



# Current Research *in* Health Sciences

*Official journal of Atatürk University Graduate School of Health Sciences*

**Volume / Cilt 1 • Issue / Sayı 1 • February / Şubat 2024**

**EISSN: 3023-6991**

<https://dergipark.org.tr/en/pub/crihs>

# Current Research in Health Sciences

## CHIEF EDITOR / BAŞ EDITÖR

**Elif ÇADIRCI** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Pharmacology, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/ecadirci>

## ASSISTANT EDITORS / EDITÖR YARDIMCILARI

**Mehtap KAVURMACI** 

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department  
of Internal Medicine Nursing, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/mehtap.kavurmaci>

**Abdülmeccit ALBAYRAK** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Pharmacology, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/drameciti>

## SECTION EDITORS / ALAN EDITÖRLERİ

**Hilal ÖZBEK** 

Ataturk University, Faculty of Pharmacy,  
Department of Pharmacognosy, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/ozbek>

**Ekrem LAÇIN** 

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine,  
Department of Animal Science, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/elacin>

**Fatma ÇAĞLAYAN** 

Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Oral and Maxillofacial Radiology,  
Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/fatma.caglayan>

**Abdülmeccit ALBAYRAK** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Pharmacology, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/drameciti>

**Mehtap KAVURMACI** 

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department  
of Internal Medicine Nursing, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/mehtap.kavurmaci>

## EDITORIAL BOARD / YAYIN KURULU

**Samet KAPAKIN** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Anatomy, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/samet>

**Ahmet KIZILTUNÇ** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biochemistry, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/akiziltunc>

**Mustafa GÜL** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Physiology, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/mgul>

**Akın ERDAL** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Physical Medicine and  
Rehabilitation, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/akinerdal>

**Serhat VANÇELİK** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Public Health, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/svanceli>

**Osman AKTAŞ** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biology, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/osaktas>

**Ali ŞAHİN** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Nuclear Medicine, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/ali.sahin>

**Hasan TÜRKEZ** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Medical Biology, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/hturkez>

**Fatih ALPER** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Internal Medicine Hematology,  
Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/ferdem/egitim>

**Fuat ERDEM** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Radiology, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/drfaalper>

**Osman Nuri KELEŞ** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Histology and Embryology, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/onkeles>

**Yasemin ÇAYIR** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Family Medicine, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/yasemin.cayir>

**Burak ERDEMÇİ** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Radiation Oncology, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/burak.erdemci>

**Kamber KAŞALI** 

Ataturk University, Faculty of Medicine,  
Department of Biostatistics and Medical  
Informatics, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/kamber>

**Ümit ERTAŞ** 

Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Oral and Maxillofacial Surgery,  
Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/uertas>

**Yusuf Ziya BAYINDIR** 


Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Restorative Dentistry, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/ybyay>

**Nuran YANIKOĞLU** 


Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Prosthodontics, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/ndinckal>

**Nihat KILIÇ** 

Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Orthodontics, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/nkilic>

**Recep ORBAK** 

Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Periodontics, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/rorbak>

**Sera DERELİOĞLU** 

Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Pedodontics, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/s.derelioglu>

**Halit ALADAĞ** 

Ataturk University, Faculty of Dentistry,  
Department of Endodontics, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/haladag>

**Nezaha KARABULUT** 


Ataturk University, Faculty of Nursing, Department  
of Surgical Nursing, Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/nezaha>

**Fatma GÜDÜCÜ TÜFEKÇİ** 

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department  
of Child Health Diseases and Nursing, Erzurum,  
Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/fatma.guducutufekci>

**Gülşen ERYILMAZ** 

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department  
of Obstetrics, Gynecology and Diseases Nursing,  
Erzurum, Türkiye

<https://avesis.atauni.edu.tr/eryilmaz>

# Current Research in Health Sciences

## Dilek KILIÇ

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department of Public Health Nursing, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/dilekk>

## Mağfiret KAŞIKÇI

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department of Nursing Principles, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/magfiret>

## Mehtap TAN

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department of Internal Medicine Nursing, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/mtan>

## Sibel ASİ KARAKAŞ

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department of Psychiatric Nursing, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/s.asikarakas>

## Burcu ALAÇAM

Ataturk University, Faculty of Nursing, Department of Management in Nursing, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/burcu.alacam>

## Esen TAŞGIN

Ataturk University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/esent25>

## Serap EJDER APAY

Ataturk University, Faculty of Health Sciences, Department of Midwifery, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/sejder>

## Yücel KADIOĞLU

Ataturk University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/yucel>

## Mine GÜLABOĞLU

Ataturk University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/minegulaboglu>

## Zühal GÜVENALP

Ataturk University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/guvenalp>

## Meltem ÇETİN

Ataturk University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/melcetin>

## Şaziye Sezin YÜCELİK

Ataturk University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Toxicology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/spalabiyik>

## Mehmet KOCA

Ataturk University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/kocamehmet>

## Mustafa ATASEVER

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/atasever>

## Mümin Gökhan ŞENOCAK

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Surgery, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/mgsenocak>

## Mehmet GÜL

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/mehgul>

## Derviş ÖZDEMİR

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Anatomy, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/dozdemir>

## Fikret ÇELEBİ

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Physiology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/fncelebi>

## Bülent POLAT

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Obstetrics and Gynecology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/bpolat>

## Serkan YILDIRIM

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Pathology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/syildirim>

## Mustafa Sinan AKTAŞ

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Internal Medicine, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/sinanaktas>

## Ali Doğan ÖMÜR

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Fertilization and Artificial Insemination, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/alidogan>

## İbrahim BALKAYA

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Parasitology  
<https://avesis.atauni.edu.tr/balkayaibrahim>

## Mehmet Cemal ADIGÜZEL

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Microbiology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/mcemal.adiguzel>

## Mesut Bünyami HALICI

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Biochemistry, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/mhalici>

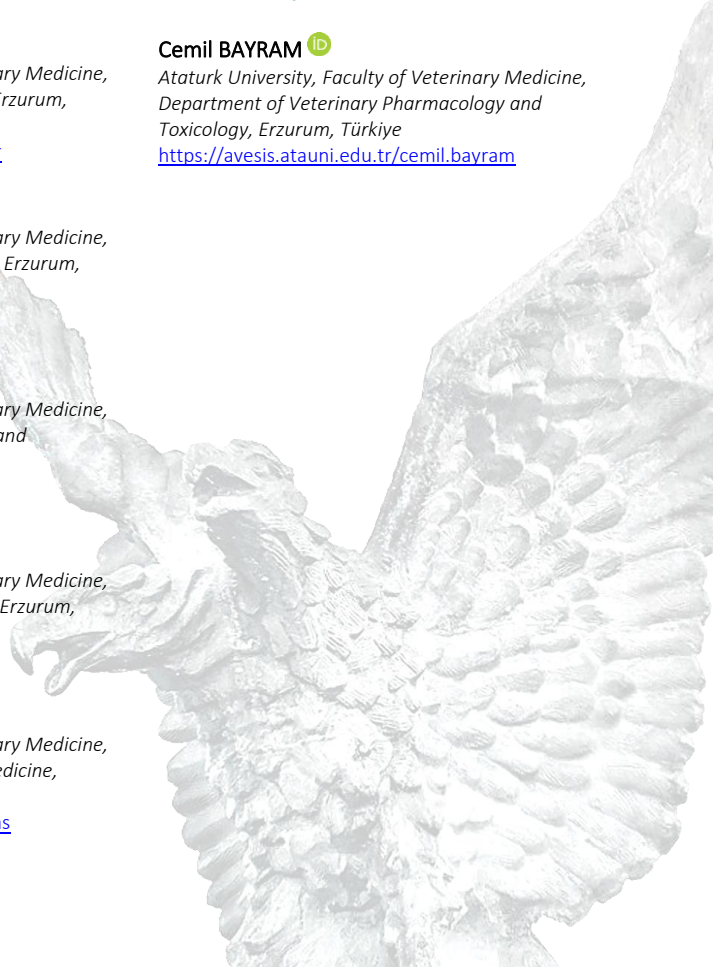
## Mehmet Özkan TİMURKAN

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Virology, Erzurum, Türkiye  
<https://atauni.edu.tr/mehmet-ozkan-timurkan>

## COPYEDITOR / YAZIM EDITÖRÜ

## Cemil BAYRAM

Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Pharmacology and Toxicology, Erzurum, Türkiye  
<https://avesis.atauni.edu.tr/cemil.bayram>



# Current Research in Health Sciences

## AIMS AND SCOPE

*Current Research in Health Sciences* aims to publish studies of the highest scientific caliber in the field of all health sciences.

*Current Research in Health Sciences* publishes clinical, experimental research, review article, rare case reports, and letter to the editor articles that will contribute to the literature on health sciences. The main purpose of the journal is to disseminate the scientific knowledge produced in the field of health sciences to a wide platform. In doing so, the journal aims to bring together researchers, educational practitioners and policy makers at a common intersection.

The target audience of the journal consists of researchers who are interested in or working in the field of health sciences.

## Disclaimer

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, editorial board, and/or publisher; the editors, editorial board, and publisher disclaim any responsibility or liability for such materials.

## Open Access Statement

Current Research in Health Sciences is an open access publication, and the journal's publication model is based on Budapest Access Initiative (BOAI) declaration. All published content is available online, free of charge at <https://dergipark.org.tr/en/pub/crihs>. The journal's content is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial (CC BY-NC) 4.0 International License which permits third parties to share and adapt the content for non-commercial purposes by giving the appropriate credit to the original work.

You can find the current version of the Instructions to Authors at <https://dergipark.org.tr/en/pub/crihs/writing-rules>.

## AMAÇ VE KAPSAM

*Current Research in Health Sciences*, tüm sağlık bilimleri alanında en yüksek bilimsel kalibrede çalışmalarını yayınlamayı amaçlamaktadır.

*Current Research in Health Sciences*, sağlık bilimleri literatürüne katkı sağlayacak klinik, deneysel araştırma, derleme makale, nadir olgu sunumları ve editöre mektup makalelerini yayınlamaktadır. Derginin temel amacı, sağlık bilimleri alanında üretilen bilimsel bilgiyi geniş bir platforma yaymaktır. Dergi bunu yaparken araştırmacıları, eğitim uygulayıcılarını ve politika yapımcıları ortak bir kesişim noktasında buluşturmaya hedeflemektedir.

Derginin hedef kitlesini sağlık bilimleri alanına ilgi duyan veya bu alanda çalışan araştırmacıları oluşturmaktadır.

## Sorumluluk Reddi

Dergide yayınlanan yazılarda ifade edilen ifadeler veya görüşler, editörlerin, yayın kurulunun ve/veya yayıncının görüşlerini değil, yazar(lar)ın görüşlerini yansıtır; editörler, yayın kurulu ve yayıncı bu tür materyaller için herhangi bir sorumluluk veya yükümlülük kabul etmemektedir.

## Açık Erişim Bildirimi

*Current Research in Health Sciences* yayınlanma modeli Budapeşte Açık Erişim Girişimi (BOAI) bildirgesine dayanan açık erişimli bilimsel bir dergidir. Derginin arşivine <https://dergipark.org.tr/en/pub/crihs/archive> adresinden ücretsiz olarak erişilebilir. *Current Research in Health Sciences* içeriği, Creative Commons Atıf-Gayri Ticari (CC BY-NC) 4.0 Uluslararası Lisansı ile yayınlanmaktadır.

Yazarlara Bilgi'nin güncel versiyonuna <https://dergipark.org.tr/en/pub/crihs/writing-rules> adresinden ulaşabilirsiniz.



### Contact (Editor in Chief) / İletişim (Baş Editör)

**Elif ÇADIRCI**

Atatürk University Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Erzurum, Türkiye

✉ [ecadirci@atauni.edu.tr](mailto:ecadirci@atauni.edu.tr)

✉ [crihs@atauni.edu.tr](mailto:crihs@atauni.edu.tr)

🌐 <https://dergipark.org.tr/en/pub/crihs>

☎ +90 442 344 87 19

### Contact (Publisher) / İletişim (Yayıncı)

**Atatürk University**

Atatürk University, Erzurum, Türkiye

Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü 25240 Erzurum, Türkiye

✉ [ataunijournals@atauni.edu.tr](mailto:ataunijournals@atauni.edu.tr)

🌐 <https://bilimseldergiler.atauni.edu.tr>

☎ +90 442 231 15 16

# Current Research in Health Sciences

## EDİTÖRDEN MEKTUP

Sevgili Meslektaşlarım

“Current Research in Health Sciences” dergisinin ilk sayısını sizlerle buluşturmaktan mutluluk duyuyoruz. Dergimiz Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün bilimsel yayın organı olarak 2023 yılında kurulmuş ve makale kabulüne başlamıştır. Bu süreçte dergimize sunulan gerek araştırma gerekse derleme makalelerden seçilmiş yayınları ilk sayımızda sizlere heyecanla sunuyoruz. Dergimiz tek sağlık politikasının bir ürünü olarak sağlık alanında güncel tüm araştırmaların ve derleme çalışmaların kendisine yer bulabileceği, bilim insanlarına hizmet eden kapsayıcı bir bilimsel sağlık dergisi olarak kurgulanmıştır. Bu bağlamda ilk sayımızda klinik araştırmalar, laboratuvar çalışmaları ve alanında önemli derlemeler yer almıştır. Bundan sonraki sayılarımızda da tüm sağlık camiasından gelecek olan çalışmalarla bilim camiasına katkıda bulunmayı umut ediyoruz. Bu bağlamda bu sayıya katkı veren tüm yazarlara, hakemlere ve okuyuculara teşekkür ediyor; dergimizin gelecek sayılarına değerli katkılarınızı bekliyoruz.

Saygılarımızla

Prof. Dr. Elif ÇADIRCI/Editör kurulu adına

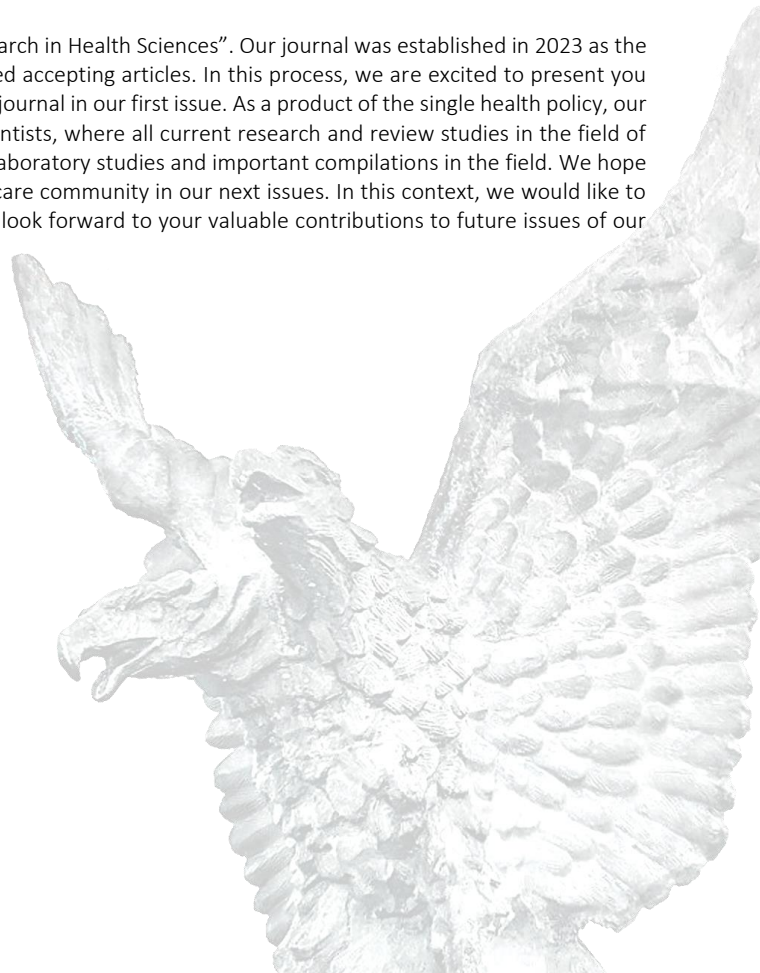
## EDITORIAL LETTER

Dear Colleagues

We are pleased to introduce you to the first issue of the journal “Current Research in Health Sciences”. Our journal was established in 2023 as the scientific publication of Atatürk University Health Sciences Institute and started accepting articles. In this process, we are excited to present you selected publications from both research and review articles submitted to our journal in our first issue. As a product of the single health policy, our journal has been designed as an inclusive scientific health journal serving scientists, where all current research and review studies in the field of health can be found. In this context, our first issue included clinical research, laboratory studies and important compilations in the field. We hope to contribute to the scientific community with studies from the entire healthcare community in our next issues. In this context, we would like to thank all the authors, referees and readers who contributed to this issue; we look forward to your valuable contributions to future issues of our journal.

Regards

Prof. Dr. Elif ÇADIRCI/On behalf of the editorial board



# Current Research in Health Sciences

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### Araştırma Makaleleri / Research Articles

- 1** **Arı Poleninden Elde Edilen Çeşitli Ekstrelerin L929 Fibroblast Hücre Proliferasyonu Üzerine Etkisi**  
*Effect of Various Extracts Obtained from Bee Pollen on L929 Fibroblast Cell Proliferation*  
İrfan Çınar, Çiğdem Sevim
- 8** **Pregabalinin L929 Fibroblast Hücrelerinde Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**  
*Investigation of the Effects of Pregabalin on Wound Healing in L929 Fibroblast Cells*  
Hüseyin Bekmez, Hamza Halıcı
- 15** **COVID-19 Şiddeti ile Serum Adropin Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması**  
*Investigation of the Relationship Between COVID-19 Severity and Serum Adropin Levels*  
Cihad Özçelik, Hamza Halıcı, İbrahim Hakkı Tör, Sevgi Karabulut Uzunçakmak, Pelin Aydın
- 21** **Azerbaycan Tıp Üniversitesi'nin Laparoskopik Kolo-Rektal Cerrahi Deneyimleri**  
*Laparoscopic Colo-Rectal Surgery Experiences of Azerbaijan Medical University*  
Elnara Nabiyeva, Fariz Camalov
- 25** **Kronik Hastalıklarda Oksidatif Stres: Portakal Kabuğu Ekstrelerine Bakış**  
*Oxidative Stress in Chronic Diseases: An Overview of Orange Peel Extracts*  
Lale Duysak, Adil Furkan Kılıç

### Derlemeler / Reviews

- 34** **Sigara Kullanımının Endokrin Sistem Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi**  
*Evaluation of the Effects of Smoking on the Endocrine System*  
Büşra Şahin Mazlumoğlu, Nagihan Demirtaş, Şaziye Sezin Palabıyık Yücelik
- 43** **Polikistik Over Sendromunda Arjinin Metabolizmasının Fonksiyonu**  
*Function of Arginine Metabolism in Polycystic Ovary Syndrome*  
Damla Binnetoğlu, Gökhan Can Çetin



# Effect of Various Extracts Obtained From Bee Pollen on L929 Fibroblast Cell Proliferation

## Arı Poleninden Elde Edilen Çeşitli Ekstrelerin L929 Fibroblast Hücre Proliferasyonu Üzerine Etkisi

İrfan ÇINAR 

Çiğdem SEVİM 

Kastamonu University, Faculty of Medicine,  
Department of Pharmacology, Kastamonu,  
Türkiye



### ABSTRACT

**Objective:** Since ancient times bee pollen has been considered a good source of bioactive substances and energy, so its effects on tissue regeneration has been seen and evaluated. Considering the increasing demand for healthy and natural foods in recent years, it is unsurprising that bee pollen has been attracting commercial interest, making it one of the most widely consumed food supplements. The substances contributing to tissue regeneration are essential for skin health and cosmetology. Cell culture studies have gained importance in tissue regeneration studies in recent years. Fibroblast cell line is frequently used in control studies, especially on the efficacy and toxicity of cosmetic products and chemical substances. In light of these data, we investigated the effects of bee pollen extracts on L929 fibroblast cells.

**Methods:** Different concentrations of Türkiye Bee pollen extract obtained with different solvents (hexane, dichloromethane, methanol, methanol + water, acetone, water) were applied to L929 fibroblast cells. The effects of pollen on cell proliferation were examined time-dependent by real-time cell counting system Xcelligence.

**Results:** In our studies, all bee pollen extracts in the fibroblast cell line increased cell proliferation. The methanol extract was especially observed to improve L929 cell proliferation by dose-dependent.

**Conclusion:** This study concluded that bee pollen extracts obtained at various concentrations and by different extractions do not cause any toxic effects on fibroblasts but significantly affect proliferation. From these results, bee pollen contributes to fibroblast proliferation and maybe a new target in cosmetics and developing drugs. However, more detailed work is needed to determine which pollen component is practical.

**Keywords:** L929, Fibroblast, Bee Pollen, Proliferation

### ÖZ

**Amaç:** Antik çağlardan beri arı poleni iyi bir biyoaktif madde ve enerji kaynağı olduğu için doku rejenerasyonundaki etkileri görülüp değerlendirilmiştir. Son yıllarda sağlıklı ve doğal gıdalara olan artan talep dikkate alındığında, arı polenin çok tüketilen gıda takviyelerinin içeriğine girmesi ve ticari ilgiyi çekmesi şaşırtıcı değildir. Doku rejenerasyonuna katkısı olan maddeler cilt sağlığı ve kozmetoloji açısından önem arz etmektedir. Son yıllarda doku rejenerasyonu çalışmalarında hücre kültür çalışmaları önem kazanmaktadır. Özellikle kozmetik ürünlerde ve kimyasal maddelerin etkinlik ve toksisiteleri ile ilgili kontrol çalışmalarında Fibroblast hücre hattı sıkça kullanılmaktadır. Biz de bu bilgiler ışığında arı poleni ekstraktlarının L929 fibroblast hücreleri üzerine etkilerini araştırdık.

**Yöntemler:** Çalışmada Türkiye arı polenin farklı çözücülerden (hekzan, diklorometan, metanol, metanol+su, aseton, su) elde edilen ekstraktları farklı konsantrasyonlarda L929 hücrelerine uygulanmıştır. Polenin hücre proliferasyonu üzerine etkileri Xcelligence gerçek zamanlı hücre sayım sistemi ile zaman bağımlı olarak incelenmiştir.

**Bulgular:** Yaptığımız çalışmada Fibroblast hücre hattında bütün Arı poleni ekstraktlarının hücre proliferasyonunu artırdığı görülmüştür. Özellikle metanol ekstresinin doza bağımlı olarak L929 hücre proliferasyonunu iyileştirdiği gözlenmiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak bu çalışmada çeşitli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilmiş arı poleni ekstraktlarının fibroblastlara herhangi bir toksik etki oluşturmadığı aksine proliferasyonunda önemli etkilerde bulunduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak da arı polenin fibroblast proliferasyonuna katkıda bulunarak gerek kozmetik alanında gerekse ilaç geliştirmede yeni bir hedef olabileceği öne sürülebilir. Ancak polenin hangi bileşenin etkili olduğunun belirlenmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** L929, Fibroblast, Arı poleni, Proliferasyon

### Publication Date

Geliş Tarihi/Received 01.09.2023

Kabul Tarihi/Accepted 06.10.2023

Yayın Tarihi/Publication 28.02.2024

### Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Çiğdem Sevimi

E-mail: cigdemsevim@kastamonu.edu.tr

Cite this article: Çınar, İ., & Sevim, Ç.

(2024). Effect of Various Extracts

Obtained from Bee Pollen on L929

Fibroblast Cell Proliferation. *Current*

*Research in Health Sciences*, 1(1): 1-7.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

## Introduction

Bee products were used in medicine in the ancient world (Egypt, Greece, China). Today, bee products (propolis, honey, royal jelly, beeswax, bee pollen) are recognized as alternative medicines and their application refers to complementary and alternative medicine (Zizic, Vukovic et al. 2013). Bee pollen, commonly called "life-giving dust", results from the agglutination of flower pollen with nectar and saliva of honey bees and is used as food for all developmental stages in the hive. The composition of bee pollen varies depending on biogeographic (regional) origin, ecological habitat and even seasonality. Recently, bee pollen has been promoted as a valuable apitherapeutic product due to its potential therapeutic value. Bee pollen is used apitherapeutically as it exhibits a range of actions such as antifungal, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, immunostimulatory and local analgesic, and also facilitates the granulation process of burn wound healing (Almaraz-Abarca, Campos et al. 2004).

Wound healing is a dynamic reaction whose intact course allows restoring the continuity and functionality of damaged skin as a result of dynamic cooperation between many molecular factors (Velnar, Bailey et al. 2009, Pereira, Lima-Ribeiro et al. 2012, Sinno and Prakash 2013). The process consists of 4 specific phases to progress smoothly and move from one to the next. The durations of the specific healing stages depend on the type of damage and the possible coexistence of additional intervening factors, i.e., the size and location of the damage, the blood supply of the wound edges, the cleanliness of the wound, the degree of microbiological contamination of the wound, the presence of necrotic tissue and appropriately treated healing management in combination with other factors (Velnar, Bailey et al. 2009, Gethin 2012, Pereira, Lima-Ribeiro et al. 2012, Reinke and Sorg 2012).

The L929 type of these cells, which play a role in the proliferation phase of wound healing, especially by contributing to collagen synthesis, are the most preferred cells for the evaluation of wound healing, especially in experimental cell culture studies. Again, cell culture studies have gained importance in tissue regeneration studies in recent years. In the light of this information, we investigated the effects of bee pollen extracts on L929 fibroblast cells.

## Methods

Mixed pollen samples collected by honey bees from different plants were obtained from beekeepers in the Erzurum

(Erzurum, Türkiye) region and dried in the laboratory at 40- 45°C and pulverized in the mill. In contrast to routine methods, ultrasonic extraction method was used in this study. Solutions (hexane, dichloromethane, methanol, methanol+water, acetone, water) were added. The extraction steps were carried out and the solvents were removed in a rotary evaporator at 40°C and the extracts obtained were stored at +4°C until the study. L929 cells were treated at concentrations of 200, 100, 50, 25, 10, 5 µg/ml.

## Cell Culture

### Thawing and Culturing L929 Cells

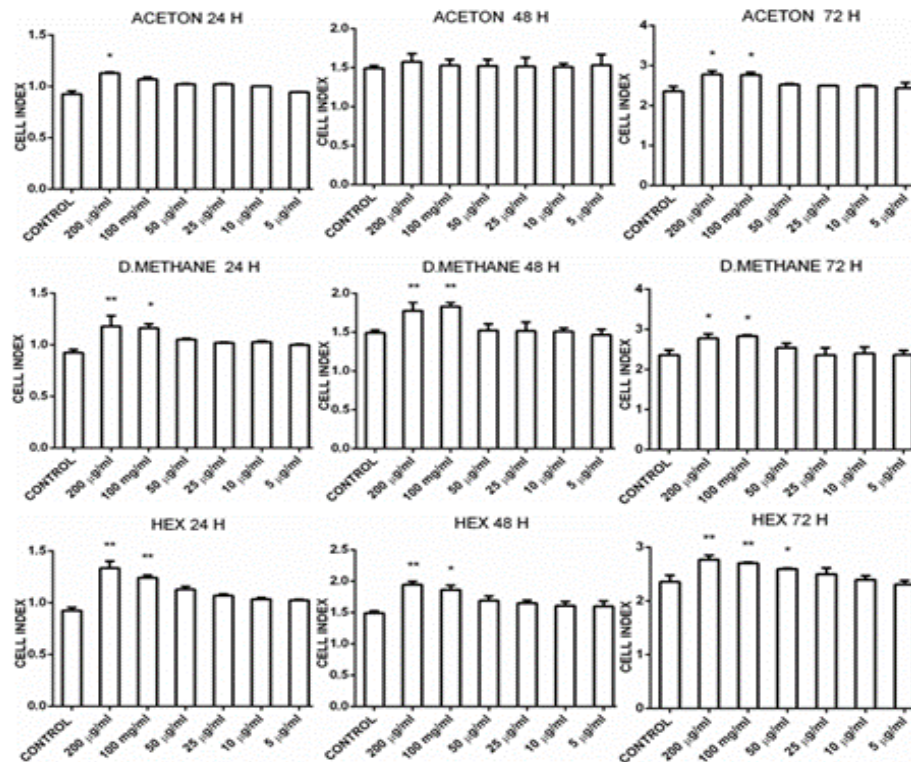
L929 cell line was used in our study. The L929 cell line was removed from the cryotube in a liquid nitrogen tank and kept in a water bath at 37°C for a short time to thaw. The thawed cells were transferred to a T75 cm<sup>2</sup> flask. The L929 cell line was cultured in an incubator at 95% humidity, 5% CO<sub>2</sub> and 37°C using standard RPMI 1640 (20% FBS, 1% PSA, 2mmol Glutamine) medium. After 24 hours, xCELLigence system plates were seeded with 5000 cells in each well and extracts were applied 24 hours later. Up to 72 hours, the effects of bee pollen on cell proliferation were examined with xCELLigence system. At the end of 72 hours, the results were taken and the effects at 24, 48 and 72 hours were analyzed.

## Proliferation studies

### MTT (Cell Viability Test)

MTT assay method is a method in which the amount of cell proliferation is determined based on colorimetric measurement of enzymatic activity due to the reduction of formazone dyes or MTT. Thus, the cytotoxic or proliferative effects of any therapeutic agent on the cell can be determined. It is based on the colorimetric determination of the color change that occurs in cells incubated with MTT agent. The color change occurs due to the reduction of tetrazolium salt in the mitochondria of active cells by formazone salts colored with yellow. The absorbance value of these compounds is proportional to their metabolic activity. 10 µl of the prepared thiazolyl blue tetrazolium bromide solution was added to 100 µl of medium and cell mixture in 96 well plate wells and left to incubate in the incubator for 4 hours. After 4 hours of incubation, the medium on the surface of the cells in 96-well plate wells was removed with a pipette. 100 µl of MTT solvent solution was added and kept in the incubator overnight (18 hours). The incubated cells were measured with a microplate reader spectrophotometer (Epoch Microplate





**Figure 1:** Effects of pollen extracts in Acetone, D. Methane and Hexane solutions; 200, 100, 50, 25, 10 and 5 µg/ml doses on cell proliferation in L929 cell line at 24, 48 and 72 hours.

Spectrophotometer, BioTek, USA) at 620 nm absorbance value in 3 replicates.

### Real Time PCR analyzes

#### Determination of Gene Expression in cell lines

Cells were seeded at 200000/well in 6-well plates and incubated at 37° C in a humidified environment containing 5% CO<sub>2</sub>. Cells were removed from 6-well plates by trypsinization method, homogenized in Tissue Lyser II (Qiagen) (350 µl RLT buffer per 1\*10<sup>5</sup> cells) and RNA extraction was performed in QIAcube RNA isolation device as recommended by the manufacturer.

#### Reverse Transcriptase Reaction and cDNA Synthesis

cDNA synthesis was performed from total RNA using the High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzyme. Each reaction was performed with 10µl RNA and cDNA synthesis was performed with Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) according to the following temperature values and cDNA amount was measured by nano drop spectrophotometry (EPOCH Take3 Plate, Biotek) and stored at -20°C until the day of analysis.

#### Real-time quantitative PCR

TGF-β1 (Rn00572010\_m1) gene was quantified using Taq Man Gene Expression Master Mix kit. Amplification and

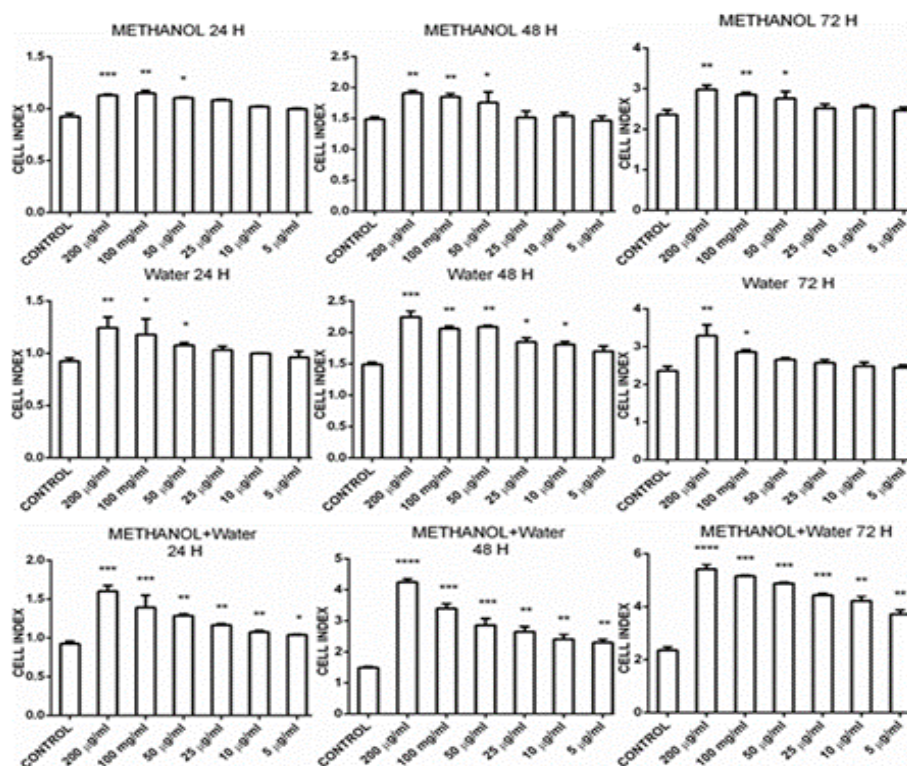
quantification were performed on a StepOne Plus Real Time PCR System (Applied Biosystems). For 100 ng cDNA, TGF-β1 gene and ACTB (Rn00667869\_m1) as housekeeping gene (Applied Biosystems) were pipetted and run for 40 cycles. Ct values were automatically converted to delta delta Ct in the device and the findings obtained as a result of our studies.

#### Statistical Analysis

For statistical analysis, all data were calculated using Microsoft Excel program and the results obtained were shown as mean±standard deviation. Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's test. P<0.05 was considered significant.

### Results

Pollen extracts dissolved in acetone, dichloromethane and hexane solvents were applied to L929 cell line at 200, 100, 50, 25, 10, 5 µg/ml doses and cell viability was evaluated at 24, 48 and 72 hours. It was observed that cell viability increased at 24 and 72 hours at 200 µg/ml dose of pollen extract applied in acetone solvent (p<0.05). In addition to this increase, a significant increase was also found in the 100 µg/ml dose group at 72 hours (p<0.05). It was observed that 200 and 100 µg/ml dose groups of pollen extract applied in dichloromethane solvent significantly increased



**Figure 2:** Effects of methanol, water and methanol+water solutions of pollen extracts on cell proliferation in L929 cell line at 24, 48 and 72 hours at doses of 200, 100, 50, 25, 10 and 5 µg/ml.

cell proliferation at 24, 48 and 72 hours. When these increases are analyzed, the significance levels of 200 µg/ml and 100 µg/ml dose groups at 24 hours are  $p < 0.005$  and  $p < 0.05$ , respectively, compared to the control.

At 48 hour, the significance level of both dose groups was  $p < 0.005$  compared to the control, while it was  $p < 0.05$  at 72 hour. It was observed that 200 and 100 µg/ml dose groups of pollen extract applied in hexane solvent significantly increased cell proliferation at 24, 48 and 72 hours. When these increases are analyzed, the significance levels of 200 µg/ml and 100 µg/ml dose groups are  $p < 0.005$  and  $p < 0.05$ , respectively, at 48th hour compared to the control.

At 24 and 72 hours, the significance level of both dose groups is  $p < 0.05$  compared to the control. In addition to these dose groups, it was observed that cell proliferation was significantly increased in the 50 µg/ml dose group at 72 hours compared to the control ( $p < 0.05$ ) (Figure 1).

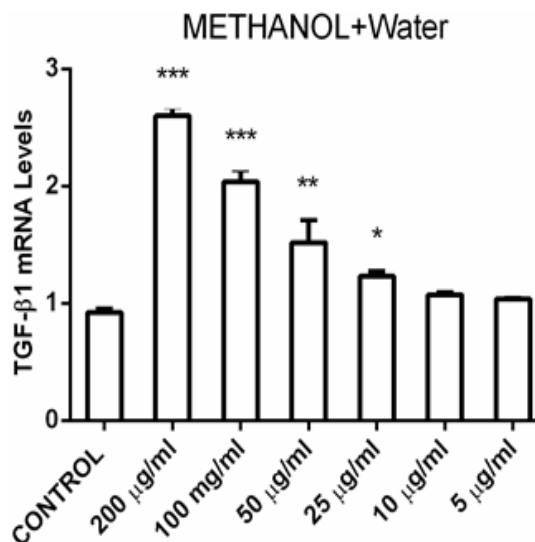
Pollen extracts dissolved in methanol, water and methanol+water solutions were applied to L929 cell line at 200, 100, 50, 25, 10, 5 µg/ml doses and cell viability was evaluated at 24, 48 and 72 hours. It was observed that pollen extract applied in methanol solvent increased cell proliferation in 200, 100, 50 µg/ml dose groups. At 24, 48 and 72 hours, it was found that 200

µg/ml dose group increased cell proliferation at  $p < 0.001$ , 100 µg/ml dose group increased cell proliferation at  $p < 0.005$ , 50 µg/ml dose group increased cell proliferation at  $p < 0.05$  level of significance. It was observed that 200, 100 and 50 µg/ml dose groups of pollen extract applied in water solvent significantly increased cell proliferation at 24 hours ( $p < 0.005$  and  $p < 0.05$ ). At 48 hour, 200, 100, 50, 25 and 10 µg/ml dose groups significantly increased cell proliferation ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.005$  and  $p < 0.05$ ). At 72 hours, 200 and 100 µg/ml dose groups significantly increased cell proliferation ( $p < 0.005$  and  $p < 0.05$ ). When methanol+water combination was performed, it was found that cell proliferation increased in all dose groups at all 3 time points ( $p = 0.00$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.005$  and  $p < 0.05$ ) (Figure 2).

When pollen extracts were dissolved in methanol + water combination and applied to L929 cell line, it was analyzed that TGF-β1 mRNA level increased significantly in 200, 100, 50 and 25 µg/ml dose groups compared to the control group. While the 200 and 100 µg/ml dose groups were found to be statistically significant at  $p < 0.001$ , the 50 µg/ml group was found to be  $p < 0.005$  and the 25 µg/ml group was found to be  $p < 0.05$  (Figure 3).

## Discussion

Solvents are required to dissolve both drugs and extracts used for experiments. Almost all solvents have the potential to be toxic to cells *in vitro*, the difference between them being their concentration (Stammati, Zampaglioni et al. 1997, Forman, Kás et al. 1999). Although it is quite easy to investigate the toxicity or therapeutic effects of water-soluble substances, it is sometimes necessary to use toxic solvents to dissolve substances that do not dissolve in water well enough or do not dissolve in water at all (Forman, Kás et al. 1999). Under these conditions, the efficacy of the test compound may be misinterpreted. For this reason, the effect of the solvent should be evaluated in the studies and possible risks should be evaluated at this point and it is important not to cover the effect of the material to be tested. In a study with HeLa S3 cell line, cells were exposed to DMSO, methanol, ethanol, acetone, isooctane and hexane in the concentration range of 0.1-7.5% and their changes were examined. It was found that 1% (v/v) concentration of DMSO suppresses cell proliferation and 2% (v/v) concentration has a toxic effect on cells (Shier 1988, Forman, Kás et al. 1999). In another study with PC12 cell line, cells were treated with different concentrations of methanol, ethanol, acetone, and glycerol and their toxicity was investigated. It was found that 20ml/L ethanol treatment decreased cell viability by 60% at 24 hours, acetone by 20% and ethanol by 15% (Fengyan 2014). In our study, when methanol+water combination was used as solvent, it was found to increase cell proliferation in all dose groups (200, 100, 50, 25 and 10  $\mu\text{g/ml}$ ) at all 3 time points ( $p=0.00$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.005$  and  $p<0.05$ ). The other solvents we used, acetone, dichloromethane, hexane and water, increased cell proliferation at different time periods in 200 and 100  $\mu\text{g/ml}$



**Figure 3:** TGF- $\beta$ 1 mRNA level in L929 cell line at 200, 100, 50, 25, 10 and 5  $\mu\text{g/ml}$  doses from methanol+water solutions of pollen extracts.

dose groups. It was determined that the most effective group among all solvents was the methanol+water combination.

Pollen is a highly diverse plant product rich in biologically active substances. Pollen grains of different plant species contain 200 substances. The basic chemical substances include proteins, amino acids, carbohydrates, lipids and fatty acids, phenolic compounds, enzymes and coenzymes as well as vitamins and bioelements (Komosinska-Vassev, Olczyk et al. 2015). Pollen is a substance with a high anti-inflammatory effect and its efficacy can be compared with drugs such as naproxen, phenylbutazone or indomethacin (Pascoal, Rodrigues et al. 2014). Bee pollen shows bioactivity with its phenolic acids and polyphenols in the form of flavonoids (Nguyen, Nguyen et al. 2020). Analysis of bee pollen using LC-MS/MS showed that it contains 23 phenolic compounds (such as 2,5-dihydroxybenzoic acid, protocatechuic acid and kaempferol) and 42 free amino acids (Bayram, Gercek et al. 2021). Thermal skin damages are treated by applying therapeutic preparations as well as surgical methods. Recently, the therapeutic effect of standardized, pharmacologically active fractions obtained from bee products has started to be used. These agents are called apitherapeutic agents. They help to re-establish the balance of the skin barrier (Campos, Bogdanov et al. 2008, Rzepecka-Stojko, Pilawa et al. 2012). Whether various bee products are effective in wound healing and their interactions with each other have been investigated. Propolis and honey have been shown to be very effective in wound healing in rats (Peršurić and Pavelić 2021). In an *in vitro* study, it was found that this duo increased the migration, proliferation and viability of dermal fibroblasts in a dose-dependent manner (Ebadi and Fazeli 2021).

Transforming growth factor (TGF)- $\beta$  belongs to a family of multifunctional peptides known to have five isoforms. In addition to its effects on cell proliferation, differentiation, adhesion, migration, ECM production, TGF- $\beta$  is also a potent inducer of many components of the ECM, including collagen, fibronectin and cell surface integrins. TGF- $\beta$  increases the levels of protease inhibitors while decreasing the synthesis of collagenase from matrix components. In studies, it has been found to accelerate wound healing as a result of local injection (Sankar, Mahooti-Brooks et al. 1996). In the period of 6-24 months after the first injury, the final stage of the wound is passed by remodeling the tissue. During this remodeling period, newly synthesized type I collagen begins to replace type III collagen. The production of most of the collagen and fibronectins, which are the basic components of the extracellular matrix, is also stimulated by PDGF and TGF- $\beta$ 1. In our study, it was found that 200, 100, 50, and 25  $\mu\text{g/ml}$  dose groups increased TGF- $\beta$ 1 expression. This

suggests that bee pollen may be effective in increasing collagen production in L929 cells, especially in the 200 and 100 µg/ml dose groups during the proliferation phase of wound healing. The study provides a basis for expanding the study by performing it on animals and supporting it with different pathway analyses, as well as providing support for the use of bee pollen.

### Conclusion and Recommendations

As a result, in this study, it was shown that bee pollen extracts obtained at various concentrations and by various extraction methods did not cause any toxic effect on fibroblast cells, on the contrary, they had significant dose-dependent effects on their proliferation. Although the effect occurred in all solvents, the most effective proliferation was observed in methanol + water solution. Based on these results, it can be said that bee pollen may be a new target in both wound healing and drug development in this field by contributing to fibroblast proliferation. In addition to all these effects, it can be suggested that bee pollen can be used as new therapeutic agents for wound healing because of its easy accessibility, low risk of side effects and low cost.

**Etik Komite Onayı:** Hücre Kültürü çalışması olduğundan etik komite onamına ihtiyaç yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir – İÇ.; Tasarım – İÇ.; Denetleme – İÇ.; Kaynaklar – İÇ.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi – İÇ.; Analiz ve/veya Yorum- ÇS.; Literatür Taraması - ÇS.; Yazıyı Yazan- ÇS.; Eleştirel İnceleme – İÇ.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Since it is a cell culture study, ethics committee approval is not required.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept - İÇ.; Design- İÇ.; Supervision- İÇ.; Resources- İÇ.; Data Collection and/or Processing- İÇ.; Analysis and/or Interpretation- ÇS.; Literature Search- ÇS.; Writing Manuscript- ÇS.; Critical Review- İÇ.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

### References

Almaraz-Abarca, N., M. D. Campos, J. A. Avila-Reyes, N. Naranjo-Jimenez, J. Herrera-Corral and L. S. Gonzalez-Valdez (2004). "Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin." *Interciencia* 29(10): 574-578.

Bayram, N. E., Y. C. Gercek, S. Çelik, N. Mayda, A. Ž. Kostić, A. M. Dramićanin and A. Özkök (2021). "Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin—similarities and differences." *Arabian Journal of Chemistry* 14(3): 103004.

Campos, M. G., S. Bogdanov, L. B. de Almeida-Muradian, T. Szczesna, Y. Mancebo, C. Frigerio and F. Ferreira (2008). "Pollen composition and standardisation of analytical methods." *Journal of Apicultural Research* 47(2): 154-161.

Ebadi, P. and M. Fazeli (2021). "Evaluation of the potential in vitro effects of propolis and honey on wound healing in human dermal fibroblast cells." *South African Journal of Botany* 137: 414-422.

Fengyan, S. (2014). "Dose Analysis of Methanol, Ethanol, Acetone and Glycerol to PC-12 Tumor Cells' Morphology and Growth." *Agricultural Science & Technology* 15(8).

Forman, S., J. Kás, F. Fini, M. Steinberg and T. Ruml (1999). "The effect of different solvents on the ATP/ADP content and growth properties of HeLa cells." *J Biochem Mol Toxicol* 13(1): 11-15.

Gethin, G. (2012). "Understanding the inflammatory process in wound healing." *Br J Community Nurs Suppl*: S17-18, S20, S22.

Komosinska-Vassev, K., P. Olczyk, J. Kaźmierczak, L. Mencner and K. Olczyk (2015). "Bee pollen: chemical composition and therapeutic application." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015.

Nguyen, S. T., H. T.-L. Nguyen and K. D. Truong (2020). "Comparative cytotoxic effects of methanol, ethanol and DMSO on human cancer cell lines." *Biomedical Research and Therapy* 7(7): 3855-3859.

Pascoal, A., S. Rodrigues, A. Teixeira, X. Feás and L. M. Estevinho (2014). "Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory." *Food and Chemical Toxicology* 63: 233-239.

Pereira, D. D. T., M. H. M. Lima-Ribeiro, N. T. de Pontes, A. M. D. Carneiro-Leao and M. T. D. Correia (2012). "Development of Animal Model for Studying Deep Second-Degree Thermal Burns." *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.

Peršurić, Ž. and S. K. Pavelić (2021). "Bioactives from bee products and accompanying extracellular vesicles as novel bioactive components for wound healing." *Molecules* 26(12): 3770.

Reinke, J. M. and H. Sorg (2012). "Wound repair and regeneration." *Eur Surg Res* 49(1): 35-43.

Rzepecka-Stojko, A., B. Pilawa, P. Ramos and J. Stojko (2012). "Antioxidative properties of bee pollen extracts examined by EPR spectroscopy." *Journal of Apicultural Science* 56(1): 23.

Sankar, S., N. Mahooti-Brooks, L. Bensen, T. L. McCarthy, M. Centrella and J. A. Madri (1996). "Modulation of transforming growth factor beta receptor levels on microvascular endothelial cells during in vitro angiogenesis." *The Journal of clinical investigation* 97(6): 1436-1446.

Shier, W. T. (1988). "Studies on the mechanisms of mammalian cell killing by a freeze-thaw cycle: conditions that prevent cell killing using nucleated freezing." *Cryobiology* 25(2): 110-120.

Sinno, H. and S. Prakash (2013). "Complements and the wound healing cascade: an updated review." *Plast Surg Int* 2013: 146764.

Stammati, A., F. Zampaglioni and F. Zucco (1997). "Furaltadone cytotoxicity on three cell lines in the presence or absence of DMSO: comparison with furazolidone." *Cell Biol Toxicol* 13(2): 125-130.

Velnar, T., T. Bailey and V. Smrkoli (2009). "The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms." *Journal of International Medical Research* 37(5): 1528-1542.

---

Zizic, J. B., N. L. Vukovic, M. B. Jadranin, B. D. Andelkovic, V. V. Tesevic, M. M. Kacaniova, S. B. Sukdolak and S. D. Markovic (2013). "Chemical composition, cytotoxic and antioxidative activities of ethanolic extracts of propolis on HCT-116 cell line." *J Sci Food Agric* 93(12): 3001-3009.

# Investigation of the Effects of Pregabalin On Wound Healing In L929 Fibroblast Cells

## Pregabalinin L929 Fibroblast Hücrelerinde Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Hüseyin BEKMEZ<sup>1</sup> 

Department of Pharmacology; Atatürk University, Faculty of Medicine, Erzurum, Türkiye,

Hamza HALICI<sup>2</sup> 

Department of Hınıs Vocational Training School, Atatürk University, Erzurum, Türkiye



### ABSTRACT

**Objective:** Wound healing is a multifaceted, complex process consisting of sequential and interrelated phases including hemostasis/inflammation phase, proliferation phase and remodeling phase. Pregabalin (PGB), a gabapentin derivative, is an anticonvulsant agent with anti-inflammatory and antioxidant properties. Therefore, in this study, we aimed to show the effect of pregabalin on cell viability in L929 fibroblast cells and its effects on fibroblast migration and wound closure during the wound healing process.

**Methods:** In this study, the effect of different concentrations of pregabalin on cell viability and proliferation in L929 skin fibroblast cells was investigated using MTT assay. In addition, a scratch wound healing model was established in L929 skin fibroblast cells and the effects of pregabalin concentrations that increase cell proliferation on wound healing in MTT assay were shown. At the end of the experiment, TGF- $\beta$ 1 levels of all groups were measured by ELISA method.

**Results:** In our studies, it was observed that 100, 50, 25, 10  $\mu$ M concentrations of pregabalin increased cell proliferation. In the scratch wound healing model, pregabalin at concentrations of 100 and 50  $\mu$ M showed a significant closure compared to control and other groups. TGF- $\beta$ 1 levels were decreased in groups with good healing scores (50, 25  $\mu$ M).

**Conclusion:** Pregabalin has been shown to enhance wound healing in in vitro experiments. This effect needs to be evaluated holistically within the organ system in vivo. There is also a need for experimental and clinical studies to evaluate the wound healing effects and mechanism of pregabalin.

**Keywords:** Wound Healing, Pregabalin, Scratch wound assay, L929 cell line

### ÖZ

**Amaç:** Yara iyileşmesi, canlılarda hemostaz/iltihaplanma fazı, proliferasyon fazı ve yeniden şekillenme fazı olmak üzere sıralı ve birbirleriyle ilişkili aşamalardan oluşan çok yönlü, karmaşık bir süreçtir. Çok sayıda endojen ve eksojen olumsuz faktör, fizyolojik iyileşme süreçlerini bozabilir. Son zamanlarda yara iyileşmesi üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında, kullanılan tedavilerin yetersiz kaldığı görülmektedir. Bu durum yara iyileşmesinde yeni farmakolojik ajanlara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Bir gabapentin türevi olan pregabalin (PGB), epilepsi tedavisinde kullanılan antikonvülzan bir ajandır. Ayrıca pregabalinin antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Pregabalin ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, yara iyileşmesi üzerine olan etkisini hücresel düzeyde gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada L929 fibroblast hücrelerinde pregabalinin, hücre canlılığına etkisi araştırılıp; yara iyileşmesi sürecinde, fibroblast göçü ve yara kapanmasına etkilerinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Bu çalışmada L929 deri fibroblast hücrelerinde farklı konsantrasyonlardaki pregabalinin hücre canlılığı ve proliferasyonuna olan etkisi MTT testi kullanılarak incelenmiştir. Ayrıca L929 deri fibroblast hücrelerinde çizik yara iyileşmesi modeli oluşturulup, MTT testinde hücre proliferasyonunu artıran pregabalin konsantrasyonlarının yara iyileşmesine olan etkileri gösterilmiştir. Deneyin sonunda tüm grupların TGF- $\beta$ 1 seviyeleri ELISA yöntemiyle ölçülmüştür.

**Bulgular:** Yaptığımız çalışmalarda pregabalinin 100, 50, 25, 10,  $\mu$ M konsantrasyonlarının hücre proliferasyonunu artırdığı gözlemlenmiştir. Çizik yara iyileşmesi modelinde ise 100 ve 50  $\mu$ M konsantrasyonlardaki pregabalin, kontrol ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı bir kapanma göstermiştir.

**Sonuç:** Pregabalinin yara iyileşmesini artırdığı in vitro deneylerle gösterilmiştir. Bu etkinin in vivo olarak organ sistemi içinde bütüncül olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca pregabalinin yara iyileştirici etkilerinin ve mekanizmasının değerlendirileceği deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Yara İyileşmesi, Pregabalin, Çizik Yara Testi, L929 Hücre Hattı

### Publication Date

Geliş Tarihi/Received 08.09.2023

Kabul Tarihi/Accepted 20.10.2023

Yayın Tarihi/Publication 28.02.2024

### Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Hamza Halıcı

E-mail: hamzahalici@atauni.edu.tr

Cite this article: Bekmez, H., & Halıcı, H.

(2024). Investigation of the Effects of

Pregabalin on Wound Healing In L929

Fibroblast Cells. *Current Research in*

*Health Sciences*, 1(1): 8-14.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

## Introduction

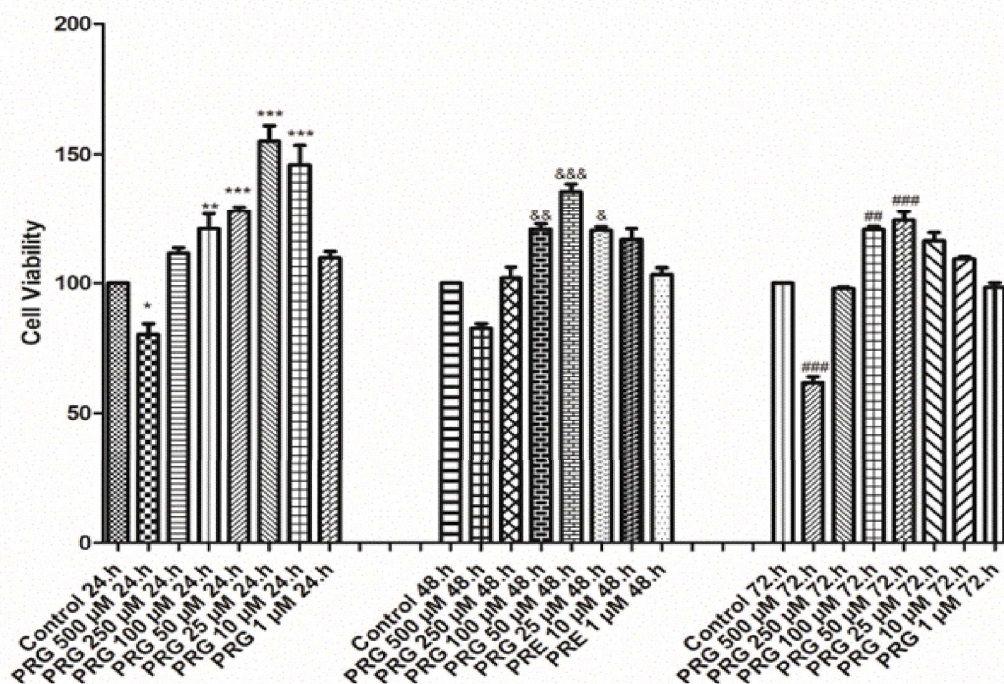
The skin is an organ consisting of layers of tissue that protect the muscles and organs underneath. As a protective shield of the body against the external environment, the skin is constantly exposed to injuries. Therefore, wound healing is of great importance for the survival of living organisms (Takeo et al., 2015). Wound healing is a multifaceted, complex process consisting of sequential and interrelated phases including hemostasis/inflammation phase, proliferation phase and remodeling phase. After a skin injury, exposed subendothelium, collagen and tissue factor activate platelet aggregation. Chemotactic factors and growth factors are released by degranulation (Gauglitz et al., 2011). Neutrophils traveling to the site of the injury remove debris and bacteria, providing a favorable environment for the wound to heal. Subsequently, macrophages accumulate and facilitate phagocytosis of bacteria (Berman et al., 2017). The proliferative phase is characterized by the accumulation of large numbers of cells and abundant connective tissue. The extracellular matrix (ECM), which includes proteoglycans, hyaluronic acid, collagen and elastin, forms a granulation tissue to replace the original clot formation. This step is mediated by the transforming growth factor- $\beta$  family (including TGF- $\beta$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 and TGF- $\beta$ 3), the interleukin (IL) family and angiogenesis factors (vascular epidermal growth factor) (Su et al., 2010). The final step of wound healing is the remodeling phase, which requires a delicate balance between apoptosis of existing cells and the production of new cells. Any deviation at this stage

can lead to excessive wound healing or chronic wounding (Plikus et al., 2017; Tsai et al., 2018).

Numerous endogenous and exogenous negative factors can disrupt physiological healing processes. Of the phases in the wound healing process, the inflammatory phase is the most sensitive to these negative factors (Kasuya & Tokura, 2014). Moderate inflammation facilitates the removal of necrotic tissue, kills local bacteria and promotes wound healing. However, excessive inflammatory infiltration inhibits normal healing events such as collagen deposition, angiogenesis and granulation tissue formation. It is therefore imperative that inflammation in the wound is sensitively modulated at a level appropriate to promote wound healing, but prevented from reaching a level that would inhibit it (Huang et al., 2022).

When we look at the recent studies on wound healing, it is seen that the treatments used to accelerate wound healing, prevent chronic wound formation, and treat stubborn wounds in an acute injury are inadequate. This shows that new pharmacological agents are needed in wound healing (El Ayadi et al., 2020).

Pregabalin (PGB), a gabapentin derivative, is an anticonvulsant agent used to treat epilepsy (Eutamene et al., 2000). PGB has a similar mechanism of action to gabapentin, acting through GABAergic neurotransmission, voltage-dependent potassium channels and calcium channels (Moore et al., 2009). It is also used in the treatment of central and peripheral neuropathic pain (Ceyhan M., 2008). PGB has been suggested to



**Figure 1:** Cell viability results obtained from MTT test. \*, #, & means  $p < 0.05$ , \*\*, ##, && means  $p < 0.01$  and \*\*\*, ###, &&& means  $p < 0.001$  according to Tukey's post-hoc test.

exert antinociceptive effects in inflammatory pain by inhibiting the release of neuropeptides on sensory neurons (Fehrenbacher et al., 2003). PGB is reported to have antinociceptive effect in neuropathic pain as well as inflammatory pain (Abou-Khalil, 2016). It was also reported that gabapentin, which is structurally and functionally similar to pregabalin, showed anti-inflammatory effects in rats (Sinha et al., 2013). In addition, anti-inflammatory and antioxidant properties of pregabalin have been demonstrated in various studies (Abu-Rish et al., 2020; Salat et al., 2016). Therefore, in this study, we aimed to investigate the effect of pregabalin on cell viability in L929 fibroblast cells and to show its effects on fibroblast migration and wound closure during the wound healing process.

## Methods

### Evaluation of Cell Viability by MTT Method

L929 cell line obtained from American Type Culture Collection (ATCC, USA) and stored in Cryotube, were removed from the liquid nitrogen tank, and seeded in a T75 cm<sup>2</sup> flask containing DMEM medium containing 10% FBS and incubated at 37°C, 90% humidity and 5% CO<sub>2</sub>. Cells were passaged successively and cell count was performed after the fourth passage and 5000 cells were seeded in each well of the 96-well plate. The cells were incubated for 24 hours to settle to the bottom of the well. At the end of this period, pregabalin was dissolved with PBS (phosphate buffered saline) and concentrations of pregabalin (500, 250, 100, 50, 25, 10, 1 µM) were prepared and the drugs added to wells. At 24, 48, 72 hours, the absorbance at 570 nm was measured with

a microplate reader spectrophotometer (Epoch Microplate Spectrophotometer, Bio Tek, USA) using the MTT method. Viability rates were analyzed in comparison with control wells.

### Scratch Wound Healing Experiment

L929 cells in DMEM medium containing 10% FBS were seeded in each well (2×10<sup>5</sup> cells/well) of a 6-well plate and incubated at 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. After L929 cells completely covered the well bottom, a scratch was made vertically in each well with a sterile 200 µL pipette tip. Images before the addition of pregabalin were acquired using a Leica Inverted Microscope (Leica, DMIL LED). The wells were then exposed to pregabalin at the concentrations (100, 50, 25, 10 µM) that gave the best results in the cell viability assay. Images of all wells were taken at 0, 12, 24 and 36 hours. Wound closure rates were calculated using the formula below.

$$\% \text{ wound closure} = [(At=0h - At=\Delta h) / At=0h] * 100$$

At=0h : Wound length measured at 0th hour (µm)

At=Δh : Wound length measured at Δth hour (µm)

### Quantification of TGF-β1 Production in vitro

Supernatants of all experimental groups were taken at the 36th hour of the experiment.

TGF-β1 levels were measured with eBioscience ELISA kit (Lot No: 95303007) on Epoch Spectrophotometer System and Take3 Plate. Absorbances were read at 450 nm. The equation was obtained by plotting a curve from the absorbance of TGF-β1 standards. The ELISA procedure was performed according to the steps described in the kit protocol.

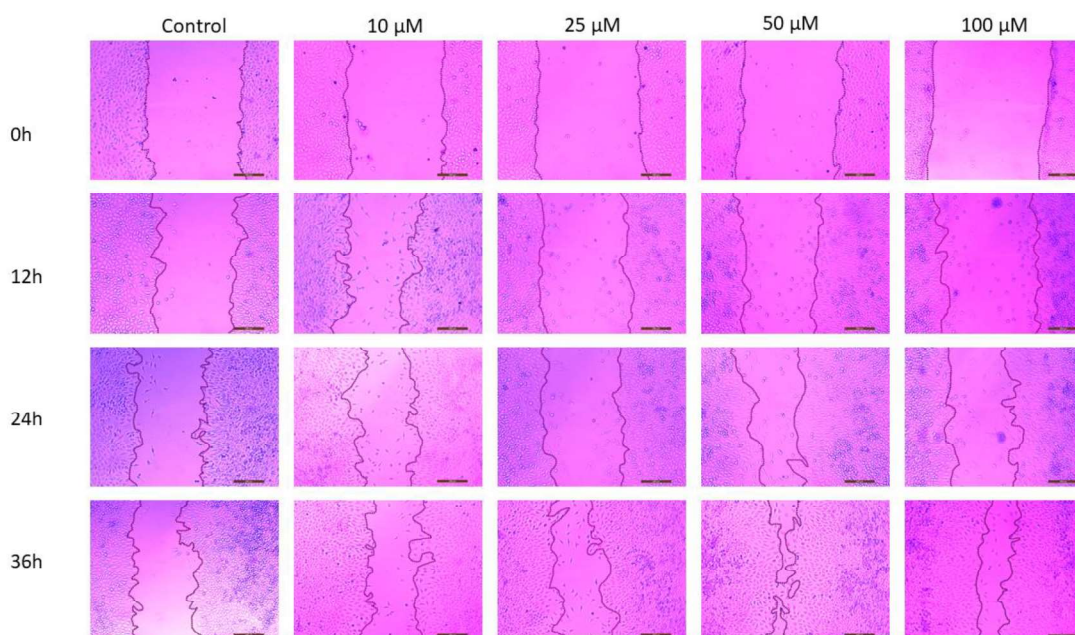


Figure 2: Photographs of scratch test after 0, 12, 24 and 36 hours.



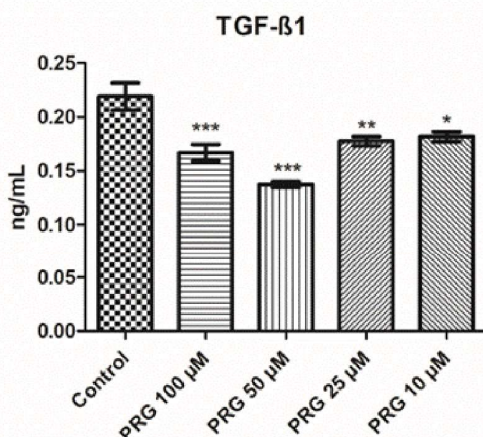
### Statistical Analysis

Statistical analysis of the data was performed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test as a post test. Windows SPSS-20 (IBM Corp., NY, Armonk, USA) was used for statistical analyses.  $p < 0.05$  was considered significant.

### Results

500, 250, 100, 50, 25, 10, 1  $\mu\text{M}$  concentrations of pregabalin were applied to L929 skin fibroblast cells and the effects on cell viability were measured by MTT assay at 24, 48, 72 hours and cell viability percentages were calculated. 24-hour MTT assay results showed that 500  $\mu\text{M}$  concentration of pregabalin significantly decreased cell proliferation compared to the control group ( $p < 0.05$ ) (Figure 1). It was observed that 100  $\mu\text{M}$  concentration of pregabalin significantly increased cell proliferation compared to the control group ( $p < 0.01$ ), and this increase was more significant at doses of 50, 25 and 10  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ). When the 48th hour MTT test results were analyzed, 100  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ), 50  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ) and 25  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.05$ ) concentrations of pregabalin significantly increased cell proliferation compared to the control group. In the 72nd hour MTT test results, 500  $\mu\text{M}$  concentrations of pregabalin significantly decreased cell proliferation compared to the control group ( $p < 0.001$ ). At 100  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.01$ ) and 50  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ) doses, a significant increase was observed compared to the control group.

According to the MTT test results, the doses (100, 50, 25, 10  $\mu\text{M}$ ) of pregabalin that increased the proliferation of L929 cells the most were selected and the scratch wound healing experiment was performed. Wound lengths in the images taken at 0, 12, 24, 36 hours were compared with the control group and



**Figure 4:** TGF- $\beta$ 1 ELISA results at 36th hour of scratch test. \* means  $p < 0.05$ , \*\* means  $p < 0.01$  and \*\*\* means  $p < 0.001$  according to Tukey's post-hoc test.

percent closure rates were calculated (Figure 2). At 12 hours, wound closure percentages were close in all control and drug groups. At 24 hours, the wound closure percentages of the drug groups increased compared to the control group. In particular, 100 and 50  $\mu\text{M}$  concentrations of pregabalin increased facial wound closure more than 25 and 10  $\mu\text{M}$  concentrations. At 36 hours, similarly, the wound closure percentages of the drug groups increased compared to the control group. Again, at 36 hours, the effect of 100 and 50  $\mu\text{M}$  concentrations of pregabalin on wound closure percentage showed a clearer increase compared to 25 and 10  $\mu\text{M}$  concentrations. In addition, 50  $\mu\text{M}$  concentration of pregabalin increased percent wound closure more than 100  $\mu\text{M}$  concentration at 24 and 36 hours (Figure 3).

At the 36th hour of the experiment, supernatants of all experimental groups were taken and TGF- $\beta$ 1 levels were measured. Compared to the control group, 100  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ), 50  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.001$ ), 25  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.01$ ) and 10  $\mu\text{M}$  ( $p < 0.05$ ) concentrations of pregabalin significantly decreased TGF- $\beta$ 1 levels (Figure 4).

### Discussion

In this study, the effect of pregabalin on cell viability in L929 skin fibroblast cells and cell migration in scratch wound healing assay was evaluated in vitro. TGF  $\beta$ 1 levels, a biomarker of wound healing, were also examined to evaluate the wound healing effect and mechanism of pregabalin.

Fibroblast cells are the most frequently investigated cells for wound healing (Borges et al., 2017; Teplicki et al., 2018). In these cells, viability assays with the MTT assay are often preferred for both cell proliferation and other cytotoxic assays (Cangul et al., 2020; Ozdemir et al., 2009). Wagener N. et al. showed that pregabalin increased both cell proliferation and cell viability in hOB, hMSC and MG63 cells (Wagener et al., 2022). Similarly, in a study by Şirin D.Y. and Karaarslan N., it was shown that pregabalin had no negative or toxic effect on cell viability and proliferation of chondrocytes in chondrocyte culture, and the number of viable cells was higher in the PGB-treated groups than in the control group (without PGB) (Sirin & Karaarslan, 2018). In our study, similar to the results in the existing studies, it was observed that pregabalin, especially at concentrations of 100, 50, 25, 10  $\mu\text{M}$ , significantly increased cell viability and proliferation in skin fibroblast cells.

The scratch wound assay is a simple, reproducible assay widely used to measure cell migration parameters such as velocity, persistence and polarity. Cells are replicated until

confluent to the plate bottom. When the cells are confluent on the plate bottom, a thin "wound" is made by scratching with a pipette tip (Cory, 2011). Using this method, many studies have been conducted on wound healing, which is an important health problem all over the world (Jagiello et al., 2023; Zhang et al., 2018). Some studies on wound healing have shown that some substances with known anti-inflammatory and antioxidant properties such as resveratrol, curcumin, baicalin have positive effects (Hecker et al., 2022; Huang et al., 2019; Kant et al., 2015; Zhang et al., 2011). Salat K. et al. showed that pregabalin has anti-inflammatory and antioxidant properties in streptozocin-induced diabetic mice (Salat et al., 2016). Abu-Rish E.Y. et al. investigated the effect of pregabalin on cytokine secretion in a model of splenic inflammation in vivo and in vitro. The results of the study showed that pregabalin decreased cytokine secretion and showed anti-inflammatory properties both in vivo and in vitro (Abu-Rish et al., 2020). In our study, 50 and 100  $\mu$ M concentrations of pregabalin significantly increased wound closure in the scratch wound healing test compared to the control group. We think that pregabalin at these doses prevents excessive or insufficient inflammation and increases the rate of wound closure by keeping inflammation in a certain balance during the inflammation phase of wound healing.

Cytokines and growth factors, especially TGF- $\beta$ , have important roles in all phases of wound healing (Everts et al., 2006). Proinflammatory molecules IL-1, IL-2, IL-6, IL-17 and TNF have important roles in the inflammatory phase of wound healing and are especially responsible for the stimulation of adhesion molecules (Arango Duque & Descoteaux, 2014). In the early phase of the treatment process, TGF- $\beta$ , PDGF and VEGF promote the division and differentiation of keratinocytes and fibroblasts and are the main responsible elements for collagen production (Barrientos et al., 2008; Seo et al., 2017). In the final phase of wound healing, the remodelling phase, collagen type 3 is converted to type 1 and TGF-  $\beta$  differentiates myofibroblasts and closes the wound (Desmouliere et al., 1993; Hosokawa et al., 2003; Ronnov-Jessen & Petersen, 1993). Of course, once these dynamic phases are over and the wound healing process is complete, these cytokines and growth factors decline. A decrease in these growth factors and cytokines indicates that the wound is healing (Nogueira et al., 2020). In our study, especially at doses of 50 and 100  $\mu$ M at 36 hours, TGF decreased and the wound closed almost completely compared to the control in parallel with the microscopic findings, indicating that healing was supported by pregabalin.

## Conclusion and Recommendations

In conclusion, pregabalin has been shown to increase wound healing. The fact that TGF- $\beta$  is lower in the treatment groups than in the control group indicates that the healing process is close end to the end, accordingly, cytokine release has decreased. However, this effect needs to be evaluated holistically within the organ system in vivo. Additionally, experimental and clinical studies are needed to evaluate the wound healing effects and mechanism of pregabalin.

**Etik Komite Onayı:** Hücre kültürü çalışması olduğundan etik onaya ihtiyaç yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- HH., HB.; Tasarım- HH.; Denetleme-HB.; Kaynaklar- HB; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi – HH.; Analiz ve/veya Yorum- HH.; Literatür Taraması- HB.; Yazıyı Yazan- HB; Eleştirel İnceleme- HH.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Since it is a cell culture study, ethics committee approval is not required.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept- HH., HB.; Design- HH.; Supervision- HB.; Resources- HB.; Data Collection and/or Processing- HH.; Analysis and/or Interpretation- HH.; Literature Search- HB.; Writing Manuscript- HB.; Critical Review- HH.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

## References

- Abou-Khalil, B. W. (2016). Antiepileptic Drugs. *Continuum (Minneapolis)*, 22(1 Epilepsy), 132-156.  
<https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000289>
- Abu-Rish, E. Y., Mansour, A. T., Mansour, H. T., Dahabiyeh, L. A., Aleidi, S. M., & Bustanji, Y. (2020). Pregabalin inhibits in vivo and in vitro cytokine secretion and attenuates spleen inflammation in Lipopolysaccharide/Concanavalin A -induced murine models of inflammation. *Sci Rep*, 10(1), 4007.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-61006-1>
- Arango Duque, G., & Descoteaux, A. (2014). Macrophage cytokines: involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol*, 5, 491. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00491>
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*, 16(5), 585-601.  
<https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x>
- Berman, B., Maderal, A., & Raphael, B. (2017). Keloids and Hypertrophic Scars: Pathophysiology, Classification, and Treatment. *Dermatol Surg*, 43 Suppl 1, S3-S18.  
<https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000000819>
- Borges, G. A., Elias, S. T., da Silva, S. M., Magalhaes, P. O., Macedo, S. B., Ribeiro, A. P., & Guerra, E. N. (2017). In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. *J*

- Craniomaxillofac Surg, 45(3), 364-370.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.01.005>
- Cangul, S., Adiguzel, O., & Tekin, S. (2020). Comparison of Cytotoxicity of Four Different Adhesive Materials Before and After Polymerisation. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 18(1), 43-51.  
<https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a43940>
- Ceyhan M. , T. E. (2008). Yeni Bir Antikonvulsan Pregabalin. *Turkish Journal of Neurology*, 14(3), 161-171.
- Cory, G. (2011). Scratch-Wound Assay. *Cell Migration: Developmental Methods and Protocols*, Second Edition, 769, 25-30.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-61779-207-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-207-6_2)
- Desmouliere, A., Geinoz, A., Gabbiani, F., & Gabbiani, G. (1993). Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol*, 122(1), 103-111. <https://doi.org/10.1083/jcb.122.1.103>
- El Ayadi, A., Jay, J. W., & Prasai, A. (2020). Current Approaches Targeting the Wound Healing Phases to Attenuate Fibrosis and Scarring. *Int J Mol Sci*, 21(3). <https://doi.org/10.3390/ijms21031105>
- Eutamene, H., Coelho, A. M., Theodorou, V., Toulouse, M., Chovet, M., Doherty, A., Fioramonti, J., & Bueno, L. (2000). Antinociceptive effect of pregabalin in septic shock-induced rectal hypersensitivity in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 295(1), 162-167.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10991974>
- Everts, P. A., Knape, J. T., Weibrich, G., Schonberger, J. P., Hoffmann, J., Overvest, E. P., Box, H. A., & van Zundert, A. (2006). Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *J Extra Corpor Technol*, 38(2), 174-187.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16921694>
- Fehrenbacher, J. C., Taylor, C. P., & Vasko, M. R. (2003). Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. *Pain*, 105(1-2), 133-141.  
[https://doi.org/10.1016/s0304-3959\(03\)00173-8](https://doi.org/10.1016/s0304-3959(03)00173-8)
- Gauglitz, G. G., Korting, H. C., Pavicic, T., Ruzicka, T., & Jeschke, M. G. (2011). Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. *Mol Med*, 17(1-2), 113-125. <https://doi.org/10.2119/molmed.2009.00153>
- Hecker, A., Schellnegger, M., Hofmann, E., Luze, H., Nischwitz, S. P., Kamolz, L. P., & Kotzbeck, P. (2022). The impact of resveratrol on skin wound healing, scarring, and aging. *Int Wound J*, 19(1), 9-28. <https://doi.org/10.1111/iwj.13601>
- Hosokawa, R., Nonaka, K., Morifuji, M., Shum, L., & Ohishi, M. (2003). TGF-beta 3 decreases type I collagen and scarring after labioplasty. *J Dent Res*, 82(7), 558-564.  
<https://doi.org/10.1177/154405910308200714>
- Huang, C., Dong, L., Zhao, B., Lu, Y., Huang, S., Yuan, Z., Luo, G., Xu, Y., & Qian, W. (2022). Anti-inflammatory hydrogel dressings and skin wound healing. *Clin Transl Med*, 12(11), e1094.  
<https://doi.org/10.1002/ctm2.1094>
- Huang, X., Sun, J., Chen, G., Niu, C., Wang, Y., Zhao, C., Sun, J., Huang, H., Huang, S., Liang, Y., Shen, Y., Cong, W., Jin, L., & Zhu, Z. (2019). Resveratrol Promotes Diabetic Wound Healing via SIRT1-FOXO1-c-Myc Signaling Pathway-Mediated Angiogenesis. *Front Pharmacol*, 10, 421. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00421>
- Jagiello, K., Uchanska, O., Matyja, K., Jackowski, M., Wiatrak, B., Kubasiewicz-Ross, P., & Karuga-Kuzniewska, E. (2023). Supporting the Wound Healing Process-Curcumin, Resveratrol and Baicalin in In Vitro Wound Healing Studies. *Pharmaceuticals (Basel)*, 16(1). <https://doi.org/10.3390/ph16010082>
- Kant, V., Gopal, A., Kumar, D., Pathak, N. N., Ram, M., Jangir, B. L., Tandan, S. K., & Kumar, D. (2015). Curcumin-induced angiogenesis hastens wound healing in diabetic rats. *J Surg Res*, 193(2), 978-988. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.10.019>
- Kasuya, A., & Tokura, Y. (2014). Attempts to accelerate wound healing. *J Dermatol Sci*, 76(3), 169-172.  
<https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2014.11.001>
- Moore, R. A., Straube, S., Wiffen, P. J., Derry, S., & McQuay, H. J. (2009). Pregabalin for acute and chronic pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev*(3), CD007076.  
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD007076.pub2>
- Nogueira, B. C. F., Campos, A. K., Alves, R. S., Sarandy, M. M., Novaes, R. M. D., Esposito, D., & Goncalves, R. V. (2020). What Is the Impact of Depletion of Immunoregulatory Genes on Wound Healing? A Systematic Review of Preclinical Evidence. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020.  
<https://doi.org/Art886295310.1155/2020/8862953>
- Ozdemir, K. G., Yilmaz, H., & Yilmaz, S. (2009). In vitro evaluation of cytotoxicity of soft lining materials on L929 cells by MTT assay. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 90(1), 82-86.  
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.31256>
- Plikus, M. V., Guerrero-Juarez, C. F., Ito, M., Li, Y. R., Dedhia, P. H., Zheng, Y., Shao, M., Gay, D. L., Ramos, R., Hsi, T. C., Oh, J. W., Wang, X., Ramirez, A., Konopelski, S. E., Elzein, A., Wang, A., Supapannachart, R. J., Lee, H. L., Lim, C. H., . . . Cotsarelis, G. (2017). Regeneration of fat cells from myofibroblasts during wound healing. *Science*, 355(6326), 748-752.  
<https://doi.org/10.1126/science.aai8792>
- Ronnov-Jessen, L., & Petersen, O. W. (1993). Induction of alpha-smooth muscle actin by transforming growth factor-beta 1 in quiescent human breast gland fibroblasts. Implications for myofibroblast generation in breast neoplasia. *Lab Invest*, 68(6), 696-707.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8515656>
- Salat, K., Gdula-Argasinska, J., Malikowska, N., Podkowa, A., Lipkowska, A., & Librowski, T. (2016). Effect of pregabalin on contextual memory deficits and inflammatory state-related protein expression in streptozotocin-induced diabetic mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 389(6), 613-623.  
<https://doi.org/10.1007/s00210-016-1230-x>
- Seo, G. Y., Lim, Y., Koh, D., Huh, J. S., Hyun, C., Kim, Y. M., & Cho, M. (2017). TMF and glycerin act synergistically on keratinocytes and fibroblasts to promote wound healing and anti-scarring activity. *Exp Mol Med*, 49(3), e302.  
<https://doi.org/10.1038/emm.2016.167>
- Sinha, M., Gautam, L., Shukla, P. K., Kaur, P., Sharma, S., & Singh, T. P. (2013). Current perspectives in NSAID-induced gastropathy. *Mediators Inflamm*, 2013, 258209.  
<https://doi.org/10.1155/2013/258209>
- Sirin, D. Y., & Karaarslan, N. (2018). Evaluation of the effects of pregabalin on chondrocyte proliferation and CHAD, HIF-1alpha, and COL2A1 gene expression. *Arch Med Sci*, 14(6), 1340-1347.  
<https://doi.org/10.5114/aoms.2018.73134>
- Su, W. H., Cheng, M. H., Lee, W. L., Tsou, T. S., Chang, W. H., Chen, C. S., & Wang, P. H. (2010). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for wounds: pain relief or excessive scar formation? *Mediators Inflamm*, 2010, 413238. <https://doi.org/10.1155/2010/413238>
- Takeo, M., Lee, W., & Ito, M. (2015). Wound Healing and Skin Regeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(1).  
<https://doi.org/ARTN.a02326710.1101/cshperspect.a023267>
- Teplicki, E., Ma, Q., Castillo, D. E., Zarei, M., Hustad, A. P., Chen, J., & Li, J. (2018). The Effects of Aloe vera on Wound Healing in Cell Proliferation, Migration, and Viability. *Wounds*, 30(9), 263-268.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30256753>

- Tsai, H. W., Wang, P. H., & Tsui, K. H. (2018). Mesenchymal stem cell in wound healing and regeneration. *J Chin Med Assoc*, 81(3), 223-224. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.06.011>
- Wagener, N., Di Fazio, P., Boker, K. O., & Matziolis, G. (2022). Osteogenic Effect of Pregabalin in Human Primary Mesenchymal Stem Cells, Osteoblasts, and Osteosarcoma Cells. *Life-Basel*, 12(4). <https://doi.org/ARTN 496 10.3390/life12040496>
- Zhang, K., Lu, J., Mori, T., Smith-Powell, L., Synold, T. W., Chen, S., & Wen, W. (2011). Baicalin increases VEGF expression and angiogenesis by activating the ERRalpha/PGC-1alpha pathway. *Cardiovasc Res*, 89(2), 426-435. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq296>
- Zhang, X., Kang, X., Jin, L., Bai, J., Liu, W., & Wang, Z. (2018). Stimulation of wound healing using bioinspired hydrogels with basic fibroblast growth factor (bFGF). *Int J Nanomedicine*, 13, 3897-3906. <https://doi.org/10.2147/IJN.S168998>

# Investigation of the Relationship Between COVID-19 Severity and Serum Adropin Levels

## COVID-19 Şiddeti ile Serum Adropin Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Cihad ÖZÇELİK<sup>1</sup>   
Hamza HALICI<sup>1</sup>   
İbrahim Hakkı TOR<sup>2</sup>   
Sevgi KARABULUT UZUNÇAKMAK<sup>3</sup>   
Pelin AYDIN<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup> Ataturk University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup> Erzurum Regional Training and Research Hospital, Department of Anesthesiology and Reanimation, Erzurum, Türkiye,

<sup>3</sup> Bayburt University, Health Sciences Vocational School, Bayburt, Türkiye



### ABSTRACT

**Objective:** COVID-19 is a multisystemic disease with high mortality and morbidity. It is very important to understand the pathogenesis of the disease and to develop pharmacological treatment methods. The aim of this study was to measure serum adropin levels in COVID-19 patients in the ward and intensive care unit and to investigate whether this value can be a prognostic factor or a pharmacological treatment target.

**Methods:** 116 volunteer participants were included in the study. Participants were grouped as the control group consisting of patients without any disease, patients diagnosed with COVID-19 and hospitalised in the ward, patients diagnosed with COVID-19 and hospitalised in Level 2 intensive care and patients diagnosed with COVID-19 and hospitalised in Level 3 intensive care. Venous blood was taken from the patients. Serum adropin levels were measured according to the manufacturer's instructions. ROC analysis was also performed.

**Results:** According to serum adropin measurements, serum adropin levels of patients with COVID-19 who were hospitalised in the ward decreased compared to the control group. In Level 2 intensive care and Level 3 intensive care patients, serum adropin levels decreased compared to patients in the ward. According to Roc analysis, 333.1 ng/L adropin had a specificity of 0.8167 (95%, 0.6956-0.9048) and a sensitivity of 0.6522 (95%, 0.4273-0.8362).

**Conclusion:** COVID-19 is a disease with high mortality and morbidity affecting all systems. With this study, we think that serum adropin levels may be a prognostic factor or a new pharmacological treatment target and may shed light on new studies.

**Keywords:** COVID-19, SARS CoV-2, Endothel, Adropin

### ÖZ

**Amaç:** COVID-19 hastalığı mortalitesi ve morbiditesi oldukça yüksek olan multisistemik bir hastalıktır. Hastalığın patogenezi anlamak ve farmakolojik tedavi yöntemleri geliştirmek oldukça önemlidir. Bu çalışmanın amacı COVID-19 hastalarında serviste ve yoğun bakımda yatan hastaların serum adropin seviyelerini ölçmek ve bu değerlerin prognostik bir faktör ya da farmakolojik bir tedavi hedefi olup olamayacağını araştırmaktır.

**Yöntemler:** 116 gönüllü katılımcı araştırmaya dahil edilmiştir. Katılımcılar herhangi bir hastalığı olmayanlardan oluşan kontrol grubu, COVID-19 tanısı alıp serviste yatan hastalar, COVID-19 tanılı 2. Düzey yoğun bakımda yatan hastalar ve COVID-19 tanılı 3. Düzey yoğun bakımda yatan hastalar olmak üzere gruplandırılmışlardır. Hastalardan venöz kan alınmıştır. Serum adropin düzeyleri üretici firmanın direktifleri doğrultusunda ölçülmüştür. Ayrıca ROC analizi yapılmıştır.

**Bulgular:** Yapılan serum adropin ölçümlerine göre serviste yatan COVID-19 tanılı hastaların serum adropin düzeyleri kontrol grubuna kıyasla düşmüştür. 2. Düzey yoğun bakım ve 3. Düzey yoğun bakım hastalarında ise serviste yatan hastalara kıyasla serum adropin seviyeleri düşmüştür. Yapılan Roc analizine göre de 333.1 ng/L adropinin 0.8167(95%, 0.6956-0.9048) ve 0.6522(95%, 0.4273-0.8362) spesifitesi mevcuttur.

**Sonuç:** COVID-19 tüm sistemleri etkileyen mortalitesi ve morbiditesi yüksek olan bir hastalıktır. Bu çalışmamızla serum adropin düzeylerinin prognostik bir faktör ya da yeni bir farmakolojik tedavi hedefi olabileceğini ve yeni çalışmalara ışık tutabileceğini düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** COVID-19, SARS CoV-2, Adropin, Endotel

### Publication Date

Geliş Tarihi/Received 18.09.2023  
Kabul Tarihi/Accepted 23.10.2023  
Yayın Tarihi/Publication 28.02.2024

### Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Pelin Aydın

E-mail: dr.paydin@hotmail.com

Cite this article: Özçelik C, Halıcı H, Tor İH, Karabulut Uzunçakmak S, Aydın P. (2024). Investigation of the Relationship Between COVID-19 Severity and Serum Adropin Levels. *Current Research in Health Sciences*. 1(1): 15-20.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

### Introduction

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is a disease with multisystemic involvement caused by the highly contagious severe respiratory coronavirus syndrome coronavirus 2 (SARS CoV-2) (Hu et al., 2021). Most patients have a mild illness with symptoms such as sore throat, fever, mild cough and loss of taste and smell. In hospitalised patients, conditions with higher morbidity and mortality such as

COVID-19 pneumonia, acute respiratory distress syndrome (ARDS), multiorgan failure may develop (Elrobaa & New, 2021). The prognosis was worse in patients with advanced age (>75 years), arterial hypertension, diabetes mellitus (DM), pre-existing cardiac or respiratory disease and obesity. Other poor prognostic laboratory parameters are O<sub>2</sub> saturation below 88, lymphopenia, thrombocytopenia, increased LDH, CRP >200 mg/dl, D-Dimer >2500 ng/ml, increased troponin and ferritin >2500 ng/ml at the time of admission (Long et al., 2022). However, none of these are significant on their own and more specific parameters are needed.

Adropin is a peptide that regulates glycolipid metabolism, found mainly in the brain and liver, but also in the heart, gastrointestinal tract and circulatory system (Aydın et al., 2022). Encoded by the energy homeostasis associated gene (Enho) (Jasaszwili et al., 2020). Adropin levels have been studied in patients with DM, a pathology accompanied by endothelial dysfunction due to its effects regulating lipid and carbohydrate metabolism. Serum adropin levels were significantly lower in patients with DM (Ali et al., 2022). The relationship between adropin levels and diseases is not limited to these. Serum adropin levels were lower in patients with atrial fibrillation compared to healthy controls (Wang et al., 2019). In another study by Aydın et al. serum adropin levels were found to be significantly lower in COVID-19 disease (Aydın et al., 2022). In the evaluation of previous studies, it was thought that adropin is a parameter that can be used in differential diagnosis and shaping treatment protocols in diseases accompanied by endothelial dysfunction such as COVID-19.

In this study, we examined whether adropin, which was found to be lower in COVID-19 disease, could be a prognostic factor in COVID-19 disease. Thus, we also investigated the feasibility of adropin and related mechanisms as new therapeutic targets in conditions accompanied by viral and endothelial damage such as COVID-19.

## Methods

### Study Design

A total of 116 participants, including 89 patients diagnosed with COVID-19 and hospitalised in Erzurum Regional Training and Research Hospital and 27 healthy volunteers, were included in the study. Participants and/or 1st degree relatives of the participants were informed about the study. It was explained that blood samples would be taken. Voluntary consent forms were obtained. Participants were grouped as follows:

Control Group: 27

Inpatients in the ward: 29

Level 2 Intensive Care Unit Inpatients: 37

Level 3 Intensive Care Unit Inpatients: 23

COVID-19 RT PCR test was performed in all participants.

Patients with goitre, coronary artery disease, atrial fibrillation, congestive heart failure, hypertension, chronic renal failure and cancer were not included in the study.

### Sample Collection

Blood samples obtained from the volunteers participating in the study were collected in tubes containing non-ethylenediamine tetra acetic acid. The collected blood samples were centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes at +4 °C. Serum samples were separated from the tubes and stored at -80 °C until the time of use.

### Measurement of Serum Adropin Levels

Serum Adropin Levels were measured according to the manufacturer's instructions (Bioassay Technology Laboratory, Wuhan, China). The reference range is 5- 10 000 ng/L.

### Statistical Analysis

GraphPad Prism5 version was used to evaluate statistical differences among groups. One Way ANOVA followed by Tukey HSD was used to compare parametric values. ROC curve analysis was used to test whether adropin value is a significant marker in COVID infection.  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

### Characteristics of Hospitalized Patients

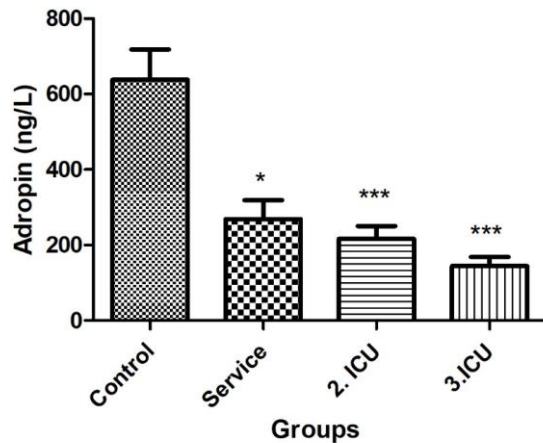
Of the patients included in the study, 29 were hospitalised in the ward, 27 in Level 2 intensive care unit and 23 in Level 3 intensive care unit. Of these patients, 64% were female and 36% were male. Tomography uptake compatible with severe COVID-19 was present in 44% and moderate in 56% of the patients. Other characteristics of the groups are summarised in Table 1.

### Adropin Levels in Patients and Healthy Individuals

We measured adropin levels in patients and healthy individuals as shown in Figure 1. The results showed that healthy individuals had higher levels of adropin than patients ( $p < 0.05$ ). In addition, adropin levels were significantly different in patients treated in the ward, second-level intensive care unit, and third-level intensive care unit ( $p < 0.05$ ). It was observed that the serum adropin level decreased inversely with the care level needs of the patients.

### ROC Curve Analysis of Adropin

The discriminative power of adropin was evaluated via ROC curve analysis that is presented in Figure 2. The area under the curve (AUC) of adropin was 0.853 ( $p < 0.0001$ ). At the cut of value of 333.31 ng/L adropin had 0.8167 (95%, 0.6956-0.9048) sensitivity and 0.6522 (95%, 0.4273-0.8362) specificity to discriminate patients with COVID-19 infection from healthy individuals.



**Figure 1:** Serum adropin levels in healthy individuals and patients needing different levels of care.

ICU: Intensive Care Unit, \* means  $p < 0.05$ , \*\*\* means  $p < 0.001$  according to control group. Results were analyzed with one-way ANOVA-Tukey test.

### Discussion

In this study, we compared the serum adropin levels of patients in the control group, patients hospitalised in the ward with a diagnosis of COVID-19 and patients hospitalised in intensive care with a diagnosis of COVID-19 and showed that there was a statistically significant difference. Serum adropin levels were found to be lower in patients hospitalised in the ward compared to the control group. In patients hospitalised in 2nd and 3rd level intensive care unit, it was found to be lower than both the patients hospitalised in the ward and the control group. However, no significant difference was observed between the serum Adropin levels of patients hospitalised in Level 2 intensive care unit and patients hospitalised in Level 3 intensive care unit. We also measured the sensitivity and specificity of serum Adropin levels for COVID-19 patients in the Roc analysis. In the light of all these evaluations, we thought that serum Adropin levels could be used as a prognostic factor in COVID-19 disease. In addition to its

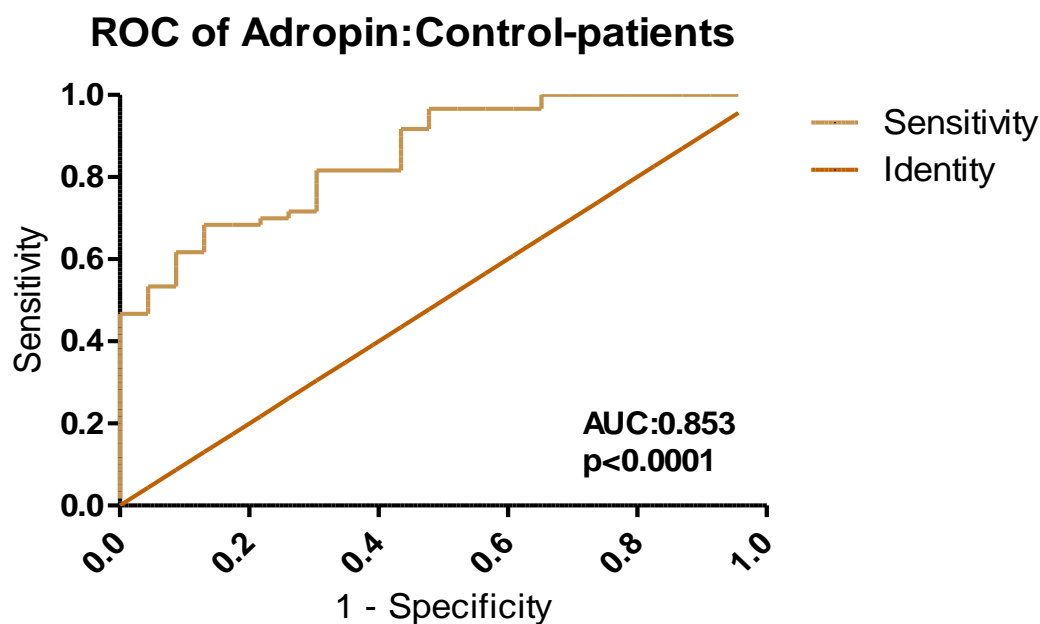
contribution to diagnosis, we have shown that adropin levels can be a target parameter both in the selection of treatment and in the development of new pharmacological treatments in the future.

COVID-19 disease causes a lung-centred injury affecting the vascular endothelium (Bonaventura et al., 2021). SARS-CoV-2 can directly infect endothelial cells and cause cellular damage (Teuwen et al., 2020). SARS-CoV-2 virus enters the cell via ACE2 transmembrane protein. ACE2 receptors are expressed in the lung, heart, kidneys, small intestine and endothelium (Ferrario et al., 2005). SARS-CoV-2 viral particles were observed in lung and kidney endothelial cells. Infection-mediated endothelial damage and endothelitis have been observed in many vascular beds such as lung, heart and kidney (Varga et al., 2020).

Endothelial cells are vitally important for the maintenance of vascular homeostasis. While healthy endothelium expresses various factors to ensure vascular relaxation and blood flow, it also inhibits platelet aggregation and coagulation. However, when endothelial dysfunction develops, this balance shifts in favour of coagulation (Yau et al., 2015). This is also seen in COVID-19 infection as endothelial damage develops. Endocan levels, a protein expressed in the endothelium, were found to be higher in COVID-19 patients compared to the healthy control group (Laloglu & Alay, 2022). Autopsies performed in patients with COVID-19 showed disruption of the endothelial cell membrane and thrombosis with occlusion and microangiopathy in alvolar capillaries (Ackermann et al., 2020). It is known that pulmonary microthrombi developing due to endothelial dysfunction also contribute to the development of ARDS, which is a vital complication due to COVID-

**Table 1:** Characteristics of Inpatients

<b>Number of Inpatients by Service</b>	
Service	29
Level 2 Intensive Care Unit	37
Level 3 Intensive Care Unit	23
<b>Age Median (Min, Max) Years</b>	
Service	70 (23-87)
Level 2 Intensive Care Unit	76 (46-95)
Level 3 Intensive Care Unit	69 (39-86)
<b>Median SpO2 values (Min, Max)</b>	
Service	89 (75-94)
Level 2 Intensive Care Unit	85 (70-93)
Level 3 Intensive Care Unit	80 (65-85)
<b>Median Number (Min, Max) of Hospitalization Days</b>	
Service	14 (6-50)
Level 2 Intensive Care Unit	25 (4-70)
Level 3 Intensive Care Unit	28 (2-90)



**Figure 2:** ROC Curve Analysis of Adropin to discriminate patients from healthy individuals

19. Again, Goshua et al. reported that endotheliopathy due to COVID-19 may be associated with critical illness and death.

Adropin is a hormone involved in the maintenance of energy homeostasis and insulin response, identified in 2008 by Kumar et al. (Kumar et al., 2008). Adropin stimulates insulin release via AKT pathway (Gao et al., 2015). Adropin also has effects on lipid metabolism. The effects of adropin on adipogenesis were investigated in 3T3-L1 cell line and rat preadipocytes. In the study, adropin stimulated these cells and decreased lipid accumulation and proadipogenic gene expression (Jasaszwilli et al., 2019). In another study, it was observed that serum triglyceride, total cholesterol and LDL-C levels decreased after adropin treatment applied to hyperlipidaemic rats (Akçilar et al., 2016). However, apart from these, adropin has important effects on endothelial functions. eNOS-derived NO is a potent vasodilator and inhibits platelet aggregation and adhesion (Förstermann & Sessa, 2012). Adropin increases eNOS expression via VEGF-PI3K-Akt and VEGFR2-ERK1/2 pathways and protects the endothelium (Lovren et al., 2010). Coronary artery disease is a clinical condition with high mortality and morbidity. Endothelial dysfunction, lipid metabolism disorders and vascular inflammation play an important role in the pathogenesis of coronary artery disease. In a meta-analysis of 525 patients with coronary artery disease and 420 healthy controls, serum adropin levels were found to be lower in patients with coronary artery disease compared to healthy controls (Zheng et al., 2019). The study by Sato et al. demonstrated the effect of adropin on atherosclerosis molecularly. Adropin was shown to attenuate the

inflammatory response of endothelial cells and monocyte derived macrophages. It also reduced migration and proliferation of vascular smooth muscle cells (Sato et al., 2018). In another study, adropin decreased endothelial permeability in rat brain ischaemia by inhibition of the ROCK-MLC2 pathway (Yang et al., 2016). The relationship between DM and serum adropin was also analysed. In the study by Wu et al. serum adropin levels were found to be significantly lower than in non-diabetic patients (Wu et al., 2014). In patients with diabetic retinopathy, a complication of diabetes, adropin concentrations in serum and vitreous fluid have been found to be negatively correlated with type 2 DM and diabetic retinopathy (Li et al., 2019). In another study, serum adropin levels were found to be higher in type 2 DM patients (Hosseini et al., 2016). However, in a meta-analysis of 15 studies with a total of 2813 participants, serum adropin levels in patients with type 2 DM were found to be lower than in patients without diabetes (Soltani et al., 2023). Diseases such as coronary artery disease, type 2 DM and obesity are clinical conditions in which both endothelial dysfunction and inflammation are observed. COVID-19 disease caused by SARS-CoV-2 is a disease in which both dysregulated inflammation and endothelial damage are observed. Level 2 and Level 3 intensive care unit patients had a statistically significant decrease in serum adropin levels compared to ward patients. These results suggest that serum adropin level may be both a prognostic marker and a target point for future pharmacological treatment strategies in COVID-19 patients. However, this study has some limitations. The fact that it was not performed in a larger patient group by increasing the number of patients is a limitation. It is not known whether serum



adropin levels decreased gradually or whether there was a sudden decrease. In addition, the correlation between serum adropin levels and parameters indicating endothelial dysfunction or inflammation could have not been analyzed.

### Conclusion and Recommendations

COVID-19 disease is an important disease affecting billions of people and affecting national health systems. A better understanding of the pathogenesis of this disease will contribute to the development of pharmacological treatment methods. The fact that serum adropin levels vary according to the severity of the disease suggests that adropin may be a prognostic factor. Therefore, we think that our study may shed light on larger and more comprehensive studies.

**Etik Komite Onayı:** Bu çalışma için etik komite onayı Atatürk Üniversitesi'nden (24.02.2022/ B.30.2.ATA.0.01.00/209) alınmıştır.

**Hasta Onamı:** Katılımcılardan yazılı onam alınmıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- CÖ., PA., SKU., Tasarım- PA.; Denetleme- PA.; Kaynaklar- HH.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi- CÖ., İHT., SKU., HH.; Yazıyı Yazan- CÖ.; Eleştirel İnceleme-PA.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Ethics Committee Approval was received for his study from ethics committee of Ataturk University (24.02.2022/ B.30.2.ATA.0.01.00/209).

**Informed Consent:** Consent forms were obtained.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept- CO., PA., SKU.; Design- PA.; Supervision- PA.; Resources- HH.; Data Collection and/or Processing- CO., İHT., SKU., HH.; Analysis and/or Interpretation- İHT., SKU.; Literature Search- CO., HH.; Writing Manuscript- CO.; Critical Review- PA.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

### References

- Ackermann, M., Verleden, S. E., Kuehnel, M., Haverich, A., Welte, T., Laenger, F., Vanstapel, A., Werlein, C., Stark, H., Tzankov, A., Li, W. W., Li, V. W., Mentzer, S. J. & Jonigk, D. (2020). Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in COVID-19. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2015432>
- Ackermann, M., Verleden, S. E., Kuehnel, M., Haverich, A., Welte, T., Laenger, F., Vanstapel, A., Werlein, C., Stark, H., Tzankov, A., Li, W. W., Li, V. W., Mentzer, S. J. & Jonigk, D. (2020). Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in COVID-19. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2015432>
- Akcılar, R., Koçak, F. E., Şimşek, H., Akcılar, A., Bayat, Z., Ece, E. & Kökdaşgil, H. (2016). The effect of adropin on lipid and glucose metabolism in rats with hyperlipidemia. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*.
- Ali, I. I., D'Souza, C., Singh, J. & Adeghate, E. (2022). Adropin's Role in Energy Homeostasis and Metabolic Disorders. In *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms23158318>
- Aydın, P., Karabulut Uzunçakmak, S., Tör, İ. H., Bilen, A. & Özden, A. (2022). Comparison of Serum Adropin Levels in Patients with Diabetes Mellitus, COVID-19, and COVID-19 with Diabetes Mellitus. *Eurasian Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2022.22128>
- Bonaventura, A., Vecchié, A., Dagna, L., Martinod, K., Dixon, D. L., Van Tassel, B. W., Dentali, F., Montecucco, F., Massberg, S., Levi, M. & Abbate, A. (2021). Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nature Reviews Immunology*. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00536-9>
- Elrobaa, I. H. & New, K. J. (2021). COVID-19: Pulmonary and Extra Pulmonary Manifestations. In *Frontiers in Public Health*. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.711616>
- Ferrario, C. M., Jessup, J., Chappell, M. C., Averill, D. B., Brosnihan, K. B., Tallant, E. A., Diz, D. I. & Gallagher, P. E. (2005). Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation*. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.510461>
- Förstermann, U. & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. In *European Heart Journal*. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>
- Gao, S., McMillan, R. P., Zhu, Q., Lopaschuk, G. D., Hulver, M. W. & Butler, A. A. (2015). Therapeutic effects of adropin on glucose tolerance and substrate utilization in diet-induced obese mice with insulin resistance. *Molecular Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2015.01.005>
- Hosseini, A., Shanaki, M., Emamgholipour, S., Nakhjavani, M., Razi, F. & Golmohammadi, T. (2016). Elevated serum levels of adropin in patients with type 2 diabetes mellitus and its association with insulin resistance. *Journal of Biology and Today's World*. <https://doi.org/10.15412/J.JBTW.01050301>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P. & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. In *Nature Reviews Microbiology*. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Jasaszwili, M., Billert, M., Strowski, M. Z., Nowak, K. W. & Skrzypski, M. (2020). Adropin as a fat-burning hormone with multiple functions—review of a decade of research. In *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules25030549>
- Jasaszwili, M., Wojciechowicz, T., Billert, M., Strowski, M. Z., Nowak, K. W. & Skrzypski, M. (2019). Effects of adropin on proliferation and differentiation of 3T3-L1 cells and rat primary preadipocytes. *Molecular and Cellular Endocrinology*. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110532>
- Kumar, K. G., Trevaskis, J. L., Lam, D. D., Sutton, G. M., Koza, R. A., Chouljenko, V. N., Kousoulas, K. G., Rogers, P. M., Kesterson, R. A., Thearle, M., Ferrante, A. W., Mynatt, R. L., Burriss, T. P., Dong, J. Z., Halem, H. A., Culler, M. D., Heisler, L. K., Stephens, J. M. & Butler, A. A. (2008). Identification of Adropin as a Secreted Factor Linking Dietary Macronutrient Intake with Energy Homeostasis and Lipid Metabolism. *Cell Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.10.011>
- Laloglu, E. & Alay, H. (2022). Endocan as a potential marker in diagnosis and predicting disease severity in COVID-19 patients: A promising biomarker for patients with false-negative RT-PCR.

- Upsala Journal of Medical Sciences.  
<https://doi.org/10.48101/ujms.v127.8211>
- Li, S., Sun, J., Hu, W., Liu, Y., Lin, D., Duan, H. & Liu, F. (2019). The association of serum and vitreous adropin concentrations with diabetic retinopathy. *Annals of Clinical Biochemistry*.  
<https://doi.org/10.1177/0004563218820359>
- Long, B., Carius, B. M., Chavez, S., Liang, S. Y., Brady, W. J., Koyfman, A. & Gottlieb, M. (2022). Clinical update on COVID-19 for the emergency clinician: Presentation and evaluation. In *American Journal of Emergency Medicine*.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajem.2022.01.028>
- Lovren, F., Pan, Y., Quan, A., Singh, K. K., Shukla, P. C., Gupta, M., Al-Omran, M., Teoh, H. & Verma, S. (2010). Adropin is a novel regulator of endothelial function. *Circulation*.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.931782>
- Sato, K., Yamashita, T., Shirai, R., Shibata, K., Okano, T., Yamaguchi, M., Mori, Y., Hirano, T. & Watanabe, T. (2018). Adropin contributes to anti-atherosclerosis by suppressing monocyte-endothelial cell adhesion and smooth muscle cell proliferation. *International Journal of Molecular Sciences*.  
<https://doi.org/10.3390/ijms19051293>
- Soltani, S., Beigrezaei, S., Malekhamadi, M., Clark, C. C. T. & Abdollahi, S. (2023). Circulating levels of adropin and diabetes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Endocrine Disorders*. <https://doi.org/10.1186/s12902-023-01327-0>
- Teuwen, L. A., Geldhof, V., Pasut, A. & Carmeliet, P. (2020). COVID-19: the vasculature unleashed. In *Nature Reviews Immunology*.  
<https://doi.org/10.1038/s41577-020-0343-0>
- Varga, Z., Flammer, A. J., Steiger, P., Haberecker, M., Andermatt, R., Zinkernagel, A. S., Mehra, M. R., Schuepbach, R. A., Ruschitzka, F. & Moch, H. (2020). Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. In *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
- Wang, B., Xue, Y., Shang, F., Ni, S., Liu, X., Fan, B. & Wang, H. (2019). Association of serum adropin with the presence of atrial fibrillation and atrial remodeling. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. <https://doi.org/10.1002/jcla.22672>
- Wu, L., Fang, J., Chen, L., Zhao, Z., Luo, Y., Lin, C. & Fan, L. (2014). Low serum adropin is associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetic and non-diabetic patients. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0844>
- Yang, C., Demars, K. M., Hawkins, K. E. & Candelario-Jalil, E. (2016). Adropin reduces paracellular permeability of rat brain endothelial cells exposed to ischemia-like conditions. *Peptides*.  
<https://doi.org/10.1016/j.peptides.2016.03.009>
- Yau, J. W., Teoh, H. & Verma, S. (2015). Endothelial cell control of thrombosis. In *BMC Cardiovascular Disorders*.  
<https://doi.org/10.1186/s12872-015-0124-z>
- Zheng, J., Liu, M., Chen, L., Yin, F., Zhu, X., Gou, J., Zeng, W. & Lv, Z. (2019). Association between serum adropin level and coronary artery disease: A systematic review and meta-analysis. In *Cardiovascular Diagnosis and Therapy*.  
<https://doi.org/10.21037/cdt.2018.07.09>

# Azerbaycan Tıp Üniversitesi'nin Laparoskopik Kolo-Rektal Cerrahi Deneyimleri

## Laparoscopic Colo-Rectal Surgery Experiences of Azerbaijan Medical University

Elnara NABİYEVA 

Fariz CAMALOV 

Azerbaijan Medical University, Faculty of  
Medicine, III. Department of Surgical Diseases,  
Baku, Azerbaijan



### ÖZ

**Amaç:** Kolon ve rektum cerrahisinde laparoskopik müdahalelerin kullanımına ilişkin ilk deneyimi analiz etmek.

**Yöntemler:** Kolon ve rektumda 32 laparoskopik ameliyat gerçekleştirildi. Ameliyat edilen 32 hastanın 19'u erkek, 13'ü kadındı. Hastaların yaşı  $64\pm 10,4$  yılıdır. Müdahalenin nedeni: 9 rektosigmoid tümör vakası, 6 - rektumun orta 1/3'ünde bir tümör, 3 - inen kolon, 8 - tüm kolonun patolojisi, 6 - çıkan kolon. Hastalar çeşitli operasyonlara tabi tutuldu. Cerrahi müdahalelerin sonuçlarının değerlendirilmesinde şu kriterler incelendi: Ameliyat süresi, kan kaybı miktarı, yoğun bakımda kalış süresi, ameliyat sonrası komplikasyonlar, ameliyat sonrası hastanede kalış süresi ve mortalite.

**Bulgular:** İlk deneyim, kolon ve rektumun cerrahi patolojisinin laparoskopik yöntemle tedavisinin haklı ve oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Kolon ve rektum kanseri nedeniyle cerrahi müdahaleler yapılırken rezeksiyon hacmi ve lenfodiseksiyon açısından onkolojik protokollerin tam olarak uygulandığı görülmektedir.

**Sonuç:** Kolon ve rektum cerrahisinde laparoskopinin kullanılması intraoperatif kan kaybının hacmini azaltabilir, hastaların hastanede kalış süresini ve rehabilitasyonunu azaltabilir, postoperatif komplikasyonların gelişimini en aza indirebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kolon, Laparoskopik cerrahi, Rektum

### ABSTRACT

**Objective:** To analyze the first experience of using laparoscopic interventions in surgery of the colon and rectum.

**Methods:** 32 laparoscopic surgeries were performed on the colon and rectum. Of the 32 patients operated, 19 men and 13 women. The age of the patients was  $64\pm 10,4$  years. The reason for the intervention: 9 cases of a rectosigmoid tumor, 6 - a tumor in the middle 1/3 of the rectum, 3 - descending colon, 8 - pathology of the entire colon, 6 - ascending colon. The patients underwent various operations. The following criteria were studied to evaluate the results of surgical interventions: the duration of operations, the amount of blood loss, the length of stay in the intensive care unit, postoperative complications, the duration of postoperative hospitalization, and mortality.

**Results:** The first experience shows that the treatment of surgical pathology of the colon and rectum with a laparoscopic method is justified and highly effective. When performing surgical interventions due to colon and rectal cancer, the full implementation of oncological protocols is observed in terms of the volume of resection and lymphodissection.

**Conclusion:** The introduction of laparoscopy in surgery of the colon and rectum can reduce the volume of intraoperative blood loss, reduce the time of hospitalization of patients and their rehabilitation, minimizes the development of postoperative complications.

**Keywords:** Colon, Laparoscopic, Rectum, Surgery

### Publication Date

Geliş Tarihi/Received 23.11.2023

Kabul Tarihi/Accepted 27.12.2023

Yayın Tarihi/Publication 28.02.2024

### Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Elnara NABİYEVA

E-mail: nabiyeva.elnara@amu.edu.az

Cite this article: Nabiyeva, E., & Camalov, F. (2024). Laparoscopic Colo-Rectal Surgery Experiences of Azerbaijan Medical University. *Current Research in Health Sciences*, 1(1): 21-24



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

### Giriş

Kolorektal kanser tüm dünyada en fazla morbidite ve mortaliteye sebep olan kanser türlerinden biridir (Baidoun ve ark., 2021). İnsidans ve mortalite oranları dünyanın farklı yerlerinde değişiklik gösterir ve gelişiminde etkili olduğu düşünülen birçok faktör tanımlanır. Kolorektal kanser dünya çapında en yaygın üçüncü ve en mortal ikinci kanser türüdür (Xi ve ark., 2021). GLOBOCAN 2020 verilerine göre akciğerden kaynaklanan kanserler, kanserden (18%) ölümlerin % 18 inden

sorumluyken, kolorektal kanserler % 9,4'ünden sorumludur (Sung ve ark., 2021). 2020 yılında tüm dünyada 1,9 milyondan fazla yeni kolorektal kanser (anüs dahil) vakası ve bunlara bağlı 935.000 ölüm kaydedildi (de Abreu ve ark., 2023).

Kanser tanısı alan hastalar tanılamanın yapıldığı ilk andan başlayarak palyatif bakımı da kapsayan tedavi süresi ve sonrasında değerlendirme, semptom yönetimi, duygusal, araçsal bilgi, güven ve ayrıca sürdürülebilir bakıma ihtiyaç duyarlar. Tedavisinde tek etkili yol, tümörün radikal cerrahi rezeksiyonudur. Cerrahi tedavide ise uzun yıllar geleneksel açık cerrahi yöntem altın standart olarak kabul edilmiştir. Cerrahi tedavide amaç; total tümör rezeksiyonu, yaygın tümörde kapsamlı abdomen araştırması, lenf nodlarının çıkarılması, bağırsak fonksiyonlarının sürdürülmesi veya yeniden sağlanması için onarılması ve komşu organlarda hastalığın oluşumunun önlenmesidir (Akyolcu ve ark., 2020). Gelişen teknolojik imkanlarla birlikte artık karın içi ameliyatlarının bir çoğu karnı açmadan yapılabilmektedir. Gelişen teknolojiyle birlikte artık cerrahi operasyonların önemli bir bölümü laparoskopik yani kapalı teknikte yapılabiliyor. Bu ameliyatlar büyük kesi olmadan, uygun vakalarda kalın bağırsak hatta pankreas kanseri cerrahisi gibi çok zor ameliyatlarda bile başarılı sonuçlar veriyor. Laparoskopik cerrahi ile temel cerrahi prensipleri aynı olmakla beraber açık cerrahiden (klasik cerrahi) en önemli farkı karın cildine yapılan büyük kesilerin önlenmesidir. Laparoskopik ameliyatlar, karın duvarına açılan, hemen hemen kalem çapı büyüklüğündeki deliklerden yerleştirilen tüplerin içinden geçirilen video kameralar ve özel aletlerle yapılmaktadır. Genel cerrahi alanında özellikle safra kesesi ameliyatlarında yaygın olarak tercih edilmiştir (Szymoniuk ve ark., 2023). Ardından diğer karın içi ameliyatlarında başarı ile kullanılmıştır. Son 10 yıl içinde kalın bağırsak cerrahisinde (kolon ve rektum cerrahisi) kullanılmaktadır. Geleneksel açık cerrahi ile karşılaştırıldığında, gastrointestinal kanserler için laparoskopik yöntem daha az cerrahi travma ve ağrı, daha az intraoperatif kan kaybı, daha az postoperatif komplikasyon ve daha hızlı iyileşme gibi avantajlarla cerrahide önemli bir dönüm noktası olmuştur (Akyolcu ve ark., 2020; Kim ve ark., 2016).

Bu çalışmadaki amacımız; Azerbaycan Tıp Üniversitesi, III. Cerrahi Anabilim Dalında yapılan kolon ve rektum laparoskopik cerrahisinin ilk deneyimlerini analiz etmektir.

## Yöntem

Mayıs 2018-Mayıs 2022 yıl tarihleri arasında Azerbaycan Tıp Üniversitesinin eğitim-cerrahi kliniğinde kolon ve rektumda laparoskopik ameliyat yapılmış 32 (19 erkek ve 13 kadın) hasta çalışmaya alındı. Hastaların ortalama yaşı  $64 \pm 10,4$  yıl idi. Tablo 1'de hastaların kolon ve rektumdaki patolojik sürecin lokalizasyonuna göre dağılımı gösterilmektedir. Dört hastaya spesifik olmayan ülseratif kolit tanısı konuldu, bunların 3'ünde

**Tablo 1:** Patolojik sürecin kolon ve rektumdaki lokalizasyonu

Lokalizasyon	Erkek	Kadın	Toplam
Rektosigmoid bölge	5	4	9
Rektumun orta 1/3'ü	4	2	6
Kalın bağırsak (total)	4	4	8
Çıkan kolon	5	1	6
İnen kolon	1	2	3
Toplam	19	13	32

ailese adenomatöz polipozis tanısı vardı.

Tüm hastaların klinik tavsiyelere göre ameliyat öncesi tetkik ve radyolojik görüntülemeleri yapıldı. Bunlar; laboratuvar muayenesi ve onkomarkerlerin belirlenmesi, karın boşluğu ve pelvisin Ultrasonografisi, bilgisayarlı tomografi (BT) veya manyetik rezonans görüntüleme (MRI), göğüs organlarının röntgen muayenesi, fibrokolonoskopi vb.

Operasyonun seçimi patolojik sürecin yayılmasına ve lokalizasyonuna bağlıydı. Operatif müdahalelerin değerlendirilmesinde şu kriterler dikkate alındı; ameliyat süresi, sedasyon hacmi, ameliyat sonrası komplikasyonlar, ameliyat sonrası yatakta geçirilen gün sayısı, ölüm.

## Bulgular

Tüm hastalara radikal cerrahi tedavi uygulandı. Kolorektal kanserde (D2-D3) yapılan lenfdiseksiyonun hacmi, tümör sürecinin lokalizasyonuna ve yayılımına bağlıydı.

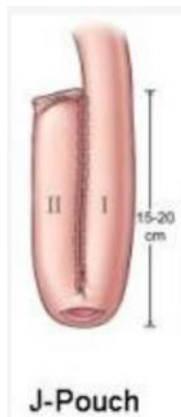
Yapılan ameliyatlar arasında en sık rektal anterior rezeksiyon ve descendo-anal anastomoz uygulandı. Bu tip operasyon, tümör rektosigmoid ve rektumun üst 1/3'ünde yerleştiğinde yapılır.

Geçici kolostomi veya ileostomi açılması operasyon sırasında her hasta için ayrı ayrı uygulanır (14 hastadan 3'üne

uygulandı). Total proktokolektomi J-pouch ile ileal anastomoz (şekil 1) ve koruyucu ileostomi 8 hastada uygulandı. İki hastada ise Hartman ameliyatı uygulandı.

Total kolproktoektomi yapılan 8 hastaya koruyucu ileostomi uygulandı. 8 hastada ileostomi operasyondan 6 ay sonra kapatıldı. Ameliyattan 3 ay sonra bir hasta laparoskopik total kolproktoektomi sonrası J-pouch'un total nekrozu ve yaygın peritonit tanısıyla tekrar ameliyata alınarak ileoanal anastomoz ile J-pouch iptal edildi ve tekrar kalıcı ileostomi açıldı.

Bir hastada ameliyattan 20 gün sonra rektovajinal fistül ortaya çıktı, bir süre sonra fistül konservatif önlemler sonucunda kapatıldı.



**Şekil 1:** J-pouch ile ileal anastomoz

Ameliyat sonrası hastalarda mobilizasyon, operasyondan sonra 12 saat içinde başladı. Yoğun bakım ünitesinde hastaların kalma süresi  $24 \pm 11,5$  saat idi. Operasyonların süresi ortalama  $264 \pm 88,8$  dakika olarak kaydedildi. Operasyondan sonraki dönemde hastanede kalma süresi ortalama 85,1 saat idi. Tüm hastalar tatmin edici sonuçlarla taburcu edilmiştir.

Ameliyat esnasında rektovezikal ya da rektouterin boşluğa yerleştirilen dren 4-6 gün sonra çekildi. Dren yerleştirilmesindeki amaç seröz-kanlı sıvının karın boşluğundan aktif olarak boşaltılmasını sağlamak ve apse oluşumunu önlemektir.

Hastaların yoğun bakımda ortalama kalış süresi 36 saat oldu. Hastanede kalış süresi ise ortalama  $4 \pm 2,1$  gündü.

Ameliyat sonrası dönemde hastaların aktivasyonu 12 saat sonra başladı. İlk 2 gün hastaya sadece su verildi. 2. günden sonra enteral beslenmeye geçildi.

### Tartışma

Pek çok çalışma, laparoskopik müdahalelerin, anlık sonuçlar (ağrıda azalma, kan kaybında ve hastanede kalış süresinde azalma, kozmetik etkide iyileşme) açısından geleneksel

müdahalelere göre üstünlüğünü göstermektedir (Awad ve ark., 2021). Ek olarak, çok sayıda iyi bilinen çok merkezli randomize çalışmalar, kolorektal kanser için laparoskopik girişimlerin onkolojik güvenliğini kanıtlamıştır (Jayne ve ark., 2010).

Bu yöntemde çok daha küçük bir kesi olduğundan hastada ameliyat sonrası ağrı çok daha az olmakta, ameliyat sonrası bağırsak tıkanıklığı gelişme riski azalmakta, hastanede yatış süresi ve hastanın yatağa bağımlı kaldığı süre kısaltılmakta, işe dönüş daha erken olmakta ayrıca çok daha az cerrahi yara izi kalmaktadır.

Yapılan deneyimler gösteriyor ki; laparoskopik cerrahinin açık cerrahiye göre çok sayıda avantajı vardır. Kolorektal kanser nedeniyle yapılan eksizyon, rezeksiyon ve lenfadenektomi hacmine ilişkin cerrahi müdahaleler onkolojik protokollere tam uyum içinde gerçekleştirildi. Kolon ve rektum kanserinin tedavisi için laparoskopik cerrahi yöntemlerinin kullanılması ameliyat sırasında kan kaybının miktarını azaltır ve yoğun bakımda kalma süresini kısaltır ve ameliyat sonrası komplikasyonların gelişimi en aza indirir.

Minimal invaziv cerrahinin avantajları göz önünde bulundurulduğunda artık kolorektal cerrahide laparoskopik cerrahi standart tedaviler içinde yerini almıştır.

**Etik Komite Onayı:** Etik kurul onayı Azerbaycan Tıp Üniversitesi Etik Kurulundan alındı (Onay No: 4, Tarih: 28.12.2022).

**Hasta Onamı:** Bu çalışmaya katılan tüm katılımcılardan yazılı bilgilendirilmiş onam alındı.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- EN., FC.; Tasarım- EN., FC.; Denetleme- EN., FC.; Kaynaklar- EN., FC.; Veri Toplama ve/veya İşleme- EN., FC.; Analiz ve Yorumlama- EN., FC.; Literatür- EN., FC.; İnceleme- EN., FC.; Yazan- EN., FC. Eleştirel İnceleme: EN, FC.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Ethical committee approval was received from the Ethics Committee of Azerbaijan Medical University (Approval No: 4, Date: 28.12.2022).

**Informed Consent:** Written informed consent was obtained from all participants who participated in this study.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept- EN., FC.; Design- EN., FC.; Supervision- EN., FC.; Resources- EN., FC.; Data Collection and/or Processing- EN., FC.; Analysis and Interpretation- EN., FC.; Literature- EN., FC.; Review- EN., FC.; Writing- EN., FC.; Critical Review- EN., FC.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.


## Kaynaklar

- Akyolcu N., Kanan N., Aksoy, G. (2020). Cerrahi Hemşireliği II. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Awad Z.T., Qureshi I., Seibel B., Sharma S., Dobbertien M.A. (2021). Laparoscopic right hemicolectomy with transvaginal colon extraction using a laparoscopic posterior colpotomy: a 2-year series from a single institution. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* Vol. 21, № 6. – P. 403–8.
- Baidoun F., Elshiwiy K., Elkeraiye Y., et al. (2021). Colorectal Cancer Epidemiology: Recent Trends and Impact on Outcomes. *Curr Drug Targets.* 22(9):998-1009. doi: 10.2174/1389450121999201117115717.
- de Abreu A.R., Op de Beeck K., Laurent-Puig .P, Taly V., Benhaim L. (2023). The Position of Circulating Tumor DNA in the Clinical Management of Colorectal Cancer. *Cancers (Basel).* 17;15(4):1284. doi: 10.3390/cancers15041284.
- Jayne D.G., Thorpe H.C., Copeland J., Quirke P., Brown J.M., Guillou P.J. (2010). Five-year follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of laparoscopically assisted versus open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg.* Vol. 97, № 11. P. 1638–45.
- Kim W., Kim H., Han S., et al. (2016). Decreased Morbidity of Laparoscopic Distal Gastrectomy Compared With Open Distal Gastrectomy for Stage I Gastric Cancer. *Annals of Surgery.* 263(1):28-35.
- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., et al. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* Vol. 71, №3. — P. 209-249.
- Szymoniuk M., Brachet A., Ciejka K., et al. (2023). Clinical significance of Left-Sided Gallbladder for laparoscopic cholecystectomy and hepatectomy. *Pol Przegl Chir.* 26;95(4):1-5. doi: 10.5604/01.3001.0016.2124.
- Xi Y., Xu P. (2021). Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Translational Oncology.* 14(10):101174.

# Oxidative stress in chronic diseases: An Overview of Orange Peel Extracts

## Kronik Hastalıklarda Oksidatif Stres: Portakal Kabuğu Ekstrelerine Bakış

Lale DUYSAK<sup>1</sup> 

Adil Furkan KILIÇ<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Ataturk University, Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, Erzurum, Türkiye  
<sup>2</sup> University of Health Sciences, Erzurum Region Health Research Center, Department of Internal Medicine, Erzurum, Türkiye



### ABSTRACT

**Aim:** Oxidative stress is an important factor involved in the pathogenesis of various chronic diseases, from cardiovascular disorders and neurodegenerative diseases to metabolic syndrome and cancer. Antioxidants derived from natural sources have gained considerable attention due to their potential to combat oxidative stress and prevent disease progression. Orange peel, in particular, have emerged as promising candidates for their rich content of bioactive compounds with potent antioxidant properties. In this study, we aimed to determine the antioxidant capacity of ethanol and methanol extracts of orange peel.

**Methods:** Ethanol and methanol extracts from orange peel were obtained. The Folin-Ciocalteu Reagent (FCR) was used to determine the total phenolic component levels in the extracts of orange peel. By using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil), FRAP (Iron ion reducing antioxidant power), and CUPRAC (Cu<sup>2+</sup> ions reducing) techniques, antioxidant activities were assessed. To calculate the extract's equivalent antioxidant capacity, different reference sample concentrations ranging from 250 to 1000 g/mL were made.

**Results:** The greatest concentration of the phenolic component in the methanol and ethanol-extracted orange peel extracts was 1000 µL/mL. The maximum values for the extracts' FRAP, CUPRAC (Trolox Eq g/mL), and DPPH radical scavenging capacity (inhibition%) were determined at a concentration of 1000 µL/mL. Ethanol extract showed higher antioxidant capacity compared to methanol extract.

**Conclusion:** Orange peel extracts demonstrate considerable promise as natural therapeutic agents for alleviating oxidative stress and its associated burden on chronic diseases. Our findings could improve the way orange peels are used in the food, cosmetics, and pharmaceutical industries. However, further research is warranted to elucidate the precise mechanisms of action, optimal extraction method, optimal dosages, and potential side effects of the extracts.

**Key words:** Antioxidant, chronic diseases, ethanol, extract, methanol, orange peel.

### ÖZ

**Amaç:** Oksidatif stres, kardiyovasküler bozukluklar ve nörodejeneratif hastalıklardan metabolik sendrom ve kansere kadar çeşitli kronik hastalıkların patogeneğinde yer alan önemli bir faktördür. Doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlar, oksidatif stresle mücadele etme ve hastalığın ilerlemesini önleme potansiyelleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Özellikle portakal kabuğu güçlü antioksidan özelliklere sahip zengin biyoaktif bileşik içerikleri sayesinde umut verici adaylar olarak ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmada portakal kabuğunun etanol ve metanol ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini belirlemeyi amaçladık.

**Yöntem:** Portakal kabuğunun etanol ve metanol ekstraktları elde edildi. Ekstrelerin toplam fenolik bileşen seviyelerini belirlemek için Folin-Ciocalteu Reaktif (FCR) kullanıldı. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), FRAP (Demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü) ve CUPRAC (Cu<sup>2+</sup> iyonları indirgeyen) teknikleri kullanılarak antioksidan aktiviteleri değerlendirildi. Ekstraktın eşdeğer antioksidan kapasitesini hesaplamak için 250 ile 1000 g/mL arasında değişen farklı referans numune konsantrasyonları hazırlandı.

**Bulgular:** Portakal kabuğunun etanol ve metanol ekstraktlarındaki fenolik bileşenin en yüksek konsantrasyonu 1000 µL/mL olarak bulundu. Ekstrelerin FRAP, CUPRAC (Trolox Eq g/mL) ve DPPH radikal süpürme kapasitesi (% inhibisyon) için maksimum değerler 1000 µL/mL'lik konsantrasyonda görüldü. Etanol ekstraktı, metanol ekstraktına kıyasla daha yüksek antioksidan kapasite gösterdi.

**Sonuç:** Portakal kabuğu ekstraktları, oksidatif stresi ve bununla ilişkili kronik hastalıkların etkisini hafifletmek için doğal terapötik maddeler olarak umut vaat etmektedir. Bununla birlikte, ekstraktların kesin etki mekanizmalarını, optimal ekstraksiyon yöntemini, optimal dozajları ve potansiyel yan etkileri aydınlatmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, kronik hastalıklar, ekstrakt, etanol, portakal kabuğu, metanol.

### Publication Date

Geliş Tarihi/Received 23.01.2024

Kabul Tarihi/Accepted 26.02.2024

Yayın Tarihi/Publication 28.02.2024

### Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Lale DUYSAK

E-mail: lgozcu@atauni.edu.tr

Cite this article: Duysak, L., & Kılıç, AF.

(2024). Oxidative Stress in Chronic

Diseases: An Overview of Orange Peel

Extracts. *Current Research in Health*

*Sciences*, 1(1): 25-33.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

## Introduction

Oxidative stress is a physiological condition that arises when there is an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and the body's ability to neutralize and eliminate them. ROS are highly reactive molecules that can cause damage to cells and tissues if their levels become excessive. This oxidative damage has been implicated in the development and progression of various chronic diseases, including cardiovascular diseases, neurodegenerative disorders, cancer, diabetes, and inflammatory conditions (Liguori et al., 2018).

Citrus fruits are among the fruits that attract great attention in Türkiye both in terms of production and consumption. Citrus fruits are a group of fruits belonging to the Rutaceae family that originated in tropical and subtropical areas in southeast Asia (Sawalha, Arráez-Román, Segura-Carretero, & Fernández-Gutiérrez, 2009). There are numerous natural and hybrid products available, such as oranges, grapefruits, lemons and some tangerines (Güzel & Akpınar, 2017). Except for the edible part of citrus fruits, their waste constitutes one-fourth of the whole fruit weight. Orange peel waste contains a large amount of moisture (80-90% w/w water content) and has a large organic load (Rezzadori, Benedetti, & Amante, 2012). Essential oil obtained from citrus fruits has excellent antimicrobial properties and is used in the cosmetic industry (Caccioni, Guizzardi, Biondi, Renda, & Ruberto, 1998; De la Torre et al., 2019). In addition, the waste part of citrus fruits, mostly consisting of peels and seeds, is used in the treatment of various diseases (such as diabetes, high blood pressure) among the people (Ahmad, Ansari, Alam, & Khan, 2013; G. Oboh & A. Ademosun, 2012).

Orange (*Citrus sinensis* L.) peels, like other citrus fruit peels, contain a rich array of bioactive compounds, including flavonoids, phenolic acids, carotenoids, and vitamin C, among others. These compounds possess potent antioxidant properties and have been studied for their potential health benefits (X.-M. Chen, Tait, & Kitts, 2017).

Several studies have investigated the potential of orange peel extracts in combating oxidative stress and its associated chronic diseases (Anagnostopoulou, Kefalas, Papageorgiou, Assimopoulou, & Boskou, 2006; X.-M. Chen et al., 2017; Hegazy & Ibrahim, 2012; Shehata et al., 2021). These extracts have shown promising antioxidant activity, helping to scavenge ROS and protect cells from oxidative damage. By reducing oxidative stress, orange peel extracts may contribute to the prevention and

management of various chronic conditions (Z. T. Chen, Chu, Chyau, Chu, & Duh, 2012).

**Cardiovascular diseases:** Oxidative stress plays a critical role in the development of cardiovascular diseases, such as atherosclerosis and hypertension. Orange peel extracts have demonstrated antioxidant effects that may help protect against oxidative damage in blood vessels, reduce inflammation, and improve cardiovascular health (Khosravi, Poursaleh, Ghasempour, Farhad, & Najafi, 2019).

**Neurodegenerative disorders:** Oxidative stress is closely linked to the pathogenesis of neurodegenerative disorders, including Alzheimer's and Parkinson's diseases (Teleanu et al., 2022). Orange peel extracts have been shown to possess neuroprotective properties, which may help in reducing oxidative damage and preserving brain health (Abd El-Aziz et al., 2022).

**Cancer:** Chronic oxidative stress can promote DNA damage, leading to the development of cancer (Jelic, Mandic, Maricic, & Srdjenovic, 2021). Orange peel extracts contain bioactive compounds that exhibit anti-cancer properties, including antioxidant and anti-inflammatory effects. They may help in reducing oxidative stress and inhibiting the growth of cancer cells (Iannazzo et al., 2022; Tajaldini, Samadi, Khosravi, Ghasemnejad, & Asadi, 2020).

**Diabetes:** Oxidative stress plays a significant role in the complications associated with diabetes (Darenskaya, Kolesnikova, & Kolesnikov, 2021). Orange peel extracts have been studied for their potential to alleviate oxidative stress in diabetes and its related complications by reducing lipid peroxidation, enhancing antioxidant defenses, and improving insulin sensitivity (Gosslau, Zachariah, Li, & Ho, 2018; Zhang et al., 2022).

**Inflammatory conditions:** Oxidative stress and inflammation are closely interconnected (Hussain et al., 2016). Orange peel extracts have shown anti-inflammatory effects by modulating various inflammatory pathways and reducing oxidative stress markers, thus potentially benefiting individuals with chronic inflammatory conditions (Gosslau, Chen, Ho, & Li, 2014).

Our aim in this study is to determine the total phenolic content and in vitro antioxidant properties of the waste-generating peel part of the orange, which is cultivated in Türkiye and used as an important raw material in the food and beverage industry, in different extracts, and to determine their therapeutic potential.



## Methods

### Materials

Orange fruits were collected from Finike district of Antalya province in September 2022. Trolox was purchased from Fluka Chemica (Switzerland) and NH<sub>4</sub>Ac from Riedel De Haen (Germany). Neocuproine (Nc), TPTZ (2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine) and DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) from Sigma Chemicals Co. (St. Louis, USA) provided. FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O was purchased from Merck (Germany). Millipore (Direct-Q® 3UV, USA) was used to obtain ultrapure water.

### Preparation of Plant Extracts

The orange peels were dried at room temperature and then powdered with liquid nitrogen with the help of a pestle. To prepare ethanol and methanol extract, 50 g of dried orange peel powder was extracted in 250 mL solvent (methanol or ethanol) by filtration every 24 hours for a total of 72 hours using a horizontal shaking water bath at 50 °C. The filtrates were collected and the solvents were removed with the aid of an evaporator. The extract was protected from light and stored in an airtight bottle in the refrigerator (2-8 °C) for further studies.

### Determination of Total Phenolic Compounds

The amounts of total phenolic compounds of orange peel ethanol and methanol extracts were determined by using the modified version of the method developed by Slinkard and Singleton (Slinkard & Singleton, 1977).

First, 50 mL of 7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was prepared. Then, after weighing 25 mg of gallic acid for the standard, it was completed with methanol to 25 mL in a test tube. Finally, Folin & Ciocalteu reagent was taken into beaker for phenolic compound determination. Stock solutions were prepared and necessary dilutions were made. First, 40 µL of sample and 200 µL of Folin & Ciocalteu reagent were added to the plates and incubated for 5 minutes. Finally, 160 µL of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> was added and incubated again for 30 minutes. After incubation, absorbance was measured at 765 nm. Using the standard graph prepared using gallic acid, the results were given as mg gallic acid equivalent (GAE)/g.

### Determination of Antioxidant Capacity

#### DPPH Radical Scavenging Capacity Assay

The DPPH radical scavenging capacities of ethanol and methanol extracts obtained from orange peel were determined according to the Brand Williams method (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995). Inhibitory response of samples to DPPH radical is measured spectrophotometrically to determine antioxidant capacity. The DPPH solution loses its color during the reduction reaction in the presence of an antioxidant, and the

decrease in color intensity makes it easier to measure in the spectrophotometer. After preparing DPPH solution, 210 µL of extract sample was pipetted into the plate wells, and then 70 µL of DPPH solution was added to each well. The plate was mixed with a stirrer for 1 minute and incubated for 30 minutes in the dark. Trolox was used as the standard antioxidant for the control sample. Then absorbance was measured at 517 nm and the results were calculated as percent inhibition.

#### The Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay

The method of determination of antioxidant capacity of extracts obtained from orange peel based on electron transfer was applied by Huang et al (Huang, Ou, & Prior, 2005). First, 300 mmol/L acetate buffer (pH=3.6) was prepared. 10 mM TPTZ was taken into a 100 mL flask, 40 mM HCl was added and the final volume was made up to 100 mL. Finally, 20 mmol/L FeCl<sub>3</sub> solution was prepared. A total of 30 mL of FRAP solution was obtained by taking 2.5 mL of TPTZ, 2.5 mL of FeCl<sub>3</sub> and 25 mL of acetate buffer from these prepared solutions. 10 µL of the extract sample and 200 µL of FRAP solution were pipetted into the plate wells and allowed to incubate for 30 minutes, and then the absorbance was measured at 593 nm.

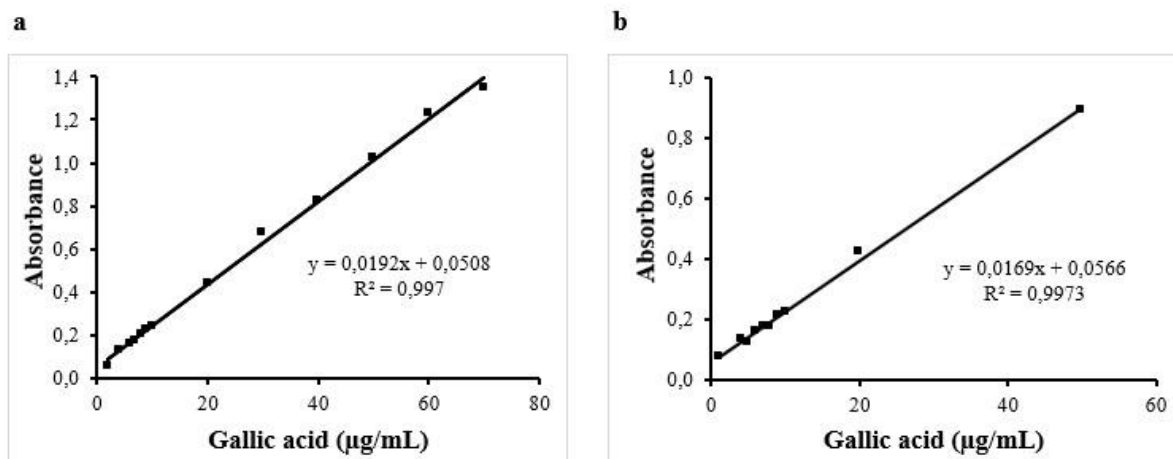
#### Cupric Ions (Cu<sup>2+</sup>) Reducing-CUPRAC Assay

This method used by Apak et al. is based on the conversion of Cu(II) Neocuproin complex to Cu(I) Neocuproin by means of antioxidant compounds in the environment and the absorbance of this complex at 450 nm wavelength (Apak, Guclu, Ozyurek, & Karademir, 2004). To prepare the CUPRAC reagent, 0.4262 g CuCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O was weighed and dissolved in 250 mL of distilled water (10 mM). To prepare the acetate buffer, 19.27 g of NH<sub>4</sub>Ac was dissolved in 250 mL of water. 7.5 mM neocuproin solution was obtained by preparing 0.039 g Neocuproin compound with 96% pure ethanol in a 25 mL flask. Afterwards, solutions consisting of 60 µL CuCl<sub>2</sub>, 60 µL acetate buffer, 60 µL neocuproin solution and 66 µL extracts were mixed and after 30 minutes of incubation, absorbances were measured at 450 nm wavelength. The standard antioxidant Trolox was used as a control sample. Calibration curves of the working range of 1-100 µg/mL, where the plot of absorbance versus concentration is linear, were derived.

## Results

### Findings of Total Phenolic Compound Quantification

Total phenolic compound amounts of ethanol and methanol extracts prepared from orange peel were determined by Folin-Ciocalteu Reagent (FCR). Gallic acid was used as the standard



**Figure 1.** Calibration curves of gallic acid in different solvents (a. Ethanol b. Methanol)

phenolic compound and was calculated as gallic acid equivalent from the equations obtained from the calibration curves of gallic acid (Figure 1). Triplicate analyzes were performed and then mean and standard deviation values were given.

The total amount of phenolic compounds in the samples calculated according to the regression equations of the curves was determined as GAE/g for ethanol and methanol extracts (Table 1). According to the results of the research, it was determined that the highest total amount of phenolic substance was found in the ethanol extract at a concentration of 1000 ( $\mu\text{g/mL}$ ) and the results changed slightly depending on the solvent difference.

**Table 1.** Total phenolic compound amounts of orange peel extracts

Total Phenolic Compound ( $\mu\text{g GAE/mg extract}$ )		
Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ethanol extract	Methanol extract
250	$3,45 \pm 0,01$	$3,33 \pm 0,009$
500	$6,91 \pm 0,03$	$6,55 \pm 0,011$
1000	$10,64 \pm 0,23$	$8,89 \pm 0,26$

### Antioxidant Capacity Findings

#### Findings from DPPH Radical Scavenging Studies

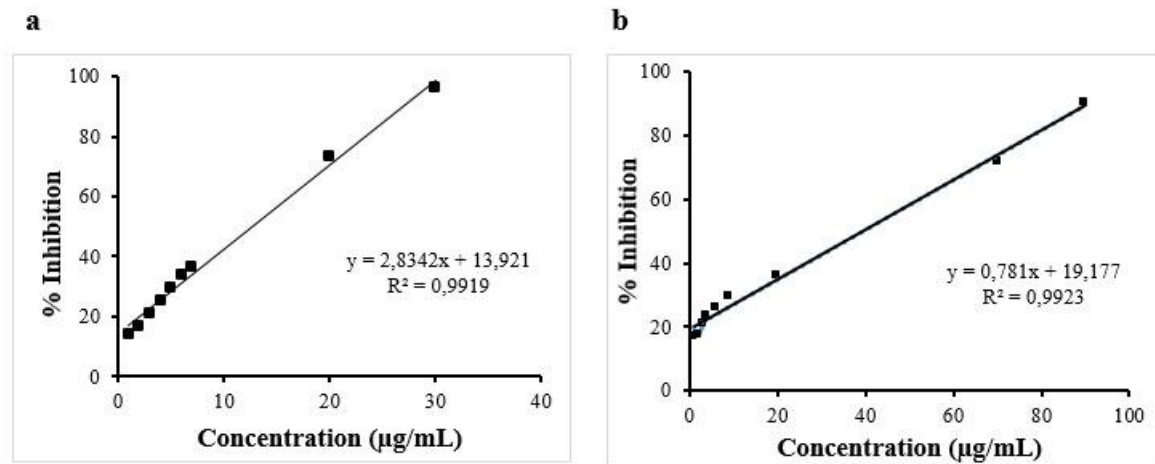
DPPH radical scavenging activities of standard antioxidant compounds of ethanol and methanol extracts prepared from

orange peel were determined according to the Brand Williams method (Brand-Williams et al., 1995). The analyzed concentration range (1-100  $\mu\text{g/mL}$ ) was determined as a result of studies on standard antioxidant compounds. Triplicate analyzes were performed and then mean and standard deviation values were given. The DPPH radical scavenging activity of trolox as a standard antioxidant reached its highest value at a concentration of 30  $\mu\text{g/mL}$  for ethanol and 90  $\mu\text{g/mL}$  for methanol (Figure 2).

**Table 2.** Comparison of DPPH free radical scavenging capacities of extracts at different concentrations

% Inhibition (Trolox (Eq $\mu\text{g/mL}$ ))		
Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ethanol extract	Methanol extract
250	$5,00 \pm 0,01$	$12,07 \pm 1,95$
500	$7,39 \pm 0,71$	$21,02 \pm 1,35$
1000	$17,25 \pm 0,011$	$48,96 \pm 1,74$

The DPPH radical scavenging capacities of ethanol and methanol extracts prepared from orange peel and standard antioxidant compounds at 250, 500 and 1000  $\mu\text{g/mL}$  concentrations are shown as % inhibition (Table 2). It was determined that the extract with the highest DPPH free radical scavenging capacity among the ethanol and methanol extracts prepared from orange peel was the methanol extract and it was at a concentration of 1000  $\mu\text{g/mL}$ .



**Figure 2.** Concentration-% Inhibition graph of Trolox (a.Ethanol b. Methanol)

### Findings of Iron Ion Reducing Antioxidant Power (FRAP)

The absorbance values corresponding to the iron (III) reducing/antioxidant power at 593 nm of ethanol and methanol extracts prepared from orange peel and standard antioxidant compounds were measured spectrophotometrically. The analyzed concentration range (1-100 µg/mL) was determined as a result of studies on standard antioxidant compounds. Triplicate analyzes were performed and then mean and standard deviation values were given. As a standard antioxidant, trolox, iron (III) reducing/antioxidant potency activity reached the highest value at 100 µg/mL concentration. In line with these data, the concentration range of the extracts to be studied was determined as 1-100 µg/mL (Figure 3).

**Table 3.** Comparison of iron (III) reducing/antioxidant power of extracts at different concentrations in µg TEAC

Concentration (µg/mL)	Trolox (Eq µg/mL)	
	Ethanol extract	Methanol extract
250	7,42 ± 0,14	8,04 ± 0,04
500	23,81 ± 0,32	14,41 ± 0,1
1000	28,65 ± 0,18	31,764 ± 0,1

The iron (III) reducing/antioxidant powers of ethanol and methanol extracts prepared from orange peel, standard antioxidant compounds and standard antioxidant compounds at 250, 500 and 1000 µg/mL concentrations were compared in terms of µg Trolox equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) (Table 3). It was determined that the ethanol and methanol extracts

prepared from the orange peel had the highest iron ion reducing antioxidant power capacity, and it was determined that the methanol extract had a concentration of 1000 µg/mL.

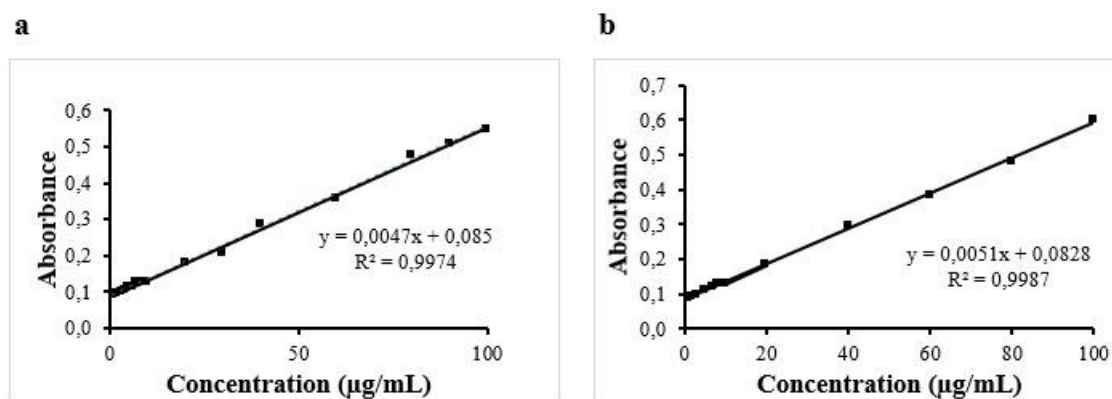
### Findings of The Copper Ion Reducing Antioxidant Capacity Determination Method (CUPRAC)

The conversion of ethanol and methanol extracts prepared from orange peel and standard antioxidant compounds of Cu(II) neocuproin complex at 450 nm to Cu(I) neocuproin by means of compounds with antioxidant effect in the medium was done by measuring the absorbance at 450 nm. Triplicate analyzes were performed and then mean and standard deviation values were given. The concentration range to be analyzed (1-100 µg/mL) was determined as a result of studies on standard antioxidant compounds (Figure 4).

**Table 4.** Comparison of the conversion of the extracts from Cu (II) neocuproin complex to Cu (I) neocuproin at different concentrations in terms of µg TEAC

Concentration (µg/mL)	Trolox (Eq µg/mL)	
	Ethanol extract	Methanol extract
250	30,14 ± 0,11	12,17 ± 0,1
500	47,77 ± 0,97	22,02 ± 0,14
1000	86,85 ± 0,05	40,3 ± 0,07

The ethanol and methanol extracts prepared from orange peel and standard antioxidant compounds at 250, 500 and 1000 µg/mL concentrations are converted to Cu(I) neocuproin by



**Figure 3.** Trolox standard graph (a. Ethanol b. Methanol)

spectrophotometric direction at 450 nm and Cu(II) neocuproin complex by means of compounds with antioxidant effect in the environment and this complex is  $\mu\text{g}$  Trolox equivalent. Comparison in terms of Antioxidant Capacity (TEAC) is shown in Table 4. It was determined that the extract with the highest copper ion reducing antioxidant capacity in ethanol and methanol extracts prepared from orange peel was the ethanol extract and it had a concentration of 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### Discussion

In this study, when all data of ethanol and methanol extracts prepared from orange peel were evaluated in terms of antioxidant activity, it was determined that ethanol extract was rich in copper ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) and total phenolic compounds. Methanol extract had high antioxidant activity in terms of DPPH radical scavenging activity and iron ion reducing antioxidant power (FRAP). We think that this feature is due to the compounds contained in the orange peel. It is thought that the various antioxidant activity differences observed in the extracts are due to the level of polyphenolic compounds transferred to the solvent used and the difference in their chemical structures. For this reason, the data to be obtained from in vitro studies on natural antioxidants of plant origin, which are preferred instead of synthetic antioxidants, will form the basis of in vivo studies.

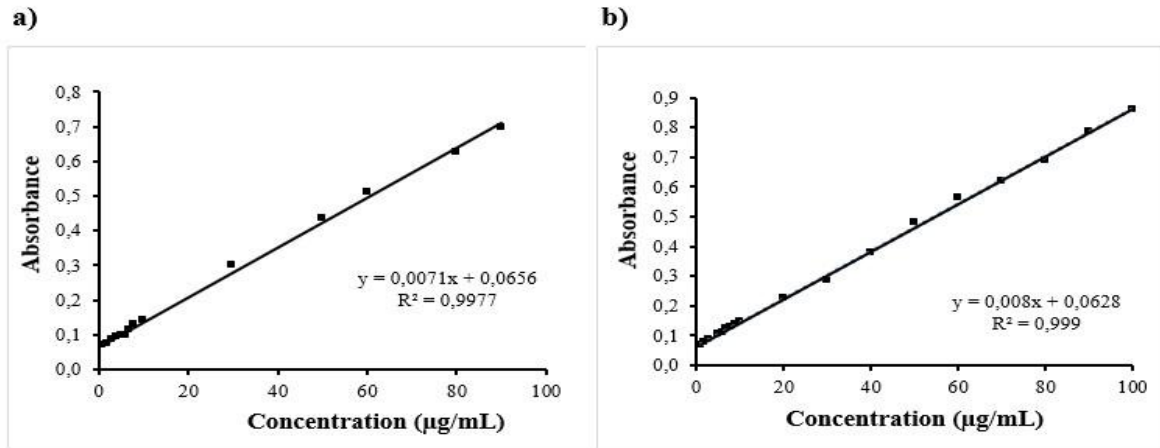
Orange peels are often discarded as waste, but recent research has highlighted their potential as a valuable source of bioactive compounds with antioxidant properties. Studies have shown that the total phenolic substance, mineral substance and vitamin content of the peels is higher than the fruit and fruit juice in some citrus species (Belitz, Grosch, Belitz, & Grosch, 1999) and

in orange (Gorinstein et al., 2001). Such wastes are a good source for extracting bioactive molecules such as carotenoid pigments, pectins and terpenes (essential oils). Compared to other fruits, most of the complex carotenoids are found in citrus fruits (Chedea, Kefalas, & Socaciu, 2010). Many of these bioactive substances are found in the peel rather than the inside of the orange. However, these beneficial compounds are usually destroyed by the production of citrus juices (Sawalha et al., 2009).

Orange peels are rich in various bioactive compounds such as flavonoids (e.g., hesperidin, naringin), carotenoids (e.g., beta-carotene, lutein), phenolic acids (e.g., ferulic acid, gallic acid), and ascorbic acid (vitamin C) (Mahato, Sinha, Sharma, Koteswararao, & Cho, 2019; Panwar, Saini, Panesar, & Chopra, 2021). These compounds possess strong antioxidant properties and contribute to the overall antioxidant capacity of orange peel extracts.

The extraction of the plant ingredient depends critically on the solvent. The antioxidant effects of the extracts of orange peel obtained with different organic solvents are variable. It has been shown that ethanol and methanol, which are very polar among these solvents, are effective for antioxidant activity compared to hexane, petroleum ether, and acetone. Further ethanol extract showed more antioxidant capacity compared to methanol extract (Hegazy & Ibrahim, 2012). Again, polar solvents are convenient for extracting phenolic compounds from citrus peels compared to organic solvents (Shehata et al., 2021). Therefore, we chose ethanol and methanol as solvents in this study and compared the efficacy of the two solvents in antioxidant activity.

Another factor for the yield of extraction and antioxidant capacity is the extraction method. A study investigating the impact of four extraction techniques used at 35°C (conventional solvent extraction, supercritical CO<sub>2</sub> extraction, microwave assisted extraction, and ultrasound assisted extraction) on the total phenol, total flavonoid, individual flavonoid, vitamin C, and



**Figure 4.** Trolox standard graph (a.Ethanol b.Methanol)

antioxidant activity of orange peel has demonstrated the most effective method as conventional solvent extraction (Irina, Cédric, Ghoul, & Boudhrioua, 2017). In this study we used the conventional solvent extraction method which is expected to bring high antioxidant activity.

The drying method of the plant is another determinant of phenolic content and thus antioxidant activity. Literature findings have shown that hot-air oven drying at 50 °C and 70 °C results in higher antioxidant activity compared to shade drying and microwave drying (Lai et al., 2022). In this study we used shade drying. We suppose that further studies with different drying methods, including hot-air oven drying, shall be conducted to determine the optimum method for gaining maximum antioxidant activity from orange peel extracts.

Total phenolic content of plants is related with reducing activity, thus antioxidant activity (Hegazy & Ibrahim, 2012). UPLC-ESI-MS/MS analysis of ethanolic extract of orange peels has revealed more than 40 polyphenolic compounds, including phenolic acids and flavonoids (Shehata et al., 2021). C-glycosylated flavones, O-glycosylated flavones, O-glycosylated flavanones, flavonols, and phenolic acids and their derivatives are the main families of flavonoids identified by HPLC (Anagnostopoulou et al., 2006). We determined the phenolic content of ethanolic extract 10,6 µg GAE/mg extract and methanolic extract 8,8 µg GAE/mg extract, at 1000 µg/mL concentration. In a study conducted in Malaysia with various *C. sinensis* extracts, total phenolic contents of different *C. sinensis* peel extracts ranged from 12.08 to 38.24 mg GAE/g, with 70% acetone/water extract (AEC) displaying the greatest total phenolic content (Liew, Ho, Yeap, & Sharifudin, 2018). Our results of phenolic content is lower than the aforementioned study. We

think this difference may arise from mainly extraction solvent and geographical diversity.

We determined that the ethanolic extract had higher phenolic content and therefore higher antioxidant activity demonstrated by the results of CUPRAC, FRAP and DPPH.

Numerous studies have shown that orange peel extracts exhibit significant radical scavenging activity against various free radicals, including superoxide anion, hydroxyl radical, and lipid peroxides (Gorinstein et al., 2001; G. Oboh & A. O. Ademosun, 2012). The radical scavenging capacity of orange peel extracts can be attributed to the presence of flavonoids and other phenolic compounds, which effectively neutralize free radicals and prevent cellular damage.

Oxidative stress occurs when there is an imbalance between free radicals and the body's antioxidant defense mechanisms. Chronic oxidative stress has been linked to several diseases, including cardiovascular disorders, neurodegenerative conditions, and cancer (Liguori et al., 2018). Orange peel extracts' antioxidant activity has been shown to mitigate oxidative stress, thereby potentially reducing the risk of such diseases. An *in-vitro* study has demonstrated water extract of orange and its bioactive components prevented the cytotoxic effect in t-BHP-induced HepG2 cells (Z. T. Chen et al., 2012). Researchers have concluded that a positive regulation of GSH levels and antioxidant enzymes may contribute to the protective effect of orange water extract and its bioactive compounds on t-BHP-induced HepG2 cells (Z. T. Chen et al., 2012). Aforementioned study revealed that orange peel extract and its bioactive components may play a role in the improvement of chronic diseases by antioxidant mechanism.

In addition to their antioxidant properties, orange peel extracts have anti-inflammatory effects. Further, it has been demonstrated that in comparison to equal flavonoid

combinations, orange peel extract has stronger anti-inflammatory properties (X.-M. Chen et al., 2017). Chronic inflammation is closely associated with oxidative stress, and by reducing inflammation, orange peel extracts further contribute to their overall health benefits.

Studies have suggested that orange peel extracts may act synergistically with other antioxidants, enhancing their overall efficacy (Babbar, Oberoi, Uppal, & Patil, 2011). This property makes orange peel extracts valuable in formulating antioxidant-rich supplements and functional foods. As it is known, oxidative stress increases after meals. The risk of cardiovascular disease increases, especially due to increased lipemia after meals. In a study, it was shown that mixtures containing orange peel extracts reduced the risk of developing post-meal cardiovascular complications, and this effect was primarily attributed to the antioxidant properties of orange peel extracts (Papagianni et al., 2021). In addition, considering that oxygen radicals are involved in the pathophysiology of many chronic diseases such as chronic obstructive pulmonary disease (COPD), hypertension, diabetes and malignancies, it can be thought that antioxidant compounds obtained from orange peel extracts may play a role in the prevention and treatment of these diseases. Considering the literature and our findings, it can be thought that the use of antioxidant compounds containing orange peel extracts may be more beneficial, especially before tissue damage caused by oxygen radicals.

### Conclusion

Ethanol extract of orange peels may be preferred instead of methanol extract to gain higher antioxidant activity. While the research on orange peel extracts and their effects on oxidative stress in chronic diseases is promising, it's important to note that most studies have been conducted in laboratory settings or animal models. Further research, including well-designed clinical trials, is needed to better understand the potential benefits and determine optimal dosages for human consumption.

**Etik Komite Onayı:** In vitro çalışma olduğu için etik kurul onayına ve hasta onamına gerek yoktur.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- LD., AFK.; Tasarım- LD.; Denetleme- LD.; Kaynaklar- LD., AFK.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- LD., AFK.; Analiz ve/veya Yorum- LD.; Literatür Taraması- LD., AFK.; Yazıyı Yazan- LD., AFK.; Eleştirel İnceleme- LD., AFK.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

**Ethics Committee Approval:** Since it is an in vitro study, ethics committee approval and informed consent is not required.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept- LD., AFK.; Design- LD., AFK.; Supervision- LD.; Resources- LD., AFK.; Data Collection and/or Processing- LD., AFK.; Analysis and/or Interpretation- LD.; Literature Search- LD., AFK.; Writing Manuscript- LD., AFK.; Critical Review- LD., AFK.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

### References

- Abd El-Aziz, N. M., Shehata, M. G., Alsulami, T., Badr, A. N., Elbakatoshy, M. R., Ali, H. S., & El-Sohaimy, S. A. (2022). Characterization of Orange Peel Extract and Its Potential Protective Effect against Aluminum Chloride-Induced Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals (Basel)*, *16*(1). doi:10.3390/ph16010012
- Ahmad, M., Ansari, M., Alam, A., & Khan, T. (2013). Oral dose of citrus peel extracts promotes wound repair in diabetic rats. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, *16*(20), 1086-1094.
- Anagnostopoulou, M. A., Kefalas, P., Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N., & Boskou, D. (2006). Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food chemistry*, *94*(1), 19-25.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, *52*(26), 7970-7981. doi:10.1021/jf048741x
- Babbar, N., Oberoi, H. S., Uppal, D. S., & Patil, R. T. (2011). Total phenolic content and antioxidant capacity of extracts obtained from six important fruit residues. *Food research international*, *44*(1), 391-396.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Belitz, H.-D., & Grosch, W. (1999). Fruits and fruit products. *Food Chemistry*, 748-800.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, *28*(1), 25-30.
- Caccioni, D. R., Guizzardi, M., Biondi, D. M., Renda, A., & Ruberto, G. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *penicillium italicum*. *Int J Food Microbiol*, *43*(1-2), 73-79. doi:10.1016/s0168-1605(98)00099-3
- Chedea, V. S., Kefalas, P., & Socaciu, C. (2010). Patterns of carotenoid pigments extracted from two orange peel wastes (Valencia and Navel var.). *Journal of Food Biochemistry*, *34*(1), 101-110.
- Chen, X.-M., Tait, A. R., & Kitts, D. D. (2017). Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food chemistry*, *218*, 15-21.
- Chen, Z. T., Chu, H. L., Chyau, C. C., Chu, C. C., & Duh, P. D. (2012). Protective effects of sweet orange (*Citrus sinensis*) peel and their bioactive compounds on oxidative stress. *Food Chem*, *135*(4), 2119-2127. doi:10.1016/j.foodchem.2012.07.041
- Darenskaya, M. A., Kolesnikova, L. I., & Kolesnikov, S. I. (2021). Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction. *Bull Exp Biol Med*, *171*(2), 179-189. doi:10.1007/s10517-021-05191-7
- De la Torre, I., Martin-Dominguez, V., Acedos, M. G., Esteban, J., Santos, V., & Ladero, M. (2019). Utilisation/upgrading of orange peel

- waste from a biological biorefinery perspective. *Applied microbiology and biotechnology*, 103, 5975-5991.
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y.-S., Haruenkit, R., Lojek, A., Čiž, M., . . . Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food chemistry*, 74(3), 309-315.
- Gosslau, A., Chen, K. Y., Ho, C.-T., & Li, S. (2014). Anti-inflammatory effects of characterized orange peel extracts enriched with bioactive polymethoxyflavones. *Food Science and Human Wellness*, 3(1), 26-35.
- Gosslau, A., Zachariah, E., Li, S., & Ho, C.-T. (2018). Effects of a flavonoid-enriched orange peel extract against type 2 diabetes in the obese ZDF rat model. *Food Science and Human Wellness*, 7(4), 244-251.
- Güzel, M., & Akpınar, Ö. (2017). Turunçgil kabuklarının biyoaktif bileşenleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 153-167.
- Hegazy, A., & Ibrahium, M. (2012). Antioxidant activities of orange peel extracts. *World applied sciences journal*, 18(5), 684-688.
- Huang, D. J., Ou, B. X., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856. doi:10.1021/jf030723c
- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 7432797. doi:10.1155/2016/7432797
- Iannazzo, D., Celesti, C., Espro, C., Ferlazzo, A., Giofrè, S. V., Scuderi, M., . . . Di Pietro, A. (2022). Orange-Peel-Derived Nanobiochar for Targeted Cancer Therapy. *Pharmaceutics*, 14(10). doi:10.3390/pharmaceutics14102249
- Irina, I., Cédric, P., Ghoul, M., & Boudhrioua, N. (2017). Antioxidants of Maltease orange peel: Comparative investigation of the efficiency of four extraction methods. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(11), 126-135.
- Jelic, M. D., Mandic, A. D., Maricic, S. M., & Srdjenovic, B. U. (2021). Oxidative stress and its role in cancer. *J Cancer Res Ther*, 17(1), 22-28. doi:10.4103/jcrt.JCRT\_862\_16
- Khosravi, M., Poursaleh, A., Ghasempour, G., Farhad, S., & Najafi, M. (2019). The effects of oxidative stress on the development of atherosclerosis. *Biol Chem*, 400(6), 711-732. doi:10.1515/hsz-2018-0397
- Lai, C., Liang, Y., Zhang, L., Huang, J., Kaliaperumal, K., Jiang, Y., & Zhang, J. (2022). Variations of Bioactive Phytochemicals and Antioxidant Capacity of Navel Orange Peel in Response to Different Drying Methods. *Antioxidants*, 11(8), 1543.
- Liew, S. S., Ho, W. Y., Yeap, S. K., & Sharifudin, S. A. B. (2018). Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of Citrus sinensis peel extracts. *PeerJ*, 6, e5331. doi:10.7717/peerj.5331
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., . . . Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*, 13, 757-772. doi:10.2147/cia.s158513
- Mahato, N., Sinha, M., Sharma, K., Koteswararao, R., & Cho, M. H. (2019). Modern extraction and purification techniques for obtaining high purity food-grade bioactive compounds and value-added co-products from citrus wastes. *Foods*, 8(11), 523.
- Oboh, G., & Ademosun, A. (2012). Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels. *Journal of food science and technology*, 49, 729-736.
- Oboh, G., & Ademosun, A. O. (2012). Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels. *J Food Sci Technol*, 49(6), 729-736. doi:10.1007/s13197-010-0222-y
- Panwar, D., Saini, A., Panesar, P. S., & Chopra, H. K. (2021). Unraveling the scientific perspectives of citrus by-products utilization: Progress towards circular economy. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 549-562.
- Papagianni, O., Argyri, K., Loukas, T., Magkoutis, A., Biagki, T., Skalkos, D., . . . Koutelidakis, A. E. (2021). Postprandial Bioactivity of a Spread Cheese Enriched with Mountain Tea and Orange Peel Extract in Plasma Oxidative Stress Status, Serum Lipids and Glucose Levels: An Interventional Study in Healthy Adults. *Biomolecules*, 11(8). doi:10.3390/biom11081241
- Rezzadori, K., Benedetti, S., & Amante, E. (2012). Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for new products. *Food and bioproducts processing*, 90(4), 606-614.
- Sawalha, S. M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2009). Quantification of main phenolic compounds in sweet and bitter orange peel using CE-MS/MS. *Food Chemistry*, 116(2), 567-574.
- Shehata, M. G., Awad, T. S., Asker, D., El Sohaimy, S. A., Abd El-Aziz, N. M., & Youssef, M. M. (2021). Antioxidant and antimicrobial activities and UPLC-ESI-MS/MS polyphenolic profile of sweet orange peel extracts. *Current research in food science*, 4, 326-335.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Tajaldini, M., Samadi, F., Khosravi, A., Ghasemnejad, A., & Asadi, J. (2020). Protective and anticancer effects of orange peel extract and naringin in doxorubicin treated esophageal cancer stem cell xenograft tumor mouse model. *Biomed Pharmacother*, 121, 109594. doi:10.1016/j.biopha.2019.109594
- Teleanu, D. M., Niculescu, A. G., Lungu, I., Radu, C. I., Vladăcenco, O., Roza, E., . . . Teleanu, R. I. (2022). An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*, 23(11). doi:10.3390/ijms23115938
- Zhang, J., Zhang, L., Lai, C., Liang, Y., Gao, L., Kaliaperumal, K., & Jiang, Y. (2022). Nutraceutical potential of navel orange peel in diabetes management: The chemical profile, antioxidant,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and antiglycation effects of its flavonoids. *Food Bioscience*, 49, 101943

# Sigara Kullanımının Endokrin Sistem Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

## Evaluation of the Effects of Smoking on the Endocrine System

Büşra ŞAHİN MAZLUMOĞLU<sup>1</sup> 

Nagihan DEMİRTAŞ<sup>1</sup> 

Şaziye Sezin PALABIYIK YÜCELİK<sup>1,2</sup>



<sup>1</sup> Atatürk University, Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Erzurum, Türkiye

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs University, Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Samsun, Türkiye



### ÖZ

Tüm dünyada yaygın olarak kullanılan sigara, dünya çapında önlenebilir hastalık ve ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Sigaranın küresel olarak kullanımının en önemli sebebi; içerisindeki nikotin ve diğer toksik bileşiklerin bağımlılık potansiyelinin yüksek olmasındandır. Sigara dumanına aktif ve pasif maruziyet sonucu pek çok kimyasal bileşik ve küçük partikül akciğerlerden inhale edilerek hızla kan dolaşımına girer. Bu maddeler ise kardiyovasküler sistem başta olmak üzere vücutta hemen hemen tüm organ ve sistemleri etkileyebilir. Sigara kullanımının endokrin sistem üzerine etkileri de son yıllarda önemli bir araştırma konusu haline gelmiş olup, azalmış fertilitate, gebelikle ilgili istenmeyen sonuçlar ve yavrularda uzun vadeli olumsuz etkiler gibi reproduktif sistem ile ilişkili pek çok araştırma yapılmıştır. Bununla birlikte erişkin fizyolojisi ve sağlıklı gelişim için esansiyel olan tiroid hormonları ile adrenal hormonlar üzerine etkileri de çalışmalarda tartışma konusudur. Son olarak yine endokrin bozucu etkilerinden kaynaklı diyabet riskindeki artış ile ilişkisi de çalışmalarda ön plana çıkmaktadır. Bu çalışma kapsamında, sigara kullanımının endokrin sistem üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmalar derlenmiştir. Söz konusu çalışmaların sonuçları doğrultusunda, giderek yaygınlaşan sigara kullanımının önüne geçilerek sigaranın tetiklediği diyabet, kadın ve erkek üreme sistemi bozuklukları, tiroid ile ilgili problemler gibi kronik hastalıkların önlenileceği vurgulanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Sigara, Endokrin bozucu kimyasal maddeler, Tiroid, Diyabet, Üreme sistemi

### ABSTRACT

Smoking which is widely used all over the world, is one of the leading cause of preventable disease and death worldwide. The most important reason for the global use of smoking is the high addiction potential of nicotine and other toxic compounds in it. As a result of active and passive exposure to cigarette smoke, many chemical compounds and small particles are inhaled from the lungs and rapidly enter the bloodstream. These substances can affect almost all organs and systems in the body, especially the cardiovascular system. The effects of smoking on the endocrine system have also become an important research topic in recent years, and many studies have been conducted on the reproductive system, such as reduced fertility, undesirable outcomes related to pregnancy and long-term negative effects on offspring. In addition, its effects on thyroid hormones and adrenal hormones, which are essential for adult physiology and healthy development, are also a matter of debate in studies. Finally, its relationship with the increase in the risk of diabetes due to its endocrine disrupting effects also come into prominence in studies. Within the scope of this review, studies evaluating the effects of smoking on the endocrine system have been reviewed. In line with the results of these studies, it has been emphasized that chronic diseases such as diabetes, male and female reproductive system disorders, and thyroid-related problems triggered by smoking can be prevented by preventing the increasingly widespread use of cigarettes.

**Keywords:** Smoking, Endocrine disruptors, Thyroid, Diabetes, Reproductive system

### Giriş

Sigara kullanımı hastalıkların ve ölümlerin önde gelen sebebi olmaya devam etmekte (Fowler ve ark., 2019) ve her yıl 440.000'den fazla erken ölümlerle ilişkilendirilmektedir (Mendelson ve ark., 2005). Dünya çapında yapılan araştırmalara göre, sigara dumanının yılda 8 milyondan fazla insanın ölümünden sorumlu olduğu ve Dünya Sağlık Örgütü'ne göre bu ölümlerin 7 milyondan fazlası doğrudan sigara kullanımından kaynaklandığı; yaklaşık 1,2 milyon ölümün ise pasif içiciliğin sonucu olduğu düşünülmektedir (Miranda ve ark., 2020). Ülkemizde sigara kullanım sıklığına bakacak olursak 2022 yılındaki Türkiye Sağlık Araştırması verilerine göre her gün tütün mamulü kullanan 15 yaş ve üstü bireylerin oranı önceki yıllara göre artış göstererek %28,3 olmuştur.

### Publication Date

Geliş Tarihi/Received 29.09.2023

Kabul Tarihi/Accepted 01.11.2023

Yayın Tarihi/Publication 28.02.2024

### Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Şaziye Sezin PALABIYIK YÜCELİK

E-mail: spalabiyik@atauni.edu.tr

Cite this article: Mazlumoğlu, B.S.,

Demirtaş, N., & Palabiyik-Yücelik, S.S.

(2024). Evaluation of the Effects of

Smoking on the Endocrine System.

*Current Research in Health Sciences*,

1(1): 34-42.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



Bu oranın 2022 yılında erkeklerde %41,3 kadınlarda ise %15,5 olduğu tespit edilmiştir. Tütün mamulü kullanmayan bireylerin (bırakanlar ve hiç kullanmayanlar) oranı ise önceki yıllara göre azalarak %68 olmuştur (Türkiye İstatistik Kurumu, 2023).

Benzersiz tasarımı ve erişim kolaylığı ile sigara, dünya çapında birçok genç ve yetişkinin tütün kullanım tercihi haline gelmiştir (Onor ve ark., 2017). Sigara kullanımının neden olduğu sağlık sorunları, sigarada bulunan ve yandıktan sonra neredeyse iki katına çıkan kimyasal maddelerden kaynaklanmaktadır. Yaklaşık 600 kadar bileşen içeren sigara yakıldığında, en az 70'inin kansere neden olduğu bilinen (örneğin dibenzantrazen, benzo-[ $\alpha$ ]piren, dimetilnitrozamin, dietilnitrozamin, vinilklorür, hidrazin ve arsenik gibi) ve ana psikoaktif bileşen nikotin başta olmak üzere 7000'den fazla kimyasal madde üretir (Novaes Soares ve ark., 2018; Gutvirtz & Sheiner, 2022). Bu maddeler doğrudan sigaranın 0-20 saniyelik inhalasyonu ile akciğerlere çekilir ve kan dolaşımına girer (Gutvirtz & Sheiner, 2022). Bu bileşenlerden nikotin ise beyinde yüksek konsantrasyonlara hızla ulaşır. Nikotin düzeylerindeki bu hızlı artış, sigarayı tütün kullanımının en güçlendirici ve bağımlılık yapıcı biçimi haline getirmiştir (Onor ve ark., 2017). Diğer bileşenler arasında mutajenler, alerjenler, toksik bileşikler, yüksek oranda karbon monoksit ve yaklaşık 700 katkı maddesi bulunmaktadır. Bunlar, hormonların salgılanması da dahil olmak üzere vücuttaki çok çeşitli süreçleri etkilemektedir (Novaes Soares ve ark., 2018).

Sigara, hipertansiyondan sonra en yüksek küresel hastalık yükünden sorumludur (Donna ve ark., 2018). Sigara içmenin, erken ölümün başlıca nedenlerinden biri olmasının yanı sıra, solunum yolu hastalıkları, bazı kanser türleri, kardiyovasküler hastalıklar ve glukoz intoleransı gibi bazı patolojilerin gelişimi için bir risk faktörü olduğu iyi bilinmektedir (Novaes Soares ve ark., 2018). Son zamanlarda, birçok çalışma, sigara içmenin romatoid artrit (RA), sedef hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve sistemik lupus eritematozus (SLE) dahil olmak üzere sistemik düzeyde kronik inflamasyon ve otoimmünite üzerinde geniş kapsamlı etkileri olduğunu göstermektedir (Qiu ve ark., 2017). Sigara kullanımı mide-bağırsak sistemini de etkileyerek peptik ülser riskini de artırmaktadır (Kato ve ark., 1992; Svanes ve ark., 1997). Sigara içen postmenopozal kadınlarda ise kalça kırığı ve kemik mineral yoğunluğunda azalma gözlenmektedir (Onor ve ark., 2017). Sigara kullanımının obezite, tip 2 diyabet ve pankreas kanseri için risk faktörü olabileceği belirlenmiştir (Li, 2012). Aynı zamanda bazı patolojik durumlarda sigara kullanımı komplikasyon riskini arttırmaktadır. Örneğin diyabet hastalarından sigara içenlerin nefropati, körlük, periferik nöropati ve amputasyon gibi komplikasyon geliştirme riski daha yüksek

olmaktadır. Pasif olarak sigara dumanına maruz kalan annelerin çocuklarında; düşük doğum oranları, ani bebek ölümleri ve tip 2 diyabet gibi olumsuz sağlık sonuçları gözlenmektedir (Onor ve ark., 2017).

Bu derleme kapsamında toplum sağlığını her yönden olumsuz etkileyen ve önemli bir risk teşkil eden sigara kullanımı ve buna bağlı nikotin maruziyetinin günümüzde de oldukça popüler araştırma konusu olan endokrin sistem üzerine etkilerinin klinik sonuçlarıyla birlikte açıklanması ve sigaranın endokrin sistemle ilgili hastalıklarla ilişkisinin tartışılması planlanmıştır.

### Endokrin bozucu kimyasal maddeler

Sentetik kimyasallar insanların günlük yaşamlarının bir parçası haline gelmiştir ve bu kimyasallardan bazıları endokrin bozucu olarak tanımlanmıştır (Rattan & Flaws, 2019). Endokrin bozucu bir bileşik, ABD Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency, EPA) tarafından "vücutta ve kanda bulunan hormonların sentezini, salgılanmasını, taşınmasını, metabolizmasını, bağlanmasını veya ortadan kaldırılmasını engelleyen eksojen bir ajan" olarak tanımlanmaktadır (Diamanti-Kandarakis ve ark., 2009a). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre ise "Bir endokrin bozucu, endokrin sistemin fonksiyonlarını değiştiren ve sonuç olarak bozulmamış bir organizmada veya onun alt popülasyonlarında olumsuz sağlık etkilerine neden olan eksojen bir madde veya karışımdır" olarak tanımlanmaktadır (Bergman ve ark., 2012). Endokrin bozucu kimyasallar oldukça heterojen bir gruptur ve iki farklı şekilde sınıflandırılabilirler. Fitoöstrojenler gibi doğal olarak oluşanlar veya sentezlenenler (ör; endüstriyel çözücüler veya lubrikanlar ve yan ürünleri, plastikler, plastikleştiriciler, pestisidler, fungusidler, dietilstilbesterol gibi bazı ilaçlar) ya da kaynaklarına göre doğal veya yapay hormonlar, hormonal yan etkileri olan ilaçlar, endüstriyel ve ev kimyasalları ile bunların yan ürünleri gibi sınıflamalara tabi olurlar (Kabir ve ark., 2015).

Endokrin bozucu kimyasallara maruziyetin kaynakları genellikle çeşitlidir ve günlük hayatımızda geniş bir dağılıma sahiptir (Tang ve ark., 2020). Endokrin bozucular gıdada, tüketim ürünlerinde, suda, toprakta ve vahşi yaşamda bulunmakta ve insanlar ağız yoluyla, inhalasyonla, dermal temasla veya enjeksiyon yoluyla maruz kalmaktadır. Tüketim ürünlerinde bulunan endokrin bozucular arasında, bunlarla sınırlı olmamakla birlikte, ftalatlar, parabenler, poliklorlu bifeniller, polibromlu difenil eterler (PBDEs), organoklorlu pestisitler, bisfenol A (BPA), dietilstilbestrol (DES) bulunmaktadır (Gore ve ark., 2015; Monneret, 2017; Rattan & Flaws, 2019). Düşük

konsantrasyonlarda etki gösteren endojen hormonları taklit eden endokrin bozucu maddelerin düşük konsantrasyonlarda etki gösterdiği ve normal insan maruziyeti aralığında etkili olduğu da gösterilmiştir (Rattan & Flaws, 2019). Fizyolojik açıdan organizmanın çevreyle iletişim kurmasını ve cevap vermesini sağlayan hormonal ve homeostatik sistemleri değiştiren bu bileşiklerle yapılan deneysel çalışmalar, klinik gözlemler ve epidemiyolojik çalışmalar endokrin bozucuların prostat, meme, akciğer, karaciğer, tiroid gibi organları ve üreme sistemlerini etkileyebildiklerini, bu organlarda kanser görülme sıklığını arttırdığını; aynı zamanda diyabet, obezite ve uzun süredir görülen infertilite problemleri, menstürasyon döngüsünün bozulması, sperm kalitesinin düşmesi ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (Diamanti-Kandarakis ve ark., 2009b; Gore ve ark., 2015; Kabir ve ark., 2015; Rattan ve ark., 2017).

Yukarıda bahsi geçen kimyasallar dışında günlük hayatta maruz kalınan pek çok kimyasalın endokrin sistem üzerine olumsuz etkileri bulunabilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalara göre sigara ve aktif bileşeni nikotinin de endokrin bozucu etkilere sahip olduğu gözlenmiştir.

#### **Sigara kullanımı ve sigara kullanımının endokrin sistem ile ilişkisi**

Sigara içmenin ve diğer tütün ürünlerini kullanmanın sağlık üzerindeki etkileri genel hatlarıyla iyi bilinmektedir (Kapoor & Jones, 2005). Kardiyovasküler ve akciğer hastalıkları ile ilgili olarak sigara farkındalığının artırılmasında kayda değer bir ilerleme olsa da; nikotin ve sigaranın endokrin sisteme etkileri hakkında çok daha az şey bilinmektedir (Tweed ve ark., 2012). Sigara içmek, hormonların salgılanması da dahil endokrin sistem üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Hipofiz, tiroid (Belin ve ark., 2004), adrenal bezler (Hiremagalur & Sabban, 1995), insülin aktivitesi (Tziomalos & Charsoulis, 2004), üreme fonksiyonlarının (Shrivastava ve ark., 2010) işleyişi üzerine etki etmektedir.

#### **Sigara Kullanımının Tiroid Fonksiyonlarına Etkisi**

Sigara kullanımının tiroid bezi üzerindeki etkisinin yaş, cinsiyet, etnik köken ve iyot durumu gibi çeşitli faktörlerden de etkilenen farklı mekanizmalar yoluyla olabileceği (Sawicka-Gutaj ve ark., 2014) ve bu mekanizmalardan birinin de sigara kullanımının hipotalamus-hipofiz-tiroid eksenini bozmasından kaynaklı olabileceği öne sürülmüştür (Lio ve ark., 1989). Sigara kullanımı tiroid hormonunun salınımına ve taşınmasına etki etmektedir (Galanti ve ark., 2005; Kim ve ark., 2019). Aynı zamanda sigaranın iyodür taşınmasına müdahale ettiği ve bu

durumun tiroid bezlerini etkilediği gözlenmektedir. İyot eksikliği ise toksik guatr riskini arttırmaktadır (Vestergaard ve ark., 2002; Soldin ve ark., 2009). Uzun yıllardır yapılan anketler ve kontrollü çalışmalar sigara kullanımı ve tiroid arasındaki ilişkinin netleştirilmesini, aynı zamanda sigara kullanımı ile Hashimoto tiroidi arasındaki ters ilişki gibi yeni bulguların da ortaya çıkmasını sağlamıştır (Wiersinga, 2013). Aynı şekilde sigara kullanımı ile tiroid kanseri riski arasında da çelişkili bulgular vardır. Örneğin 2011 yılında yapılan bir çalışmaya göre sigaranın tiroid kanseri riskini azalttığı gözlenmiştir. Ancak bu ilişkilerden sorumlu olan patofizyolojik mekanizmalar tartışma konusudur (Bandurska-Stankiewicz ve ark., 2011; Sawicka-Gutaj ve ark., 2014).

Son dönemde yapılan geniş katımlı araştırmalar, sigara içen bireylerin, içmeyenlere kıyasla önemli ölçüde daha düşük serum tiroit uyarıcı hormon (TSH) düzeylerine sahip olduğuna dair güçlü kanıtlar sunmuştur. Belin ve ark.'nın 15592 denekte yaptığı Üçüncü Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırmasına göre (Amerika Birleşik Devletleri 1988–1994), sigaranın tiroid fonksiyonu ile ilişkisini analiz etmek için serum kotinin seviyesini sürekli bir değişken olarak kullanmışlardır. Yaş, cinsiyet, ırk ve üriner iyot durumuna göre ayarlama yapıldıktan sonra serum kotinin seviyesindeki her 10 ng/mL artışın TSH düzeyinde azalmaya sebep olduğunu bulmuşlardır. Sigara içme durumu ile TSH arasında doza bağlı bir ilişki olduğu serum kotinin seviyesiyle doğrulanmıştır (Belin ve ark., 2004). Norveç HUNT çalışmasında da benzer şekilde ortalama TSH düzeylerinin, halen sigara içenlerde; daha önce sigara içenlere ve hiç sigara içmemiş kişilere göre daha düşük olduğu rapor edilmiştir. Daha önce sigara içenlerde TSH düzeyi, sigarayı bıraktıktan sonra zamanla kademeli olarak artarak; kadınlarda 5-10 yıl sonra ve erkeklerde 18 yıldan daha uzun bir sürede, hiç sigara içmeyen kişilerin düzeylerine ulaştığı gözlenmiştir (Asvold ve ark., 2007). Ayrıca Flouris ve ark. (2008) yaptığı çalışmalarda kısa süreli pasif içici bireylerde dahi toplam T3 ve serbest T4 seviyelerinin önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir (Flouris ve ark., 2008). Soldin ve ark. 18-44 yaşları arasında gebe olmayan 237 kadından oluşan bir popülasyonun serum kotinin düzeylerini ölçmüşlerdir. Denekler, aktif sigara içenler/pasif içiciler/sigara içmeyenler olarak sınıflandırılmıştır. Aktif sigara içenler ve pasif içici bireylerde, sigara içmeyenlere göre TSH düzeylerinde azalma olduğu bu çalışma ile de gösterilmiştir (Soldin ve ark., 2009).

#### **Sigara kullanımı ve hipotiroidizm**

Yapılan çalışmalara göre sigara kullanımı ve hipotiroidizm ile ilişkili çelişkili sonuçlar gözlenmiştir. Danimarka'da yapılan bir

çalışmaya göre sigara ve guatr arasında anlamlı pozitif bir ilişki gözlenmiştir (Knudsen ve ark., 2002). 2002 yılında yayınlanan bir meta-analizde sigara ile hipotiroidizm arasında bir ilişki bulunamamıştır (Vestergaard, 2002). Sigara kullanımının daha düşük serolojik otoimmün tiroidit prevalansı ve insidansı ile ilişkili olduğuna dair epidemiyolojik gözlemlere dayanarak, bu etkiden sigaranın bir bileşeninin sorumlu olması gerektiği düşünülmektedir (Caturegli ve ark., 2012). On yıllık bir süre sonunda yapılan birkaç büyük popülasyon tabanlı çalışmada ise, mevcut sigara içmenin hipotiroidiye karşı koruyucu etkisi olduğu ve Haşimato tiroiditi riskini azalttığı tespit edilmiştir (Wiersinga, 2013). Sigaranın hipotiroidizme karşı koruyucu etkinliğinde anatabinin rolü olduğu düşünülmektedir. Anatabin, tütün ve domates, patates, yeşilbiber, patlıcan gibi bitkilerde bulunan nikotine benzer yapıya sahip bir alkaloiddir. Ancak nikotinin aksine bağımlılık yapmaz ve terapötik dozlarda toksik değildir. Ancak anatabinin etki mekanizmalarını tamamen aydınlatmak için yeni çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır (Caturegli ve ark., 2012).

### **Sigara kullanımı ve hipertiroidizm**

Sigara, Graves hipertiroidinin ve Graves oftalmopatisinin (GO) gelişmesinde bir risk faktörüdür (Kimball ve ark., 2002; Thornton ve ark., 2007). Yapılan bir çalışmaya göre Graves hipertiroidi olan erkeklerde sigara kullanımı, hastalığın nüks etme ihtimalini arttırmaktadır; ancak kadınlarda böyle bir durum gözlenmemiştir (Kimball ve ark., 2002). 2002 yılında 25 çalışmayı içeren meta-analize göre sigara içenlerin Graves oftalmopatisine yakalanma riski sigara içmeyenlere göre daha yüksek bulunmuştur (Vestergaard, 2002). Graves hipertiroidi tanısında sigara içen ve içmeyen bireyler arasında serum TSH bağlayıcı inhibitör immunoglobulinlerin (TSH-binding inhibitory immunoglobulins-TBII) konsantrasyonlarında farklılıklar gözlenmemiştir. Bununla birlikte, sigara içen bireylerde antitiroid ilaçlarla tedavi sırasında TBII'de daha yavaş bir azalma eğilimi görülmüştür (Wiersinga, 2013). Sigarayla bıraktıktan sonra Graves hipertiroidizm riskinin hiç sigara içmeyenlerle aynı düzeye geldiği gözlenmiştir (Vestergaard, 2002).

### **Sigara kullanımı ve reproduktif sistem ilişkisi**

#### **Sigara kullanımı ve erkek reproduktif sistem ilişkisi**

Sigara kullanımının komplikasyonları bütün ülkeler için büyük bir sağlık sorunudur. Sigara dumanının ürogenital sistem üzerindeki etkileri, özellikle genç nüfusta büyük önem taşımaktadır (Ghanbari ve ark., 2007). Kronik sigara kullanımının her iki cinsten de doğurganlık sorunlarını tetikleyebildiği

bilinmektedir. Erkeklerde sigara kullanımı ile ilişkili en yaygın etkinin erektil disfonksiyon ile ilgili olduğu gözlenmiştir (Natali ve ark., 2005). Sigara kullanımının erkek steroid hormonlarına etkileri konusunda literatürde tutarsız sonuçlar bulunmaktadır. Testosteron seviyeleri ile ilgili çalışmalarda hem artışlar (Trummer ve ark., 2002; Wang ve ark., 2013) hem de azalmalar bildirilmiştir (Park ve ark., 2012). Ayrıca toplam testosteron seviyelerinde sigara içmenin herhangi bir etkisi olduğunu göstermeyen veriler de bulunmaktadır (Mendelson ve ark., 2003; Halmenschlager ve ark., 2009; Jandíková ve ark., 2017). 3427 erkek üzerinde yapılan kesitsel popülasyona dayalı bir çalışmada ise, Svartberg ve Jorde sigara içen erkeklerin hiç sigara içmeyen erkeklerle kıyasla önemli ölçüde daha yüksek toplam ve serbest testosteron düzeylerine sahip olduğunu ve testosteron düzeylerinin günlük sigara sayısı ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (Svartberg & Jorde, 2007). Buna karşılık, 255 erkek ile yapılan kesitsel bir başka çalışmada; testosteron, cinsiyet hormonu bağlayıcı globulin (SHBG), LH ve FSH dahil olmak üzere birçok erkek üreme hormonu belirtecinin sigara kullanımı ile arasında önemli bir ilişki gözlenmemiştir (Halmenschlager ve ark., 2009). Sigaranın testosteron üzerindeki etkilerine dair çelişkili veriler, sigara içen bireylerde testosteron düzeylerinin değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır.

Deneysel çalışmalarda ise Ahmadnia ve ark. sigara dumanının sıçanlarda spermatogenez üzerindeki etkisini değerlendirerek; seminifer tübüllerin ortalama çapının ve sertoli hücrelerinin sayısının azaldığını, bu durumun dolaylı yoldan da olsa spermatogenezi bozduğunu göstermişlerdir (Ghanbari ve ark., 2007). Shrivastava ve ark.'nın (2010) yaptıkları bir çalışmaya göre; sigara dumanına maruz kalan farelerin testislerinde, oksidatif stres ve protein oksidasyonunda önemli bir artış olduğunu gözlemlenmiştir (Shrivastava ve ark., 2010). Sigara dumanına maruz kalan kemirgenlerin daha az sayıda Leydig hücresine sahip olduğu, ayrıca germ hücre sayısında ve testisteki seminifer tübül çapında önemli ölçüde azalma olduğu bildirilmiştir (Mohamed ve ark., 2011).

### **Sigara kullanımı ve kadın reproduktif sistem ilişkisi**

Sigara kullanımı, keşfedildiği tarihten itibaren kısa sürede küresel bir sorun haline gelmiştir. İlk başlarda genellikle erkekler tarafından tercih edilen sigara, zamanla kadınlar arasında da popülerlik kazanmıştır. Bu alışkanlık, dünya genelinde yaygın hale gelmiştir (Sieminska & Jassem, 2014).

Kadınlar, erkeklere kıyasla sigara kullanımının zararlı etkilerine karşı daha savunmasızdır ve bu da kadınların sigara kullanımına bağlı hastalıklara yakalanma riskini arttırmaktadır. Ayrıca cinsiyet hormonlarının salgılanmasını da etkilemektedir

(Jandíková ve ark., 2017). Sowers ve ark. (2001), menopoz öncesi ve perimenopozal kadınlarda steroid düzeylerini ve onların yaşam tarzlarını, yaşlarını karşılaştırdıklarında en yüksek testosteron seviyelerinin sigara içenlerde, ardından sigarayı bırakanlarda ve daha sonra sigara içmeyenlerde olduğunu gözlemlemişlerdir (Sowers ve ark., 2001). Başka bir çalışmada sigara içen kadınların içmeyenlere göre daha yüksek testosteron düzeylerine sahip olduklarını ve bu artış riskinin günde içilen sigara sayısı ile doğru orantılı olduğunu göstermişlerdir (Manjer ve ark., 2005). Windham ve ark. (1999) günde 20'den fazla sigara tüketen kadınlarda, foliküler fazın daha kısa olduğunu ve içilen sigara sayısının düzensiz adet döngülerine sebep olabileceğini vurgulamışlardır (Windham ve ark., 1999).

Sigara, fetüs gelişimi için kritik dönemler olan gebelik ve emzirme döneminde kadınlar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır (Soares ve ark., 2019). Son veriler, hamile kadınların en az %22'sinin ilk trimesterde sigara içtiğini ve %14'ünün üçüncü trimester boyunca sigara içmeye devam ettiğini göstermektedir (King ve ark., 2018). Doğum öncesi sigara kullanımı erken doğum, düşük doğum ağırlığı ve bebek ölümleri ile ilişkilendirilmiştir (Dietz ve ark., 2010; Brown ve ark., 2016). Sigara bileşenleri plasenta ve anne sütü yoluyla bebeğe aktarılmaktadır. Bu durum anne ve bebek için olumsuz sonuçlara yol açmaktadır ve muhtemelen bebeğin metabolizmasının programlanmasına neden olmaktadır. Bu durum obezite gibi hastalıkların yetişkinlikte ortaya çıkma riskini artırmaktadır (Soares ve ark., 2019). Emzirme sırasında sigara içmeye devam eden anneler, çocuklarını ister pasif duman yoluyla ister anne sütü yoluyla sigarada bulunan tüm zararlı maddelere maruz bırakmaktadır (Giglia ve ark., 2007; Novaes Soares ve ark., 2018). Bu konuda daha fazla çalışma yapılarak sigara kullanımının fetal gelişim üzerindeki olumsuz etkilerinin daha iyi anlaşılması, anne adaylarının sigarayı bırakmaları konusunda daha bilinçli hale gelmesine de yardımcı olacaktır (Holbrook, 2016).

### **Sigara kullanımı ve adrenal bezler ile ilişkisi**

Nikotin, norepinefrin ve epinefrin seviyelerini arttırmakta, ayrıca dopaminin biyoyararlanımını değiştirmektedir (Pomerleau, 1992). Sıçanlarda tek doz nikotin enjeksiyonu, katekolamin gen aktivasyonunu artırarak tirozin hidrosilazın ekspresyonunu arttırmaktadır (Hiremagalur & Sabban, 1995). Adrenal kortikal hormon düzeylerinde meydana gelen değişikliğin tekrarlanan sigara içimine neden olduğu ile ilgili çalışmalar vardır; ancak bu durumun altta yatan mekanizmaları tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır (Baron ve ark., 1995).

Sigara içmenin dolaşımdaki kortizol seviyelerini artırdığına dair çalışmalar vardır (Wilkins ve ark., 1982; Yeh & Barbieri, 1989). Boston yakınlarında orta yaşlı 2300 erkek üzerinde yapılan çalışmada sigara kullanımı ile dehidroepiandrosteron (DHEA), dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS), kortizol ve androstenedion arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Sigara kullanımının artmasıyla bu değerlerin yükseldiği gözlenmiştir (Field ve ark., 1994). Sigaranın bırakılması ile nikotinin adrenal sistemde uyarısının kesilmesi sonucu serum adrenalin ve kortizol seviyelerinde önemli bir düşüş gözlenmiştir (Puddey ve ark., 1984). Polikistik over sendromu olan, sigara içen ve içmeyen kadınlar arasında yapılan çalışmada; sigaranın adrenal aktiviteyi arttırdığı ve prolaktin düzeylerini azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca kolesterol, trigliserit ve LDL ile pozitif ilişki gözlenirken HDL ile ters ilişki gözlenmiştir (Glntborg ve ark., 2012). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada nikotin uygulanan grubun kontrol grubuna göre adrenal ağırlığında ve serum MDA düzeylerinde artış olduğu gözlenmiştir (Khalaf ve ark., 2017). Sigaranın oksidatif strese ve inflamatuvar strese artışa neden olmasından dolayı adrenal bezlerde değişikliklere sebep olduğu düşünülmektedir (Abdel Fattah ve ark., 2019). Hamile kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada annenin sigara içmesinin fetüsün ACTH düzeyini anlamlı ölçüde arttırdığını gözlemlemişlerdir (McDonald ve ark., 2006). Johnston ve ark.'nın yaptığı çalışma da bir önceki çalışmanın sonuçlarını destekler nitelikte sigara içmenin fetal ACTH seviyelerinde değişikliklere sebep olduğunu gözlemlemişlerdir (Johnston ve ark., 2018).

### **Sigara kullanımı ve pankreas fonksiyonları ile ilişkisi**

Sigara kullanımı ve diyabet arasındaki ilişki son zamanlarda araştırmaların büyük ilgi odağı olmuştur. Sigara içmek insüline bağımlı olmayan diyabete yakalanma riskini artırmaktadır (Kawakami ve ark., 1997; Rimm ve ark., 1993). Sigara kullanımı ve diyabet arasındaki epidemiyolojik bağlantıya dair güçlü kanıtlara rağmen, ilişkinin temel nedeni ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Haire-Joshu ve ark., 1999). Yapılan çalışmalar, sigara içmeyi insülin direnci ile ilişkilendirmişlerdir (Haire-Joshu ve ark., 1999; Tziomalos & Charsoulis, 2004; Śliwińska-Mossoń & Milnerowicz, 2017). Bununla birlikte hamile ve emziren hayvanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalar sigara içmenin yavrualarda  $\beta$  hücre fonksiyonunu bozduğunu göstermektedir (Maddatu ve ark., 2017; Bruin ve ark., 2008). Ostgren ve ark. (2000) 423'ü erkek 448'i kadın olmak üzere hipertansiyon ve tip 2 diyabeti olmayan 871 kişi ile yaptıkları çalışmada halihazırda sigara içenlerin HOMA- $\beta$  düzeyleri

değerlendirildiğinde erkeklerde hiç sigara içmeyenlere kıyasla daha düşük  $\beta$  hücre fonksiyonuna sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu bulgular, yaş, vücut kitle indeksi, alkol alımı ve fiziksel aktivite faktörleri düzeltilmiş olsa dahi, sigara içme ile  $\beta$  hücre fonksiyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir. İlginç bir şekilde, kadınlarda ise hiç sigara içmeyenler ve halen sigara içenler kıyaslandığında sigara içme ve  $\beta$  hücre işlevi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar cinsiyete bağlı farklılık gösterse de sigara içmenin pankreas dokusu üzerindeki geri döndürülebilir olumsuz etkisini yansıtmakta; bu da hem  $\beta$  hücre fonksiyonunun baskılanmasına hem de pankreas kanseri riskinin artmasına neden olabileceğine işaret etmektedir (Ostgren ve ark., 2000). Çalışmalarda, ayrıca sigara ve glisemi arasındaki ilişkiler de incelenmiştir. Avrupa Kanseri Araştırması (EPIC-Norfolk) çalışmasında takip edilen 2704 erkek ve 3385 kadından oluşan geniş bir kesitsel çalışmada, sigara içiminin bağımsız olarak daha yüksek hemogloblin A1c (HbA1c) konsantrasyonları ile ilişkili olduğu; hem erkek hem de kadın sigara içenlerde HbA1c değerlerinde benzer değişiklikler olduğu görülmüştür. Daha önce sigara içmiş erkekler arasında sigarayı bıraktıktan sonraki yıllarda HbA1c konsantrasyonları ve sigara kullanımı arasında ters ilişki olduğu gözlenmiştir (Sargeant ve ark., 2001). Yaşları 30-95 arasında olan ve 14 yıl boyunca izlenen 1.236.443 erkek ve kadından oluşan bir Kore kohort çalışması gerçekleştirilmiştir. Çalışmada sigara kullanımı, hem erkekler hem de kadınlar arasında diyabetin ortaya çıkışını ve ölüm riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre yine cinsiyet fark etmeksizin sigara içen bireylerin diyabetten dolayı ayaktan tedavi ya da hastaneye yatışlarında artış olmuştur (Maddatu ve ark., 2017; Jee ve ark., 2010). Diyabeti olmayan 17.287 yetişkini kapsayan Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırmasından elde edilen verilere göre kotinin ile HbA1c düzeyleri arasındaki ilişki ölçülmüştür. HbA1c'nin, hiç sigara içmemiş olanlara kıyasla sigara içenlerde %7'lik bir artış sergilediğini göstermişlerdir (Clair ve ark., 2011). ABD'de 135.906 postmenopozal kadın 11 yıl boyunca izlenmiştir. Yapılan çalışmada sigara içenlerin hiç sigara içmeyenlere göre diyabete yakalanma riskinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Hatta ilk 3 yıllık takip döneminde sigarayı bırakan kadınlarda tehlike oranının daha da yüksek olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte sigarayı bırakanların geçen süreyle orantılı olarak diyabete yakalanma riski de azalmış, ancak 10 yıllık süre sonunda sigara içmeyenlerle aynı risk düzeyine gelmiştir. Bu kadınların diyabete yakalanma riskinin 10 yıl sonra sigarayı hiç kullanmayanlarla aynı seviyeye geldikleri gözlenmiştir (Luo ve ark., 2013). Yapılan çalışmaların çoğu, sigara içmenin Tip 2 diyabet riskinin gelişmesine neden

olduğu yönündedir. Ancak son zamanlarda pasif sigara maruziyetinin de Tip 2 diyabet gelişimine neden olabileceği yönünde çalışmalar vardır. Tip 2 diyabet ve pasif sigara içiciliği ile ilgili yapılan ilk meta analiz çalışmasına göre, pasif sigara içiciliğinin Tip 2 diyabet görülme riskinde bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (Wang, Ji ve ark., 2013). 2022 yılında yapılan başka bir meta analiz çalışmasına göre de sigara ile Tip 2 diyabet arasında zayıf da olsa bir ilişki olduğunu desteklemektedir (Larsson & Burgess, 2022).

Sigara kullanımı ve obezite, hem tip 2 diyabet hem de pankreas kanseri için belirlenmiş risk faktörleridir (Li, 2012). Çoğu vaka-kontrol ve kohort çalışmasında hiç sigara içmeyenlere kıyasla sigara içenlerde pankreas kanseri riskinin 2 ila 3 kat arttığı rapor edilmiştir (Boyle ve ark., 1996). Pankreas kanseri riski ile seçilen tıbbi durumlar arasındaki ilişkiyi araştırmak için bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, sigara içmenin pankreas kanserinde istatistiksel olarak anlamlı bir nedensel rolü olduğu tahmin edilmektedir. İleriki yıllarda yapılan meta analiz çalışması da bu sonuçları destekler niteliktedir (Bonelli ve ark., 2003; Larsson & Burgess, 2022). Günlük içilen sigara sayısı ile pankreas kanseri riski arasında artan bir ilişki bulunmaktadır. Sigara içmeyenlere göre günde 25 veya daha fazla sigara içenlerde risk 4 kata ulaşmıştır (Zheng ve ark., 1993; Boyle ve ark., 1996; Muscat ve ark., 1997). Boyle ve ark. göre ise istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir pankreas kanseri geliştirme riskinin 14 yıl boyunca devam ettiğidir. Bu durum, toplam sigara içme miktarından bağımsız gibi görünmektedir. Sigarayı bırakmanın üzerinden 15 yıl geçtiğinde, risk ömür boyu sigara içmeyenlerin düzeyine inmiştir. Bu durum sigarayı bırakmanın pankreas kanserinden ölenlerin sayısındaki azalmayı da göstermektedir (Boyle ve ark., 1996; Bonelli ve ark., 2003).

### Tartışma

Sigara içmek, dünyada önlenebilir hastalıkların başında gelmektedir. Sigaranın bağımlılık yapıcı etkisinin yanı sıra sistemik olarak ciddi yan etkileri bulunmaktadır. Sigara kullanımı önemli klinik sonuçlara yol açabilen hormon salgılanması üzerinde etkilere sahiptir. Bu etkiler, sigaranın aktif bileşeni olan nikotin aracılığıyla ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu derleme makale ile sigara kullanımının hipofiz, tiroid, adrenal bezler, cinsiyet hormonları, pankreas üzerindeki etkileri ele alınmış ve bu etkilerin insan sağlığı için olumsuz bir risk faktörü olduğu görülmüştür. Toplum sağlığına olumsuz etkilerinin kanıtlanmasının ardından Sağlık Bakanlığı ve sivil toplum kuruluşları tarafından sigarayı bırakma kampanyaları başlatılmıştır. Sigara kullanımının bırakılması ise diğer sağlık

risklerinde olduğu gibi, yaşamın uzatılması ve hastalıklardan korunma açısından önem taşımaktadır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- SSY.; Tasarım- SSY., BSM.; Denetleme- SSY.; Literatür Taraması- BSM., ND.; Yazıyı Yazan- BSM., ND.; Eleştirel İnceleme- SSY., BSM., ND.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept- SSY.; Design- SSY., BSM.; Supervision- SSY.; Literature Search- BSM., ND.; Writing Manuscript- BSM., ND.; Critical Review- SSY., BSM., ND.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

## Kaynaklar

- Ake, B., Jerrold, J.H., Susan, J., Karen A.K., Thomas, Z. (2012). State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals.
- Abdel Fattah, S., Rizk, A.-E., Motawie, A., Abd El-Galil, T., & El Sebaie, M. (2019). Effects of nicotine on rat adrenal gland: crosstalk between oxidative and inflammatory markers, and amelioration by melatonin. *Biotechnic & Histochemistry*, 94(4), 234-243.
- Asvold, B. O., Bjoro, T., Nilsen, T. I., & Vatten, L. J. (2007). Tobacco smoking and thyroid function: a population-based study. *Arch Intern Med*, 167(13), 1428-1432.
- Bandurska-Stankiewicz, E., Aksamit-Białoszewska, E., Rutkowska, J., Stankiewicz, A., & Shafie, D. (2011). The effect of nutritional habits and additions on the incidence of thyroid carcinoma in the Olsztyn province of Poland. *Endokrynologia Polska*, 62(2), 145-150.
- Baron, J. A., Comi, R. J., Cryns, V., Brinck-Johnsen, T., & Mercer, N. G. (1995). The effect of cigarette smoking on adrenal cortical hormones. *J Pharmacol Exp Ther*, 272(1), 151-155.
- Belin, R. M., Astor, B. C., Powe, N. R., & Ladenson, P. W. (2004). Smoke exposure is associated with a lower prevalence of serum thyroid autoantibodies and thyrotropin concentration elevation and a higher prevalence of mild thyrotropin concentration suppression in the third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab*, 89(12), 6077-6086.
- Bonelli, L., Aste, H., Bovo, P., Cavallini, G., Felder, M., Gusmaroli, R., Morandini, E., Ravelli, P., Briglia, R., & Lombardo, L. (2003). Exocrine pancreatic cancer, cigarette smoking, and diabetes mellitus: a case-control study in northern Italy. *Pancreas*, 27(2), 143-149.
- Boyle, P., Maisonneuve, P., Bueno de Mesquita, B., Ghadirian, P., Howe, G. R., Zatonski, W., Baghurst, P., Moerman, C. J., Simard, A., Miller, A. B., Przewoniak, K., McMichael, A. J., Hsieh, C. C., & Walker, A. M. (1996). Cigarette smoking and pancreas cancer: a case control study of the search programme of the IARC. *Int J Cancer*, 67(1), 63-71.
- Brown, Q. L., Hasin, D. S., Keyes, K. M., Fink, D. S., Ravenell, O., & Martins, S. S. (2016). Health insurance, alcohol and tobacco use among pregnant and non-pregnant women of reproductive age. *Drug and alcohol dependence*, 166, 116-124.
- Bruin, J. E., Petre, M. A., Raha, S., Morrison, K. M., Gerstein, H. C., & Holloway, A. C. (2008). Fetal and neonatal nicotine exposure in

Wistar rats causes progressive pancreatic mitochondrial damage and beta cell dysfunction. *PLoS one*, 3(10), e3371.

- Caturegli, P., De Remigis, A., Ferlito, M., Landek-Salgado, M. A., Iwama, S., Tzou, S. C., & Ladenson, P. W. (2012). Anatabine ameliorates experimental autoimmune thyroiditis. *Endocrinology*, 153(9), 4580-4587.
- Clair, C., Bitton, A., Meigs, J. B., & Rigotti, N. A. (2011). Relationships of cotinine and self-reported cigarette smoking with hemoglobin A1c in the U.S.: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2008. *Diabetes care*, 34(10), 2250-2255.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.-P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T., & Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocrine reviews*, 30(4), 293-342.
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T., & Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*, 30(4), 293-342.
- Dietz, P. M., England, L. J., Shapiro-Mendoza, C. K., Tong, V. T., Farr, S. L., & Callaghan, W. M. (2010). Infant morbidity and mortality attributable to prenatal smoking in the US. *American journal of preventive medicine*, 39(1), 45-52.
- Donna, P., Amir, M., Atieh, A., Fereidoun, A., & Farzad, H. (2018). Tobacco smoking: findings from 20 years of the Tehran lipid and glucose study.
- Field, A. E., Colditz, G. A., Willett, W. C., Longcope, C., & McKinlay, J. B. (1994). The relation of smoking, age, relative weight, and dietary intake to serum adrenal steroids, sex hormones, and sex hormone-binding globulin in middle-aged men. *J Clin Endocrinol Metab*, 79(5), 1310-1316.
- Flouris, A. D., Metsios, G. S., Jamurtas, A. Z., & Koutedakis, Y. (2008). Sexual dimorphism in the acute effects of secondhand smoke on thyroid hormone secretion, inflammatory markers and vascular function. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 294(2), E456-462.
- Fowler, C. D., Turner, J. R., & Imad Damaj, M. (2019). Molecular mechanisms associated with nicotine pharmacology and dependence. *Substance Use Disorders*, 373-393.
- Galanti, M., Granath, F., Cnattingius, S., EKBOM-SCHNELL, A., & Ekblom, A. (2005). Cigarette smoking and the risk of goitre and thyroid nodules amongst parous women. *Journal of internal medicine*, 258(3), 257-264.
- Ghanbari, M., Ahmadnia, H., Moradi, M. R., & Khajeh, D. M. (2007). Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats.
- Giglia, R., Binns, C. W., Alfonso, H., & Zhan, Y. (2007). Which mothers smoke before, during and after pregnancy? *Public health*, 121(12), 942-949.
- Glintborg, D., Mumm, H., Hougaard, D. M., Ravn, P., & Andersen, M. (2012). Smoking is associated with increased adrenal responsiveness, decreased prolactin levels and a more adverse lipid profile in 650 white patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, 28(3), 170-174.
- Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, A., Prins, G. S., Toppari, J., & Zoeller, R. T. (2015). EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr Rev*, 36(6), E1-E150.
- Gutvirth, G., & Sheiner, E. (2022). Airway pollution and smoking in reproductive health. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 85(Pt B), 81-93.
- Haire-Joshu, D., Glasgow, R. E., & Tibbs, T. L. (1999). Smoking and diabetes. *Diabetes care*, 22(11), 1887-1898.



- Halmenschlager, G., Rossetto, S., Lara, G. M., & Rhoden, E. L. (2009). Evaluation of the effects of cigarette smoking on testosterone levels in adult men. *J Sex Med*, 6(6), 1763-1772.
- Hiremagalur, B., & Sabban, E. L. (1995). Nicotine elicits changes in expression of adrenal catecholamine biosynthetic enzymes, neuropeptide Y and immediate early genes by injection but not continuous administration. *Brain Res Mol Brain Res*, 32(1), 109-115.
- Holbrook, B. D. (2016). The effects of nicotine on human fetal development. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 108(2), 181-192.
- Jandíková, H., Dušková, M., & Stárka, L. (2017). The influence of smoking and cessation on the human reproductive hormonal balance. *Physiological Research*, 66, S323-S331.
- Jee, S. H., Foong, A. W., Hur, N. W., & Samet, J. M. (2010). Smoking and risk for diabetes incidence and mortality in Korean men and women. *Diabetes care*, 33(12), 2567-2572.
- Johnston, Z. C., Bellingham, M., Filis, P., Soffientini, U., Hough, D., Bhattacharya, S., Simard, M., Hammond, G. L., King, P., & O'Shaughnessy, P. J. (2018). The human fetal adrenal produces cortisol but no detectable aldosterone throughout the second trimester. *BMC medicine*, 16(1), 1-16.
- Kabir, E. R., Rahman, M. S., & Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(1), 241-258.
- Kapoor, D., & Jones, T. (2005). Smoking and hormones in health and endocrine disorders. *European journal of endocrinology*, 152(4), 491-499.
- Kato, I., Nomura, A. M., Stemmermann, G. N., & Chyou, P.-H. (1992). A prospective study of gastric and duodenal ulcer and its relation to smoking, alcohol, and diet. *American journal of epidemiology*, 135(5), 521-530.
- Kawakami, N., Takatsuka, N., Shimizu, H., & Ishibashi, H. (1997). Effects of smoking on the incidence of non-Insulin-dependent diabetes mellitus: replication and extension in a Japanese cohort of male employees. *American journal of epidemiology*, 145(2), 103-109.
- Khalaf, H. A., Ghoneim, F. M., Arafat, E. A., & Mahmoud, E.-H. M. (2017). Histological effect of nicotine on adrenal zona fasciculata and the effect of grape seed extract with or without withdrawal of nicotine. *Journal of microscopy and ultrastructure*, 5(3), 123-131.
- Kim, S.-j., Kim, M. J., Yoon, S. G., Myong, J. P., Yu, H. W., Chai, Y. J., Choi, J. Y., & Lee, K. E. (2019). Impact of smoking on thyroid gland: dose-related effect of urinary cotinine levels on thyroid function and thyroid autoimmunity. *Scientific reports*, 9(1), 1-6.
- Kimball, L., Kulinskaya, E., Brown, B., Johnston, C., & Farid, N. R. (2002). Does smoking increase relapse rates in Graves' disease? *Journal of endocrinological investigation*, 25, 152-157.
- King, E., Campbell, A., Belger, A., & Grewen, K. (2018). Prenatal nicotine exposure disrupts infant neural markers of orienting. *Nicotine and Tobacco Research*, 20(7), 897-902.
- Knudsen, N., Bülow, I., Laurberg, P., Ovesen, L., Perrild, H., & Jørgensen, T. (2002). Association of tobacco smoking with goiter in a low-iodine-intake area. *Archives of Internal Medicine*, 162(4), 439-443.
- Kurumu, T. i. (2023, 02.10.2023). Türkiye Sağlık Araştırması, 2022. TUIK. Retrieved 11 September 2023.
- Larsson, S. C., & Burgess, S. (2022). Appraising the causal role of smoking in multiple diseases: A systematic review and meta-analysis of Mendelian randomization studies. *EBioMedicine*, 82.
- Li, D. (2012). Diabetes and pancreatic cancer. *Molecular carcinogenesis*, 51(1), 64-74.
- Lio, S., Napolitano, G., Marinuzzi, G., & Monaco, F. (1989). Role of smoking in goiter morphology and thyrotropin response to TRH in untreated goitrous women. *Journal of endocrinological investigation*, 12(2), 93-97.
- Luo, J., Rossouw, J., Tong, E., Giovino, G. A., Lee, C. C., Chen, C., Ockene, J. K., Qi, L., & Margolis, K. L. (2013). Smoking and diabetes: does the increased risk ever go away? *Am J Epidemiol*, 178(6), 937-945.
- Maddatu, J., Anderson-Baucum, E., & Evans-Molina, C. (2017). Smoking and the risk of type 2 diabetes. *Translational Research*, 184, 101-107.
- Manjer, J., Johansson, R., & Lenner, P. (2005). Smoking as a determinant for plasma levels of testosterone, androstenedione, and DHEAs in postmenopausal women. *Eur J Epidemiol*, 20(4), 331-337.
- McDonald, S. D., Walker, M., Perkins, S., Beyene, J., Murphy, K., Gibb, W., & Ohlsson, A. (2006). The effect of tobacco exposure on the fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 113(11), 1289-1295.
- Mendelson, J. H., Sholar, M. B., Goletiani, N., Siegel, A. J., & Mello, N. K. (2005). Effects of low-and high-nicotine cigarette smoking on mood states and the HPA axis in men. *Neuropsychopharmacology*, 30(9), 1751-1763.
- Mendelson, J. H., Sholar, M. B., Mutschler, N. H., Jaszyna-Gasior, M., Goletiani, N. V., Siegel, A. J., & Mello, N. K. (2003). Effects of intravenous cocaine and cigarette smoking on luteinizing hormone, testosterone, and prolactin in men. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307(1), 339-348.
- Miranda, R. A., de Moura, E. G., & Lisboa, P. C. (2020). Tobacco smoking during breastfeeding increases the risk of developing metabolic syndrome in adulthood: Lessons from experimental models. *Food and Chemical Toxicology*, 111623.
- Mohamed, M., Sulaiman, S. A., Jaafar, H., & Sirajudeen, K. N. S. (2011). Antioxidant protective effect of honey in cigarette smoke-induced testicular damage in rats. *International journal of molecular sciences*, 12(9), 5508-5521.
- Monneret, C. (2017). What is an endocrine disruptor? *C R Biol*, 340(9-10), 403-405.
- Muscat, J. E., Stellman, S. D., Hoffmann, D., & Wynder, E. L. (1997). Smoking and pancreatic cancer in men and women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 6(1), 15-19.
- Natali, A., Mondaini, N., Lombardi, G., Del Popolo, G., & Rizzo, M. (2005). Heavy smoking is an important risk factor for erectile dysfunction in young men. *International journal of impotence research*, 17(3), 227-230.
- Novaes Soares, P., Silva Tavares Rodrigues, V., Cherem Peixoto, T., Calvino, C., Aparecida Miranda, R., Pereira Lopes, B., Peixoto-Silva, N., Lopes Costa, L., Claudio-Neto, S., & Christian Manhães, A. (2018). Cigarette smoke during breastfeeding in rats changes glucocorticoid and vitamin D status in obese adult offspring. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3084.
- Onor, I. O., Stirling, D. L., Williams, S. R., Bediako, D., Borghol, A., Harris, M. B., Darensburg, T. B., Clay, S. D., Okpechi, S. C., & Sarpong, D. F. (2017). Clinical effects of cigarette smoking: epidemiologic impact and review of pharmacotherapy options. *International journal of environmental research and public health*, 14(10), 1147.
- Ostgren, C. J., Lindblad, U., Ranstam, J., Melander, A., Rastam, L., Skaraborg, H., & Diabetes, P. (2000). Associations between smoking and beta-cell function in a non-hypertensive and non-diabetic population. *Skaraborg Hypertension and Diabetes Project. Diabet Med*, 17(6), 445-450.
- Park, M. G., Ko, K. W., Oh, M. M., Bae, J. H., Kim, J. J., & Moon, D. G. (2012). Effects of smoking on plasma testosterone level and erectile function in rats. *The journal of sexual medicine*, 9(2), 472-481.

- Pomerleau, O. F. (1992). Nicotine and the central nervous system: biobehavioral effects of cigarette smoking. *The American journal of medicine*, 93(1), S2-S7.
- Puddey, I. B., Vandongen, R., Beilin, L. J., & English, D. (1984). Haemodynamic and neuroendocrine consequences of stopping smoking--a controlled study. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 11(4), 423-426.
- Qiu, F., Liang, C.-L., Liu, H., Zeng, Y.-Q., Hou, S., Huang, S., Lai, X., & Dai, Z. (2017). Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: up and down or upside down? *Oncotarget*, 8(1), 268.
- Rattan, S., & Flaws, J. A. (2019). The epigenetic impacts of endocrine disruptors on female reproduction across generations. *Biology of reproduction*, 101(3), 635-644.
- Rattan, S., Zhou, C., Chiang, C., Mahalingam, S., Brehm, E., & Flaws, J. A. (2017). Exposure to endocrine disruptors during adulthood: consequences for female fertility. *Journal of Endocrinology*, 233(3), R109-R129.
- Rimm, E. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Willett, W. C., Rosner, B., Hennekens, C. H., & Speizer, F. E. (1993). Cigarette smoking and the risk of diabetes in women. *American Journal of Public Health*, 83(2), 211-214.
- Sargeant, L. A., Khaw, K. T., Bingham, S., Day, N. E., Luben, R. N., Oakes, S., Welch, A., & Wareham, N. J. (2001). Cigarette smoking and glycaemia: the EPIC-Norfolk Study. *European Prospective Investigation into Cancer. Int J Epidemiol*, 30(3), 547-554.
- Sawicka-Gutaj, N., Gutaj, P., Sowinski, J., Wender-Ozegowska, E., Czarnywojtek, A., Brazert, J., & Ruchala, M. (2014). Influence of cigarette smoking on thyroid gland - an update. *Endokrynologia Polska*, 65(1), 54-62.
- Shrivastava, V., Pekar, M., Grosser, E., Im, J., & Vigodner, M. (2010). SUMO proteins are involved in the stress response during spermatogenesis and are localized to DNA double-strand breaks in germ cells. *Reproduction*, 139(6), 999-1010.
- Sieminska, A., & Jassem, E. (2014). The many faces of tobacco use among women. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 20, 153.
- Śliwińska-Mossoń, M., & Milnerowicz, H. (2017). The impact of smoking on the development of diabetes and its complications. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 14(4), 265-276.
- Soares, P., Miranda, R., Peixoto, T., Carames, F., Guarda, D., Manhães, A., de Oliveira, E., de Moura, E., & Lisboa, P. (2019). Cigarette smoke during lactation in rat female progeny: Late effects on endocannabinoid and dopaminergic systems. *Life sciences*, 232, 116575.
- Soldin, O. P., Goughenour, B. E., Gilbert, S. Z., Landy, H. J., & Soldin, S. J. (2009). Thyroid hormone levels associated with active and passive cigarette smoking. *Thyroid*, 19(8), 817-823.
- Sowers, M. F., Beebe, J. L., McConnell, D., Randolph, J., & Jannausch, M. (2001). Testosterone concentrations in women aged 25-50 years: associations with lifestyle, body composition, and ovarian status. *Am J Epidemiol*, 153(3), 256-264.
- Svanes, C., Søreide, J., Skarstein, A., Fevang, B., Bakke, P., Vollset, S., Svanes, K., & Søreide, O. (1997). Smoking and ulcer perforation. *Gut*, 41(2), 177-180.
- Svartberg, J., & Jorde, R. (2007). Endogenous testosterone levels and smoking in men. The fifth Tromso study. *Int J Androl*, 30(3), 137-142.
- Tang, Z.-R., Xu, X.-L., Deng, S.-L., Lian, Z.-X., & Yu, K. (2020). Oestrogenic endocrine disruptors in the placenta and the fetus. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1519.
- Thornton, J., Kelly, S., Harrison, R., & Edwards, R. (2007). Cigarette smoking and thyroid eye disease: a systematic review. *Eye*, 21(9), 1135-1145.
- Trummer, H., Habermann, H., Haas, J., & Pummer, K. (2002). The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. *Human Reproduction*, 17(6), 1554-1559.
- Tweed, J. O., Hsia, S. H., Lutfy, K., & Friedman, T. C. (2012). The endocrine effects of nicotine and cigarette smoke. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 23(7), 334-342.
- Tziomalos, K., & Charsoulis, F. (2004). Endocrine effects of tobacco smoking. *Clinical endocrinology*, 61(6), 664-674.
- Vestergaard, P. (2002). Smoking and thyroid disorders-a meta-analysis. *European journal of endocrinology*, 146(2), 153-161.
- Vestergaard, P., Rejnmark, L., Weeke, J., Hoeck, H. C., Nielsen, H. K., Rungby, J., Laurberg, P., & Mosekilde, L. (2002). Smoking as a risk factor for Graves' disease, toxic nodular goiter, and autoimmune hypothyroidism. *Thyroid*, 12(1), 69-75.
- Wang, W., Yang, X., Liang, J., Liao, M., Zhang, H., Qin, X., Mo, L., Lv, W., & Mo, Z. (2013). Cigarette smoking has a positive and independent effect on testosterone levels. *Hormones*, 12(4), 567-577.
- Wang, Y., Ji, J., Liu, Y. J., Deng, X., & He, Q. Q. (2013). Passive smoking and risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *PLoS one*, 8(7), e69915.
- Wiersinga, W. M. (2013). Smoking and thyroid. *Clinical endocrinology*, 79(2), 145-151.
- Wilkins, J. N., Carlson, H. E., Van Vunakis, H., Hill, M. A., Gritz, E., & Jarvik, M. E. (1982). Nicotine from cigarette smoking increases circulating levels of cortisol, growth hormone, and prolactin in male chronic smokers. *Psychopharmacology (Berl)*, 78(4), 305-308.
- Windham, G. C., Elkin, E. P., Swan, S. H., Waller, K. O., & Fenster, L. (1999). Cigarette smoking and effects on menstrual function. *Obstet Gynecol*, 93(1), 59-65.
- Yeh, J., & Barbieri, R. L. (1989). Twenty-four-hour urinary-free cortisol in premenopausal cigarette smokers and nonsmokers. *Fertil Steril*, 52(6), 1067-1069.
- Zheng, W., McLaughlin, J. K., Gridley, G., Bjelke, E., Schuman, L. M., Silverman, D. T., Wacholder, S., Co-Chien, H. T., Blot, W. J., & Fraumeni, J. F., Jr. (1993). A cohort study of smoking, alcohol consumption, and dietary factors for pancreatic cancer (United States). *Cancer Causes Control*, 4(5), 477-482.



# Polikistik Over Sendromunda Arjinin Metabolizmasının Fonksiyonu

## Function of Arginine Metabolism in Polycystic Ovary Syndrome

Damla BİNNETOĞLU   
Gökhan Can ÇETİN 

Kafkas University, Faculty of Medicine,  
Department of Pharmacology Kars, Türkiye



### Öz

Polikistik over sendromu (PKOS), doğurganlık çağındaki kadınları etkileyen yaygın bir hastalıktır. Üreme ve metabolik bozukluklarla ilişkilendirilen PKOS daha sonra inflamatuvar durumlara neden olan anormal oksidasyon durumundan kaynaklanabilmektedir. Antioksidanların over fizyolojisinde, foliküler büyümede, oosit olgunlaşmasında ve yumurtalık steroid biyosentezinde rol oynayan ana faktör olduğu düşünülmektedir. Overlerdeki oksidatif stres veya düşük antioksidan durumu, PKOS gelişimine zemin hazırlayan en önemli mekanizmalardan biri olarak kabul edilebilir. Esas olarak oksidatif strese karşı görev yapan nitrik oksit, substrat olarak L-arginin'i L-sitrulline dönüştüren nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından oluşturulur. Günümüz literatürü ışığında NOS ile etkileşen arjininin metabolizmasının, PKOS patofizyolojisindeki rolleri üzerine yapılan araştırmalar derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Arjinin, Poliaminler, Polikistik over sendromu

### ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common disorder affecting women of childbearing age. Associated with reproductive and metabolic disorders, PCOS may be caused by an abnormal oxidation state that subsequently leads to inflammatory conditions. Antioxidants are thought to be the main factor involved in ovarian physiology, follicular growth, oocyte maturation and ovarian steroid biosynthesis. Oxidative stress or low antioxidant status in the ovaries can be considered as one of the most important mechanisms predisposing to the development of PCOS. Nitric oxide, which mainly acts against oxidative stress, is generated by nitric oxide synthase (NOS) which converts L-arginine to L-citrulline as substrate. In the light of the current literature, studies on the roles of arginine metabolism interacting with NOS in the pathophysiology of PCOS are reviewed.

**Keywords:** Arginine, Polyamines, Polycystic ovary syndrome

### Giriş

Polikistik over sendromu (PKOS) reproduktif çağıdaki kadınlarda en sık karşılaşılan jinekolojik-endokrin bozukluktur. Toplumda görülme sıklığı yaklaşık % 6-20'dir (Hu, 2024). Günümüzde PKOS'un etiyolojisi halen tam olarak aydınlatılmamış olsa da genetik ve çevresel faktörlerin rol aldığı bilinmektedir. PKOS'ta görülen semptomlar menstrüel düzensizlik, hiperandrojenizm, infertilite, obezite, disfonksiyonel uterus kanaması ve tekrarlayan abortus olarak sıralanmaktadır. Görülen menstrüel bozukluk oligomenore, amenore, polimenore, hipermenore, menoraji, menometroraji olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca görülen hiperandrojenizme bağlı olarak hirsütizm, akne ve alopesi görülebilmektedir. Ayrıca klinik olarak yapılan testlerde serum androjen, luteinizan hormon (LH), folikül salıverici hormon (FSH), östrojen ve prolaktin (PRL) düzeyleri yüksek görülebilmektedir.

PKOS hakkında araştırmaların halen bu kadar popüler olmasının nedeni birçok bozuklukla ilişkili olmasından kaynaklanmaktadır. Bu bozukluklar; insülin direnci, Tip 2 Diabetes Mellitus, dislipidemi, obezite, kardiyovasküler hastalıklar, psikiyatrik, nörolojik bozukluklar ve jinekolojik kanserler olarak sıralanabilir (Hortu, 2019; Alataş, 2019). PKOS tanısı ilişkili olduğu metabolik bozukluklar dışlandıktan sonra önceleri NIH (national institute of health) kriterlerine göre koyulurken 2003 yılında Rotterdam'da bu kriterler gözden geçirilerek güncellenmiş ve Rotterdam kriterleri adı verilen bu kriterlere göre tanı konulmaya başlanmıştır. Rotterdam kriterlerinde 3 bulgudan 2 bulguyu gösteren

### Publication Date

Geliş Tarihi/Received 25.11.2023

Kabul Tarihi/Accepted 27.12.2023

Yayın Tarihi/Publication 28.02.2024

### Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Damla BİNNETOĞLU

E-mail: damlacetin.erez@gmail.com

Cite this article: Binnetoğlu, D., & Çetin, GC. (2024). Function of Arginine Metabolism in Polycystic Ovary Syndrome. *Current Research Health in Sciences*, 1(1): 43-47.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

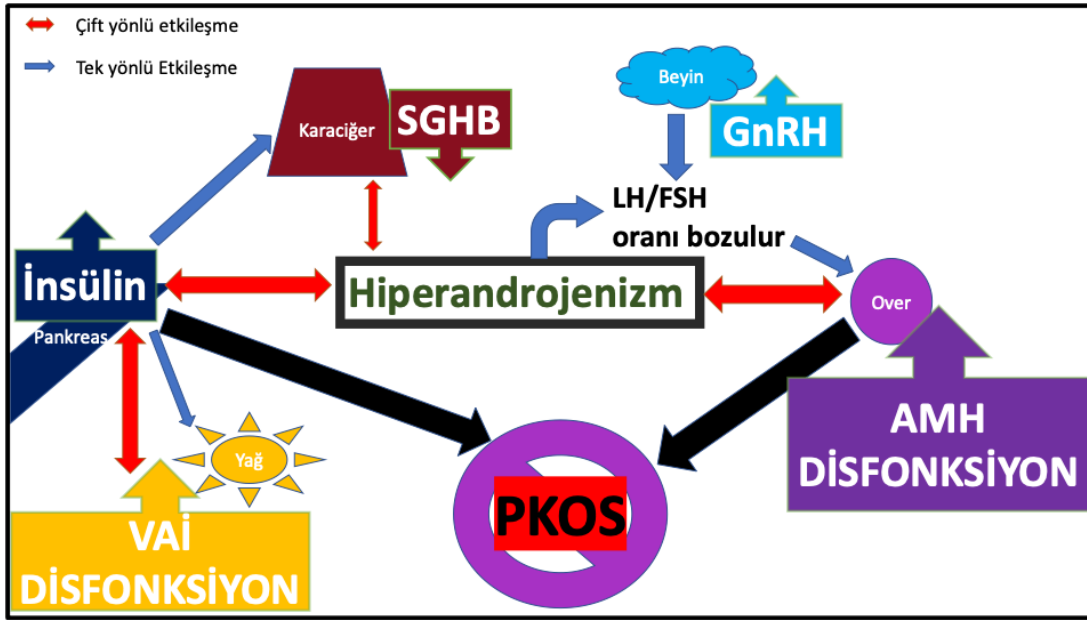


Figure 1: PKOS patofizyolojisi

bireyler PKOS olarak kabul edilmektedir. Bu bulgular; oligo-anovülasyon, ultrasonik olarak polikistik over yapısının gösterilmesi, klinik/biyokimyasal hiperandrojenizm'dir. Bu bulgulardan ilki olan oligo-anovülasyon, iki menstrüasyon arasında geçen gün sayısının 35 ve üstü olması veya yaklaşık 6 ay menstrüasyon olmaması durumudur. PKOS tanısını koyabileceğimiz diğer bulgu radyolojik incelemelerdir. Ultrasonografide overlerin çevresinde yaklaşık 2-9 mm çapında 12 veya daha fazla sayıda folikül görülmelidir veya over volümü 10 ml'den fazla olmalıdır. PKOS tanısını koymaya yardımcı olan diğer bir bulgu ise hiperandrojenizm'dir ve en sık görülen klinik yansıması hirsütizmdir. 2006 yılında Androgen Excess Society (AES) tarafında PKOS tanı kriterleri hakkında yapılan açıklama ile hiperandrojenizm diğer bulgulara göre daha ön plana alınmıştır. PKOS tanısını koyabilmek için çeşitli dışlama kriterleri tanımlanmıştır. Bunlar; konjenital adrenal hiperplazi, androjen

salgılayan neoplazi, cushing sendromu, hiperprolaktinemi, androjenik farmakoterapi, insülin direnci ve tiroid disfonksiyonu'dur (Rosenfield, 2016; Hortu, 2019). PKOS etiolojisinde rol alan birçok etkenin yanı sıra oksidatif stresinde potansiyel bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (Laleli, 2021).

Reaktif oksijen türlerinin PKOS da görülen sistemik oksidatif strese sebep olmasının yanı sıra insülin direnci gelişimini ve ileri glukasyon ürünlerinin üretimini uyardığı bilinmektedir (Karacaoğlu, 2015). Oksidatif stres koşullarının verdiği zarara karşı koruyucu role sahip çok aktif bir molekül olan nitrik oksit (NO), birçok fizyolojik ve kimyasal süreci düzenlemektedir (Kayın, 2020). NO, substrat olarak L-arginin'i L-sitrulline dönüştüren nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından oluşturulmaktadır. Günümüz literatürü ışığında NO ile etkileşen arjininin, PKOS patofizyolojisindeki rolü üzerine yapılan araştırmalar derlenmiştir.

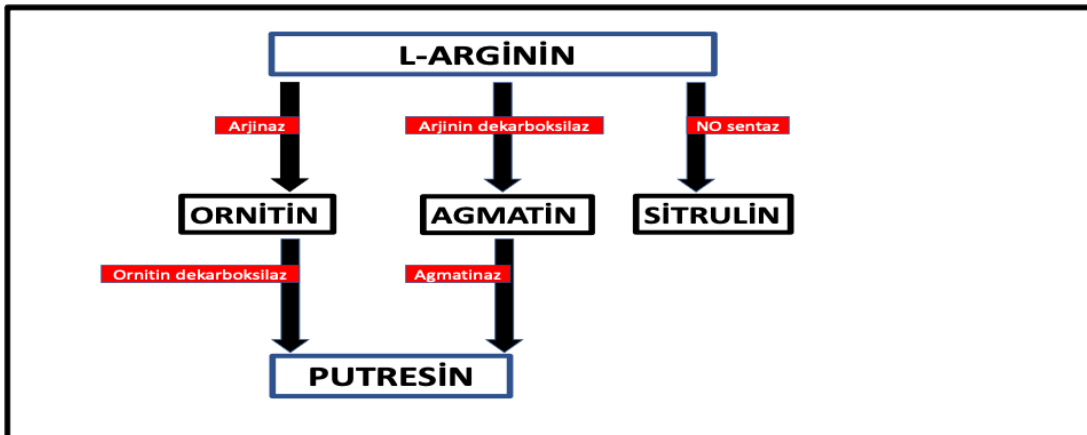


Figure 2: L-arginin sentez basamakları

### PKOS Patofizyolojisi

PKOS gelişimini çevresel faktörler daha fazla yönlendirse de genetik faktörlerin etkisi de yadsınamayacak düzeydedir. Etnik farklılık vücut kitle indeksi (VKİ)'ne göre değişkenlik gösterebilse de Rotterdam kriterlerine göre değerlendirildiğinde etnik farklılık önemsiz düzeydedir. PKOS patofizyolojisinde gonadotropin salıverici hormon (GnRH) değişiklikleri ve insülin metabolizmasındaki bozukluklar önemli rol oynayan süreçlerdir. Bu süreçler etkileşim göstererek birbirlerinin etkilerini arttırmaktadırlar. Overlerde preantral folüküllerden salgılanan yüksek düzeyli antimüliyan hormon (AMH) folüküler mikroçevreyi ve GNRH salınımını değiştirerek over fonksiyon bozukluğunu artırır. GnRH değişikliği sonucu yüksek LH seviyeleri LH/FSH oranını bozulmasıyla sonuçlanır ve böylelikle folikül büyümesindeki düzensizliği şiddetlendirir ve ayrıca androjenlerin hipersekresyonuna neden olur. Androjen hipersekresyonuna neden olan diğer bir PKOS komponenti ise insülin direncidir. İnsülin direnci karaciğer ve kas gibi insüline duyarlı organları etkileyerek visseral adipozite indeksi ve adipozit disfonksiyonu gelişmesinde rol alır. İnsülin direncinin görülmesiyle overlerde de androjene karşı hassasiyet artar. Diğer yandan karaciğerde

2007). Oksidatif strese rolü olan NO'in embriyonik dokularda metabolizmasının bozulmasının gelişimsel kusurlara neden olduğu ve çevresel teratojenlere maruz kalmayla ilişkili malformasyonların kökenine katkıda bulunan bir mekanizma olabileceği ileri sürülmüştür (Tiboni, 2014).

PKOS sadece over hastalığı değil aynı zamanda insülin direnci, aşırı androjen, iltihaplanma ve oksidatif etkilerin eşlik ettiği kronik sistemik bir hastalık olarak kabul edilebilirken söz konusu etkenlerin bireysel katkıları hastadan hastaya farklılık göstermesi PKOS'un heterojen yapısını açıklamaktadır. Yapılan çalışmalarda PKOS'da homosistein, malondialdehit ve asimetric dimetil arjinin (ADMA) gibi oksidatif stress belirteçlerinin yükseldiği gösterilmiştir (Murri, 2013; Ozler, 2016; Yıldırım, 2017). Oksidatif stres ve inflamasyon birbirine sıkıca bağlı patofizyolojik süreçlerdir. Oksidatif stres durumunda artan serbest oksijen radikalleri proinflamatuvar sistemin uyarılmasına neden olur (Roebuck, 1999). Tüm patolojik durumlarda olduğu gibi oksidatif hasarın boyutu sadece serbest radikal üretimine değil, aynı zamanda antioksidan savunma kapasitesine de bağlıdır. Serbest radikaller düşük yoğunlukta olduğu zaman yararlı etkilerinden söz edilebilmektedir. Düşük yoğunlukta serbest radikaller

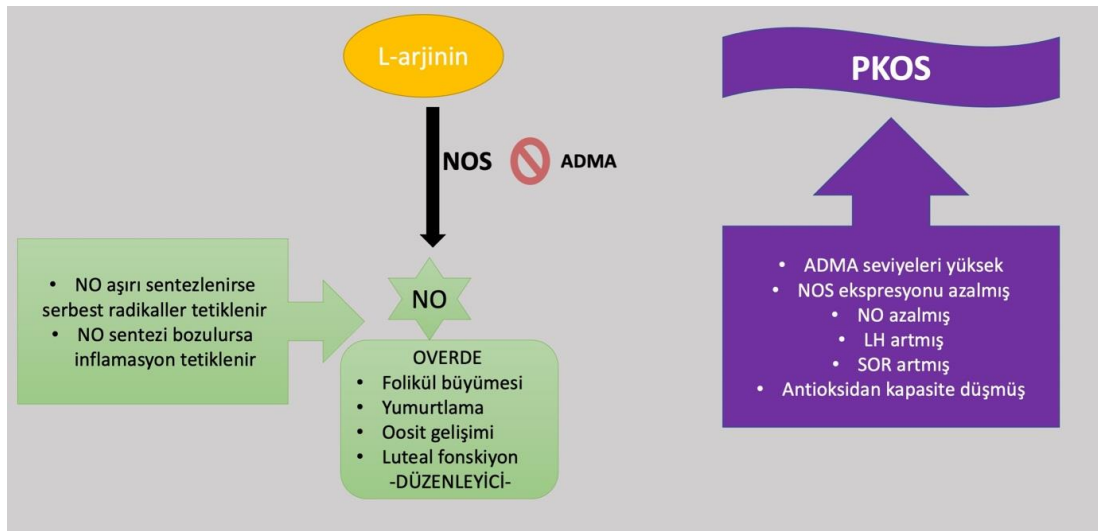


Figure 3: PKOS ve NO ilişkisi

cinsiyet hormon bağlayıcı globülin (SGHB) üretimi azalır ve böylelikle dolaşımdaki serbest testosteron artarak hiperandrojenizm tablosu şiddetlenir (Xu, 2022; Azziz, 2018, Harada, 2022). PKOS fizyopatolojisini içeren bu kısır döngünün kökeni bilinmemektedir. Bu heterojen sendromun özeti hiperandrojenizmin yatkınlığı artırması, insülin direncinin ise PKOS gelişimini tetiklemesidir (Şekil 1). Yapılan bir çalışmada perinatal hayatta maruz kalınan oksidatif stres, testosteron, artmış glukoz düzeylerinin postnatal hayatta erişkin dönemde PKOS gelişiminde rolü olabileceği ileri sürülmüştür (Dumesic,

enfeksiyonlara karşı savunma, kanser hücrelerinin öldürülmesi ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu gibi savunma fonksiyonlarıyla birlikte intrasellüler depolardan kalsiyum salınımı, tirozin amino asidini fosfatlama aktivasyonu ve büyüme faktörü sinyallerinin aktivasyonu gibi hücrel sinyallerin aktivasyonunda rol oynamaktadır. Serbest radikallerinden oksijen kaynaklı olan reaktif oksijen radikalleri (ROS), oosit olgunlaşmasından fertilizasyona, embriyo gelişimine ve hamileliğe kadar birçok fizyolojik ve biyolojik süreci etkilemektedir. Kadın üreme bozukluklarının etiyolojisinde sitokinler ve oksidatif stres

arasındaki karmaşık etkileşim halen tartışılmaktadır. Reaktif nitrojen türlerinden NO ise endometrial ve over fonksiyonunun düzenlenmesinde, endometriozisin etiopatogenezinde ve uterusun hareketsizliğinin sürdürülmesinde, doğumun başlatılmasında ve doğum sırasında serviksin olgunlaşmasındaki rolü halen tartışılmaktadır (Karabulut, 2016; Agarwall, 2005). Farklı fenotipli PKOS hastalarında toplam oksidan / antioksidan kapasite ve oksidatif stresin ilişkili olup olmadığının araştırıldığı bir çalışmada sadece antioksidan kapasite ile LH, serbest androjen indeksi ve yumurtalık hacmi pozitif korelasyon göstermiş ve obezitesi olmayan PKOS hastalarında da antioksidan kapasitenin arttığı gösterilmiştir (Verit, 2008). Bu bulgu farklı fenotiplerde fizyolojik ve biyokimyasal farklılıklar olmasının yanı sıra obezite varlığında oksidatif stresin söz konusu olduğu ve buna bağlı metabolik hastalıkların görülmesinde rolü olduğunu göstermektedir.

### PKOS ve Arjinin Metabolizması

L-arjinin; NO, kreatin, üre gibi önemli bileşiklerin ve poliaminlerin biyosentezinde öncü olan amino asittir (Böger, 2014) (Şekil 2). Nitrik oksit sentazın (NOS) doğal substratı olarak tanımlanmış olması ve NO'nun birçok biyolojik işlevinin düzenlenmesinde önemli rol oynaması nedeniyle L-arjinin önemli bir molekül olarak öne çıkmaktadır (Matsumoto ve Yobimoto, 1999). Memelilerin farklı hücreleri tarafından üretilen NO, nörotransmitter ve sitotoksik faktör olarak vücutta iki farklı role sahip olan bir moleküldür.

Aşırı NO üretimi serbest radikal reaksiyonlarını tetikleyebilmektedir. NO, NOS enziminin katalizlediği reaksiyon ile O<sub>2</sub> ve L-arjinin'den sentezlenmektedir. Herhangi bir uyarıdan sonra indüklenebilir NOS, diğer NOS'lardan 1000 kat daha fazla NO üretimine sebep olur. Makrofajlardan salıverilen NO yabancı mikroorganizmalara karşı nonspesifik bir savunma yapar. Savunma sistemindeki bu faydalı etkisinin yanında artmış NO'nun doku tahribatı yaparak damar geçirgenliğini arttırdığı ve septik şoktaki vazodilatasyona katkıda bulunduğu sanılmaktadır. Bunun yanında NO sentezinin tamamen bozulması da inflamasyonu hızlandırmaktadır. (Nathan, 1997). Overler NO sentezler ve NOS'un çoklu izoformları sıçan overlerinde eksprese edilmektedir (Victor ve ark., 2011). Bu NO, foliküler büyüme, yumurtlama, oosit gelişimi ve luteal fonksiyonun düzenleyicisi olarak görev yapmaktadır (Tiwari ve ark., 2017). NOS'un edojen inhibitörü olduğu ileri sürülen ADMA'nın genç PKOS hastalarında ve obezitesi olan PKOS hastalarında seviyelerinin yüksek olduğu bulunmuştur. ADMA, dimetil arjinin tarafından parçalanarak dimetilaminohidrolaz (DDAH) 1 ve 2 ye dönüştürmektedir. PKOS ta

ADMA seviyelerinin yüksek bulunmasının nedeni, karaciğer ve kalp dokularında bozulmuş DDAH1 aktivitesi ve azalmış DDAH1 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular DDAH1'in PKOS tedavisinde hedef olabileceğini düşündürmektedir (Li, 2023). NO, substrat olarak L-arginin'i L-sitruiline dönüştüren NOS tarafından oluşturulur. L-sitruilin, farklı hücre türlerinde tekrar L-arginin'e dönüştürülebilir, böylece L-sitruilin'in L-arginin aracılığıyla NO'ya dönüştürülmesi için bir geri dönüşüm yolu sağlanır (şekil 3).

Ancak yapılan bir çalışmada, PKOS'lu kadınların NOS ekspresyonunun azalması ve arginin biyoyararlılığının azalması nedeniyle NO'yu düşürdüğü savunulmuştur. Böylece L-arginin takviyesiyle terapötik müdahaleler gerçekleştirilebileceği öne sürülmüştür (Krishna ve ark. 2017; Ragy, 2019). Bunun yanı sıra arjinin ve N-asetil sistein kombinasyonu ile PKOS tedavisinin araştırıldığı bir çalışmada umut verici sonuçlara ulaşılmış (Masha, 2009) olsa da insülin duyarlılaştırıcı ilaçlar ile karşılaştırılmadığından bu konu hakkında daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak L-Arginin, NOS katalizli reaksiyonlar için tek fizyolojik nitrojen donörüdür; dolayısıyla bu temel substratın mevcudiyeti NO üretim oranlarını belirleyebilir. Arginin sentezi ve hücrelere taşınması da NO sentezini etkileyebilir (Roselli, 1998). Böylelikle arginin sentezi ve metabolizması hücresele NO sentezinin deneysel ve terapötik manipülasyonu için potansiyel bir hedefi temsil edebileceği açıktır. PKOS gelişiminde NO dengesinin önemi göz önüne alındığında NO sentezinde önemli yeri olan arjinin ile PKOS ilişkisinin aydınlatılabilmesi için daha kapsamlı deneysel ve klinik araştırmalar yapılarak literatüre kazandırılmalıdır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Yazar Katkıları:** Fikir- DB., GÇÇ.; Tasarım- DB., GÇÇ.; Denetleme- DB.; Kaynaklar- DB., GÇÇ.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi- DB., GÇÇ.; Analiz ve/veya Yorum- DB., GÇÇ.; Literatür Taraması- DB., GÇÇ.; Yazıyı Yazan- DB., GÇÇ.; Eleştirel İnceleme- DB..

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

**Finansal Destek:** Yazarlar, bu çalışma için finansal destek almadığını beyan etmiştir.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Author Contributions:** Concept- DB., GÇÇ.; Design- DB., GÇÇ.; Supervision- DB.; Resources- DB., GÇÇ.; Data Collection and/or Processing- DB., GÇÇ.; Analysis and/or Interpretation- DB., GÇÇ.; Literature Search- DB., GÇÇ.; Writing Manuscript- DB., GÇÇ.; Critical Review- DB.

**Conflict of Interest:** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Financial Disclosure:** The authors declared that this study has received no financial support.

## Kaynaklar

- Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, 3, 28. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-28>
- Alataş, E., Kılıç, D., & Güler, T. (2019). Güncel polikistik over sendromu değerlendirme ve yönetim rehberi doğrultusunda tanındaki 'yeniler' ve 'yineler'. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 12(3), 595-602.
- Azziz R. (2018). Polycystic Ovary Syndrome. *Obstetrics and gynecology*, 132(2), 321–336. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002698>
- Böger R. H. (2014). The pharmacodynamics of L-arginine. *Alternative therapies in health and medicine*, 20(3), 48–54
- Dumesic, DA, Abbott DH. & Padmanabhan V. Polycystic ovary syndrome and its developmental origins. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2007;8:127-41
- Harada M. (2022). Pathophysiology of polycystic ovary syndrome revisited: Current understanding and perspectives regarding future research. *Reproductive medicine and biology*, 21(1), e12487. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12487>
- Hortu, İ., & Karadaş, N. (2019). Polikistik Over Sendromu Patofizyolojisi. *Türkiye Klinikleri Gynecology Obstetrics-Special Topics*, 12(5), 6-9.
- Hu, W., Xie, N., Pan, M., Zhang, Q., Zhang, H., Wang, F., & Qu, F. (2024). Chinese herbal medicine alleviates autophagy and apoptosis in ovarian granulosa cells induced by testosterone through PI3K/AKT1/FOXO1 pathway. *Journal of ethnopharmacology*, 318, 117025. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117025>
- Karabulut, H., Gülay, M Ş. (2016). Serbest radikaller . MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg, 4(1), 50-59
- Karacaoğlu, F. (2015). Polikistik over sendromu ve periodontal sağlık arasındaki ilişki. *J Dent Fac Atatürk Uni*, 13, 64-71
- Kayın, G. B. (2020). Doktora tezi. Nitrik oksit uygulamasının biber bitkisinde (*Capsicum annum* L.) kimi stres faktörleri üzerine etkisi. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye
- Krishna, M. B., Joseph, A., Thomas, P. L., Dsilva, B., Pillai, S. M., & Laloraya, M. (2017). Impaired Arginine Metabolism Coupled to a Defective Redox Conduit Contributes to Low Plasma Nitric Oxide in Polycystic Ovary Syndrome. *Cellular physiology and biochemistry :international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 43(5), 1880–1892. <https://doi.org/10.1159/000484107>
- Laleli, B. & Timur, B. (2021). Examination of Oxidative Stress Level in Adolescents with Polycystic Ovary Syndrome by Biochemical Parameters. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 10 (4) , 935-942 . DOI: 10.37989/gumussagbil.1003117
- Li, T., Zhang, T., Wang, H., Zhang, Q., Gao, H., Liu, R., & Yin, C. (2023). The ADMA-DDAH1 axis in ovarian apoptosis of polycystic ovary syndrome. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 225, 106180. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2022.106180>
- Masha, A., Manieri, C., Dinatale, S., Bruno, G. A., Ghigo, E., & Martina, V. (2009). Prolonged treatment with N-acetylcysteine and L-arginine restores gonadal function in patients with polycystic ovary syndrome. *Journal of endocrinological investigation*, 32(11), 870–872. <https://doi.org/10.1007/BF03345763>
- Matsumoto, K., Yobimoto, K., Huong, N. T., Abdel-Fattah, M., Van Hien, T., & Watanabe, H. (1999). Psychological stress-induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide systems and its modulation by anxiolytic and angiogenic drugs in mice. *Brain research*, 839(1), 74–84. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(99\)01715-1](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(99)01715-1)
- Murri, M., Luque-Ramírez, M., Insenser, M., Ojeda-Ojeda, M., EscobarMorreale, H. F. (2013). Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*, 19(3), 268-88.
- Nathan C. Inducible nitric oxide synthase. What difference does it make. *J Clin Invest* 1997;100:2417-2423.
- Ozler, S., Oztas, E., Tokmak, A., et al. (2016). The association of thiol / disulphide homeostasis and lipid accumulation index with cardiovascular risk factors in overweight adolescents with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol*, 84(4), 516-23.
- Ragy, M. M., Abdel-Hamid, H. A., & Toni, N. D. M. (2019). Pathophysiological changes in experimental polycystic ovary syndrome in female albino rats: Using either hemin or L-arginine. *Journal of cellular physiology*, 234(6), 8426–8435. <https://doi.org/10.1002/jcp.27757>
- Roebuck, K. A. Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM1 gene expression: differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF-kappaB. *Int J Mol Med* 1999;4(3):223–30.
- Rosenfield, R. L., & Ehrmann, D. A. (2016). The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. *Endocrine reviews*, 37(5), 467–520. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1104>
- Rosselli, M., Keller, P. J., & Dubey, R. K. (1998). Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Human reproduction update*, 4(1), 3–24. <https://doi.org/10.1093/humupd/4.1.3>
- Tiboni, G. M., & Ponzano, A. (2014). Nitric oxide and teratogenesis: an update. *Current pharmaceutical design*, 20(34), 5443–5447. <https://doi.org/10.2174/1381612820666140205150437>
- Tiwari, M., Prasad, S., Pandey, A. N., Premkumar, K. V., Tripathi, A., Gupta, A., Chetan, D. R., Yadav, P. K., Shrivastav, T. G., & Chaube, S. K. (2017). Nitric oxide signaling during meiotic cell cycle regulation in mammalian oocytes. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)*, 9(3), 307–318. <https://doi.org/10.2741/s489>
- Verit, F. F., & Erel, O. (2008). Oxidative stress in nonobese women with polycystic ovary syndrome: correlations with endocrine and screening parameters. *Gynecologic and obstetric investigation*, 65(4), 233–239. <https://doi.org/10.1159/000113046>
- Victor, V. M., Rocha, M., Bañuls, C., Alvarez, A., de Pablo, C., Sanchez-Serrano, M., Gomez, M., & Hernandez-Mijares, A. (2011). Induction of oxidative stress and human leukocyte/endothelial cell interactions in polycystic ovary syndrome patients with insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(10), 3115–3122. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0651>
- Xu, Y., & Qiao, J. (2022). Association of Insulin Resistance and Elevated Androgen Levels with Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS): A Review of Literature. *Journal of healthcare engineering*, 9240569. <https://doi.org/10.1155/2022/9240569>
- Yıldırım, M., Turkyılmaz, E., Neselioglu, S., Alisik, M., Avsar, A. F. (2017). Dynamic Thiol-Disulphide Status in Polycystic Ovary Syndrome and Its Association with the Pathogenesis of the Disease. *Gynecol Obstet Invest*, 82(1), 54-9.