

Farelerde nikotin kaynaklı nefrotoksisitede poli(ADP-riboz) polimeraz yolağının olası rolü

The possible role of the poly(ADP-ribose) polymerase pathway in nicotine-induced nephrotoxicity in mice

Selin HAZIR¹ (ID)

ÖZET

Amaç: Sigara, halk sağlığını tehdit eden ve tüm dünyada yaygın olarak kullanılan, en önemli önlenebilir ölüm nedenidir. Nikotin tütünde önemli bir toksik bileşen olup birçok kronik hastalığın patogenezinde katkıda bulunur. Bu çalışmanın amacı, nikotin ile indüklenmiş nefrotoksisitede böbrek fonksiyonları, oksidatif DNA hasarı, apoptoz ve PARP yolağının olası rolünün araştırılmasıdır.

Yöntem: Bu çalışmada, 24 adet C57BL6J soy erkek fare kontrol, salin ve nikotin olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Nikotin grubu farelere 14 gün boyunca günde 2 kere 3 mg/kg dozunda nikotin subkutan olarak enjekte edilmiştir. Salin grubuna aynı yöntemle serum fizyolojik sıvısı enjekte edilmiştir. Kontrol grubuna deneyin son gününe kadar hiçbir işlem uygulanmamıştır. Deneyin son günü farelerin kardiyak kan örnekleri alınmış ve bilateral böbrek dokuları izole edilmiştir. Kan örneklerinde ELISA yöntemiyle 8-OHdG ve kotinin düzeyleri ölçülmüştür. Sağ böbrek dokuları %10'luk formalin solüsyonunda fikse edilip parafin bloklara gömülmüştür. Kesitlere morfolojik

ABSTRACT

Objective: Smoking is one of the most important preventable cause of death that threatens public health and is widely used all over the world. Nicotine is an important toxic component in tobacco and contributes to the pathogenesis of many chronic diseases. The aim of this study is to investigate the possible role of kidney functions, oxidative DNA damage, apoptosis and PARP pathway in nicotine-induced nephrotoxicity.

Methods: 24 male C57BL6J mice were divided into control, saline and nicotine groups. Nicotine group mice were injected subcutaneously with nicotine at a dose of 3 mg/kg twice a day for 14 days. The saline group was injected with physiological saline. No procedure was performed to the control group. At the end of the experiment, cardiac blood samples and bilateral kidney tissues were isolated. The levels of 8-OHdG and cotinine were measured in serum by ELISA method. Hematoxylin - eosin staining was performed to right kidney tissues for morphological evaluation. Caspase-3 and PARP-1 gene expression levels were determined by real-time

*Bu çalışmanın bir kısmı 2. Uluslararası Tıp Bilimleri ve Multidisipliner Yaklaşımlar Kongresi'nde 11.07.2021 tarihinde online ortamda sözel olarak sunulmuştur.

¹Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji AD., Mersin



İletişim / Corresponding Author : Selin HAZIR

Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji AD., Mersin - Türkiye

E-posta / E-mail : dr.emb.selin@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 19.07.2021

Kabul Tarihi / Accepted : 21.04.2022

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2023.32767

HAZIR S. Farelerde nikotin kaynaklı nefrotoksisitede poli(ADP-riboz) polimeraz yolağının olası rolü. Turk Hij Den Biyol Derg, 2023; 80(2): 183 - 190

değerlendirme için hematoksilen - eozin boyama yapılmıştır. Sol böbrek dokularında gerçek zamanlı kantitaif polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle kaspaz-3 ve PARP-1 gen ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.

Bulgular: Nikotin grubunda vücut ve böbrek ağırlığı anlamlı düzeyde azalmıştır ($P<0.05$). Serum 8-OHdG seviyesi nikotin grubunda kontrol ve salin gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde artmıştır ($P<0.05$). Serum kotinin seviyesi nikotin grubunda 303.11 ± 0.3 ng/ml olarak ölçülmüştür. Morfolojik değerlendirmede, nikotin grubunda glomerül çapında ve mezangial matrikste artış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, nikotin grubunda tübüler dilatasyon gözlenmiştir. Kaspaz-3 ve PARP-1 gen ekspresyon düzeyi nikotin grubunda kontrol ve salin gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde artmıştır ($P<0.05$).

Sonuç: Sonuç olarak, nikotin maruziyetinin böbrek dokusunda oksidatif DNA hasarını artırdığı ve hücre içi apoptoz ve PARP yolağını indüklediği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, böbrek, nikotin maruziyeti, oksidatif DNA hasarı, PARP-1

quantitative polymerase chain reaction method in left kidneys.

Results: Body and kidney weights decreased significantly in nicotine group ($P<0.05$). Serum 8-OHdG level was significantly increased in nicotine group ($P<0.05$). Serum cotinine level was measured as 303.11 ± 0.3 ng/ml in nicotine group. Glomerular diameter and mesangial matrix were increased in nicotine group. In addition, tubular dilatation was observed in nicotine group. Caspase-3 and PARP-1 gene expression levels were significantly increased in the nicotine group compared to the control and saline groups ($P<0.05$).

Conclusion: In conclusion, it was determined that nicotine exposure increased oxidative DNA damage in kidney tissue and induced intracellular apoptosis and PARP pathway.

Key Words: Apoptosis, kidney, nicotine exposure, oxidative DNA damage, PARP-1

GİRİŞ

Sigara, halk sağlığını tehdit etmekte ve tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Dünya genelinde her yıl yaklaşık 5-6 milyon kişi sigaraya bağlı hastalıklar yüzünden hayatını kaybetmektedir (1). Sigara dumanı, karbon monoksit, polisiklik aromatik hidrokarbon, aromatik aminler ve nikotin gibi yaklaşık 7000 mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkisi bulunan zararlı kimyasal içermektedir (2). Sigaranın bağımlılık yapıcı ve major toksik bileşeni, tütün bitkisinin yapraklarından izole edilen ve kuvvetli bir alkaloid olan nikotin olarak bilinmektedir (3). Sigara içimi ile sistemik dolaşıma katılan nikotinin, birçok dokunun ultrastrüktürel yapısını etkileyerek sistem fonksiyonlarının bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (4,5).

Nikotin karaciğerde metabolize edilmekte, glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon yoluyla vücuttan atılmaktadır (6). Sigara içen bireylerin plazma ve böbrek dokularında yüksek oranda nikotin olduğu rapor edilmiştir (7). Klinik çalışmalarda sigara içiminin kreatinin, üre, ürik asit, sodyum ve potasyum gibi rutin böbrek fonksiyonu analiz parametrelerini arttırdığı bildirilmiştir (8,9). Daha kapsamlı çalışmalarda ise, sigara içenlerin glomerüler filtrasyon hızının ve etkin renal plazma akımının azaldığı, ortalama arter basıncı ve kalp atım hızının arttığı gösterilmiştir (10).

Literatürde nikotinin böbrek dokusu üzerindeki etkilerini araştıran prelinik birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir kültüre insan podosit çalışmasında, nikotinin podositlerde reaktif oksijen türüleri (ROS) üretimini desteklediği ve buna bağlı

olarak da apoptozu indüklediği gösterilmiştir (11). Harwani ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, sıçanlarda nikotin maruziyetinin renal makrofaj infiltrasyonunu artırdığı ve erken hipertansiyonu tetiklediği bildirilmiştir (12). 2020 yılında yayınlanan bir çalışmada ise, nikotinin alfa 7 nikotinic asetilkolin reseptörü yoluyla NLRP6 enflamasyonunu aktive ettiği ve endoplazmik retikulum stresini tetiklediği gösterilmiştir. Ayrıca, hafif derecede apoptoz ve nekroza neden olduğu ve otofajiyi desteklediği bildirilmiştir (13).

Poli (ADP-riboz) polimeraz enzimleri gen regülasyonu, kromatin yeniden şekillenmesi, DNA onarımı ve apoptoz gibi hücrel süreçlerde rol oynayan protein ailesidir (14). PARP enzim ailesi 18 üyeden (PARP1-18) oluşmasına rağmen, PARP-1 enzimi birçok dokuda eksprese olduğu için araştırmalar PARP-1 enzimi üzerine yoğunlaşmıştır (15). Bu hücrel mekanizmanın fizyolojik durumda normal şekilde çalışırken, aşırı DNA hasarı olduğu durumlarda PARP'nin aşırı aktivasyonu hücreyi apoptoz ve nekroz gibi ölüm yollarına sürüklediği gösterilmiştir (16).

Bu çalışmada, farelerde nikotin ile indüklenmiş nefrotoksisitede PARP-1 yolağının rolü araştırılmıştır. Ek olarak, nikotin kaynaklı nefrotoksisitede böbrek fonksiyonları, oksidatif DNA hasarı, böbrek histolojisi, apoptoz ve PARP-1 yolağı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deney Hayvanları

Bu çalışmada 20-25 gr ağırlığında, 8-10 haftalık 24 adet C57BL6J soy erkek fare kullanılmıştır. Kullanılan deney hayvanları Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce, fareler üzerinde yapılması planlanan tüm deneysel işlemler için Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (2016/30). Fareler deney süresince Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel

Tıp Araştırma Birim'inde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüde, 22 ± 2 °C'de, 50 ± 5 nem değerinde, su ve pellet kısıtlaması olmadan standart Tip III plastik kafeslerde barındırılmıştır.

Deney grupları

Çalışma, her grupta 8 fare olacak şekilde kontrol, salin ve nikotin grubundan oluşturulmuştur. Nikotin grubu farelere 14 gün boyunca günde 2 kere 3 mg/kg/vücut ağırlığı dozunda, 0.1 ml hacminde nikotin subkutan olarak enjekte edilmiştir. Seçilen nikotin dozu ile insanlardaki sigara bağımlılığı deney hayvanında simüle edilmiştir (17). Salin grubuna ise 14 gün boyunca günde 2 kere 0.1 ml hacimde serum fizyolojik sıvısı aynı yolla uygulanmıştır. Kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmamıştır. Deneyin son günü fareler ketamin (90 mg/kg)/ ksiazin (10 mg/kg) anestezisi altındayken, kardiyak kan örneği alınmış ve bilateral böbrek dokuları izole edilmiştir. Kan örnekleri oda sıcaklığında 15 dk bekletildikten sonra 12000 rpm' de 15 dk santrifüj edilerek serum örneği elde edilip -80 °C'de saklanmıştır. Gen ekspresyon analizi için sol böbrek dokuları RNA later solüsyonu içeren ependorf tüplerde +4 °C sıcaklıkta 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra, böbrek dokuları peçete ile kurulanıp yeni steril ependorf tüplere aktarılıp -80°C'de muhafaza edilmiştir. Histolojik inceleme için sağ böbrek dokuları %10'luk formaldehit içerisine aktarılmıştır.

Vücut ve böbrek dokusu ağırlığı ölçümü

Deney süresince kontrol, salin ve nikotin grubuna ait farelerin vücut ağırlıkları her gün ölçülüp elektronik ortamda kayıt altına alınmıştır. Tüm gruplara ait farelerin sağ ve sol böbrek doku ağırlıkları ölçülüp ortalama ağırlık hesabı yapılmıştır.

Böbrek histolojisi

Sağ böbrek dokuları %10'luk formaldehit içinde 24 saat fikse edildikten sonra çeşme suyu altında yıkanmıştır. Yıkanan böbrek dokularına rutin histolojik doku takibi işlemi uygulanıp, parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklardan 3 mikrometre kalınlığında mikrotom (Leica, RM2255)

kesitleri alınmıştır. Hazırlanan lamalar hematoksil-eozin boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskobu (Olympus, BX51, Japonya) altında incelenmiştir.

ELISA yöntemi ile serum kotinin ve 8-OHdG seviyelerinin ölçümü

Kontrol, salin ve nikotin grubuna ait farelerin serum örneklerinde nikotinin ana metaboliti olan kotinin (Calbiotech, CO096D-100) seviyesi ve oksidatif DNA hasar belirteci olan 8-OHdG (ab201734) seviyesi ELISA yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Biyokimyasal analiz

Serum örneklerinde üre ve kreatinin düzeyleri standart laboratuvar yöntemiyle (Beckman Coulter, USA) analiz edilmiştir.

RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (q RT-PCR)

Sol böbrek dokularından total RNA izolasyonu Trizol reaktifi (Invitrogen, 15596026) ile kit prosedürüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Nanodrop (MaestroGen, MN-913) ile elde edilen RNA örneklerinin 260 nm ve 280 nm’de konsantrasyonları ve saflık oranları spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Konsantrasyonu ve saflık oranı 1.8-2.0 arasında olan örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Elde edilen RNA örneklerinden QuantiTect Reverse Transcription Kiti (Qiagen, 205311) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. cDNA örnekleri SYBR Green PCR master mix (Invitrogen, 4367659) prosedürüne uygun olarak real time PCR (Qiagen, Rotor Gene Q) cihazına yüklenmiştir. Çalışmada kullanılan primerler Qiagen firmasından satın alınmıştır. Fare kaspaz-3 (Mm_Casp3_1_SG, Katolog No: QT00260169, Qiagen), fare PARP-1 (Mm_Parp1_1_SG, Katolog No: QT00157584, Qiagen) olarak belirlenip, referans gen olarak fare beta-aktin (Mm_Actb_1_SG, Katolog No: QT00095242) kullanılmıştır. Gen ekspresyonunun kantitasyonunda $\Delta\Delta CT$ analizi kullanılmıştır. Reaksiyon sonrası elde edilen $\Delta\Delta CT$ değerleri kullanılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ hesaplanıp, referans RNA’ya karşı araştırılan genlerin ekspresyon düzeyleri belirlenmiştir.

İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS 21 programında yapılmıştır. Tanıtıcı istatistik olarak ortalama±standart sapma değerleri verilmiştir. Grup karşılaştırmalarında Tek Yönlü Varyans Analiz tekniği (ANOVA), ve çoklu karşılaştırmalar için Tukey testi kullanılmıştır. $P<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 05.08.2016, Karar no: 30).

BULGULAR

Vücut ve böbrek dokusu ağırlığı

Vücut ağırlığı nikotin grubunda (20.85 ± 0.13 g) kontrol (22.64 ± 1.19 g) ve salin (22.29 ± 0.59 g) gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde azalmıştır ($P=0.01$). Böbrek dokusu ağırlığı kontrol grubunda 0.14 ± 0.02 g, salin grubunda 0.14 ± 0.04 g, nikotin grubunda 0.10 ± 0.03 g olarak ölçülmüştür, nikotin grubunun diğer iki gruba kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir ($P<0.05$). Deney süresince hayvan ölümü gerçekleşmemiştir.

Böbrek histolojisi

Hematoksilen-eozin ile boyanmış kontrol ve salin grubuna ait böbrek dokularında glomerül yapısı, distal ve proksimal tübüller normal morfolojide izlenmiştir. Nikotin grubuna ait böbrek dokusunda morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. Glomerüllerde Bowman aralığında daralma, mezangial matikste artış ve tübüler dilatasyon gözlenmiştir (Şekil 1).

Serum üre ve kreatinin seviyesi

Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla serum üre ve kreatinin seviyeleri analiz edilmiştir. Serum üre ve kreatinin değerlerinin nikotin grubunda kontrol ve salin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir ($P<0.05$), (Şekil 2A,2B).

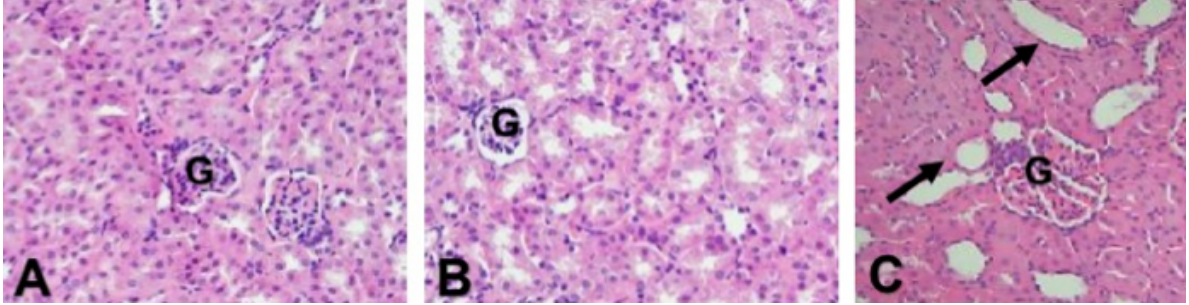
Serum kotinin ve 8-OHdG seviyesi

Kontrol ve salin grubunda serum kotinin seviyesi tespit edilmezken, nikotin grubunda 303.11 ± 0.3 ng/

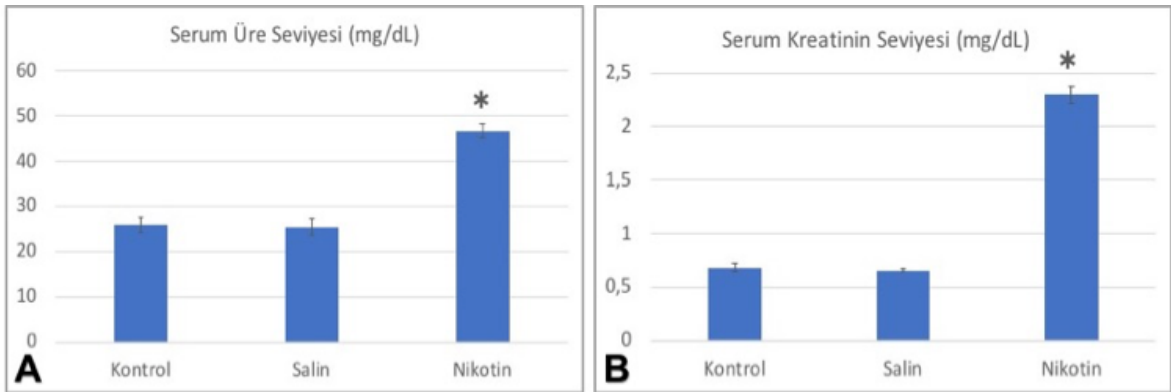
ml olarak ölçülmüştür ($P=0.001$). Serum 8-OHdG seviyesinin nikotin grubunda (7.2 ± 0.8 ng/ml), kontrol (3.6 ± 0.5 ng/ml) ve salin (3.5 ± 0.6 ng/ml) grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir ($P<0.05$).

Kaspaz-3 ve PARP-1 gen ekspresyon düzeyi

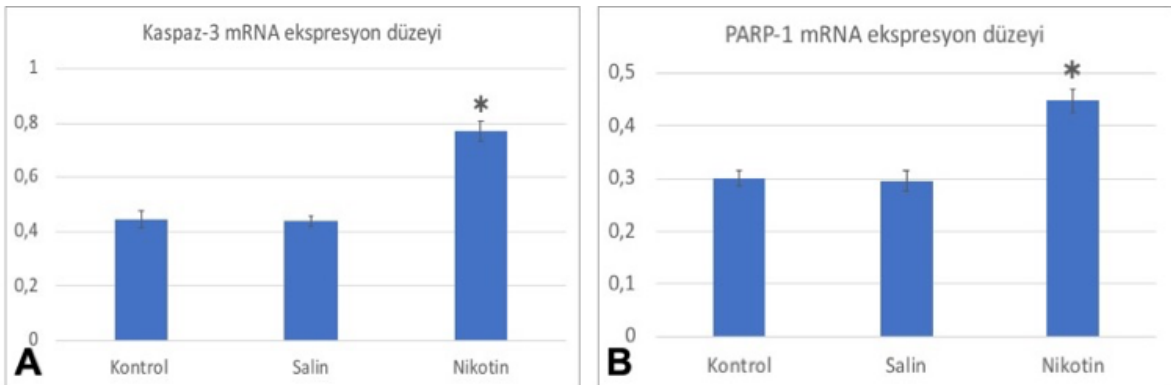
Nikotin grubuna ait farelerin böbrek dokularında kaspaz-3 ve PARP-1 gen ekspresyon düzeylerinin kontrol ve salin grubuna oranla anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir ($P<0.05$), (Şekil 3A,3B).



Şekil 1. Kontrol (A), salin (B) ve nikotin (C) gruplarına ait mikrograflar. G: glomerül, tübül dilatasyon (siyah ok), hematoxilen-eozin, X40



Şekil 2. Gruplar arası serum üre (A) ve kreatinin (B) seviyesi. Kontrol ve salin gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur, ($P<0.05$)



Şekil 3. Gruplar arası kaspaz-3 (A) ve PARP-1 mRNA ekspresyon düzeyleri. Kontrol ve salin gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur, ($P<0.05$)

TARTIŞMA

Literatürde nikotin ile oluşturulmuş nefrotoksisitede birçok hücrel ve moleküler yollar üzerinde durulmuştur, ancak bu çalışma ile ilk kez nikotin ile indüklenen nefrotoksisitede PARP yolağının rolü araştırılmıştır.

Toksikoloji çalışmalarında kullanılan ajanın türe göre metabolizasyonunun bilinmesi ve dozunun belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada kullanılan ajan olan nikotinin yarı ömrü farelerde yaklaşık 6-7 dakika iken insanlarda 2 saat olarak bildirilmiştir (17). Planlanan bu çalışmada, insanlardaki sigara bağımlılığı modelini farelerde oluşturabilmek için daha yüksek doz nikotin gerektirmiştir. Memelilerde nikotinin en önemli metaboliti kotinin olarak bilinmektedir (18). Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda nikotin maruziyetini belirleyebilmek için kotinin seviyesinin ölçümü önerilmesine rağmen, çok az sayıda çalışmada bu veri bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada, nikotin grubu farelerin serum kotinin seviyeleri 303.11 ± 0.3 ng/ml olarak ölçülmüştür, bu seviye insanlarda sigara bağımlılığını modellemektedir (18). Toksikoloji çalışmalarında kullanılan maddenin toksisitesini tespit etmek için vücut ve organ ağırlığı önemli belirleyicilerdir. Bu çalışmada, nikotin grubu farelerin vücut ve böbrek ağırlığının kontrol ve salin gruplarına kıyasla önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda nikotin maruziyetinin deney hayvanlarının vücut ve böbrek ağırlığını anlamlı derecede azalttığı bildirilmiştir (19).

İnsanlarda ve kemirgenlerde serum/plazma kreatinin ve üre düzeyi böbrek hasarını belirlemede değerlendirilen temel indikatörlerdir. Artmış kreatinin ve üre düzeyi kötü glomerüler filtrasyon oranı ve böbrek hasarı ile ilişkilidir. Bu çalışmada, 14 gün boyunca günde 2 kere 3 mg/kg/vücut ağırlığı dozunda uygulanan nikotin serum kreatinin ve üre seviyesini kontrol ve salin gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde artırmıştır. Yapılan birçok çalışmada, nikotinin serum/plazma örneklerinde kreatinin ve

üre seviyesini artırdığı rapor edilmiştir (20). Ayrıca, bu çalışmada nikotin ile indüklenmiş böbrek hasarı histolojik olarak da gösterilmiştir. Nikotin grubu farelerin böbrek dokularında tübül dilatasyon, glomerül çapının artmış olduğu ve mezangial matrikste artış olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, nikotin maruziyetinin akut böbrek hasarı oluşturduğu, proksimal ve distal tübüllerde vakuolizasyon geliştirdiği, tübül epitelinde ayrılmalara neden olduğu, glomerül çapını artırdığı ve sayısını azalttığı bildirilmiştir (20,21). Yapılan diğer çalışmalarda, nikotinin sitokrom P450 enzimini indüklediği, serbest radikal üretimine neden olduğu, dokularda oksidatif stres olduğu ve apoptozu indüklediğine dair veriler mevcuttur (22,23). 2019 yılında yapılan bir çalışmada ise, nikotine maruz kalan sıçan böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunun göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) seviyesinde artış olduğunu, glutatyon (GSH) seviyesinde ise azalma olduğu bildirilmiştir. Araştırılan bu iki parametre artmış oksidatif stresi düşündürmektedir (24). Bu çalışmada, oksidatif stres düzeyini belirlemek için serum örneklerinde 8-OHdG düzeyi ölçülmüştür. Nikotin grubu farelerde 8-OHdG düzeyinin kontrol ve salin gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde arttığı gözlenmiştir. Oksidatif stres ve nikotinle indüklenmiş böbrek hasarı arasında bir ilişki olduğu önerilmiş olsa da kesin hücrel ya da moleküler mekanizmalar hala belirsizliğini korumaktadır.

PARP yolağı fizyolojik durumda normal şekilde çalışırken, aşırı DNA hasarı olduğu durumlarda PARP'ın aşırı aktivasyonu normalden fazla NAD⁺ tüketilmekte, hücrenin enerji metabolizmasında çöküşe neden olmakta ve aynı zamanda hücreyi apoptoz ve nekroz gibi ölüm yollarına sürüklediği bilinmektedir (16). Literatürde, nikotin maruziyeti sonrası gelişen nefrotoksisitede PARP yolağının araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, nikotin maruziyetinden sonra farelerin böbrek dokularında PARP-1 mRNA ekspresyonunun kontrol ve salin gruplarına kıyasla arttığı görülmüştür.

Oksidatif DNA hasar belirteci olan 8-OHdG serum düzeyi sonucu ile birlikte değerlendirildiğinde, nikotin maruziyetinden sonra her iki parametrenin de artmış olduğu saptanmıştır. Ek olarak, nikotin maruziyetinin fare böbrek dokusunda apoptoz belirteci olan kaspaz-3 mRNA ekspresyon seviyesini artırdığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada nikotin ile indüklenmiş nefrotoksistide PARP-1 ve kaspaz-3 mRNA ekspresyonu düzeyinde araştırılmıştır, protein ekspresyonu düzeyinde araştırılmamış olması çalışmanın potansiyel bir limitasyonudur. Daha önceki çalışmalarda, aşırı DNA hasarı olduğu durumlarda PARP yolağının aktive olduğu ve hücre ölümünü tetiklediği gösterilmiştir (16). Espinoza-

Derout ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada (25), elektronik sigaranın (e-sigara, % 2.4 nikotin) fare karaciğer dokusu üzerindeki zararlı etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucuna göre, e-sigaraya maruz kalan farelerin hepatik hücrelerinde NAD⁺ / NADH oranının azaldığı, oksidatif stresin artmış olduğu ve hepatik DNA hasarının geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca, yapılan western blot analizinde PARP-1 aktivitesinin artmış olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada nikotin ile indüklenmiş nefrotoksistide artmış oksidatif stres seviyesinin hücre PARP yolağını aşırı aktive ettiği ve programlanmış hücre ölümü olan apoptoza sürüklediği gösterilmiştir.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 05.08.2016, Karar no: 30).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Prabhat J. The hazards of smoking and the benefits of cessation: A critical summation of the epidemiological evidence in high-income countries. *eLife*, 2020; 9: e49979.
2. Centner AM, Bhide PG, Salazar G. Nicotine in senescence and atherosclerosis. *Cells*, 2020;9(4):135.
3. Liakoni E, Nardone N, Helen GS, Dempsey DA, Tyndale RF, Benowitz NL. Effects of Nicotine Metabolic Rate on Cigarette Reinforcement. *Nicotine Tob Res*, 2020 Aug; 22(8): 1419-23.
4. Franzen KF, Willig J, Cayo Talavera S, Meusel M, Sayk F, Reppel M et al. E-cigarettes and cigarettes worsen peripheral and central hemodynamics as well as arterial stiffness: A randomized, double-blinded pilot study. *Vasc Med*, 2018 Oct; 23(5):419-25.
5. Sahin Ersoy G, Zhou Y, İnan H, Taner CE, Cosar E, Taylor HS. Cigarette Smoking Affects Uterine Receptivity Markers. *Reprod Sci*, 2017, 24,(7), 989-95.
6. Jaimes EA, Zhou MS, Siddiqui M, Rezonzew G, Tian R, Seshan SV et al. Nicotine, smoking, podocytes, and diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2021 Mar 1; 320(3): 442-53.

7. Khalil MAM, Tan J, Khamis S, Khalil MAU, Azmat R, Ullah AR. Cigarette Smoking and Its Hazards in Kidney Transplantation. *Adv Med*, 2017; 6213814.
8. Lan X, Wen H, Aslam R, Shoshtari SSM, Mishra A, Kumar V et al. Nicotine enhances mesangial cell proliferation and fibronectin production in high glucose milieu via activation of Wnt/ β -catenin pathway. *Biosci Rep*, 2018 Jun 29; 38(3): BSR20180100.
9. Rangarajan S, Rezonzew G, Chumley P, Fatima H, Golovko MY, Feng W et al. COX-2-derived prostaglandins as mediators of the deleterious effects of nicotine in chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020 Feb 1; 318(2): 475-85.
10. Yao F, Liu W, Zhao R, Li G, Huang X, Chen Y. BMI modified the association of current smoking with the incidence of hypertension in Chinese population: a 22-year cohort study. *BMC Public Health*, 2020; 20: 295.
11. Lan X, Lederman R, Eng JM. Nicotine Induces Podocyte Apoptosis through Increasing Oxidative Stress. *PLoS One*, 2016; 11(12): e0167071.
12. Harwani SC, Ratcliff J, Sutterwala FS, Ballas ZK, Meyerholz DK, Chapleau MW et al. Nicotine Mediates CD161a+ Renal Macrophage Infiltration and Premature Hypertension in the Spontaneously Hypertensive Rat. *Circ Res*, 2016; 119(10):1101-15.
13. Zheng CM, Lee YH, Chiu IJ. Nicotine Causes Nephrotoxicity through the Induction of NLRP6 Inflammasome and Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor. *Toxics*, 2020; 8(4): 92.
14. Caron MC, Sharma AK, O'Sullivan J, Myler LR, Ferreira MT, Rodrigue A et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 antagonizes DNA resection at double-strand breaks. *Nat Commun*, 2019; 10: 2954.
15. Chandhuri AR, Nussenzweig A. The multifaceted roles of PARP1 in DNA repair and chromatin remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017;18(10):610-21.
16. Pascal JM. The comings and goings of PARP-1 in response to DNA damage. *DNA Repair (Amst)*. 2018; 71:177-82.
17. Lefever TW, Thomas BF, Kovach AL, Synder RW, Wiley JL. Route of Administration Effects on Nicotine Discrimination in Female and Male Mice. *Drug Alcohol Depend*, 2019; (1):204:107504.
18. Thomas CE, Wang R, Haduch J, Murphy SE, Ueland PM, Middtun I et al. Urinary cotinine is as good a biomarker as serum cotinine for cigarette smoking exposure and lung cancer risk prediction. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2020; 29(1):127-32.
19. Salahshoor MR, Roshankhah S, Motavalian V, Jalili C. Effect of Harmine on Nicotine-Induced Kidney Dysfunction in Male Mice. *Int J Prev Med*, 2019; 10: 97.
20. Zahran WE, Emam MA. Renoprotective effect of *Spirulina platensis* extract against nicotine-induced T oxidative stress-mediated inflammation in rats. *Phytomedicine*, 2018;106-10.
21. Kim HJ, Park KK, Chung WY, Lee SK, Kim KR. Protective Effect of White-fleshed Peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) on Chronic Nicotine-induced Toxicity. 2017; 22(1):22-32.
22. Hall S, Dixit M, Arany I. Resveratrol Attenuates Nicotine-mediated Oxidative Injury by Inducing Manganese Superoxide Dismutase in Renal Proximal Tubule Cells. *In Vivo*, 2017 Jul-Aug; 31(4):551-5.
23. Jalili C, Salahshoor MR, Moradi MT, Ahooshash M, Taghadosi M, Sohrabi M. Expression Changes of Apoptotic Genes in Tissues from Mice Exposed to Nicotine. *Asian Pac J Prev*, 2017;18(1):239-44.
24. Ramalingam A, Santhanathas T, Ali SS, Zainalabidin S. Resveratrol Supplementation Protects against Nicotine-Induced Kidney Injury. *International J Env Res Pub Health*, 2019 Nov; 16(22): 4445.
25. Espinoza-Derout J, Shao XM, Bankole E, Hasan KM, Mtume N, Liu Y et al. Hepatic DNA Damage Induced by Electronic Cigarette Exposure Is Associated With the Modulation of NAD⁺/PARP1/ SIRT1 Axis *Front Endocrinol*, 2019; Vol(10).