çalışmalarda sigara dumanına maruz bırakılan sıçanların akciğer, karaciğer, testis dokularında, lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyelerinde bir artışın, antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) değerlerinde bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Bu bozuklukların sigara maruziyetiyle meydana gelen oksidatif hasardan dolayı olabileceği belirtilmiştir (35-40). Beyin, oksijen tüketim hızı yüksek olduğundan oksidatif strese duyarlıdır. Ayrıca beyinde antioksidan savunma sisteminin zayıf olduğu ve sigara içiminin bu dokularda da oksidatif strese yol açtığı bildirilmiştir (41, 42).

Kafeik asit fenetil ester (CAPE) propolis'in etkin maddesidir (19, 20). CAPE'nin antimikrobik, antienflamatuar, immunmodülatör, antitumörjenik olduğu bildirilmiştir (21-25). Kafeik asit fenetil ester'in belirtilen bu özelliklerinin yanı sıra, güçlü bir antioksidan madde olduğu ve oksidatif hasara karşı koruyucu etki gösterdiği ifade edilmiştir (26-30).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, sigara dumanı soluyan sıçanlara CAPE uygulandığında, prefrontal kortekste oluşan yapısal bozuklukların büyük ölçüde kaybolduğu tespit edildi.

Sonuç olarak, sigara dumanına maruz bırakılan sıçanların prefrontal korteks histolojik yapısında hasarın meydana geldiği ve bu hasarın koruyucu amaçla uygulanan CAPE'nin muhtemelen antioksidan özelliğine bağlı olarak önlendiği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Arıncı K, Elhan A. *Anatomi (2.cilt). Güneş Kitabevi, Ankara 1995, s 388.*
2. Duncan J. *An adaptive coding model of neural function in prefrontal cortex. Nat Rev Neurosci 2001, 2: 820-829.*
3. Nyberg L, Marklund P, Persson J, et al. *Common prefrontal activations during working memory, episodic memory, and semantic memory. Neuropsychology 2003, 41: 371-377.*
4. Ganong WF. *Tıbbi Fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2002, s 249-268.*
5. Ranganath C, Jonson MK, D'Espisoto M. *Prefrontal activity associated with working memory and episodic long-term memory. Neuropsychologia 2003, 41: 378-389.*
6. Üzüm G, Diler AS, Zıylan YZ. *Kronik nikotin tedavisinin pentilentetrazol ile oluşturulan nöbetlerde kan beyin bariyeri permeabilitesi üzerine etkisi. İÜ İst Tıp Fak Mecmuası 1999, 62: 257-263.*
7. Mortada WI, Sobh MA, El-Defrawy MM. *The exposure to cadmium, lead and mercury from smoking and its impact on renal integrity. Med Sci Monit 2004, 10: 112-116.*
8. Sisman AR, Bulbul M, Coker C, Onvural B. *Cadmium exposure in tobacco workers: possible renal effects. J Trace Elem Med Biol 2003, 17: 51-55.*
9. Kyerematen GA, Vesell ES. *Metabolism of nicotine. Drug Metab Rev 1991, 23: 3-41.*
10. Ostergaard K. *Cadmium and hypertension. Lancet 1977, 1: 677-678.*
11. Pekmez H, Kuş İ, Çolakoğlu N, Özyurt H, Zararsız İ, Sarsılmaz M. *Sıçan testisinde sigara maruziyeti ile oluşan histolojik değişiklikler üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in koruyucu etkisi. SÜ Tıp Fak Derg 2004, 20:1-5.*
12. Pekmez H, Sönmez MF, Kuş İ, ve ark. *Sıçan akciğerinde sigara maruziyeti ile oluşan histolojik değişiklikler üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in koruyucu etkisi. Fırat Tıp Dergisi 2003, 8: 133-137.*
13. Pacifici R, Altieri I, Gandini L, et al. *Nicotine, cotinine and trans-3-hydroxycotinine levels in seminal plasma of smokers: effects on sperm parameters. Ther Drug Monit 1993, 15: 358-363.*
14. Stillman RJ, Rosenberg MJ, Sachs BP. *Smoking and reproduction. Fertil steril 1986, 46: 545-566.*
15. Zavos PM. *Cigarette smoking: male and female infertility. Fertil Contracept Sex 1989, 17: 133-138.*
16. Brody AL, Mandelkern MA, Jarvik ME, et al. *Differences between smokers and nonsmokers in regional gray matter volumes and densities. Biol Psychiatry 2004, 55: 77-84.*
17. Brody AL, Mandelkern MA, London ED, et al. *Brain metabolic changes during cigarette craving. Arch Gen Psychiatry 2002, 59: 1162-1172.*

18. Eichhammer P, Johann M, Kharraz A, et al. High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation decreases cigarette smoking. *J Clin Psychiatry* 2003, 64: 951-953.
19. Hepşen IF, Tilgen F, Er H. Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 1996, 3: 386-391.
20. Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 1999, 34: 1458-1462.
21. Amoros M, Lurton E, Boustie J, Girre L, Sauvager F, Cormier M. Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-2-enyl caffeate. *J Nat Prod* 1994, 57: 644-647.
22. Amoros M, Sauvager F, Girre L, Cormier M. In vitro antiviral activity of propolis. *Apidologie* 1992, 23: 231-240.
23. Dobrowolski JW, Vohoraq SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory, and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 1991, 35: 77-82.
24. Dimov V, Ivanovska N, Bankova V, Popov S. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivate. *Vaccine* 1992, 10: 817-823.
25. Edenharter R, von Petersdorff I, Rauscher R. Antimutagenic effects of flavanoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino-3-methylimidazol (4,5-f) quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. *Mutat Res* 1993, 287: 261-274.
26. Pascual C, Gonzales R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol* 1994, 41: 9-13.
27. Krol W, Czuba Z, Scheller S, Gabrys J, Grabiec S, Shani J. Anti-oxidant property of etanolic extract of propolis (EEP) evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem Int* 1990, 21: 593-597.
28. Volpert R, Elstner EF. Biochemical activities of propolis extracts: II. Photodynamic activities. *Z Naturforsch* 1993, 48: 858-862.
29. Koltuksuz U, Irmak MK, Karaman A, et al. Testicular nitric oxide levels after unilateral testicular torsion/detorsion in rats pretreated with caffeic acid phenethyl ester. *Urol Res* 2000, 28: 360-363.
30. Irmak MK, Koltuksuz U, Kutlu NO, et al. The effects of caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury in comparison with α -tocopherol in rat kidneys. *Urol Res* 2001, 29: 190-193.
31. Abreu-Villaca Y, Seidler FJ, Tate CA, Slotkin TA. Nikotin is a neurotoxin in the adolescent brain: critical periods, patterns of exposure, regional selectivity, and dose thresholds for macromolecular alterations. *Brain Res* 2003, 979: 114-128.
32. Slotkin TA. Nicotine and the adolescent brain: insights from an animal model. *Neurotoxicol Teratol* 2002, 24: 369-384.
33. Akyol Ö. Beyin tümörlerinde doku SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri. Uzmanlık tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 1994.
34. Kamal AA, Gomaa A, el Khafif M, Hammad AS. Plasma lipid peroksidasi among workers exposed to silica or asbestos dust. *Environ Res* 1989, 49: 173-180.
35. Comhair SA, Thomassen MJ, Erzurum SC. Differential induction of extracellular glutathione peroxidase and nitric oxide synthase 2 in airways of healthy individuals exposed to 100% O₂ or cigarette smoke. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000, 23: 350-354.

36. Ozan E, Kükner A, Canpolat L, et al. Histological and biochemical effects of cigarette smoke on lungs. *Acta Physiol Hung* 2001, 88: 301-315.
37. Peltola V, Mantyla E, Huhtaniemi I, Ahotupa M. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the rat testis after cigarette smoke inhalation or polychlorinated biphenyls or polychlorinated. *J Androl* 1994, 15: 353-361.
38. Rajpurkar A, Dhabuwala CB, Jiang Y, Li H. Chronic cigarette smoking induces an oxidant/antioxidant imbalance in the testis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2000, 19: 369-373.
39. Kükner A, Çolakoğlu N, Ozan E, Ozan S. Sigaranın sıçan karaciğer dokusuna etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 1999, 1: 547-552.
40. Helen A, Vijayammal PL. Vitamin C supplementation on hepatic oxidative stress induced by cigarette smoke. *J Appl Toxicol* 1997, 17: 289-295.
41. Mendez-Alvarez E, Soto-Otero R, Sanchez-Sellero I, Lopez-Rivadulla Lamas M. In vitro inhibition of catalase activity by cigarette smoke: relevance for oxidative stress. *J Appl Toxicol* 1998, 18: 443-448.
42. Linert W, Bridge MH, Huber M, Bjugstad KB, Grossman S, Arendash GW. In vitro and in vivo studies investigating possible antioxidant actions of nicotine: relevance to Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Biochim Biophys Acta* 1999, 1454: 143-152.