

Nikotin ve Antagonisti Mecamylaminin Kurbağa (*Rana ridibunda*) İskelet Kası Üzerine Etkileri

The Effects of Nicotine and Its Antagonist Mecamylamine on Skeletal Muscle of Frog (*Rana ridibunda*)

Dilek KUMARGAL¹, Ülkü ÇÖMELEKOĞLU², Ali AŞKIN¹

¹Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin

Özet

Amaç: Bu çalışmada, sigaranın etken maddesi olarak kabul edilen nikotin ile birçok alanda tedavi edici ajan olarak da kullanılan nikotin antagonisti mecamylaminin, izole kurbağa gastrocnemius kası kasılma kuvveti üzerine etkisinin, uygulama süresine bağlı olarak değişiminin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 10^{-4} M nikotin, 10^{-4} M mecamylamin ve 10^{-4} M nikotin + 10^{-4} M mecamylamin kombinasyon grubu olmak üzere üç deney grubu oluşturulmuştur. Her bir deney grubu için on gastrocnemius kası çalışılmıştır (n=30). Süreye bağlı etkileri inceleyebilmek için ölçümler 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda alınmıştır. Sıfırıncı dakikadaki ölçüm kas preparatın kendi kontrolüne karşılık gelmektedir. Kasılma eğrilerini kaydetmek için BIOPAC MP 100 Acquisition sistemi kullanılmıştır. Elde edilen kayıtlardan maksimum kasılma kuvveti ölçülmüştür.

Bulgular: Nikotin ve mecamylaminin ayrı ayrı uygulandığı deney gruplarında her iki madde kasılma kuvvetini kontrole göre uygulamanın 120. dakikasında sırasıyla %48 ve %81 oranında azaltmıştır (p<0.05). Nikotin ve mecamylamin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda ise aynı dozlar kasılma kuvvetinde kontrole göre herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır (p>0.05).

Sonuç: Bu çalışma sonucunda nikotin zamana bağlı olarak iskelet kası kasılma kuvveti üzerine inhibe edici bir etki göstermiştir. Nikotinin bu etkisi mecamylamin tarafından ortadan kaldırılmıştır. Ancak bir nikotin antagonisti olan mecamylamin tek başına iskelet kası kasılma kuvvetini inhibe edici bir etki sergilemektedir.

Anahtar Sözcükler: nikotin, mecamylamin, gastrocnemius kası, kurbağa.

Abstract

Objective: In this study, we investigated the effects of nicotine which is the active ingredient of smoke and a therapeutic agent mecamylamine which is the nicotinic antagonist on contraction force of isolated frog gastrocnemius muscle depending on application time.

Method: The study was composed of three experimental groups; 10^{-4} M nicotine, 10^{-4} M mecamylamine and 10^{-4} M nicotine + 10^{-4} M mecamylamin combination. Ten frog gastrocnemius muscles were investigated in each group (n=30). Measurements were taken at 0th, 30th, 60th, 90th, 120th minutes. Measurements at 0th minute were the control of the preparation of muscles. Contraction recordings were obtained by BIOPAC MP 100 Acquisition System and maximum contraction force was used.

Result: Nicotine and its antagonist mecamylamine decreased the contraction force 48% and 81% at 120th minute respectively when compared with control (p<0.05). Nicotine and mecamylamine combination group displayed no changes in contraction force at each treatment time segment.

Conclusion: As a result nicotine showed an inhibition effect on contraction force of skeletal muscle in treatment time. This effect of nicotine was reversed by mecamylamine. On the other hand mecamylamine inhibited the contraction force of skeletal muscle alone.

Key Words: nicotine, mecamylamine, gastrocnemius muscle, frog.

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2008;1(3):14-20

Geliş Tarihi : 28.07.2008

Kabul Tarihi : 23.12.2008

Yazışma Adresi:

Dilek KUMARGAL

Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi,

Biyoloji Bölümü, Mersin

Tel : 0-324-3610001/4605

Faks : 0-324-3610046

E-posta : dkumargal@yahoo.com

Giriş ve Amaç

Nikotin, tütün bitkisinden (*Nicotiana tabacum*) elde edilen ve biyolojik olarak önemi bulunan bir maddedir (1). Tütün kullanıcılarında, tütün bitkisinin içerisindeki nikotin maddesine bağlı olarak psikolojik ve fiziksel bağımlılık geliştiği bilinmektedir (2). Tütün kullanıcıları, narkotik kullanıcı nüfusundan daha fazla bir nüfusu oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra tütün tüketimi de birçok sağlık probleminin oluşmasına neden olmaktadır (3). Ayrıca bitki özütünden elde edilen nikotin, yüzlerce yıl tarım alanlarında doğal bir insektisit (böcek öldürücü) olarak kullanılmıştır. Bugün hala buharla veya yaprak spreyi olarak, emici zararlıların kontrolü için kullanılmaktadır (4,5). Birçok yeni insektisit, nikotin ile akraba olup, hedef organizmaların yanı sıra, hedef olmayan organizmalarda da yüksek toksisite göstermektedir (6).

Farklı doz ve sürelerde nikotine maruz bırakılan laboratuvar hayvanları ve insanlarda nikotinin lokomotor aktiviteyi arttırdığı, vücut sıcaklığını değiştirdiği, dikkat ve kavramayı arttırdığı ve antidepresif etkili olduğu bildirilmektedir (7-11).

Akut olarak uygulanan nikotin, nikotinic asetilkolin reseptörü (nAChR) fonksiyonlarını etkiler. Nikotinin kronik uygulamalarında ise nikotine bağlı olarak farklı veya ek etkiler de ortaya çıkar. Kronik nikotin uygulaması, beyinde nikotine duyarlı nAChR fonksiyonunun hızlı ve sürekli olarak kaybolmasına neden olmaktadır (11,12). Gangliyonik $\alpha 3\beta 4$ nAChR'leri veya kassal tipte $\alpha 1\beta 1\gamma\delta$ nAChR'lerinin de kronik nikotin alınımında hızlı ve sürekli olarak kaybolduğu rapor edilmiştir (12). Bu nedenle nikotinin nAChR fonksiyonlarının azalmasına neden olabileceği düşünülmektedir (1).

Nikotinin seçici bir antagonisti olan mecamlamin gangliyon bloke edici özelliğe sahiptir ve 50 yıldan uzun bir süredir antihipertansif ajan olarak kullanılmaktadır. Mecamlamin nikotin gibi nAChR'lerine bağlanarak etkisini göstermektedir. Periferik sinir sisteminde gangliyon bloke edici, kaslarda ise kürar gibi kasılma aktivitesini inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir. Yüksek doz mecamlaminin öğrenmeyi bozduğu ve spontan motor aktiviteyi deprese ettiği belirtilmiştir (13). Mecamlamin kan-beyin engelini geçer, tütünün ve nikotinin neden olduğu birçok fizyolojik ve davranışsal etkiyi bloke eder. Bu nedenle sigara içicilerinde gelişen nikotin bağımlılığının tedavisinde de kullanımına yönelik çalışmalar bulunmaktadır (14-18).

Nikotinin iskelet kası üzerine etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Salahdeen ve Fagbohun (19) tarafından Afrika kara kurbağası olan *Bufo regularis* üzerinde yapılan çalışmada nikotinin kasılma kuvveti üzerine etkisi doza bağlı olarak incelenmiş ve nikotinin gastrokinemius kası kasılma kuvvetini azalttığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada nikotinle birlikte nikotinin seçici bir antagonisti olan mecamlaminin kurbağa gastrokinemius kası üzerine etkisinin uygulama süresine bağlı olarak değişiminin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem

Deney Hayvanları

Deneylerde Mersin Müftü Deresinden yakalanan ve ağırlıkları 50-60 g arasında değişen 30 adet *Rana ridibunda* türünden kurbağa kullanıldı. Kurbağalar, içerisinde dere suyu bulunan bir akvaryuma yerleştirildi ve bir hafta boyunca adaptasyon sağlamları amacıyla laboratuvarında bekletildi. Akvaryumdaki su, gün aşırı değiştirildi ve sıcaklığı 20-24 °C de tutuldu. Kurbağalar; 10^{-4} M nikotin, 10^{-4} M mecamlamin ve 10^{-4} M nikotin + 10^{-4} M mecamlamin kombinasyon grubu olmak üzere her grupta 10 kurbağa olacak şekilde 3 gruba bölündü. Kurbağalara yapılan tüm işlemlerde National Institutes of Health (NIH) tarafından hazırlanan laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanım rehberinde belirtilen kriterler uygulandı.

Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde nAChR'lerinin doğal bir agonisti olan nikotin ($C_{10}H_{14}N_2$) (N3876, Sigma, Germany) ile nAChR'lerinin antagonisti mecamlamin ($C_{11}H_{21}N$) (M9020, Sigma, Germany) kullanıldı. Fizyolojik ortamı sağlamak için ise Ringer çözeltisi kullanıldı. Ringer çözeltisi 111.87 mM NaCl, 2.47 mM KCl, 1.08 $CaCl_2$, 2.38 mM $NaHCO_3$ 'dan oluşturuldu (pH= 7.2).

Kas Kasılmasının Kaydedilmesi

Kurbağalar kulak arkasından kesilerek spinal hale getirildi. Daha sonra ince bir tel ile vertebral kolona girerek medulla spinalisleri tahrip edildi. Kurbağaların her birinin sağ arka bacağındaki gastrokinemius kası izole edildi. İzole kaslar önce Ringer çözeltisine alındı. Nikotinin zamana bağlı etkilerini belirleyebilmek için aynı kasta 0., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçüm alındı. Sıfırıncı dakika kayıtları, kaslar Ringer çözeltisi içerisinde iken alınan kayıtlar olup, her bir kas preparatının kontrol değerine karşılık gelmektedir. Kontrol ölçümü yapıldıktan sonra I. gruptaki kaslar 10^{-4} M nikotin çözeltisine, II. gruptaki kaslar 10^{-4} M mecamlamin içeren çözeltime, III. gruptaki kaslar ise 10^{-4} M nikotin+ 10^{-4} M mecamlamin içeren çözeltime alındı ve aynı preparattan 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda kasın mekanik aktivitesi kayıtları. Çözelti %95 O_2 ve %5 CO_2 ile gazlandı. Tüm kayıtlar oda sıcaklığında alındı.

Kayıt için BIOPAC MP 100 kayıt sistemi kullanıldı. Kasın bir ucu tespit edilip diğer ucu izometrik kuvvet transduserine (MAY, FDT-10) bağlandı. Kasa 0.2 g ön gerilim uygulandı. Daha sonra biopac stimülatöre bağlı bipolar iğne elektrotlar kullanılarak 0.1 ms süreli 0.5 V şiddetindeki supramaksimal pulsla kas uyarıldı. Kas

aktivitesi genel amaçlı diferansiyel amplifikatör ile yükselttiler ve 16 bitlik A/D çevirici kullanılarak 1000 örnek/s örnekleme hızıyla daha sonra analiz edilmek üzere bilgisayara aktarıldı. Elde edilen kasılma eğrileri BIOPAC Acknowledge 100 W5.7 analiz programı ile analiz edilerek kasılma kuvveti ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

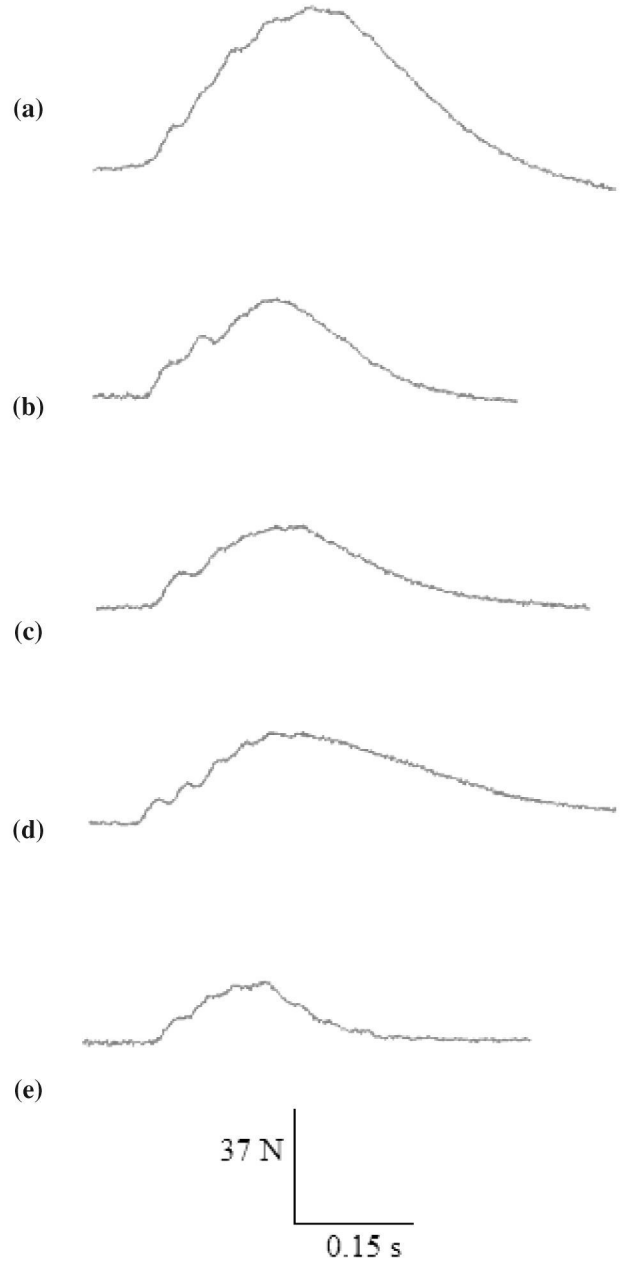
Veriler istatistiksel olarak SPSS 11.5 paket programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uyduğu Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak belirlendi. Aynı kastan farklı sürelerde ölçüm yapıldığı için nikotin ve mecamlaminin zamana bağlı etkileri tekrarlayan ölçümlü varyans analizi yöntemi kullanılarak belirlendi. Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılığın sınırı $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

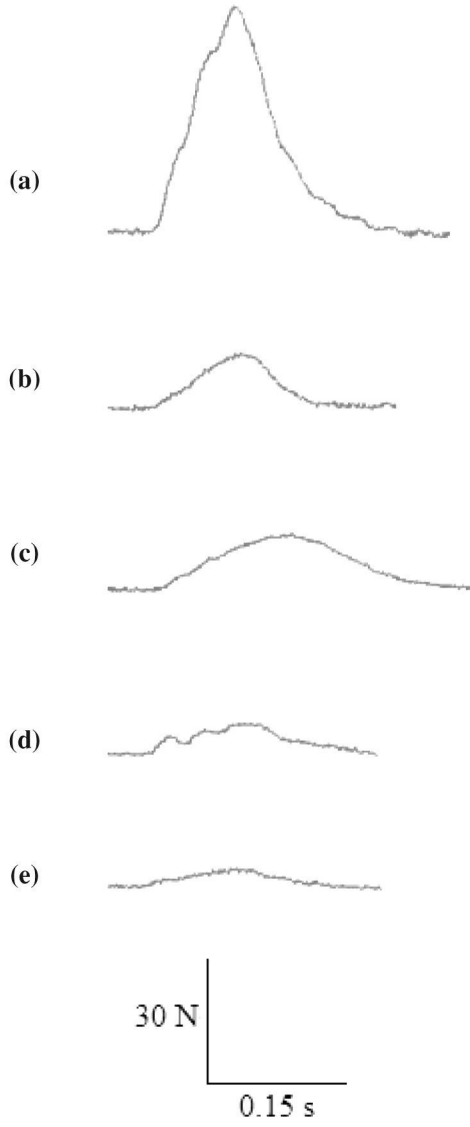
Şekil 1-3 her üç gruptan elde edilen kasılma eğrilerini göstermektedir. Bu eğrilerin analiz edilmesiyle elde edilen sonuçlar ise Tablo 1 ve Şekil 4’de verilmiştir. Tablo 1’de görüldüğü gibi 10^{-4} M nikotin grubunda kasılma kuvveti 0. dakikayla karşılaştırıldığında 90. ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermektedir ($p < 0.05$). Bu azalma 90. dakikada %46 iken, 120. dakikada %48 civarındadır. Yine Tablo 1’de görüldüğü gibi 10^{-4} M mecamlamin grubunda kasılma kuvvetinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmektedir ($p < 0.05$). Bu düşüş 30. dakikada %68 iken, 60. dakikada %74, 90. dakikada %76 ve 120. dakikada %81’e ulaşmıştır. 10^{-4} M nikotin + 10^{-4} M mecamlamin grubunda ise 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ölçülen kasılma kuvveti ile 0. dakikada ölçülen kasılma kuvveti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

Tartışma ve Sonuç

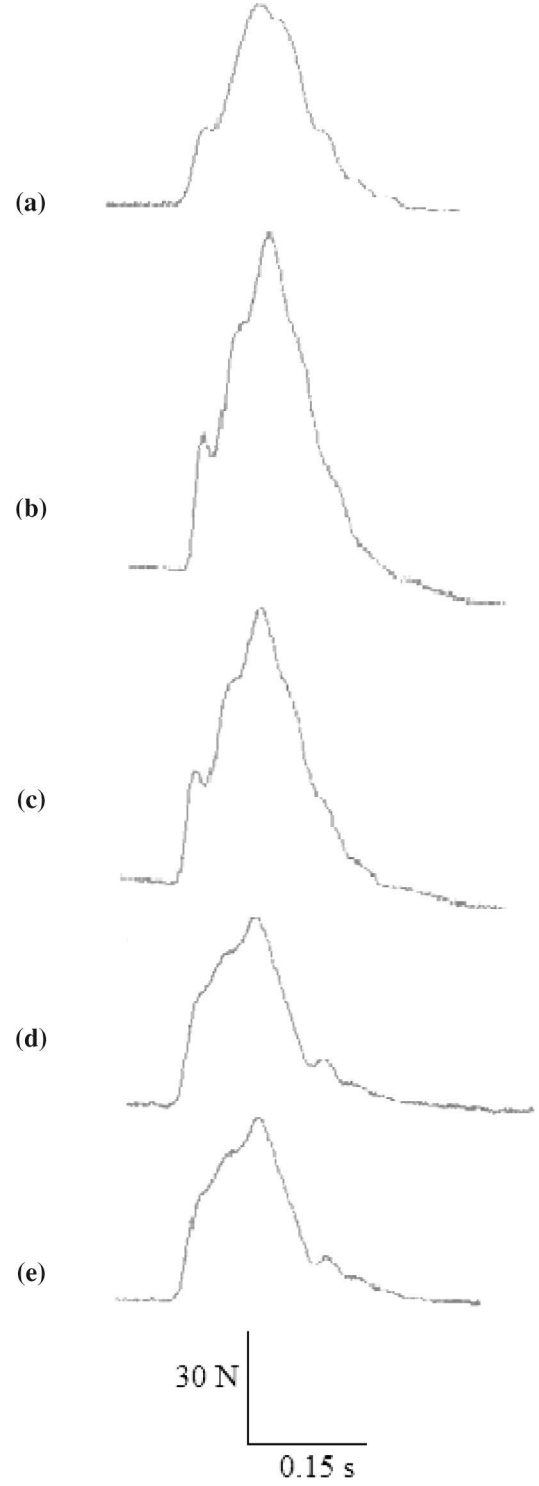
Bu çalışmada nikotin ve antagonisti mecamlaminin kurbağa gastrokinemius kası kasılma kuvveti üzerine etkileri zamana bağlı olarak araştırılmıştır. Bu kapsamda, nikotinin etki mekanizmasının kas nAChR’leri üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediğini ortaya koyabilmek için bir nAChR antagonisti olan mecamlamin kullanılmıştır. Ayrıca antagonistin tek başına kas kasılma kuvveti üzerine etkisinin olup olmadığı da araştırılmıştır. Bilindiği gibi iskelet kaslarının kasılabilmesi için bir dizi moleküler mekanizmanın gerçekleşmesi gerekmektedir. Bu çalışmada sigaranın etken maddesi nikotinin kas kasılma kuvveti üzerine etkisinin olup olmadığı araştırılmış ve oluşabilecek herhangi bir etkinin bu mekanizmanın hangi basamağında etkili olduğu yorumlanmaya çalışılmıştır.



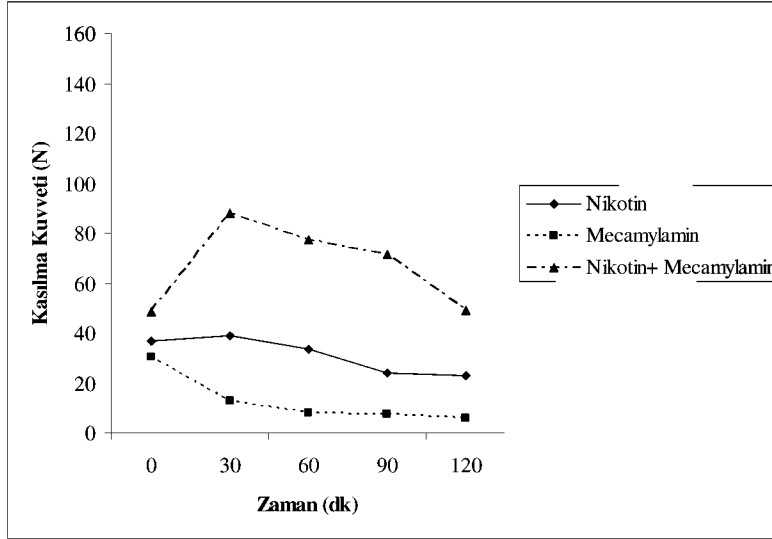
Şekil 1. 10^{-4} M nikotinin kurbağa gastrokinemius kasılma eğrisi üzerine etkisi; (a) 0. dakika, b) 30. dakika, c) 60. dakika, d) 90. dakika e) 120. dakika



Şekil 2. 10^{-4} M mecamlaminin kurbağa gastrokinemius kasılma eğrisi üzerine etkisi; (a) 0. dakika, b) 30. dakika, c) 60. dakika, d) 90. dakika e) 120. dakika



Şekil 3. 10^{-4} M nikotin + 10^{-4} M mecamlaminin kurbağa gastrokinemius kasılma eğrisi üzerine etkisi; (a) 0. dakika, b) 30. dakika, c) 60. dakika, d) 90. dakika e) 120. dakika



Şekil 4. Nikotin ve mecamlaminin tek başına veya kombinasyon halinde kurbağa gastrokinemius kası kasılma kuvveti üzerine etkisi. ◆, 10^{-4} M nikotin, n=10; ■, 10^{-4} M mecamlamin, n=10; ▲, 10^{-4} M nikotin+ 10^{-4} M mecamlamin, n=10

Tablo 1. Nikotin ve mecamlaminin kurbağa gastrokinemius kası kasılma kuvveti üzerine etkileri (Kasılma kuvveti birimi Newton olarak alınmıştır)

Zaman (dk)	I. Grup 10^{-4} M Nikotin	II. Grup 10^{-4} M Mecamlamin	III. Grup 10^{-4} M Nikotin + 10^{-4} M Mecamlamin
0	36.97 ± 16.94	30.40 ± 10.98	48.73 ± 22.7
30	38.96 ± 20.71	12.87 ± 7.65*	88.07 ± 49.72 ^{††}
60	33.69 ± 15.59	8.01 ± 4.91* [†]	77.08 ± 26.81 ^{††}
90	23.97 ± 9.29*	7.48 ± 2.94*	71.61 ± 37.76 ^{††}
120	23.10 ± 7.04*	5.77 ± 2.39* [†]	48.88 ± 19.60 ^{††}

* Sıfırıncı dakikaya göre düşüş istatistiksel olarak anlamlı (p<0.05).

[†] I. gruptan farkı anlamlı (p<0.05).

^{††} II. gruptan farkı anlamlı (p<0.05).

Elde edilen verilere göre 10^{-4} M nikotin grubunda, nikotin kurbağa (*Rana ridibunda*) gastrokinemius kasının kasılma kuvvetini 0. dakikayla karşılaştırıldığında 90. ve 120. dakikalarda önemli ölçüde azaltmıştır. Aynı şekilde 10^{-4} M mecamlamin uygulanan grupta, mecamlaminin kasılma kuvvetini zamana bağlı olarak önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. 10^{-4} M nikotin + 10^{-4} M mecamlamin grubunda ise kontrole göre gastrokinemius kasının kasılma kuvvetinde anlamlı bir değişim görülmemiştir. Nikotin ve mecamlaminin birlikte uygulandığı grupta kasılma kuvvetinde kontrole göre bir değişimin olmaması, nikotinin etkisinin nAChR'leri üzerinden gerçekleştiğini düşündürmektedir. Nikotinin iskelet kasındaki etkisi asetilkolinle aynıdır. Nikotinle asetilkolin arasındaki farklılık nikotinin kolinesterazla

yıkılmaması ve bu nedenle etkisinin uzun sürmesidir. Bu da kas liflerinin sürekli depolarize olmasına yol açmaktadır (20,21). Bizim çalışmamızda nikotin, uygulamanın 30. ve 60. dakikalarında kasılma kuvvetinde herhangi bir değişikliğe neden olmazken, 90. ve 120. dakikalarda kasılma kuvvetinde kontrole göre önemli bir azalmaya neden olmuştur. İlk 60. dakikada kasılma kuvvetinde bir azalma olmaması, nikotinin asetilkolin benzeri etkisi ile kas liflerinde depolarizasyona yol açtığı ve kasın normal kasılma fonksiyonunu yerine getirmesine neden olmasındandır. Uygulamadan 90 dakika ve 120 dakika sonra yapılan ölçümlerde ise kasılma kuvvetinin azalması, kas lifi membranında bulunan nAChR'lerinin inaktif hale gelmesi ya da reseptör yapımının azalmasıyla ilişkili olabilir. Aktif reseptör sayısının azalması, hedef

dokunun kimyasal maddeye karşı duyarlılığını azaltır (21). Kasın kasılma cevabındaki azalmanın olası bir başka mekanizması kalsiyum ile ilişkili olabilir. Bilindiği gibi kasılma olayının gerçekleşmesinde kalsiyum iyonları önemli bir role sahiptir. Sarkoplazmik retikulumdan salınan kalsiyum iyonları aktin ve miyozin filamentleri arasındaki etkileşimi başlatır. Nikotinin, kas liflerinde oluşturduğu sürekli depolarizasyon, sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum serbestleme mekanizmasını bozmuş ve bu da kasılma kuvvetinde azalmaya yol açmış olabilir. Literatürde nikotinin iskelet kasında kasılma kuvveti ve uygulama süresi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Salahdeen ve Fagbohun (19) Afrika kara kurbağası *Bufo regularis* türünün siyatik sinir-gastrokinemius kas preparatı üzerinde yaptıkları bir çalışmada, maksimum kasılma kuvvetinin 0.8mg/ml nikotin dozunda kontrole göre arttığını, 10-14mg/ml dozları arasında ise azaldığını göstermişlerdir.

Nikotin antagonisti olan mecamlaminin 10^{-4} M'lık konsantrasyonunun uygulanması kasılma kuvvetinde azalmaya yol açmıştır. Bulgulara göre mecamlamin nikotin varlığında antagonist olarak davranmaktadır ve nikotinin etkisini ortadan kaldırmaya çalıştığı görülmektedir. Mecamlaminin tek başına nAChR'lerini bloke ettiği bilinmektedir (13). Yama kenetleme çalışmaları mecamlaminin nAChR'lerinin açık kalma sürelerini kısalttığını göstermiştir (22). Nikotinic asetilkolin reseptörlerinin bloke olması veya açık kalma sürelerinin azalması ile aynı zamanda iyon kanalı olarak işlev gören bu reseptörler Na^{+} ve K^{+} iyonlarının geçişine izin vermeyerek kas liflerinde depolarizasyonu engellemektedir. Bunun sonucunda kasılma aktivitesinde azalma oluşmaktadır. Bizim çalışmamızda da mecamlamin etkisiyle kasılma kuvveti 120. dakikada başlangıçtaki değerine göre %81 oranında azalmıştır. 10^{-4} M nikotin + 10^{-4} M mecamlamin kombinasyonunun uygulanmasıyla nikotinin 90. ve 120. dakikalarda kasılma kuvvetinde oluşturduğu baskılayıcı etki ortadan kalkmıştır. Literatürde çizgili kaslarda nikotin+mecamlamin kombinasyonunun uygulandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle sonuçları karşılaştırma olanağı olmamıştır. Nikotinin 90. ve 120. dakikalarda kasılma kuvvetindeki baskılayıcı etkisinin mecamlamin tarafından ortadan kaldırılması mecamlaminin nikotinin bozduğu kalsiyum mekanizmasını kalsiyum kanal kinetiklerini değiştirerek yeniden etkin hale getirmiş olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Sonuç olarak; nikotinin uzun süreli uygulanmasının iskelet kasının kasılma aktivitesinin azalmasına yol açtığı gözlenmiştir. Nikotin antagonisti mecamlaminin nikotininle birlikte uygulanması ise bu etkiyi ortadan kaldırmıştır. Bu sonuç, sigara bağımlılarında mecamlaminin nikotin etkisiyle kasta oluşan değişikliklerin ortadan kaldırılmasında tedavi edici bir ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür. Bu

konuda sınırlı sayıda klinik çalışma mevcuttur. Ancak konuyla ilgili oldukça ileri araştırmalara gereksinim vardır.

Kaynaklar

1. Ke L, Eisenhour CM, Bencherif M, Lukas RJ. Effects of chronic nicotine treatment on expression of diverse nicotinic acetylcholine receptor subtypes I dose- and time-dependent effects of nicotine treatment. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;286:825-40
2. Karlıkaya C, Öztuna F, Solak ZA, Özkan M, Örsel O. Tütün Kontrolü. *Türk Toraks Dergisi* 2006;7(1):51-64.
3. Peto R, Lopez A, Boreham J, Thun M, Heath C. Mortality from tobacco in developed countries: indirect estimation from national vital statistics. *Lancet* 1992;339:1268-78.
4. Casida JE, Quistad GB. Golden age of insecticide research: past, present and future. *Annu Rev Entomol* 1998;43:1-16.
5. Copping LG, Menn JJ. Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag Sci* 2000;56(8):651-676.
6. Gepner JJ, Hall LM, Sattelle DB. Insect acetylcholine receptors as a site of insecticide action. *Nature* 1978;276(5684):188-90.
7. Gray JA, Mitchell SN, Joseph MH, Grogoryan GA, Dawe S, Hodges H. Neurochemical mechanisms mediating the behavioral and cognitive effects of nicotine. *Drug Dev Res* 1994;31:3-17
8. Henningfield JE, Schuh LM, Heishman SJ. Pharmacological determinants of cigarette smoking. Clarke PBS, Quik M, Adlkofer F, Thurau K. Effects of Nicotine on Biological Systems II 2nd Ed., Basel: Birkha user Verlag, 1995:127-35.
9. Warburton DM. The functional conception of nicotine use. Clarke PBS, Quik M, Adlkofer F, Thurau K. Effects of Nicotine on Biological Systems II 2nd Ed., Basel: Birkha user Verlag, 1995:257-64.
10. Lindstrom J. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors. Narahashi T. Ion Channels, 4th Ed., New York: Plenum Press, 1996:377-450.
11. Lukas RJ, Ke L, Bencherif M, Eisenhour CM. Regulation by nicotine of its own receptors. *Drug Dev Res* 1996;38:136-48.
12. Lukas RJ. Effects of chronic nicotinic ligand exposure on functional activity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by cells of the PC12 rat pheochromocytoma or the TE671/RD human clonal line. *J Neurochem* 1991;56:134-45.

13. Young JM, Shytle RD, Sanberg PR, George TP. Mecamylamine: new therapeutic uses and toxicity/risk profile. *Clin Ther* 2001;23(4):532-65.
14. Stolerman IP, Goldfarb T, Fink R, Jarvik ME. Influencing cigarette smoking with nicotine antagonists. *Psychopharmacology* 1973;28:247-59.
15. Pickworth WB, Fant RV, Butschky MF, Henningfield JE. Effects of mecamylamine on spontaneous EEG and performance in smokers and nonsmokers. *Pharmacol Biochem Behav* 1997;56:181-7.
16. Eissenberg T, Griffiths RR, Stitzer ML. Mecamylamine does not precipitate with-drawal in cigarette smokers. *Psychopharmacology* 1996;127:328-36.
17. Tennant FS, Tarver AL. Withdrawal from nicotine dependence using mecamylamine: Comparison of three-week and six week dosage schedules. *NIDA Res Monogr* 1984;55:291-7.
18. Rose JE, Sampson A, Levin ED, Henningfield JE. Mecamylamine increases nicotine preference and attenuates nicotine discrimination. *Pharmacol Biochem Behav* 1989;32:933-8.
19. Salahdeen HM, Fagbohun TR. Effects of cow urine concoction and nicotine on the nerve-muscle preparation in common African toad *Bufo regularis*. *Biomed Res* 2005;16(3):205-11.
20. Lukas RJ, Changeux JP, Novere NL, Albuquerque EX, Balfour DJK, Berg DK, Bertrand D, Chiappinelli VA, Clarke PB, Collins AC, Dani JA, Grady SR, Kellar KJ, Lindstrom JM, Marks MJ, Quik M, Taylor PW, Wonnacott S. International Union of Pharmacology. XX. Current Status of the Nomenclature for Nicotinic Acetylcholine Receptors and Their Subunits. *Pharmacological Reviews* 1999;51(2):397-401.
21. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*. (Çev: Çavuşoğlu H, Yeğen BÇ.) Onbirinci Basım, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara 2007:87-9.
22. Varanda WA, Aracava Y, Sherby SM, VanMeter WG, Eldefrawi ME, Albuquerque EX. The acetylcholine receptor of the neuromuscular junction recognizes mecamylamine as a noncompetitive antagonist. *Mol Pharmacol* 1985;28:128-37.