



**NIKOTİN İLE OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL AKCİĞER TOKSİSİTESİ  
MODELİNDE DEKSPANTENOLÜN ANTIOKSİDAN VE ANTIİNFLAMATUAR  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Meral ASLAN**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Elif GÜREL**

**Yüksek Lisans Tezi – 2022**

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

**NİKOTİN İLE OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL AKCİĞER TOKSİSİTESİ  
MODELİNDE DEKSPANTENOLÜN ANTIOKSİDAN VE  
ANTIİNFLAMATUAR ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Meral ASLAN**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Elif GÜREL**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
Tarafından TYL-2021-2508 Proje numarası ile desteklenmiştir

**MALATYA  
2022**

**T.C.**

**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne**

**ETİK BEYANI**

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Prof. Dr. Elif GÜREL” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Nikotin ile Oluşturulmuş Deneysel Akciğer Toksikitesi Modelinde Dekspantenolün Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkisinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

...../ ...../2022

Meral ASLAN

İmza

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	vii
ABSTRACT.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
TABLOLAR DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Nikotin .....	3
2.1.1. Nikotinin Farmakokinetiği.....	3
2.1.2. Nikotinin Metabolizması .....	5
2.1.3. Nikotinin Bağımlılık Yapma Mekanizması .....	6
2.2. Dekspantenol .....	9
2.2.1. Etki Mekanizması .....	11
2.2.2. Farmakokinetik .....	11
2.2.3. Fiziksel Özellikleri.....	12
2.2.4. Endikasyonlar .....	12
2.2.5. Yan Etkiler.....	12
3. MATERYAL VE METOT .....	13
3.1. Kullanılan Kimyasallar Malzemeler .....	13
3.2. Ratların Temini ve Bakımı .....	13
3.3. Biyokimyasal Analizler .....	14
3.1.1. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması .....	14
3.1.2. Redükte Glutatyon (GSH) Düzeyinin Hesaplanması .....	14

3.1.3. Malondialdehid (MDA) Düzeyinin Hesaplanması .....	14
3.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Hesaplanması .....	14
3.1.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Hesaplanması .....	15
3.1.6. Glutasyon S-transferaz (GST) Aktivitesinin Hesaplanması.....	15
3.1.7. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Hesaplanması .....	15
3.1.8. Total Antioksidan Status (TAS) Düzeyinin Hesaplanması .....	15
3.2. Total Oksidant Status (TOS) Düzeyinin Hesaplanması .....	17
3.3. Galectin-3, IL-6 ve IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Hesaplanması .....	18
3.4. Western Blot Analizi .....	19
3.4.1. Numunenin Hazırlanışı .....	19
3.4.2. Protein Konsantrasyonunun Hesaplanması .....	19
3.4.3. Elektroforetik Yürütme .....	20
3.4.4. Proteinlerin Membrana Transferi.....	21
3.4.5. Bloklama.....	21
3.4.6. Primer Antikor ile İnkübasyon .....	21
3.4.7. Sekonder Antikor ile İnkübasyon .....	21
3.4.8. Görüntüleme ve Dansitometrik Analiz .....	21
3.5. Histolojik Analiz.....	22
3.6. İstatistiksel Analiz.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	23
4.1.1. Kontrol Grubu .....	23
4.1.2. Dex Grubu.....	24
4.1.3. Nikotin Grubu .....	24
4.1.4. Dex + Nikotin .....	25
4.2. Biyokimyasal Analizler .....	27

4.2.1 Akciğer Dokusu Galectin Seviyeleri .....	28
4.2.2. Serumda IL-1B Seviyeleri .....	29
4.2.3. Serumda IL-6 Seviyeleri .....	30
4.2.4. Akciğer Dokusunda Katalaz Aktivite Seviyeleri.....	31
4.2.5. Akciğer Dokusu GSH-Px Aktivite Seviyeleri .....	32
4.2.6. Akciğer Dokusu SOD Aktivite Seviyeleri.....	33
4.2.7. Akciğer Dokusu MDA Seviyeleri.....	34
4.2.8. Akciğer Dokusu TOS Seviyeleri .....	35
4.2.9. Akciğer Dokusu TAS Seviyeleri .....	36
4.2.10. Akciğer Dokusu Oksidatif Stres İndeksi .....	37
4.2.11. Akciğer Dokusu GSH Seviyeleri.....	38
4.2.12. Akciğer Dokusu GST Seviyeleri .....	39
4.2.13. Akciğer Dokusu NFkB oranı .....	40
5. TARTIŞMA .....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR .....	48
EKLER.....	58
EK-1. ÖZGEÇMİŞ .....	58
EK-2. ETİK KURUL ONAYI.....	59

## TEŐEKKÜR

Yapmış olduğum deneysel çalışmalarda ve tezimin her aőamasında bana yol gosteren ve destek olan, akademik bilgisi ile bu yolda bana ışık tutan danıőmanım sayın Prof. Dr. Elif GÜREL'e

Tezimin histolojik inceleme aőamasında benden desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Elif Taőlıdere'ye

Çalıőmamın her aőamasında yanımda olan, destek ve yardımlarını esirgemeyen Araştırma görevlileri Muhammed ÜREMİŐ, Nuray ÜREMİŐ'e, Yüksek Lisans öğrencisi Nursena DEMİRCİGİL'e ve doktora öğrencileri Nurcan GÖKTÜRK'e, Emine KOÇ'a, Nilüfer BULUT'a

Akademik bilgi ve tecrübesiyle destek olan Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ'e

Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nin değerli alıőanları Gamze Karakuő ÖZKAYA, Onur ÖZKAYA'ya, Veteriner Hekim Engin KORKMAZ'a

Tüm eğitimim boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan kıymetli eőim Kardiyolog Dr. Halil ASLAN'a ve çocuklarıma

Çalıőmamda kullandığım Dekspantenol kimyasalı teminin de yardımcı olan BAYER Türk Kimya San. Ltd. şti., İstanbul Türkiye Firması'na

TYL-2021-2508 nolu projeme maddi yönden katkılarından dolayı Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teőekkür ederim

Meral ASLAN

## ÖZET

### **Nikotin ile Oluşturulmuş Deneysel Akciğer Toksikitesi Modelinde Dekspantenolün Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkisinin Araştırılması**

**Amaç:** Nikotinin akciğer dokusunda oluşturduğu hasarı onarımında, Dekspantenolün antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin araştırılması.

**Materyal ve metot:** İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden tedarik edilen, 250-300 gram ağırlığında 32 adet Spraque Dawley cinsi erkek ratlar kullanıldı. Ratlar rastgele 4 eşit gruba ayrıldı; Kontrol grubu, nikotin grubu, dekspantenol grubu, dekspantenol + nikotin grubu olarak ayrıldı. 8 hafta boyunca Nikotin ve Dekspantenol gruplarına intraperitoneal olarak uygulama yapıldı (Nikotin 0.5mg/kg-gün, Dekspantenol 500 mg/kg/gün). 8 haftanın sonunda ratların akciğer doku ve kan örnekleri alınarak, biyokimyasal ve histolojik incelemeler yapıldı.

**Bulgular:** Nikotin uygulanması, ratların akciğer dokusunda oksidatif stres parametrelerini arttırmış MDA, TOS, OSİ (P=0.002), antioksidan parametrelerini düşürmüştür (CAT, GSH-Px, SOD, GSH, GST). Bu durum histopatolojik durumlara yol açarak, akciğer dokusunda inflamasyona neden olmuş ve inflamasyon faktörlerinden, IL-1 $\beta$  ve IL-6 değerlerinde artışa sebep olmuştur.

Dekspantenol uygulaması akciğer dokusunda antioksidan parametreleri düzeyini arttırırken, oksidan (MDA) ve serum inflamasyon değerlerinde (IL-1 $\beta$  ve IL-6) düşümlere neden olmuştur. Nikotin ile dekspantenol uygulaması nikotinin biyokimyasal ve histopatolojik etkilerini azaltmaya çalışmıştır.

**Sonuç:** Nikotin akciğer dokusunda hücre harabiyetini oluşturarak, toksisiteye neden olmuş beraberinde inflamasyonlar oluşmuştur. Dekspantenol ise antioksidan ve antiinflamatuvar etki göstermiştir. Nikotinin toksik etkilerini tedavi etmek için tedavi protokolüne dekspantenol eklenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer, Dekspantenol, Histopatoloji, Nikotin, Oksidatif Stres Parametreleri, Rat



## ABSTRACT

### **Investigation of the Antioxidant and Anti-Inflammatory Effect of Dexpanthenol in an Experimental Lung Toxicity Model with Nicotine**

**Aim:** Investigate the anti-inflammatory and antioxidant effects of Dexpanthenol in repairing the damage caused by nicotine in the lung tissue.

**Material and Method:** 32 Spraque Dawley male rats weighing 250-300 grams, supplied from İnönü University Experimental Animal Production and Research Center, were used. Rats were randomly divided into 4 equal groups; The control group was divided into nicotine group, dexpanthenol group, dexpanthenol + nicotine group. For 8 weeks, Nicotine and Dexpanthenol groups were administered intraperitoneally (Nicotine 0.5mg/kg-day, Dexpanthenol 500 mg/kg/day). At the end of 8 weeks, lung tissue and blood samples of the rats were taken and biochemical and histological examinations were performed.

**Results:** Nicotine administration increased oxidative stress parameters in the lung tissue of rats, MDA, TOS, OSI (P=0.002). It decreased antioxidant parameters (CAT, GSH-Px, SOD, GSH, GST). This situation caused histopathological conditions, caused inflammation in the lung tissue and caused an increase in IL-1 $\beta$  and IL-6 values, which are inflammatory factors.

While dexpanthenol administration increased the level of antioxidant parameters in lung tissue, it caused decreases in oxidant (MDA) and serum inflammation values (IL-1 $\beta$  and IL-6). The application of dexpanthenol with nicotine tried to reduce the biochemical and histopathological effects of nicotine.

**Conclusion:** Nicotine caused cell damage in the lung tissue, causing toxicity, and inflammations occurred. Dexpanthenol showed antioxidant and anti-inflammatory effects. Dexpanthenol can be added to the treatment protocol to treat the toxic effects of nicotine.

**Keywords:** Lung, Dexpanthenol, Histopathology, Nicotine, Oxidative Stress Parameters, Rat

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABTS</b>	: 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt
<b>ACh</b>	: Asetil kolin
<b>ATP</b>	: Adenozin tri fosfat
<b>BSA</b>	: Sığır serum albümü
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>CDNB</b>	: 1-kloro 2,4 dinitrobenzen
<b>CO</b>	: Karbonmonoksit
<b>CoA</b>	: Koenzim
<b>CYP2A6</b>	: Sitokrom p450 izoformu
<b>CYP2B6</b>	: Sitokrom p450 izoformu
<b>DTNB</b>	: 5,5' dithiobis 2 nitrobenzoik asit
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetraasetik asit
<b>ELİSA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>FDA</b>	: Amerikan gıda ve ilaç dairesi
<b>GABA</b>	: Gama amino bütirik asit
<b>GABAerjik</b>	: Gama bütirik asit reseptörü
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GST</b>	: Glutasyon S transferaz
<b>HSnACR</b>	: Yüksek düzeyde duyarlı nikotinic asetilkolin reseptörü
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin bir beta -sitokin
<b>IL-6</b>	: İnterlökin 6 -sitokin
<b>MDA</b>	: Malondialdehit

<b>nAChR</b>	: Nikotinik asetil kolin reseptörü
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
<b>NBT</b>	: Nitro Blue Tetrazolium
<b>NF-KB</b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>NMDA</b>	: N-metil-D-aspartat
<b>PA</b>	: Pantotenik asit
<b>PMSF</b>	: Fenilmetansülfonil florür
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>TAS</b>	: Total antioksidan durumu
<b>TBA</b>	: Tiyobarbutirik asit
<b>TBST</b>	: Western blot tampon solusyonu
<b>TCA</b>	: Triklorasetik asit
<b>TOS</b>	: Total oksidan durumu
<b>TRIS</b>	: Trisodyum sitrat
<b>UGT1A1</b>	: İnsanlarda bulunan bir genin adı
<b>UV</b>	: Ultraviyole

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil No</b>	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. Nikotin metabolizması ve metabolitleri.....	6
Şekil 2.2. Nikotinik reseptörlerin yapısı .....	6
Şekil 2.3. Kolinergic sistem.....	7
Şekil 2.4. Dekspantenolün yapısı .....	9
Şekil 2.5. Pantotenik asit yapısı .....	10
Şekil 4.1. Kontrol grubu akciğer dokusunun normal olan histolojik görünümü H-E; X100.....	23
Şekil 4.2. Kontrol grubu akciğer dokusunun normal olan histolojik görünümü H-E; X200.....	23
Şekil 4.3. Dex grubu akciğer dokusu normal olarak izlenmekte H-E; X100.....	24
Şekil 4.4. Dex grubu akciğer dokusu normal olarak izlenmekte H-E; X200.....	24
Şekil 4.5. Nikotin grubuna ait akciğer dokusunda infiltrasyon bölgeleri (yıldız) görülmüştür. H-E; X100. ....	25
Şekil 4.6. Nikotin grubu akciğer dokusunda lenfosit (yıldız) ve makrofajlardan (oklar) oluşan infiltrasyon bölgeleri (yıldız) görülmüştür H-E; X200. ....	25
Şekil 4.7. Dex+ Nikotin grubunda inflamatuvar inflamasyon bölgeleri görülmüştür(oklar) H-E; X100. ....	26
Şekil 4.8. Dex+ Nikotin grubunda infiltrasyon bölgeleri görülmüştür (oklar) H-E; X200.....	26
Şekil 4.9. Grupların akciğer dokusu Galectin-3 seviyeleri .....	28
Şekil 4.10. Grupların serumunda IL-1B seviyeleri .....	29
Şekil 4.11. Grupların Serumda IL-6 seviyeleri .....	30
Şekil 4.12. Grupların Akciğer dokusu CAT enzim seviyeleri .....	31
Şekil 4.13. Grupların Akciğer Dokusu GSH-Px enzim aktivite seviyeleri.....	32

<b>Şekil 4.14.</b> Grupların Akciğer dokusu SOD enzim aktivite seviyeleri .....	33
<b>Şekil 4.15.</b> Grupların Akciğer Dokusu MDA seviyeleri.....	34
<b>Şekil 4.16.</b> Grupların Akciğer Dokusu Total Oksidan Kapasite (TOS) seviyeleri .....	35
<b>Şekil 4.17.</b> Grupların Akciğer Dokusu Total Antioksidan Kapasite (TAS) seviyeleri..	36
<b>Şekil 4.18.</b> Grupların Oksidatif Stres İndeksi (OSI) seviyeleri.....	37
<b>Şekil 4.19.</b> Grupların Akciğer dokusu GSH seviyeleri .....	38
<b>Şekil 4.20.</b> Grupların Akciğer Dokusu GST seviyeleri.....	39
<b>Şekil 4.21.</b> Akciğer Dokusunda Western Blot Yöntemi ile Elde Edilen NF-KB Protein Ekspresyonları.....	40



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Merkezi sinir sisteminde (MSS) en fazla bulunan nikotinik reseptörler .....	7
<b>Tablo 3.1.</b> Uygulama Tablosu .....	16
<b>Tablo 3.2.</b> Uygulama Tablosu 2. ....	17
<b>Tablo 3.3.</b> %10 Ayırma Jeli Karışımı .....	20
<b>Tablo 3.4.</b> %4 Ayırma Jeli Karışımı .....	20
<b>Tablo 4.1.</b> Histopatolojik hasar skoru (Med (Min-Mak)) .....	26
<b>Tablo 4.2.</b> Oksidan -Antioksidan parametreler .....	27

# 1. GİRİŞ

Nikotin bağımlılığı küresel bazda sosyal bir sorundur. Sigara, içerdiği kanserojen maddeler içeriği ile mutajenik ve kanserojenik etkilere sebebiyet vermektedir (1). Her sigarada vücuda yaklaşık olarak 20-30 mL karbon monoksit ve 2-3 mg nikotin alınır (2). Sigara, kan sistemi, endokrin sistem, kardiyovasküler ve akciğer hastalıkları, akciğer kanseri benzeri birçok hastalık halinin görülmesinde etkili olmaktadır (3). Günümüzde birçok ülkede sigara kullanımı ile ilgili yasal düzenlemeler yapılarak sigara kullanımı ve sigara kullanımına bağlı ölümlerin önlenmesi için çalışmalar yoğunlaştırılmış durumdadır. Diğer bağımlılık yapan ve zararlı psikoaktif maddeler gibi nikotin de merkezi sinir sisteminin biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonlarını bozmaktadır. Yapılan araştırmalarda, antioksidan ve oksidan enzim aktivitesindeki değişikliklerin günlük olarak içilmekte olan sigara adedine ve sigara içilen sürenin etkili olduğu belirlenmiştir (3).

Yunanca pantos kavramından gelmiş olan Pantotenik asit, her yer, her yandan anlamında kullanılmaktadır. Bitki ve hayvan dokularında bulunan pantotenik asite neden olan kaynaklar; karaciğer, maya, kraliçe arı jöle, yumurta, pekmez, mantar, fındık, pirinç kepeği, fıstık, kepekli tahıllar, süt ve patatestir (4). Pantotenik asidin biyolojik aktif alkol formu Dekspantenol (Provitamin B5) dür. Dekspantenol, memeli canlıların dokusunda pantenol'e dönüşmektedir. Pantenol hücre içerisinde Koenzim A (CoA), ATP ve redükte glutasyon (GSH) yapımını arttırmaktadır. Bu unsurlar oksidatif stres halinde hücre savunmasında rol oynar (5,6). Pantotenik asit, B kompleks vitaminlerinin (B5 vitamini) bir üyesidir. Pantotenik asit ilk olarak 1933 yılında, Roger Williams tarafından mayaların büyüme faktörü olarak tespit edildi. 1934 yılında, pantotenik asit üzerinde derin bir uyarıcı etkiye sahip olduğunu göstermiştir (7). Epitelin tekrar şekillenebilmesinde gerekli olan dekspantenolün rejeneratif ve antiinflamatuvar özellikleri bulunmaktadır (5,6). Hücre içinde Polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ve lokal infiltrasyonu da İnflamatuvar süreçleri başlatır ve dolayısıyla serbest radikaller meydana gelir. Dekspantenol, anti-inflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahiptir (8). Dekspantenol; parenteral, oral ve topikal olarak kullanılabilir. Emildikten sonra karaciğerde pantotenik aside dönüştürülerek, endojen vitaminlerin depolanmasında görev alır (9).

Bu araştırmadaki amacımız ratlarda nikotin ile akciğer hasarı oluşturmak, oluşturulmuş olan bu modelde inflamatuvar ve oksidatif stres mekanizmalarına bağlı akciğer dokusunda oluşabilecek hasarlar ve bununla ilişkili sitokinlerin, oksidan ve antioksidan seviyelerindeki değişiklikleri ortaya koyarak antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip dekspantenolün oluşan bu hasardaki varsa koruyucu rolünü araştırmaktır.

Dekspantenolün antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri ile nikotini akciğerde oluşturduğu hasarı önleyebileceğini veya tedavi edilebileceğini ispatlamaya çalışmak.





## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Nikotin

Sigaradaki ana bağımlılık yapan madde, sigara dumanının solunmasıyla vücuda giren nikotindir. Nikotin bağımlılığı, kompulsif sigara içme ve yoksunluk dönemleri arasında değişen kronik, tekrarlayan durum bozukluğudur. Sigara içimi, önlenebilir ölümlerin (yılda 5 milyon) ve birçok hastalığın önde gelen nedeni olduğu gösterilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2015 istatistik bilgilerine göre, Türkiye'de 15 yaş üstü kişiler arasında sigara kullanım oranı %39.5'tir. ABD'de ise %19.5 tir (10). Dünya genelinde yaklaşık 1.5 milyar insan sigara kullanıyor. DSÖ 2021 verilerine göre ve 2025'te bu verinin 1.7 milyara çıkacağı öngörülmüştür.

Nikotin, akciğerler yoluyla kan dolaşımına saniyeler içinde giren ve hızla yüksek konsantrasyonlara (100-500 nM) ulaşan oldukça lipofilik bir maddedir. Nikotinin yarı ömrü yaklaşık 2 saattir. Karaciğerde sitokrom p450 2A6 izoformu (CYP2A6) tarafından hızla nikotine dönüştürülür. Nikotinin etkileri, merkezi sinir sistemindeki nikotinic asetilkolin reseptörlerinin (nAChR'ler) ortosterik kısımlarına bağlanarak reseptörleri aktive eder. Bu reseptörlerin bazı alt tipleri, kronik kullanıcılarda duyarsızlaşır ve miktarında artış olur (11).

Nikotin, beynin ödül ve madde kullanımıyla ilişkili dopaminerjik yolağında nAChR'lere bağlanır. Nikotinin bağımlılık yapıcı etkileri, mezokortikolimbik sistemdeki glutamaterjik, dopaminerjik ve GABAerjik sistemlerle olan çeşitli etkileşimleriyle yakından ilişkisi bulunmaktadır. Nikotinic reseptörlerin alt tipine bağlı olarak nikotinin etkileri farklılık gösterebilir. Nikotinin, düşük dozlarında (fare veya sıçanlarda 0.1 mg/kg) güçlendirici etkileri, yüksek dozlarında ise (fare veya sıçanlarda >1 mg/kg) olumsuz davranışlar ortaya çıkarır. Mezokortikolimbik dopaminerjik sistem, nikotin bağımlılık etkilerinin oluşmasında önemli bir düzenleyici görev alır (11).

#### 2.1.1. Nikotinin Farmakokinetiği

##### A. Nikotinin Emilimi

Nikotin, pKa'sı 8 olan zayıf baz bir yapıdadır. Nikotin sigara dumanı içinde partikül şeklinde bulunmaktadır. Hücre zarından emilmesi pH bağımlı durumdadır. İyonize halde Emilimi yavaştır. Sigara dumanı içindeki nikotin asidiktir (pH=5.5-6.0) ve

iyonize halde bulunur. Bundan dolayı, sigara içimi sırasında nikotinin ağızdan emilimi düşüktür (12). Sigaranın zararlı olması, yanma sonucu meydana gelen, CO, katran ve nikotinden dolayıdır (13)

Nikotinin kan dolaşımına büyük miktarlarda geçebilmesi sigara içimine başlamasıyla çekilen dumanın akciğerlere kadar ulaşması gerekir. Sigara dumanı akciğerlere ulaştığında, nikotin hızla kan dolaşımına geçer. Akciğerlerin geniş alveol yüzeyleri ve pH'sının 7.4 olması nikotinin hızlı bir şekilde emilmesini sağlamaktadır. Sigara içmeye başlayınca kanda nikotin birikerek artar ve sigaranın sonunda birikim pik yapar. Nikotin, ilk sigara dumanının inhalasyonundan 10-20 saniye sonra beyne ulaşır. Akciğerler yoluyla alınan nikotin, intravenöz uygulama yoluyla alındıktan daha hızlı yanıt vermektedir (14).

Sigara dumanında bulunan nikotinin hızlı absorpsiyonu. Sigara içenlerin kullanım şekilleri. Kandaki nikotin konsantrasyonlarını dolayısıyla nikotinin etkilerini belirlemede kolaylık sağlar. Ayrıca bu durum, sigaranın en güçlü nikotin bağımlılık şekli olduğunu gösterir (15). Sigara içimiyle alınan nikotin miktarı, bireyin sigara dumanını ne kadar ve ne sıklıkta içine çektiği, sigara içilen alanın açık veya kapalı olması ile ilişkilidir (14). (17). Birçok ülkede insanlar zamanlarının %90'ından fazlasını iç mekanlarda geçirirler ve bu nedenle iç mekanlardaki kötü hava kalitesine maruz kalmanın sağlığa yönelik riskleri dış mekanlara göre daha fazla olabilir (18). Birden fazla iç mekân kirletici, kronik solunum yolu hastalıklarına bağlanmıştır (19).

### ***B. Nikotinin Dokulara Dağılımı***

Sigara içerken kan dolaşımına giren nikotinin %5'inden azı plazma proteinlerine bağlanır (20). Sigara içtikten sonra plazmadaki nikotin konsantrasyonları ortalama olarak 20-60 ng/ml olsa da bu değer 100 ng/ml kadar yükselebilir (21,22). Sigara içenlerin otopsi verilerine göre, nikotine afinitesi en yüksek olan dokular beyin, karaciğer, dalak ve akciğerlerdir. Beyin dokusundaki nikotin miktarı, reseptör up-regülasyon miktarına bağlıdır. Sigara kullananlarda, kullanmayanlara göre yüksek olduğu gözlenmiştir (23,24). Ayrıca mide sıvısında ve anne sütünde nikotin akümüle olur (25). Bir de nikotin plasentaya kolayca geçtiği için fetal plazmadaki nikotin konsantrasyonları maternal plazmadakinden daha yüksektir (26).

İlk sigarayı çektikten yaklaşık olarak 10 saniye içerisinde nikotin beyne ulaştığı için güçlü bir farmakolojik etki ile nikotinin bağımlılık etkisi artar (27).

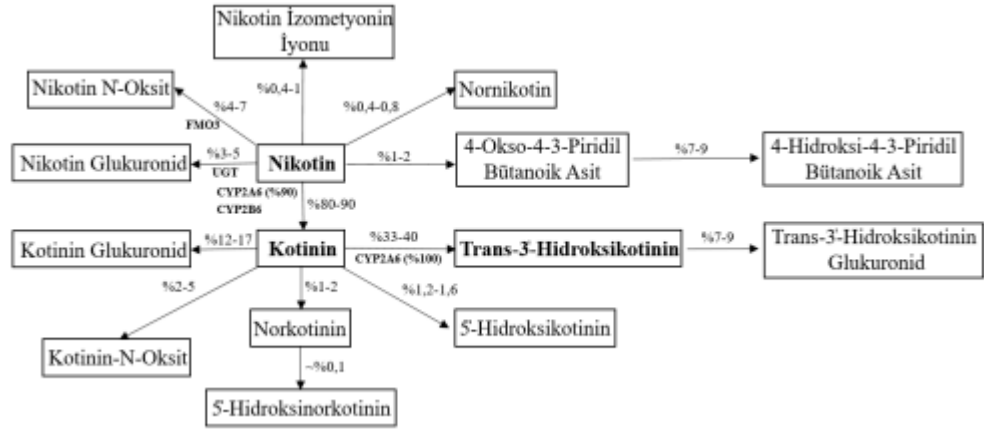
### 2.1.2. Nikotinin Metabolizması

Nikotin, başlıca karaciğerde olmak üzere akciğer ve böbrekler de metabolize olmaktadır. Nikotinin 6 'sı majör birçok metaboliti vardır, Kotinin en önemli metabolittir. Nikotinin %80 den fazlası yani %90'a yakını canlı organizmada, CYP2A6 enzimleri ve daha az oranda CYP2B6 enzimleri ile metabolize edilmektedir (28). Nikotinin %80-90'ı kotinine metabolize olur, %10-15'i idrarla kotinin olarak atılır (29). Kotininin de en fazla, Trans-3'-hidroksikotinin olmak üzere (%33-40), Kotinin glukuronid, Kotinin N-oksit, Norkotinin ve 5'-hidroksikotinine metabolitleri olarak atılır (Şekil 2.1). Kotinin metabolitini Trans-3'-hidroksikotinine dönüştüren tek bir enzim CYP2A6'dır (30).

Nikotinin bir diğer metaboliti de Nikotin N'-oksittir. Nikotin maddesinin %4 ile %7'si, FMO3 (Flavin içeren monooksijenaz) enzimi ile nikotin N'-okside metabolize edilir. Daha sonra, küçük bir nikotin N'-oksit fraksiyonu bağırsakta tekrar nikotine dönüştürülür (30). Nikotinin %1'den azı oksidatif N-demetilasyon ile norkotine dönüştürülür (26). Oksidasyona ek olarak, nikotin de glukuronidasyona uğrar. Bu işlem UGT1A1, 1A4, 1A9, 2B7, 2B10 enzimleri tarafından gerçekleştirilir (31). UGT2B10, glukuronidasyonda atılır (29).

Canlı organizmaya alınan nikotinin çoğu yani %90 oranında metabolitler olarak idrarla atılır. Nikotinin %40-60'ı idrarda trans-3'-hidroksikotin ve trans-3'-hidroksikotin glukuronik asit konjugatları şeklinde bulunur. Memelilerdeki nikotinin, %10-15'i idrarla kotinin, %4-7'si nikotin N'-oksit, %3-5'i nikotin glukuronat ve bir kısmı da kotinine metabolize olur. (32). Nikotin metabolizması Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Bu enzimlere ilaveten CYP2A13 enzimi ise çok az nikotin metabolizmasına katkıda bulunur (28).

Nikotinin yarılanma ömrü yaklaşık 1-2 saattir. Kotinin yarılanma ömrü ise 16-18 saat ve trans-3'-hidroksikotininin yarılanma ömrü de 6-7 saattir (33). Nikotin ve oluşan metabolitleri böbreklerden glomerüler filtrasyon yoluyla atılır (34). Nikotin böbrekten OCT2 (SLC22A2) taşıyıcısı vasıtasıyla aktif taşıma ile taşınır (35). Böbrek yetmezliğinde nikotin klirensi azalır ve vücutta fazlalaşan üremik toksinler CYP2A6 enzimini baskılar (36). İkizler ile yapılan bilimsel çalışmada, kotinin klirensini genetik faktörlerin %41.5-61 oranında de değiştirebileceğini bulmuşlardır (37).

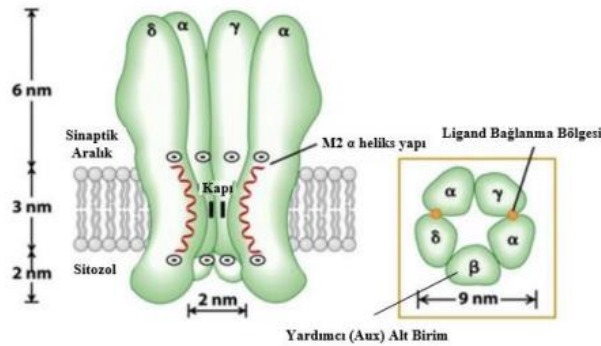


Şekil 2.1. Nikotin metabolizması ve metabolitleri (38)

### 2.1.3. Nikotinin Bağımlılık Yapma Mekanizması

#### A. Merkezi Sinir Sistemi Nikotinic Reseptörleri

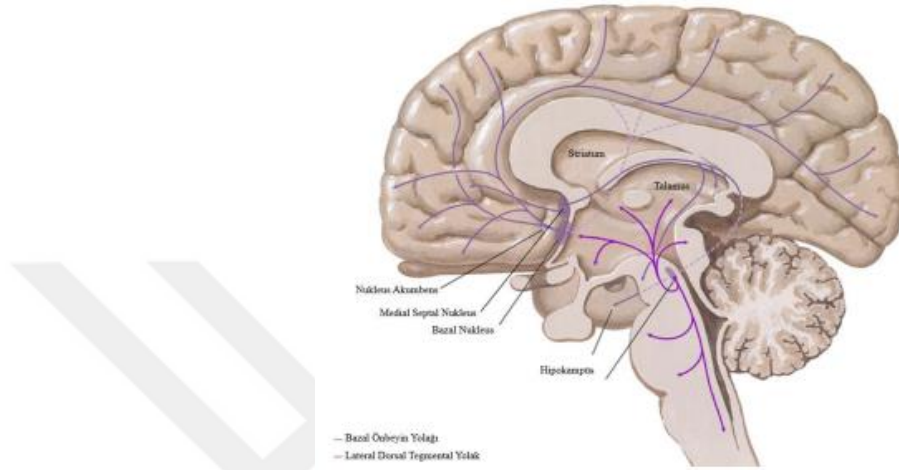
Merkezi sinir sisteminde bulunan nikotinic reseptörler “cys-loop” yapısında olup, ligand bağlı iyon kanallarıdır.  $\alpha$ 1- 10,  $\beta$  1-4,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  alt birimleri bir araya gelerek nikotinic reseptörleri oluşturmaktadır. Bu reseptörler, GABA (Gama Amino Bütirik Asit), Dopamin ve glutamat gibi nörotransmitter maddelerin salınımını düzenlemede rol oynarlar (39). Alfa alt birimi, ligand bağlama bölgesini içerir ve nikotinic reseptörlerin işlev görmesi için en az 2 alfa alt birimi içermesi gerekir (40). Ligand bağlama bölgeleri olmayan alt birimlere yardımcı alt birimler (Aux) denir. Nikotinic reseptörün yapısı Şekil 2.2'de gösterilmektedir. 3 tip nikotinic reseptör vardır: kas, ganglion ve merkezi sinir sistemi. Bu çalışmada, merkezi sinir sistemindeki nikotinic reseptörler madde bağımlılığındaki rolleri nedeniyle vurgulanmıştır (39).



Şekil 2.2. Nikotinic reseptörlerin yapısı (41)

Nikotinic reseptörler esas olarak beyindeki kolinerjik sistemde yer alır. Kolinerjik sistem beyin dikkati, öğrenmesi, hafızası, motor aktivitesi, duyuşal işleme, ruh hali

(anksiyete, depresyon), ödül işlevi ile ilgilidir. Kolinerjik sistem, ödül işlevindeki rolü nedeniyle madde bağımlılığında da etkin rol oynar (42, 43). Kolinerjik sistem Şekil 2.3'te gösterilmiştir. Bu reseptörler beyinde yaygın olmasına rağmen, en yaygın olarak bazal ön beyin, medial habenula, striatum ve vagal çekirdeğinde bulunurlar. Beyindeki nikotinik reseptörlerin geniş dağılımı, nikotinin zaman ve doz içinde karmaşık etkilerine yol açmaktadır (44).



**Şekil 2.3.** Kolinerjik sistem (45)

İsimleri  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$ ,  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$ ,  $(\alpha 7)_5$  olan ve beyinde yaygın olarak bulunan nikotinik reseptörlerdir. MSS (merkezi sinir sistemi)'nde en fazla bulunan nikotinik reseptörler Tablo 2.1'de gösterilmiştir.  $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$  reseptörleri, sitoizoşizomerleri  $(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$  olan reseptörlere göre, nikotine karşı en az 10 kat daha hassastırlar. Bu reseptörler, yüksek düzeyde duyarlı nikotinik asetilkolin reseptörleri (HSnAChR) olarak adlandırılır. HSnAChR'ler, düşük ve orta düzeyde sigara içimi sonrasında indüklenen 0.1-1  $\mu\text{M}$  nikotin konsantrasyonlarında aktive olabilmektedir. HSnAChR'ler ağırlıklı olarak presinaptik yerleşimlidir ve nörotransmitter salınımını aktive eder. Sinaptik iletim ve plastisite üzerinde etkileri vardır. NMDA reseptörlerine benzeyen  $(\alpha 7)_5$  reseptörleri yüksek  $\text{Ca}^{+2}$  geçirgenliğine sahiptir.  $(\alpha 7)_5$  reseptörleri, translasyon sonrası mekanizmalar da nikotinik reseptörlerin aktivitesi üzerinde etkilidir (43, 46-48).

**Tablo 2.1.** Merkezi sinir sisteminde (MSS) en fazla bulunan nikotinik reseptörler

<b>Nikotinik reseptör</b>	<b>Sinaptik yerleşim</b>	<b>Membran cevabı</b>	<b>Moleküler mekanizma</b>
$(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$	Pre- ve postsinaptik	Pre- ve postsinaptik uyarım, nörotransmitter salıverilmesi kontrolü	Katyon ( $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ ) permabilite artışı
$(\alpha 4)_3(\beta 2)_2$	Pre- ve postsinaptik	Pre- ve postsinaptik uyarım, nörotransmitter salıverilmesi kontrolü	Katyon ( $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ ) permabilite artışı
$(\alpha 7)_5$	Pre- ve postsinaptik	Pre- ve postsinaptik uyarım, nörotransmitter salıverilmesi kontrolü	$\text{Ca}^{+2}$ permabilite artışı

Ek olarak, nikotinik reseptör alt tiplerinin bazı polimorfizmleri, merkezi sinir sistemindeki bazı hastalıklar ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Alfa4 ile Beta2 nikotinik reseptör alt tiplerinde oluşan polimorfizimler bazı epilepsi türleri, alfa7 alt tipindeki polimorfizimler ise şizofreni ile ilişkilendirilmiştir (49,50).

### ***B. Bağımlılık Mekanizması***

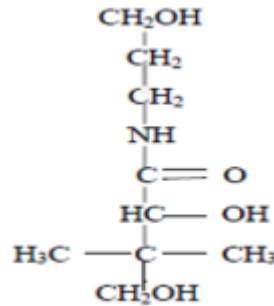
Nikotinin bağımlılığı uzun süreli kullanım sonucu oluşur (51, 52). Bu süre birkaç gün veya daha uzun süre kullanımda da olabilir (53,54). Bağımlılığın oluşması, nikotinin insanlarda oluşturduğu kendini iyi hissetme ve ödüllendirilme duygusu ile ilgilidir (55). Nikotin, önce Orta beyinde bulunan dopaminerjik nöronlardaki nikotinik reseptörleri aktive eder, sonra duyarsızlaştırır (56). Nikotinin kişide oluşturduğu ödüllendirilme duygusu, mezolimbik sistem ile insular korteks üzerinden gerçekleşmektedir (57). Nikotinik reseptörler açısından zengin olan medial habenula, sigara içme düzeylerini etkiler. Hafif ve orta derecede nikotin bağımlılığı bulunan kişilerde özellikle medial habenulada bulunan nikotinik reseptörlerin etkilerinin olduğu düşünülmektedir (58). Nikotin alımı ile beyinin bu bölgelerinde nikotinik reseptörler aracılığıyla artan dopaminerjik aktivite, ödüllendirilme duygusunu ortaya çıkarır. Nikotin kesilmesinden sonra, artan dopamin geri alımı ve azalan dopaminerjik aktivite, nikotin isteğini ortaya çıkartarak, nikotin bağımlılığına sebep olur (44).

Ödüllendirilme hissi ile bazı insanlar sigarayı stresle başa çıkmak için kullandıklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca bu durumdan, ventral tegmental alanda ve nükleus akumbens'te yüksek düzeyde HS nAChR sentez edilen nöronlar da etkilidir. Nikotin yoksunluğu, stres ve korku durumlarındaki gibi amigdala aktivitesini artırır (59-61). Nikotinin major metaboliti olan kotininin, alfa7 nikotinik reseptörler üzerinde pozitif modülasyon oluşturmasından dolayı anksiyete ve depresyona benzeyen duyguları azalttığını düşündürmüştür (62). Sigara içtikten ilk dakikalar ile bir saat içinde farklı süre

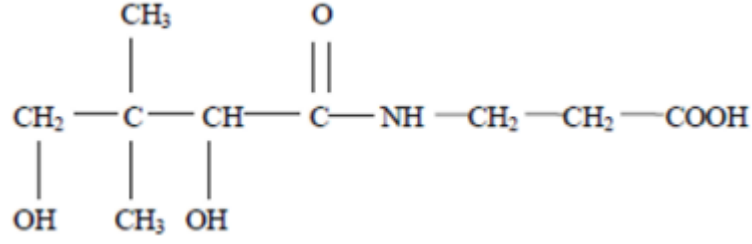
zarfında hafızada artış gözlenir (kognitif sensitizasyon) (63). Bu durum ön beyin ve hipokampus ile ilişkilendirilmiştir. (64). Hipokampusun dentat girusunda nikotin, HS nAChR yoluyla özellikle LTP (Long-Term Potantion) oluşumuna yol açar (65,66). Nikotinin hafızayı güçlendirici etkisinin, bağımlılık yapıcı etkisine katkısının olup olmadığı net olarak ortaya konulmamıştır (44). Uzun süreli nikotine maruz kalmak, nikotinerjik reseptörlerin artışına yol açar (upregülasyonu) (67,68). Nikotin alımına başladıktan iki hafta süre içinde HS nAChR miktarı yaklaşık %50 artar. Bu artış ilerleyen haftalarda devam eder (69,70). HS nAChR sayısındaki artış seçicidir. Yani orta beyin, korteks ve hipotalamustaki reseptör sayısı artış gösterirken, talamus ve beyincikteki reseptörler değişmez (71,72). Bu seçicilik sadece beyin bölgelerinde değil, nöronların farklı bölümlerinde de görülür. Substantia nigra ve ventral tegmental alandaki dopaminerjik ve GABAerjik nöronlar, soma hücrelerinde bol miktarda HS nAChR'lerini eksprese eder. Fakat kronik nikotin bağımlılığı varsa GABAerjik nöronlar soma hücrelerinde upregülasyona sebep olur. Dopaminerjik nöronların ise akson terminallerinde upregülasyon meydana gelir. HS nAChR'lerde gerçekleşen seçici upregülasyon durumu, nikotin bağımlılığının ödüllendirme ve tolerans gelişimine neden olmaktadır (73).

## 2.2. Dekspantenol

Provitamin B5 olarak da bilinen dekspantenol, B kompleksi vitaminlerinden biri olan pantotenik asidin (PA) aktif alkolüdür (Şekil 2.4). Kimyasal yapısı: (R)-2,4-dihidroksiN-(3-hidroksipropil)-3,3-dimetilbutanamid. Parenteral veya oral olarak uygulandığında vücutta hızla emilir ve pantotenik aside dönüştürülür (74). Dekspantenol'ün asit yapısı (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Dekspantenolün yapısı (75)



Şekil 2.5. Pantotenik asit yapısı (75)

Yetişkinler için günlük gereksinim 5-6 mg'dır (76). Pantotenik asit, epitelizasyonu ve yara iyileşmesini hızlandırmasının yanında antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerine sahiptir. Pantotenik asit, serbest radikallerin sebep olduğu hücre hasarlarına karşı koruyucu bir etkiye sahiptir. Pantotenik asit ve türevleri, adenozin trifosfatın (ATP)'in sentezini arttırmasının yanında, ayrıca artan indirgenmiş glutatyon ve koenzim A düzeyini de arttırır. Bu durum; hücrel savunmada inflamatuvar yanıtlar da ve oksidatif strese karşı savunmada önemli bir rol oynar (77).

Karaciğerde fosforilasyonlar sonrası dekspantenol D-pantotenik aside dönüştürülür (78). Dekspantenol, Adenozin trifosfat (ATP) sentezini arttırarak redükte glutatyon (GSH) seviyelerinin artmasına neden olur (79). Pantotenik asit, birçok önemli hücrel olayın birincil mekanizmasında önemli bir kofaktör olarak kabul edilen koenzim A'nın bileşiminde rol oynar ve Co enzim A sentezini arttırır. Koenzim A, asetil-CoA (ACh) üretimi, karbonhidrat sentezi ve yıkımında, kolesterol metabolizmasında, adrenal kortekste steroid hormonlarının metabolizmasın da ilaçların ve diğer birçok antibiyotiklerin metabolizmasında, karaciğerdede primer asetilasyonda ve tiaminin de, oksidatif reaksiyonlarda sitrik asit siklusunda Süksinil-CoA formatına dönüşerek hem sentezinde ve yıkımında proktetif görev alır (5). Literatür, pantotenik asidin deneysel olarak gama radyasyonunun dokular üzerindeki zararlı etkilerini azalttığını, hücreleri UV kaynaklı apoptozdan koruduğunu ve ayrıca tümör hücrelerinde lipid peroksidasyonunu önlediğini göstermektedir (6). Dekspantenolün yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri geçmiş literatürde uzun yıllardır gösterilmiş ve oral, topikal veya parenteral kullanım için kullanılmıştır (80).

Pantotenik asit epidermis tarafından zayıf bir şekilde emilirken dekspantenol epidermisten iyi emilir ve karaciğerde hızla pantotenik aside dönüştürülür. Kesilmiş insan derisiyle yapılan in vivo çalışmalar, dekspantenolün deri yoluyla iyi emildiğini



göstermiştir. Topikal uygulama ile yapılan çalışmalarda insan kafa derisinde, saç folikülü hücrelerinde, tırnak keratin dokusunda ve cilt katmanlarında artan pantotenik asit konsantrasyonları bulunmuştur (81). Dekspantenol kullanımında oluşabilecek kontrendikasyonlar hemofili ve benzeri trombotik bozukluklar, kitle tümörlerine bağlı ileus ve paraben duyarlılığıdır (81).

%2-5 oranında Dekspanthenol içeren merhemler, pomadlar veya sıvı haldeki formulasyonları deri ve mukoza kaynaklı lezyonları tedavi etmek için kullanılır. %2'lik dekspantenol formülasyonlar, çeşitli cilt rahatsızlıkları veya şiddetli kaşıntıyı gidermek için kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır. Yetişkinlerde Dekspantenol sistemik olarak 250-500 mg dozlarda kullanılmaktadır (78). Oral veya parenteral olarak kullanılan Dekspantenol, sıçanlar ve memelil dokularında PA'ya dönüştürülür. PA, hücrelerde indirgenmiş glutatyon (GSH), koenzim A (CoA) ve ATP sentezinin artmasına sebep olur (80). Redükte GSH ve glutatyona bağımlı peroksidazlar, iskemi-reperfüzyon hasarında ve oksidatif stres ile lipid peroksidasyona karşı en önemli koruyucu sistemlerdir (82).

### **2.2.1. Etki Mekanizması**

Pantotenik asit genellikle yiyeceklerde bulunur. Tahıllar ve baklagiller pantotenik asitin en zengin besin kaynağıdır. Pantotenik asit, koenzim A'nın bileşimine girer. Asetil-CoA formundaki Koenzim A, vücuttaki birçok metabolik olayda görev alır. Bunların başlıcaları Karbonhidrat metabolizması, kolesterol sentezi, asetilkolin sentezi lipid peroksidasyonu, adrenal kortekste sentezlenen steroid hormonların yapımında, karaciğerde ksenobiyotiklerin ve ilaçların asetilasyon ve biyotransformasyonudur. Ayrıca sitrik asit döngüsünde ve süksinil-CoA şeklinde hem sentezinde görev alır (9). Dekspantenol, asetilkolin sentezi için gerekli bir öncüdür. Normal gastrointestinal aktiviteyi sürdüren parasempatik sinir aktivitesi için asetilkolin gereklidir. Bu da dinamik ileus tedavisinde dekspantenol etki mekanizmasını açıklayabilir (83).

### **2.2.2. Farmakokinetik**

Dekspantenol topikal, oral ve parenteral olarak uygulanır. Absorbe edilen dekspantenol karaciğer hücrelerinde pantotenik aside dönüştürülür ve endojen vitamin depolarına eklenir. Merhem, losyon ve benzeri ilaçlarla topikal olarak uygulandığında deriden hızla emilir (84). Pantotenik asit, kandaki plazma proteinlerine, primer olarak beta-globulinler ve albümine bağlanır. PA konsantrasyonu sağlıklı yetişkinlerde, tam kanda yaklaşık 500-1000 µg/l serumda ise 100 µg/l'dir. Pantotenik asit insan vücudunda

metabolize olmadığı için, oral dozun %60-70'i idrarla, kalanı değişmeden feğesle atılır. İdrarla atılan pantotenik asit miktarı yetişkinlerde ise günde 2-7 mg iken çocuklarda 2-3 mg'dır (85).

### **2.2.3. Fiziksel Özellikleri**

Dekspantenol hafif karakteristik kokulu ya da kokusuz, berrak, higroskopik, viskoz bir sıvıdır. Dekspantenol, su, alkol, metanol, propilen glikolde, kloroform ve eterde çözünür; gliserolde az çözünür. Uzun süre sabit beklemede kristalleşebilir (86).

### **2.2.4. Endikasyonlar**

Anal fissur, aftöz ülser, ileus, kserozis, emziren annelerde meme bakımı, stomatit, pişik, venöz bacak ülserleri, yanıklar (83).

### **2.2.5. Yan Etkiler**

Dermatit, cilt kaşıntısı, abdominal ağrı, dispne, eritem, hipotansiyon, ürtiker (83).

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu yüksek lisans tezi İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: TYL-2021-2508). Bu tez çalışması kapsamında yapılan biyokimyasal analizler ve western blot analizleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında, histopatolojik analizler ise İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar Malzemeler

Çalışma süresince kullandığımız kimyasallar: dekspantenol (Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti., İstanbul Türkiye), fosforik asit, tiyobarbutirik asit (TBA), n-butanol, triklorasetik asit (TCA), disodyumhidrojenfosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), 5,5' dithiobis 2 nitrobenzoik asit (DTNB), trisodyum sitrat (TRİS), ksantin, ksantin oksidaz,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  (Sodyum Edta), NBT (Nitro Blue Tetrazolium),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Sodyum Karbonat), BSA (Sığır Serum Albümini),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (mono potasyum fosfat),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Hidrojen peroksit), potasyum tartarat, bakır sülfat, NaOH (sodyum hidroksi), IL-6 ELISA kiti ve TAS-TOS ELISA kitleri kullanıldı.

#### 3.2. Ratların Temini ve Bakımı

Çalışmamızda İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden tedarik edilen 32 adet 250-300 gram ağırlığında Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Ratlar, her kafeste dört adet olacak şekilde gruplandırıldı. %55- 60 nemli ortamda, 21 °C, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatılmış odada barındırıldı. Çalışma süresince ad libitum olacak şekilde standart pelet sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Kafeslerin temizliği günlük olarak yapıldı.

#### Deney Grupları

1. Grup (Kontrol grubu): Herhangi protokol uygulanmadı. ad libitum olacak şekilde standart pelet sıçan yemi ve musluk suyu ile beslendiler
2. Grup (Nikotin grubu): 0.5mg/kg-gün ip olarak uygulandı.
3. Grup (Dekspantenol grubu): 500 mg/kg/gün dekspantenol ip olarak uygulandı.
4. Grup (Nikotin+Dekspantenol grubu): 0.5mg/kg /gün Nikotin + 500mg/kg/gün dekspantenol ip uygulandı.

Nikotin 0.5mg/kg /gün olarak ip uygulandı. Dekspantenol 500mg/kg/gün olacak şekilde intraperitoneal uygulandı. Uygulama 8 hafta boyunca devam etti.

### **3.3. Biyokimyasal Analizler**

Çalışma sonunda diseke edilen dokular çalışma yapılincaya kadar -80°C derin dondurucuda bekletildi. Akciğer dokularında MDA, GSH, GSH-Px, GST, SOD, CAT, TAS, TOS, OSİ, Galectin3; serumda ise IL-6 ve IL-1β seviyeleri tespit edildi.

#### **3.1.1. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanması**

-80°C'de bekletilen akciğer dokuları çalışma günü çıkartılıp tartıldı. %10'luk homojenat oluşacak şekilde fosfat tamponu eklenerek, homojenizatör de homojenize edildi. Akciğer doku homojenatları 4000 rpm'de, +4 °C'de, 20 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi.

#### **3.1.2. Redükte Glutatyon (GSH) Düzeyinin Hesaplanması**

GSH tayini analizi, Ellman'ın tarif ettiği metoda göre yapıldı (87). Analiz tüpü içinde bulunan GSH'ın 5.5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit ile reaksiyona girmesi sonucunda sarı-yeşilimsi renk oluşmuştur. Bu rengin ışık şiddetinin spektrofotometredeki absorbans değeri (410 nm dalga boyunda) GSH konsantrasyon değerini göstermiştir.

#### **3.1.3. Malondialdehid (MDA) Düzeyinin Hesaplanması**

MDA analizi Uchiyama ve ark. (88) metoduna göre yapıldı. MDA ölçümü, süpernatandaki MDA'nın tiyobarbitürik asit ile 95 °C'de reaksiyona girmesi sonucu meydana gelen pembe renkli yani n-butanol fazında bulunan üründen ekstraksiyon ile elde edilen süpernatanın spektrofotometre de (520 nm ve 535 nm dalga boyunda) ölçülmesiyle hesaplandı.

#### **3.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Hesaplanması**

GSH-Px ölçümü Paglia ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı (89). GSH-Px, ortamda hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) var ise GSH'ın, GSSG'ye yükseltgenmesini katalize eder. GSSG, glutatyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'ya indirgenir. Dalga boyu 340 nm'ye ayarlanan spektrofotometre cihazında numunelerin absorbans değerleri 3 dakika boyunca kaydedildi. Lineer aktivite azalışının 3 dakikalık süresi esas alındı. Ölçüm yapılırken, 3 dakikalık süre bitiminde absorbans farkı ölçülüp ve 3'e bölündü dakika başına düşen absorbans değişimi dikkate alınarak hesaplamalar yapıldı.

### **3.1.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Hesaplanması**

SOD aktivitesi, Sun ve arkadaşları tarafından belirlenen yöntemle göre ölçüldü (90). Yöntem, ksantin oksidaz tarafından üretilen süperoksit radikalının nitroblue tetrazolium'u indirgeyerek mavi renkli formazanı oluşturması prensibine dayanmaktadır. Kısaca, ksantin, nitroblue tetrazolium (NBT) ve ksantin oksidaz içeren reaktife, örnek ilave edildi. Aynı zamanda, süpernatant içermeyen mikropilaya kuyucuğu hazırlandı. Kör ve süpernatant numuneleri, 20 dakika süreyle, 25° C inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, reaksiyon, test ortamına bakır klorür ilave edilerek durduruldu ve elde edilen mavi rengin absorbansı, bir spektrofotometrik mikropilaya okuyucu kullanılarak 560 nm'de ölçüldü (Synergy H1 Hibrit Çok Modlu Okuyucu; BioTek Instruments, Inc.). Bir birim SOD, NBT dönüşüm oranını %50 oranında inhibe eden protein miktarı olarak tanımlanır.

### **3.1.6. Glutasyon S-transferaz (GST) Aktivitesinin Hesaplanması**

Elektrofilik yapıdaki bileşiklerin, GSH'nin (Glutasyonun), SH(Sülfür) grubu ile tepkimesini Glutasyon S-transferaz katalize ederek bu bileşikleri detoksifiye eder. GST aktivitesi, Habig ve ark.'nın (91) uyguladığı yöntemle göre tayin edilmiştir. GST aktivasyonu, 340 nm dalga boyunda 1-kloro 2,4 dinitrobenzen (2,4-dinitrochlorobenzene; CDNB)'nin GSH ile konjugasyonu sırasında meydana gelen absorbans artışlarının takip edilmesi ile ölçülür. Enzim aktivitesi 25 °C'de, 340 nm'de GSH ve CDNB kullanılarak dakika başına, S-2,4 dinitrofenilglutasyonun 1 µmol'unu katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenir.

### **3.1.7. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Hesaplanması**

CAT aktivitesi, Aebi ve ark. tarafından bildirilen yöntem kullanılarak ölçülmüştür (92). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maksimum dalga boyu 240 nm'de ultraviyole ışığı absorbe eder; CAT enzim tayini, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin suya (H<sub>2</sub>O) ve oksijene (O<sub>2</sub>) ayrışması ile numunedeki 240 nm dalga boyunda azalan absorbansın ölçümüyle tespit edilir. Azalan absorbans, enzim aktivitesini belirlemek için ölçümler 1 dakika süreyle kaydedilir. Katalaz aktivitesi, K/g protein olarak verilmiştir.

### **3.1.8. Total Antioksidan Status (TAS) Düzeyinin Hesaplanması**

Akciğer dokusu numunelerin TAS düzeyinin tayini, Rel Assay marka kullanıma hazır kitler ile yapıldı. Ölçüm metodu numunedeki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS (2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) katyonik radikalini indirgemesi sonucu dekolore olması durumuna göre yapılır. Bu

dekolorize antioksidan moleküllerin total konsantrasyonlarıyla orantılı olarak değişim gösterir. TAS ölçümü bu orantıya göre yapılır (93). Kalibratör olarak Trolox kullanıldı. Trolox E vitamininin suda çözünür bir analogudur. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi. TAS hesaplamaları üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda aşağıdaki gibi yapıldı (Tablo 3.1).

**Tablo 3.1.** Uygulama Tablosu

Uygulama	Reaktifler	Numune	Standart	Kontrol	Kör
	Assay Buffer	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
1. Basamak	Numune (Hücre lizati)	12 µl	-	-	-
	Standart	-	12 µl	-	-
	Kontrol Level 1 ve Level 2	-	-	12 µl	-
	Deiyonize H <sub>2</sub> O	-	-	-	12 µl
37°C de 660 nm dalga boyunda ilk absorbans değerleri okundu ve kaydedildi.					
2. Basamak	Renkli ABTS radikal çözeltisi	30 µL	30 µL		30 µL
37°C de 5 dk inkübasyondan sonra 660 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar okundu ve değerler kaydedildi.					

Kit prosedüründeki işlemlerden sonra aşağıdaki formül kullanılarak TAS değerleri için sonuçlar hesaplanarak, “mmol Trolox Eq/L” olarak ifade edildi.

$$\text{Sonuç (mmol Trolox Eq/L)} = \frac{\Delta Abs_{H_2O} - \Delta Abs_{Numune}}{\Delta Abs_{H_2O} - \Delta Abs_{Standart}}$$

$$\Delta Abs_{H_2O} = \text{Suyun 2. Absorbans değeri} - \text{Suyun 1. Absorbans değeri}$$

$$\Delta Abs_{Numune} = \text{Numunenin 2. Absorbans değeri} - \text{Numunenin 1. Absorbans değeri}$$

$$\Delta Abs_{Standart} = \text{Standartın 2. Absorbans} - \text{Standartın 1. Absorbans değeri}$$

### 3.2. Total Oksidant Status (TOS) Düzeyinin Hesaplanması

Akciğer dokusu numunelerinin TOS düzeyinin tayini, kullanıma hazır ölçüm kiti ile gerçekleştirildi (Total Oxidant Status Assay Kit, Ürün Kodu: RL0024, Rel Assay Diagnostics® Mega Tıp Ltd., Gaziantep, Türkiye). Ölçüm işlemleri üretici firmanın tarifi doğrultusunda gerçekleştirildi (94) (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2.** Uygulana Tablosu 2.

Uygulama	Reaktifler	Numune	Standart	Kontrol	Kör
1.Basamak	Assay Buffer	200 µl	200 µl	200 µl	200 µl
	Numune (Hücre lizati)	30 µl	-	-	-
	Kontrol Level 1 ve Level 2	-	-	30 µl	-
	Standart	-	30 µl	-	-
	Deiyonize H <sub>2</sub> O	-	-	-	30 µl
37°C de 530 nm dalga boyunda başlangıç absorbanslar okundu ve değerler kaydedildi.					
2.Basamak	Prokromojen çözelti	10 µL	10 µL	10 µL	10 µL
37°C de 5 dk inkübasyondan sonra 530 nm dalga boyunda ikinci absorbans değerleri okundu ve kaydedildi.					

Yukarda tabloda gösterilen işlemlerden sonra aşağıda gösterilen formüle göre TOS sonuçları hesaplandı. Bu sonuçlar “µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eq/L” olarak gösterildi.

$$Sonuç = \frac{\Delta Abs_{Numuna}}{\Delta Abs_{Standart}} \times 10$$

$$\Delta Abs_{Numune} = \text{Numunenin 2. Absorbansı} - \text{Numunenin 1. Absorbansı}$$

$$\Delta Abs_{Standart} = \text{Standart'ın 2. Absorbansı} - \text{Standart'ın 1. Absorbansı}$$

### 3.3. Galectin-3, IL-6 ve IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Hesaplanması

Galectin3, IL-1 $\beta$  ve IL-6 ölçümleri ELISA yöntemi ile ticari olarak temin edilen kitler (Bioassay Technology Shanghai, Kore ve ELK Biotechnology, Wuhan, Çin) kullanılarak ölçüldü. Kit prosedürüne uygun bir şekilde aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulandı.

1. Standartlar belirtilen konsantrasyonda hazırlanarak seri dilüsyon yapıldı.
2. Standart, örnek ve kör kuyucuklarına numuneler 100  $\mu$ l olarak pipetlendi ve plaka 37°C'de 80 dk inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki numuneler aspire edildi.
4. Kuyucuklar, 300  $\mu$ l yıkama solüsyonu ile 3 defa yıkandı ve yıkama solüsyonu bertaraf edildi.
5. Kuyucuklara 100  $\mu$ l biyotinli antikor solüsyonu eklendi ve plaka 37°C'de 50 dk inkübe edildi.
6. İkinci inkübasyondan sonra tekrar 3 defa yıkama yapıldı.
7. Yıkama sonrasında kuyucuklara 100  $\mu$ l streptavidin-HRP solüsyonu eklendi ve plaka 37°C'de 50 dk inkübasyona bırakıldı.
8. 300  $\mu$ l yıkama solüsyonu ile kuyucuklar 5 defa yıkandı ve yıkama solüsyonu uzaklaştırıldı.
9. Kuyucuklara 90  $\mu$ l TMB substrat solüsyonu eklenip 37°C de 20 dk inkübasyona bırakıldı.
10. Renk değişimi gözlemlendikten sonra TMB substrat solüsyonunun üzerine 50  $\mu$ l durdurucu reaktif eklendi.
11. Plaka 450 nm dalga boyunda mikropilaka okuyucuda (BioTek Synergy H1, BioTek Instruments) okundu ve elde edilen veriler analiz programı (Gen5, BioTek Instruments) ile değerlendirildi. Test sonuçları standartlar kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı.



### **3.4. Western Blot Analizi**

Western Blot; bir numunede bulunan proteinin varlığını, konsantrasyonunu ve farklı gruplar arasındaki proteinin konsantrasyon farkını göstermek için kullanılan bir metottur. Nükleer faktör-kappa B (NF-KB) bağışıklık sisteminde anahtar bir transkripsiyon regülatördür. Nikotin toksisitesi oluşturulmuş sıçanlardaki etkisini ifade etmek için NF-KB protein düzeyi Western Blot yöntemi ile belirlendi.

#### **3.4.1. Numunenin Hazırlanışı**

Western blot yapılacak gruplarına ait akciğer dokuları 1 mM PMSF ve proteaz inhibitör koktail'i içeren RIPA tamponunda (150 mM NaCl, 50 mM tris HCl, %1 NP-40, %0.5 Sodyum Deoksikolat, 1 mM EDTA, % 0.1 SDS; pH: 7.4) homojenize edildi. Doku homojenatı +4°C sıcaklıkta 5000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Bu işlemin ardından süpernatant yeni bir santrifüj tüpüne alındı. Alınan süpernatantın bir kısmı protein tayini için kullanıldı, kalan kısmı da Western blot analizinde kullanılmak üzere parsellenip -80°C derin dondurucuda muhafaza edildi.

#### **3.4.2. Protein Konsantrasyonunun Hesaplanması**

Homojenize edilen örneğin protein ölçümü için Lowry metodu kullanıldı. Bu amaçla BIO-RAD marka (BIO-RAD DC Protein Assay, U.S) protein tayin kiti kullanıldı. Protein standartları olarak bidistile su içerisinde 0 mg/ml, 0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1mg/ml, 1.25 mg/ml, 2.5 mg/ml, 7.5 mg/ml, 10 mg/ml, konsantrasyonlarında sığır serum albümini (BSA) standartları hazırlandı. Protein ölçümü için 96 kuyulu plakaya örnekler ve standartlar 5 µL olacak şekilde eklendi. Üzerlerine 25 µL DC Protein Assay Reagent A ve 200 µL DC Protein Assay Reagent B ilave edildi. Kit rektifleriyle karıştırılan örnekler 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra ELISA okuyucuda 750 nm'de okutuldu ve mg/mL cinsinden protein konsantrasyonları belirlendi.

#### ***Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE) Jelin Hazırlanması***

Çalışmada SDS-PAGE jelin hazırlanması için Bio-Rad marka vertikal elektroferez sistemi, elektroferez tankı, jel kabı ve güç kaynağı kullanıldı. SDS-Poliakrilamid jelin hazırlanması için aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulandı.

1. Jel dökmek için kullanılan ince ve kalın camlar vertikal elektroferez sistemine yerleştirildi.

2. Hazırlanan jel çözeltisi pipet yardımıyla iki cam arasındaki boşluğa döküldü.
3. Jelin üst sınırının düzgün olması için üzerine izopropanol eklendi.
4. Ayırma jeli polimerize olduktan sonra üstteki izopropanol uzaklaştırıldı.
5. Stoklama jel çözeltisi hazırlandı ve ayırma jelin üzerine döküldü.
6. 10 kuyulu tarak 45° açı ile iki cam arasına yerleştirildi ve polimerizasyon için bir süre beklendi.
7. Örnekler 20-30 µg protein olacak şekilde hesaplandı. 2 X örnek yükleme tamponu ve %10 oranında β-merkaptoetanol ile örnekler karışımı hazırlandı.
8. Protein karışımını içeren ependorf tüpler 95°C'de 5 dk inkübe edilip denetürasyonun ardından örnek grupları jele yüklendi.

**Tablo 3.3.** %10 Ayırma Jeli Karışımı

<b>%10 Ayırma Jeli Karışımı</b>	
ddH <sub>2</sub> O	4.02 mL
%30 Akrilamid Stoğu	3.33 mL
1.5M Tris, pH=8.8	2.5 mL
% 10 SDS	100 µL
TEMED	5 µL
% 10 APS	50 µL

**Tablo 3.4.** %4 Ayırma Jeli Karışımı

<b>%4 Ayırma Jeli Karışımı</b>	
ddH <sub>2</sub> O	3 mL
%30 Akrilamid Stoğu	660 µL
1.5M Tris, pH=8.8	1.26 mL
% 10 SDS	50 µL
TEMED	5 µL
% 10 APS	25 µL

### 3.4.3. Elektroforetik Yürütme

Numune yüklendikten hemen sonra tank sisteminin üzeri kapatıldı. Tank sistemi güç kaynağına bağlandı. Numunel er ayırıcı jele girinceye kadar 100 Voltluk düşük akımda gerilim uygulandı. Numuneler ayırıcı jele geçtikten hemen sonra gerilim 120

volta çıkarıldı. Brom fenol mavisi jelin alt ucuna geldiği zaman akım kesilerek jeller tank sisteminden alındı.

#### **3.4.4. Proteinlerin Membrana Transferi**

Proteinlerin membrana transferi için Semi-Dry transfer yöntemi uygulandı. Transfer için önce jel tanktan çıkarılıp ve tarak kısımları kesilip atıldı. Daha sonra transfer cihazının kasetine önce filtre sonra membran, jel ve yine filtre olacak şekilde yerleştirildi. BIO-RAD Semi-Dry transfer cihazı kullanılarak proteine uygun kDa'da program seçildi. 25V sabit voltaj ile 5-10 dk sürede proteinlerin jelden membrana göçü sağlandı.

#### **3.4.5. Bloklama**

Transfer proteinleri membrana bağlandıktan sonra %5'lik süt tozu ve 1X TBST (10X TBS, Tween-20, ddH<sub>2</sub>O) tamponunda 1 saat çalkalamaya bırakıldı. Bu süre sonunda membran 10 dakika aralıklarla 3 kez 1X TBST çözeltisi yıkandı.

#### **3.4.6. Primer Antikor ile İnkübasyon**

1:1000 oranında Rabbit monoklonal NF-KB (Cell signaling,8242, USA) antikor ve 1:1000 oranında Rabbit monoklonal  $\beta$ -aktin (Cell signaling, 4970, USA) 1X TBST çözeltisi ile hazırlandı. Membran, NF-KB primer antikor ile +4 °C'de bir gece düşük çalkalama ile inkübe edildi. Bir gün sonra membran alınarak 3 kez 10' ar dakika TBST ile yıkandı ve bağlanmayan antikorlar uzaklaştırıldı.

#### **3.4.7. Sekonder Antikor ile İnkübasyon**

Primer antikor inkübasyonundan alınan ve yıkanan membran 1:2000 oranında Antirabbit sekonder antikor (Cell signaling,7074, USA) ile oda ısısında 1 saat çalkalayıcıda inkübe edildi. Membran tekrar 3 kez 10' ar dakika TBST ile yıkandı ve bağlanmayan antikorlar uzaklaştırıldı.

#### **3.4.8. Görüntüleme ve Dansitometrik Analiz**

Görüntüleme için Thermo Scientific marka (ECL Plus Western Blotting Substrate, REF32132, USA) westwern blot görüntüleme kiti kullanıldı. Sekonder antikora bağlı bulunan, horseradish peroxidase (HRP) enzimi, ECL çözeltisi içinde bulunan substratı katalize ederek, reaksiyon sonucu açığa çıkan luminol ışımaya yol açmaktadır. Bu ışımaya, Biochemi (DNR Bio-imaging system, İsrail) görüntüleme cihazı ile görüntülendi. Protein bant yoğunlukları IMAGE-J Analysis Software (Version 1.53e, USA) programında değerlendirildi. Veriler  $\beta$ -aktin'e oranlanarak standardize edildi.

### **3.5. Histolojik Analiz**

Ratların akciğer dokularında histopatolojik analiz yapmak için ratların akciğer dokuları 3-4 mm'lik küçük parçalara ayrılarak, plastik doku takip kasetlerine konuldu üzerine %10'luk formaldehit ekleyip 24 saat fikse edildi. Fiksasyon işleminden sonra dokular 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkandılar. Dehidratasyonu dereceli alkollerde yapılarak, ksilende şeffaflaştırılıp parafine gömüldüler. Parafin bloklardan Leica RM2145 marka mikrotom yardımıyla 5'er mikron'luk kesitler alındı. Genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla kesitlere Hematoksilen ve eozin boyama yöntemi uygulandı. Pulmoner hasarlar; interalveolar alanlarda hücre infiltrasyonu yönünden değerlendirildi. Her kesitten X20'lik büyütmede 10 alan incelendi ve histopatolojik skorlama pulmoner hasarın derecesi ve yaygınlığına göre belirlendi. Hasarın derecesine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (ağır) olarak değerlendirilme yapıldı. Preparatlar Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q (Leica Micros Imaging solution Ltd, Cambridge, UK) görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlanıp, fotoğraflandı.

### **3.6. İstatistiksel Analiz**

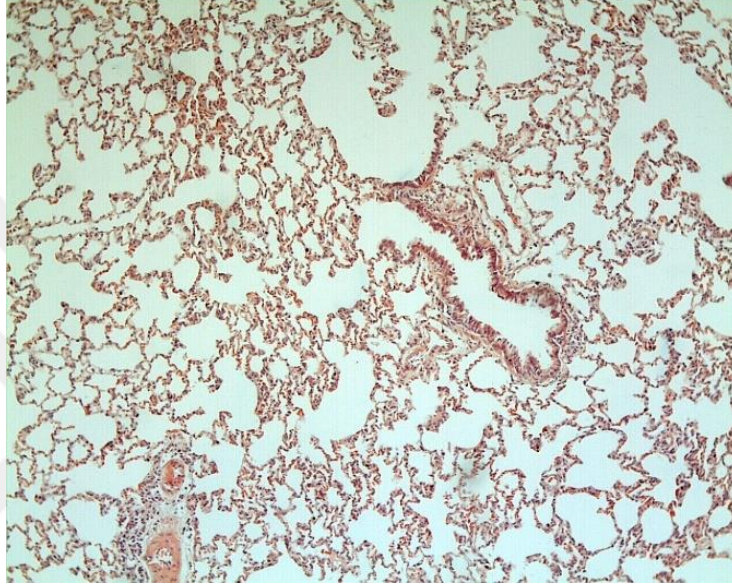
Çalışmamızın istatistiksel analizleri, SPSS yazılım programı (SPSS for Windows version 17) ile yapıldı. Çalışmada yer alan bütün gruplardaki ölçülebilir değişkenlerin normallik testlerine göre normal dağılımda olmadığı saptandı ( $p>0.05$ ). Bu nedenle, istatistiksel değerlendirmede parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis varyans analizi, tüm değişkenler yönünden grupların genel karşılaştırılmasında kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar ise, Bonferroni düzeltmesi uygulanarak, Mann-Whitney-U testi ile yapıldı.  $p<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler, dağılıma bağlı olarak medyan (minimum-maksimum) (Med (Min-Mak)) olarak ifade edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histopatolojik Bulgular

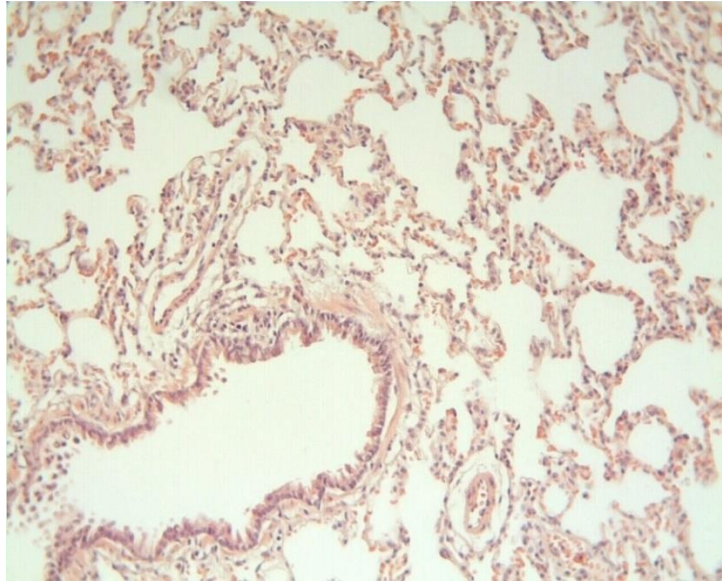
#### 4.1.1. Kontrol Grubu

Hematoksilen-eozin boyama yöntemi uygulanan akciğer kesitleri normal histolojik yapıda gözlemlendi (Şekil 4.1, 4.2).



Şekil 4.1. Kontrol grubu akciğer dokusunun normal olan histolojik görünümü H-E;

X100



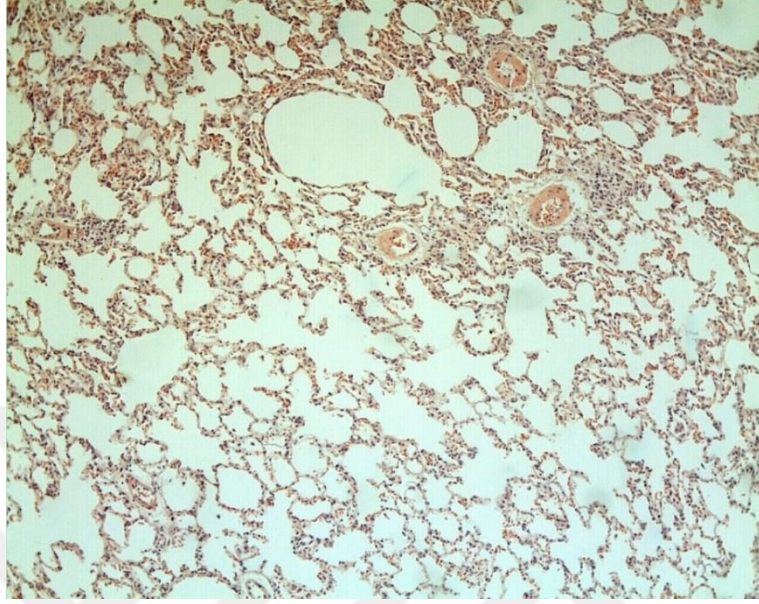
Şekil 4.2. Kontrol grubu akciğer dokusunun normal olan histolojik görünümü H-E;

X200

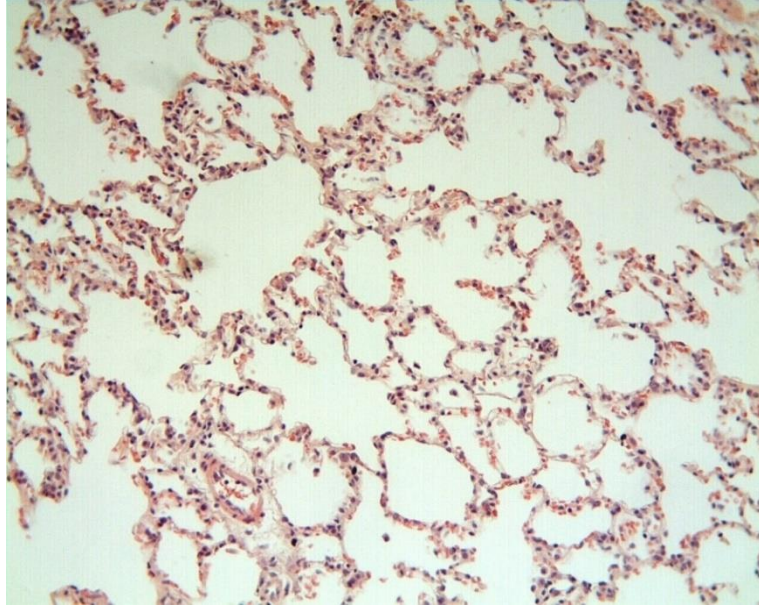


#### 4.1.2. Dex Grubu

Hematoksilen-eozin boyama metodu uygulanmış kesitlerde akciğerin histolojik olarak görünümü kontrol grubuna benzer durumdaydı (Şekil 4.3, 4.4).



Şekil 4.3. Dex grubu akciğer dokusu normal olarak izlenmekte H-E; X100.

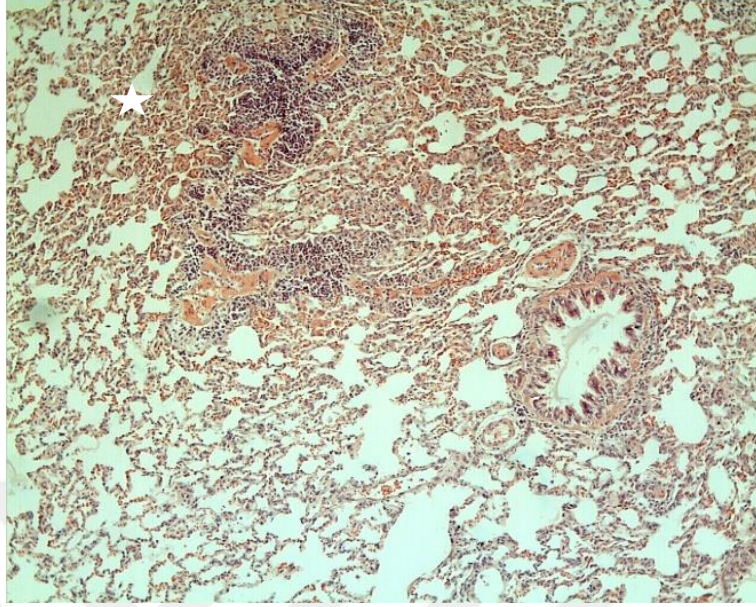


Şekil 4.4. Dex grubu akciğer dokusu normal olarak izlenmekte H-E; X200.

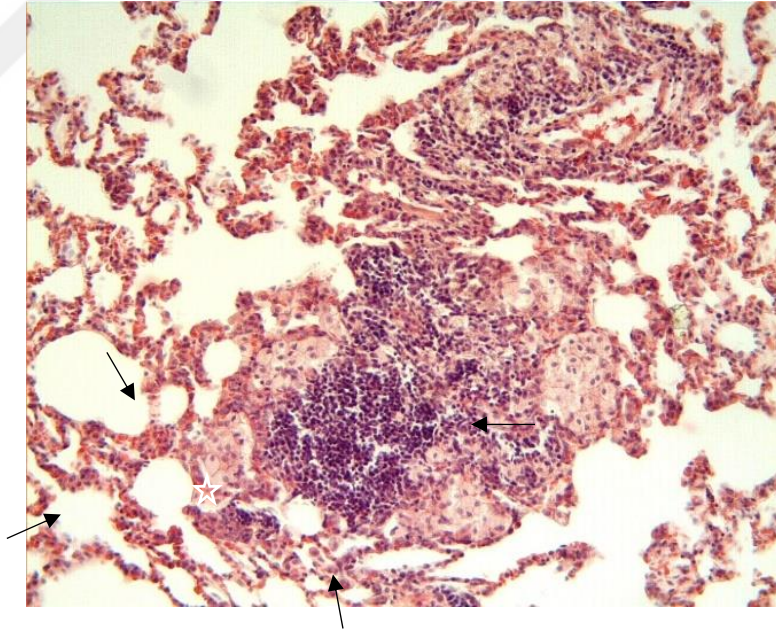
#### 4.1.3. Nikotin Grubu

Hematoksilen-eozin boyama metoduyla incelenen preparatlarda, interalveolar bölgelerde lenfosit ve makrofajlardan oluşan yaygın hücre infiltrasyonu izlendi. (Şekil

4.5, 4.6). Kontrol grubu, nikotin grubu ile karşılaştırıldığında nikotin grubunda istatistiksel olarak histopatolojik hasarın artışı anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.1).



**Şekil 4.5.** Nikotin grubuna ait akciğer dokusunda infiltrasyon bölgeleri (yıldız) görülmüştür. H-E; X100.

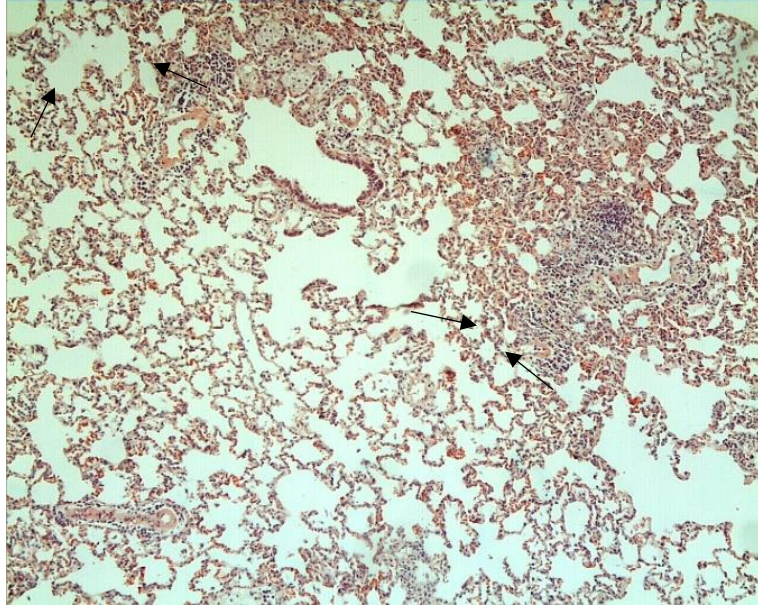


**Şekil 4.6.** Nikotin grubu akciğer dokusunda lenfosit (yıldız) ve makrofajlardan (oklar) oluşan infiltrasyon bölgeleri (yıldız) görülmüştür H-E; X200.

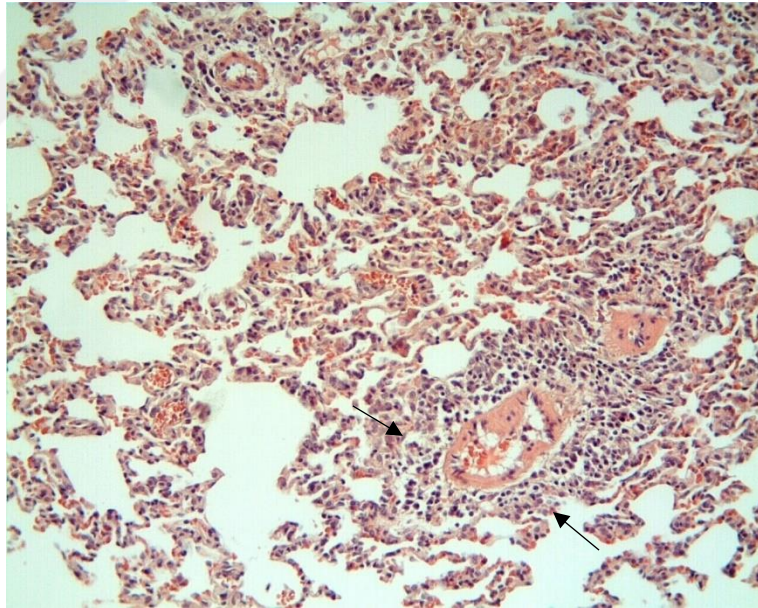
#### 4.1.4. Dex + Nikotin

H-E boyama metodu uygulanan kesitlerde Nikotin grubu ile karşılaştırıldığında hasarın azaldığı fakat bazı yerlerde lokal hücre infiltrasyonu içeren bölgelerin bulunduğu görülmüştür (Şekil 4.7, 4.8).





**Şekil 4.7.** Dex+ Nikotin grubunda inflamatuvar inflamasyon bölgeleri görülmüştür(oklar) H-E; X100.



**Şekil 4.8.** Dex+ Nikotin grubunda infiltrasyon bölgeleri görülmüştür (oklar) H-E; X200.

**Tablo 4.1.** Histopatolojik hasar skoru (Med (Min-Mak))

Parametreler	Kontrol	Dex	Nikotin	Dex+Nikotin
<b>İnfiltrasyon alanları</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-2) <sup>a</sup>	0 (0-1) <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )

<sup>b</sup>Nikotin grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark ( $p < 0.05$ )



## 4.2. Biyokimyasal Analizler

**Tablo 4.2.** Oksidan-Antioksidan parametreler

	Kontrol (n=8)	Dexpantenol (n=8)	Nikotin (n=8)	Dex + Nikotin (n=8)	p
GALECTİN-3(ng/ml)	3.455 (2.942-4.543)	3.723 (3.229-4.061)	4.163 (3.617-5.359)	3.732 (3.441-4.322)	0.081
Il-1β(pg/ml)	495.755 <sup>a</sup> (405.122-673.324)	433.127 <sup>b</sup> (365.757-495.829)	547.346 <sup>c</sup> (519.943-897.026)	521.367 <sup>ac</sup> (451.702-585.922)	0.001
Il-6(pg/ml)	51.344 <sup>a</sup> (34.299-59.123)	40.402 <sup>b</sup> (25.623-48.444)	59.786 <sup>a</sup> (37.054-85.43)	52.311 <sup>a</sup> (41.97-58.882)	0.021
CAT(k/gprotein)	54.846 <sup>ab</sup> (50.973-60.345)	63.127 <sup>a</sup> (42.626-69.852)	50.412 <sup>c</sup> (48.435-56.768)	52.604 <sup>bc</sup> (48.844-57.423)	0.007
GSH-Px(u/gprotein)	166.912 <sup>a</sup> (160.222-208.409)	181.483 <sup>a</sup> (136.586-201.764)	142.223 <sup>b</sup> (104.614-151.43)	165.867 <sup>a</sup> (121.111-226.883)	0.003
SOD(ü/gprotein)	190.232 <sup>a</sup> (169.372-225.263)	185.359 <sup>a</sup> (151.686-213.22)	138.332 <sup>b</sup> (120.418-152.035)	153.082 <sup>c</sup> (137.031-169.532)	<0.001
MDA(nmol/gyaşdoku)	233.24 <sup>a</sup> (212.84-242.08)	217.6 <sup>a</sup> (206.04-238.68)	249.02 <sup>b</sup> (225.96-268.6)	221.34 <sup>a</sup> (206.04-235.28)	0.004
TOS(μmolh <sub>2</sub> o <sub>2</sub> equiv/l)	63.4 <sup>a</sup> (57-78.6)	65.5 <sup>a</sup> (61.8-72)	73.2 <sup>b</sup> (68-76.6)	66.3 <sup>a</sup> (64.4-70.8)	0.020
TAS(mmoltroloxequiv./l)	1.253 <sup>a</sup> (1.102-1.424)	1.262 <sup>a</sup> (1.159-1.318)	1.024 <sup>b</sup> (0.82-1.329)	1.1 <sup>b</sup> (0.814-1.288)	0.006
OSI(mmoltrolox/mmolh <sub>2</sub> o <sub>2</sub> )	52.327 <sup>a</sup> (43.806-62.931)	53.562 <sup>a</sup> (47.839-56.538)	72.546 <sup>b</sup> (52.688-92.881)	59.815 <sup>b</sup> (53.271-86.947)	0.002
GSH(nmol/gyaşdoku)	1178.265 <sup>a</sup> (1159.95-1196.58)	1186.405 <sup>a</sup> (1058.2-1233.21)	1102.97 <sup>b</sup> (1002.55-1155.88)	1168.09 <sup>a</sup> (1090.76-1229.14)	0.007
GST(u/gprotein)	100.01 (83.43-111.67)	99.756 (86.172-108.983)	90.329 (76.036-96.363)	98.684 (75.923-110.466)	0.051

Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

\*Aynı harfi içermeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

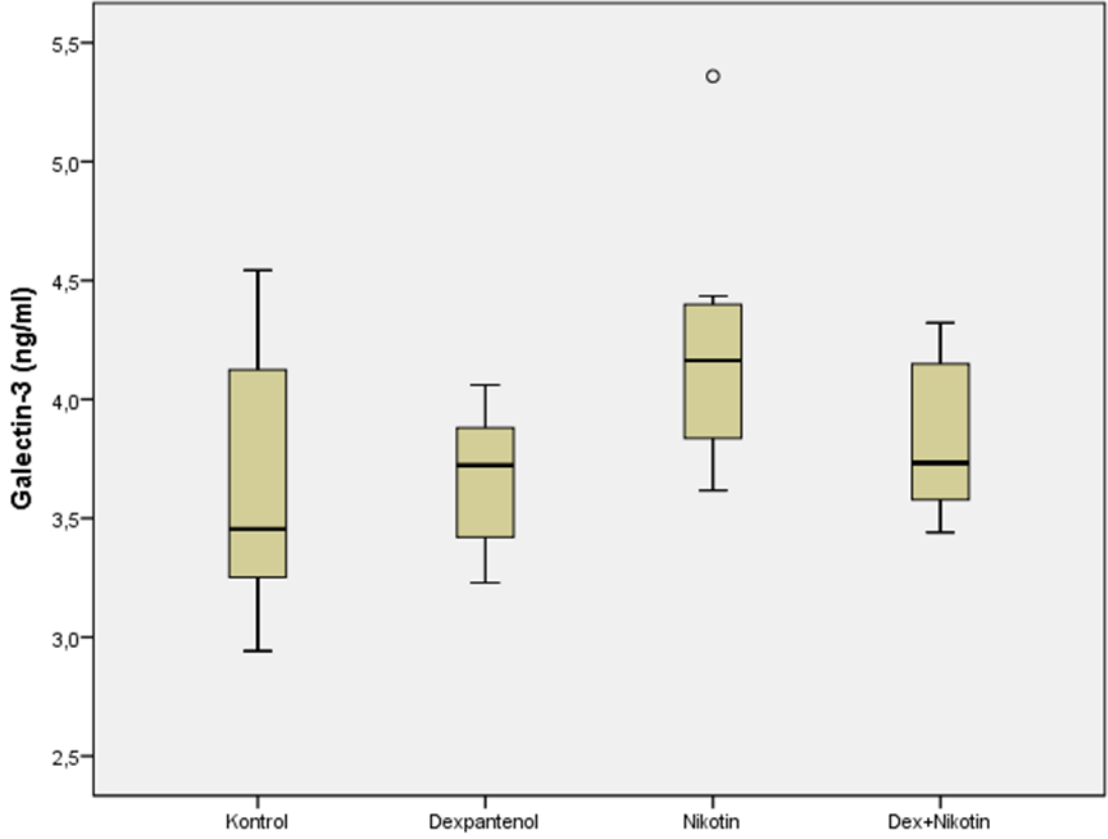
	Kontrol (n=3)	Dexpantenol (n=3)	Nikotin (n=3)	Dex + Nikotin (n=3)	p
NFKB Oranı	1 <sup>a</sup> (1-1)	0.212 <sup>b</sup> (0.144-0.606)	1.515 <sup>c</sup> (1.185-1.637)	0.511 <sup>b</sup> (0.268-0.7)	0.020

## İstatistiksel yöntem

Sayısal veriler medyan, minimum ve maksimum değerler ile gösterildi. Grupların karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi ve sonrasında ikili karşılaştırma yöntemi olan Conover yöntemi uygulandı. Uygulanan bütün testlerde anlamlılık düzeyi 0.05 olarak kabul edildi.

### 4.2.1. Akciğer Dokusu Galectin Seviyeleri

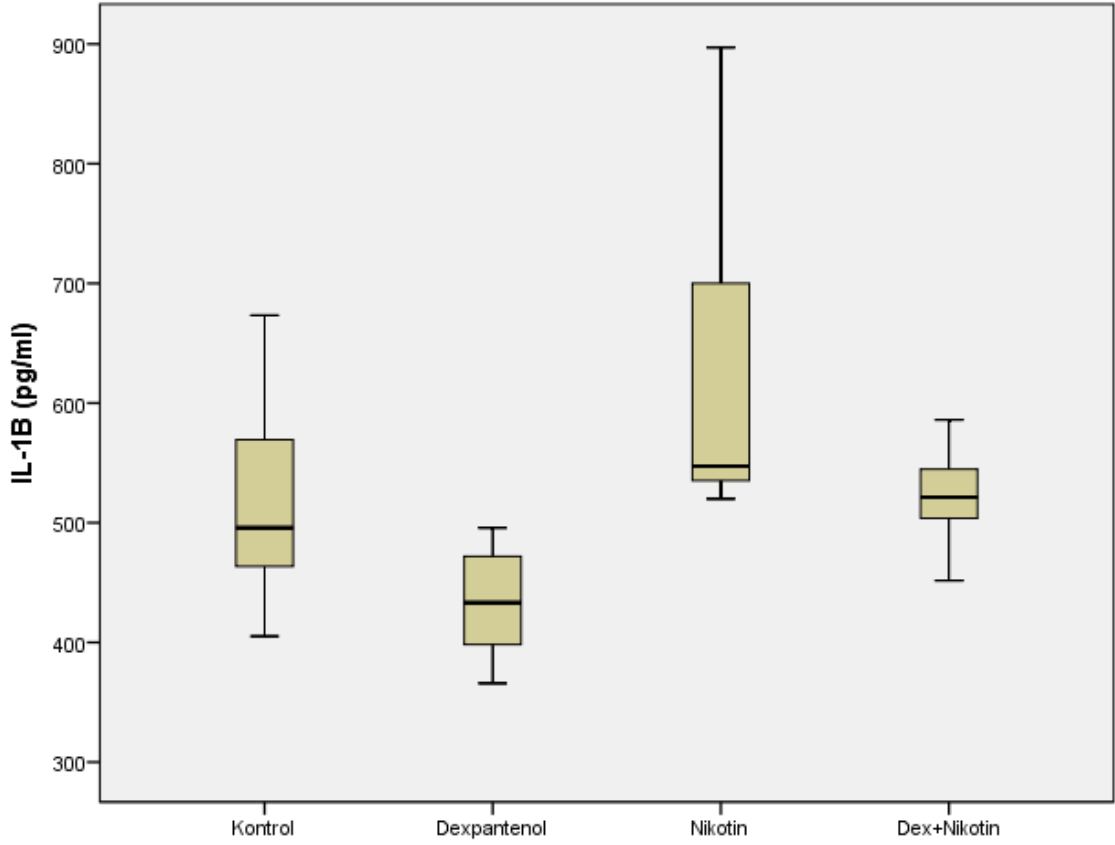
Galectin -3 düzeyi; kontrol grubuna göre Nikotin grubunda, dekspantenol ve dekspantenol+nikotin grubuna göre fazla olacak şekilde artış göstermiştir. Fakat bu artış gruplar arası anlamlı bulunmamıştır (P=0.81).



Şekil 4.9. Grupların akciğer dokusu Galectin-3 seviyeleri

#### 4.2.2. Serumda IL-1B Seviyeleri

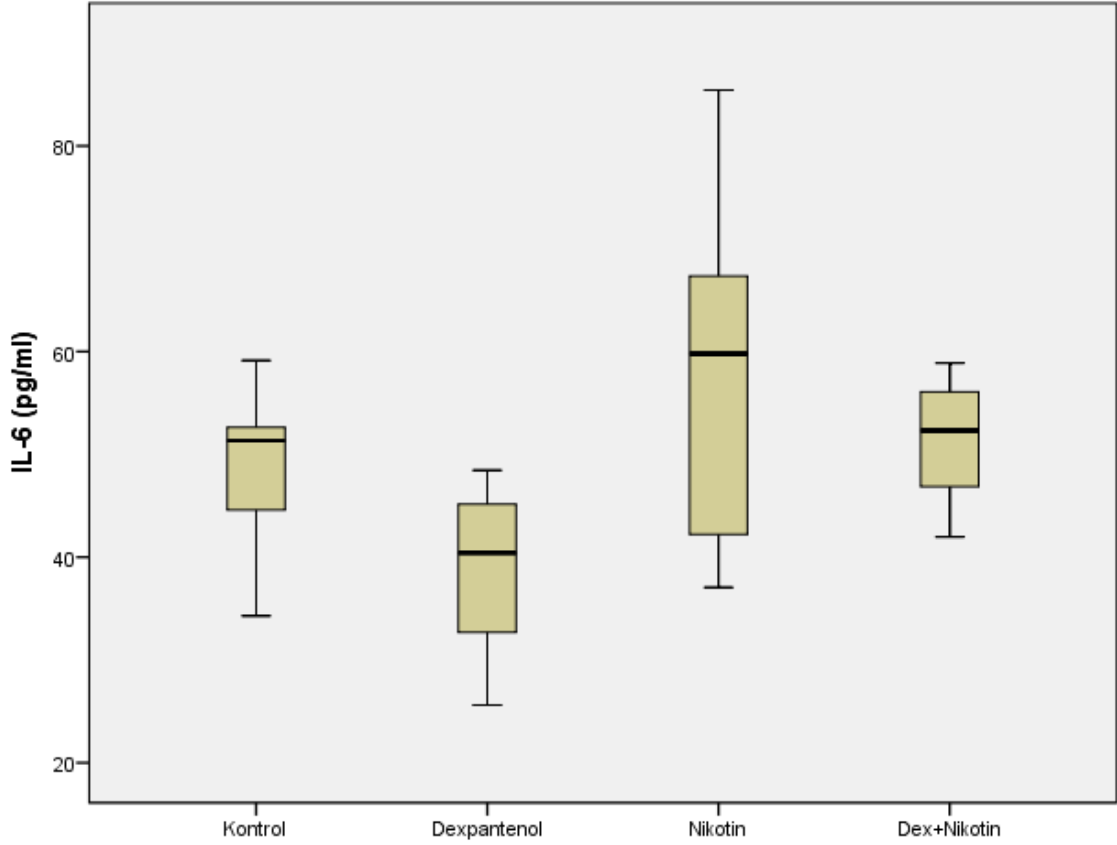
IL-1B seviyelerinde, nikotin uygulanan grupta kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. Dekspantenol+nikotin grubu, kontrol ve dekspantenol grubuna göre düşüş anlamlı bulunmuştur (P=0.001).



Şekil 4.10. Grupların serumunda IL-1B seviyeleri

### 4.2.3. Serumda IL-6 Seviyeleri

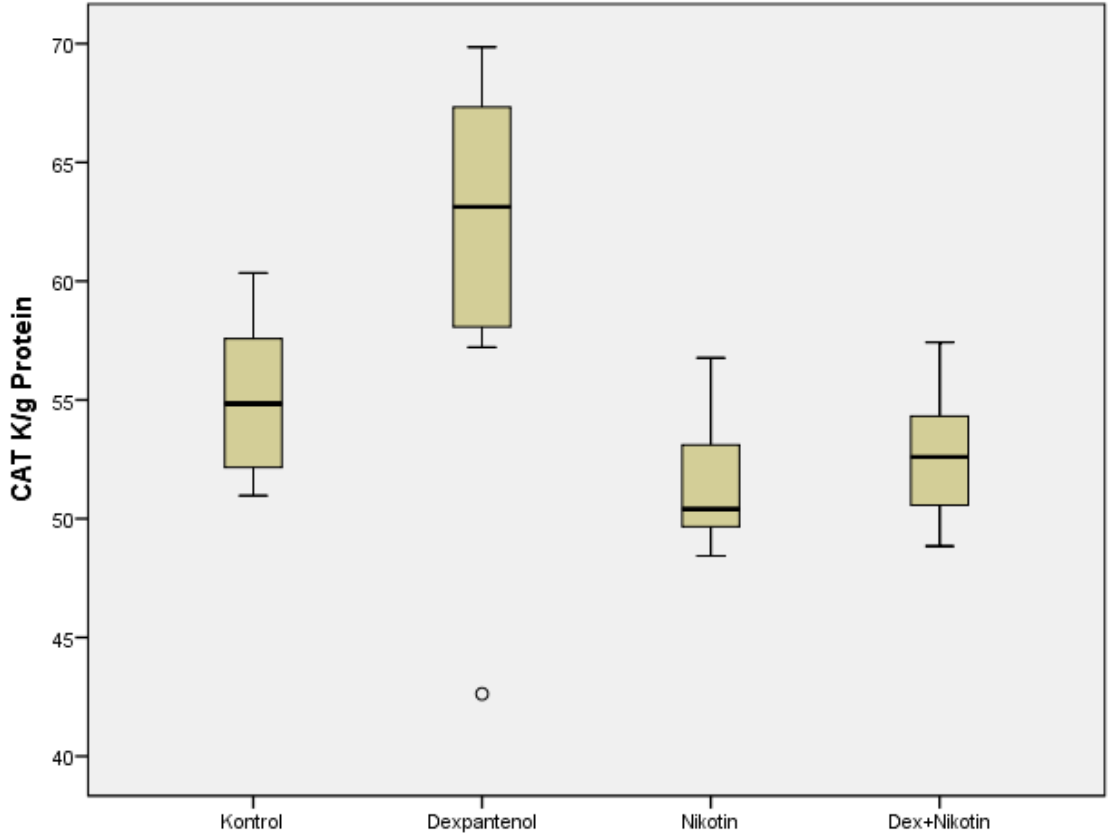
IL-6 seviyelerinde kontrol grubuna göre nikotin grubunda artış, dekspantenol grubunda anlamlı düşüş gözlenmiştir (P=0.021).



Şekil 4.11. Grupların Serumda IL-6 seviyeleri

#### 4.2.4. Akciğer Dokusunda Katalaz (CAT) Aktivite Seviyeleri

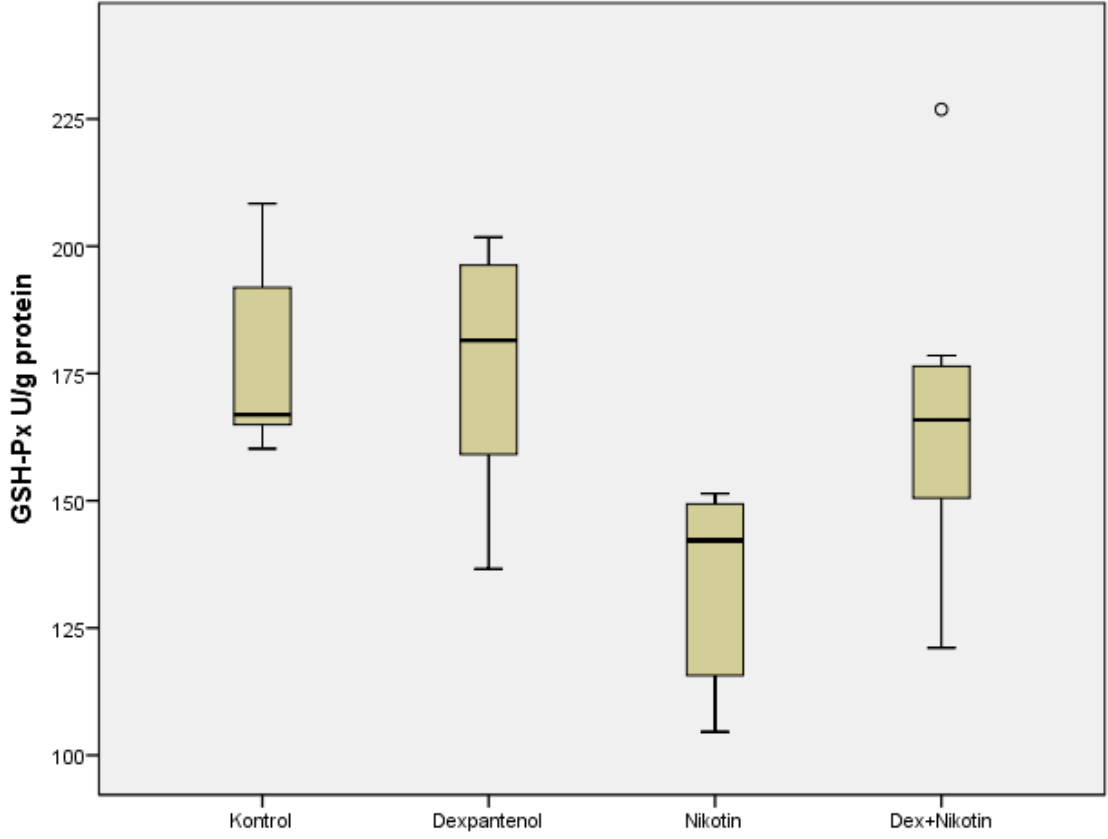
Nikotin uygulamasının akciğer CAT enzim aktivitesini düşürmüştür (Şekil 4.12), ancak dekspantenol uygulamasından sonra katalaz enzim aktivitesinde nikotin gruplarına göre artış anlamlı bulunmuştur ( $P=0.007$ ).



Şekil 4.12. Grupların Akciğer dokusu CAT enzim seviyeleri

#### 4.2.5. Akciğer Dokusu GSH-Px Aktivite Seviyeleri

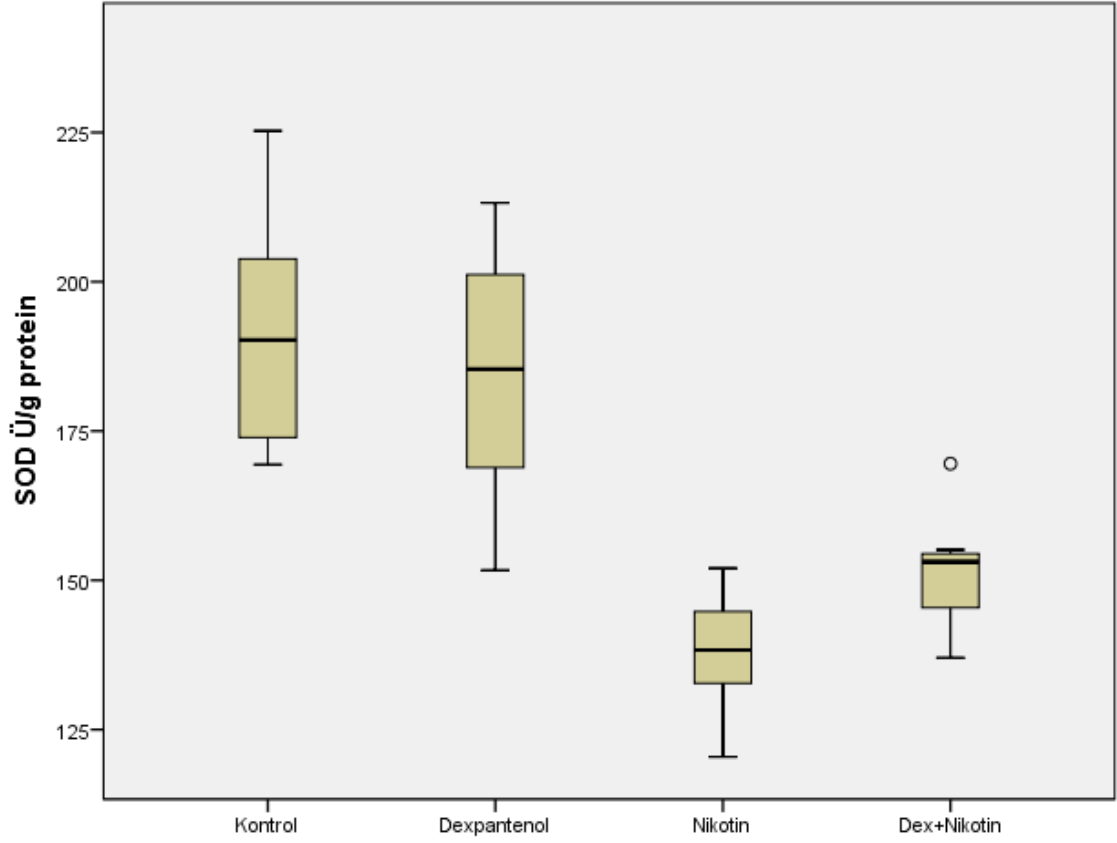
Nikotin grubunun GSH-Px düzeyi (Şekil 4.13); kontrol, dekspantenol ve dekspantenol +nikotin grubuna göre düşüşü anlamlı bulunmuştur (P=0.003).



Şekil 4.13. Grupların Akciğer Dokusu GSH-Px enzim aktivite seviyeleri

#### 4.2.6. Akciğer Dokusu SOD Aktivite Seviyeleri

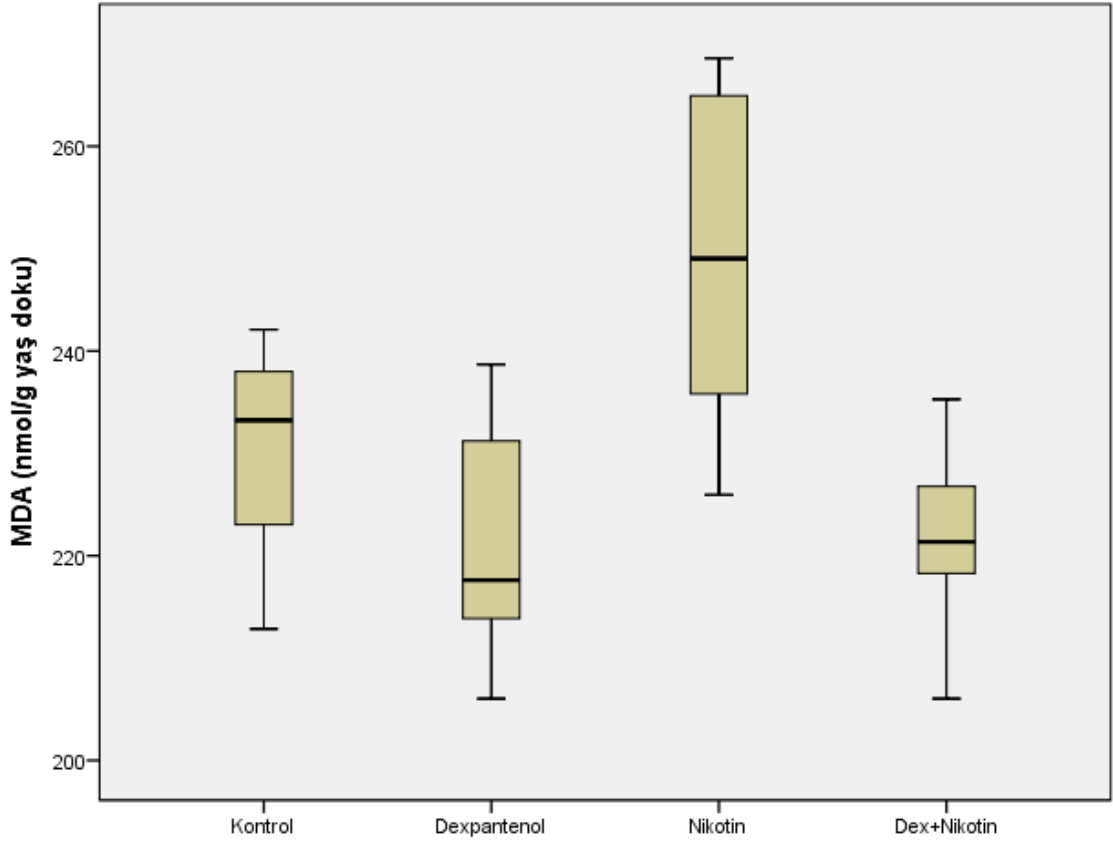
SOD düzeyi; kontrol grubuna göre tüm gruplarda düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.14), özellikle nikotin grubunda diğer gruplara göre düşüşü anlamlı bulunmuştur ( $P<0.001$ ).



Şekil 4.14. Grupların Akciğer dokusu SOD enzim aktivite seviyeleri

#### 4.2.7. Akciğer Dokusu MDA Seviyeleri

Ratlara ip olarak verilen nikotin; ratların akciğer dokusu MDA düzeyini kontrol, dekspantenol ve dex+nikotin grubunda arttırırken (Şekil 4.15) dekspantenol grubunda, MDA düzeyinin nikotin grubuna göre düşüşü anlamlıdır (P=0.004).

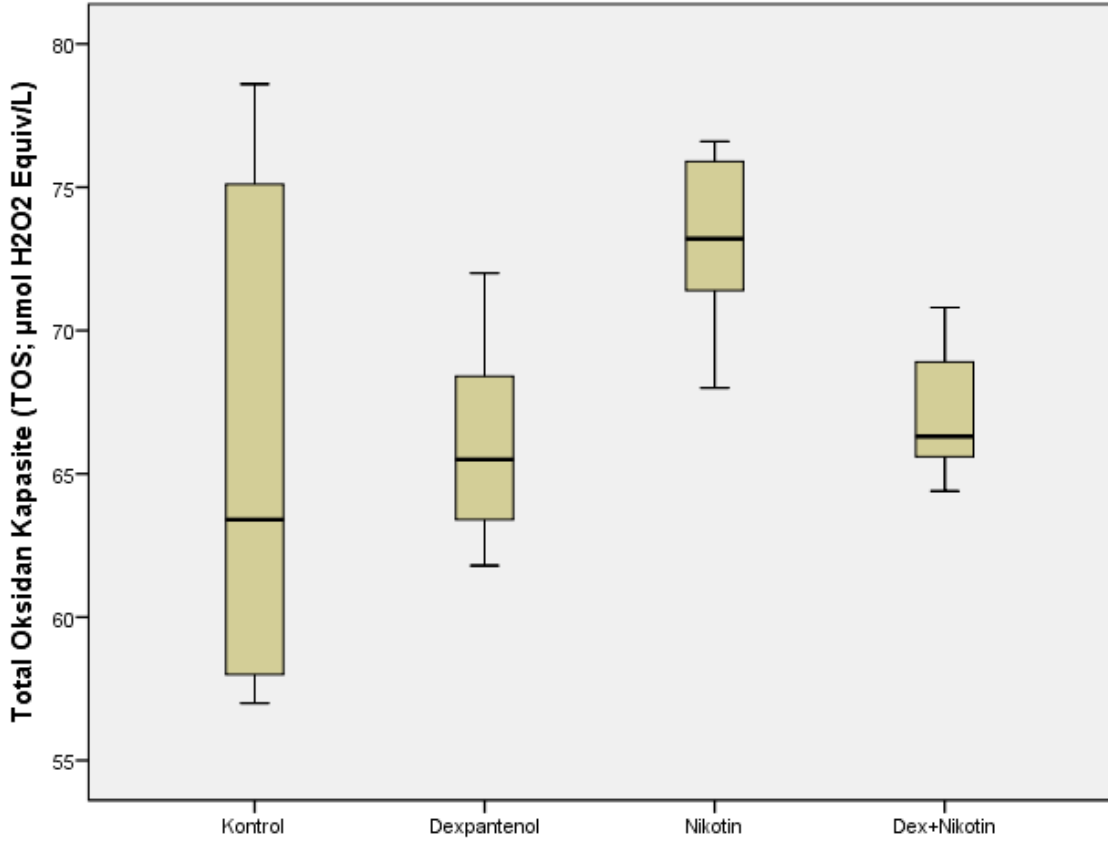


Şekil 4.15. Grupların Akciğer Dokusu MDA seviyeleri



#### 4.2.8. Akciğer Dokusu TOS Seviyeleri

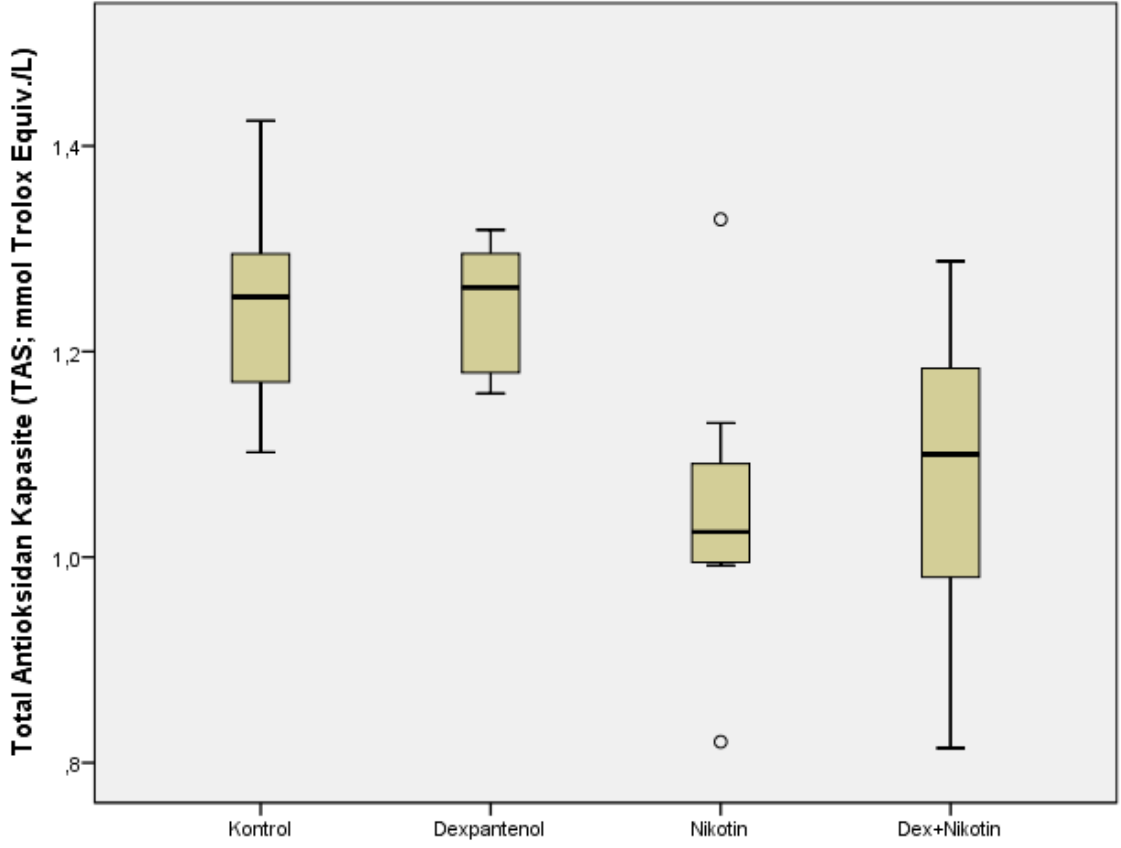
Nikotin uygulaması akciğer dokusunda TOS düzeyini arttırırken (Şekil 4.16), dekspantenol uygulaması akciğer dokusunda TOS düzeyini anlamlı olarak düşürmüştür (P=0.020).



Şekil 4.16. Grupların Akciğer Dokusu Total Oksidan Kapasite (TOS) seviyeleri

#### 4.2.9. Akciğer Dokusu TAS Seviyeleri

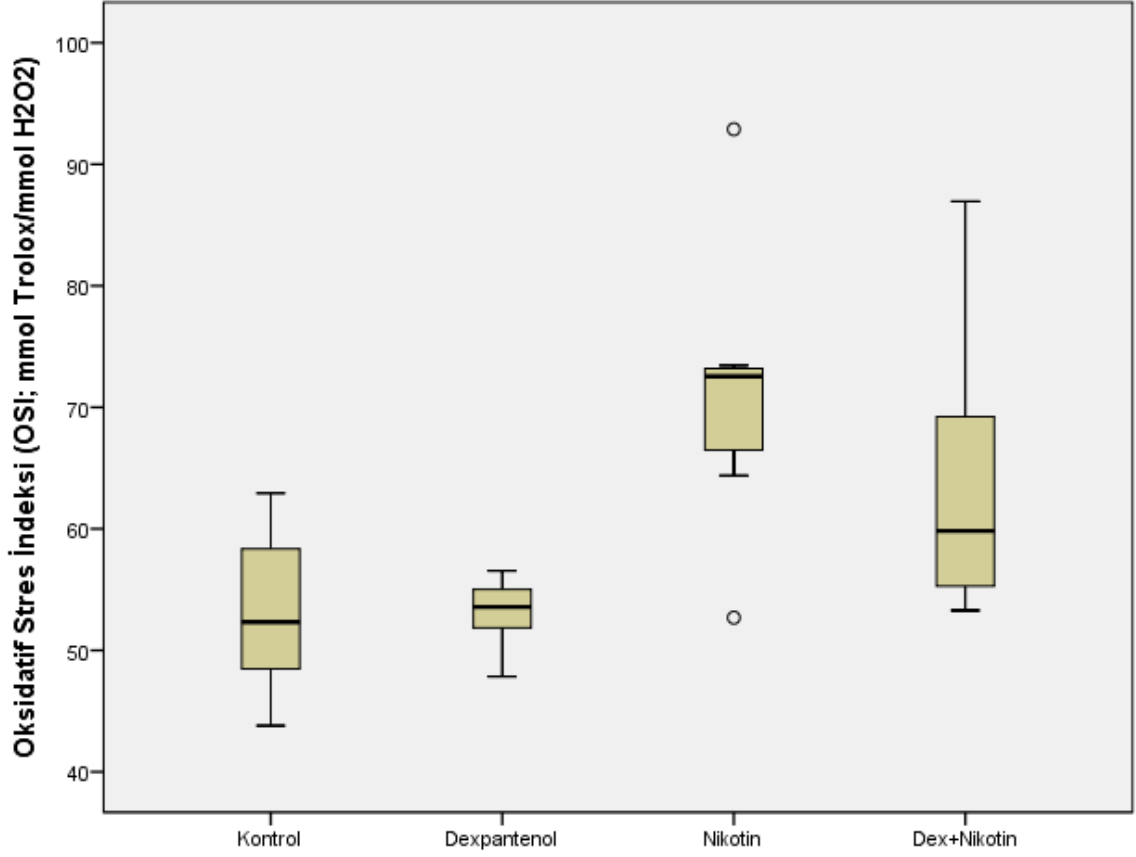
Nikotin ve dex+nikotin grubunda akciğer dokusu TAS düzeyi (Şekil 4.17); kontrol ve dekspantenol grubuna göre düşüş anlamlı bulunmuştur (P=0.006).



Şekil 4.17. Grupların Akciğer Dokusu Total Antioksidan Kapasite (TAS) seviyeleri

#### 4.2.10. Akciğer Dokusu Oksidatif Stres İndeksi

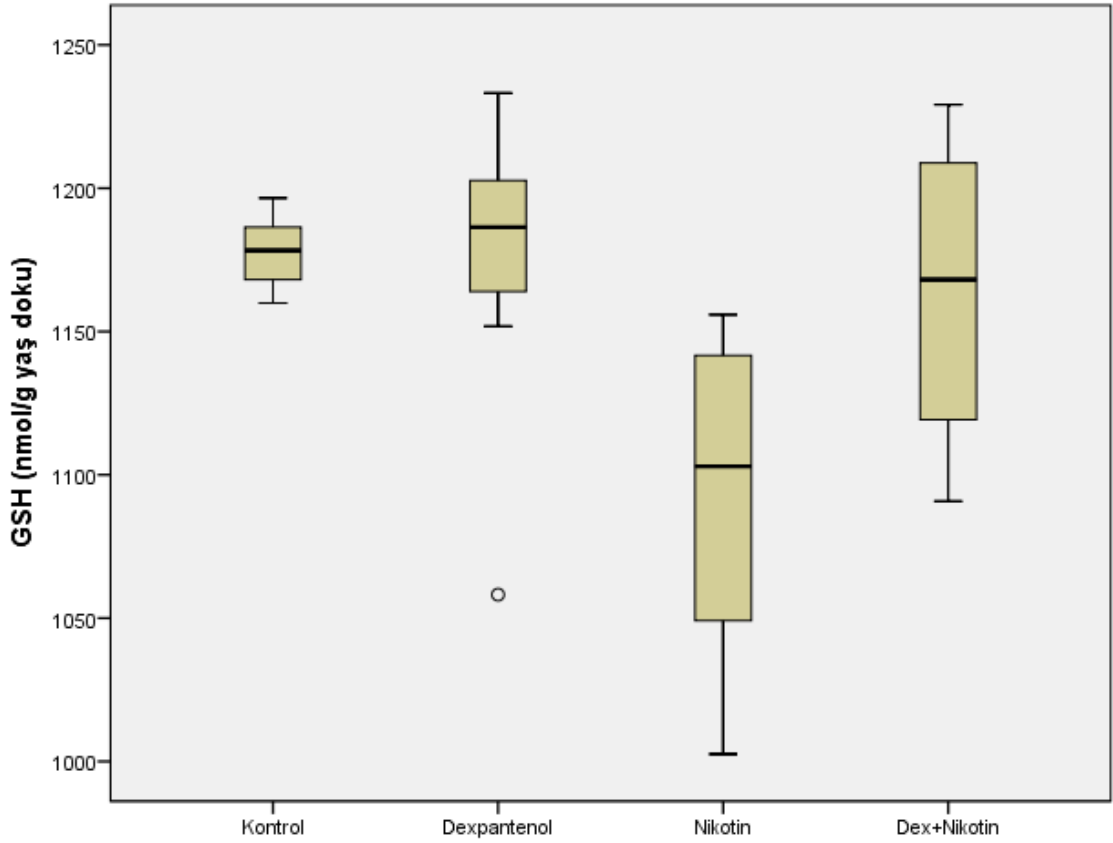
Akciğer dokusunda, Nikotin uygulanan grupta OSİ artış gösterirken (Şekil 4.18), dekspantenol ile tedavi edilen dex+nikotin grubunda OSİ düzeyinde düşüş gözlenmiştir (P=0.002).



Şekil 4.18. Grupların Oksidatif Stres İndeksi (OSI) seviyeleri

#### 4.2.11. Akciğer Dokusu GSH Seviyeleri

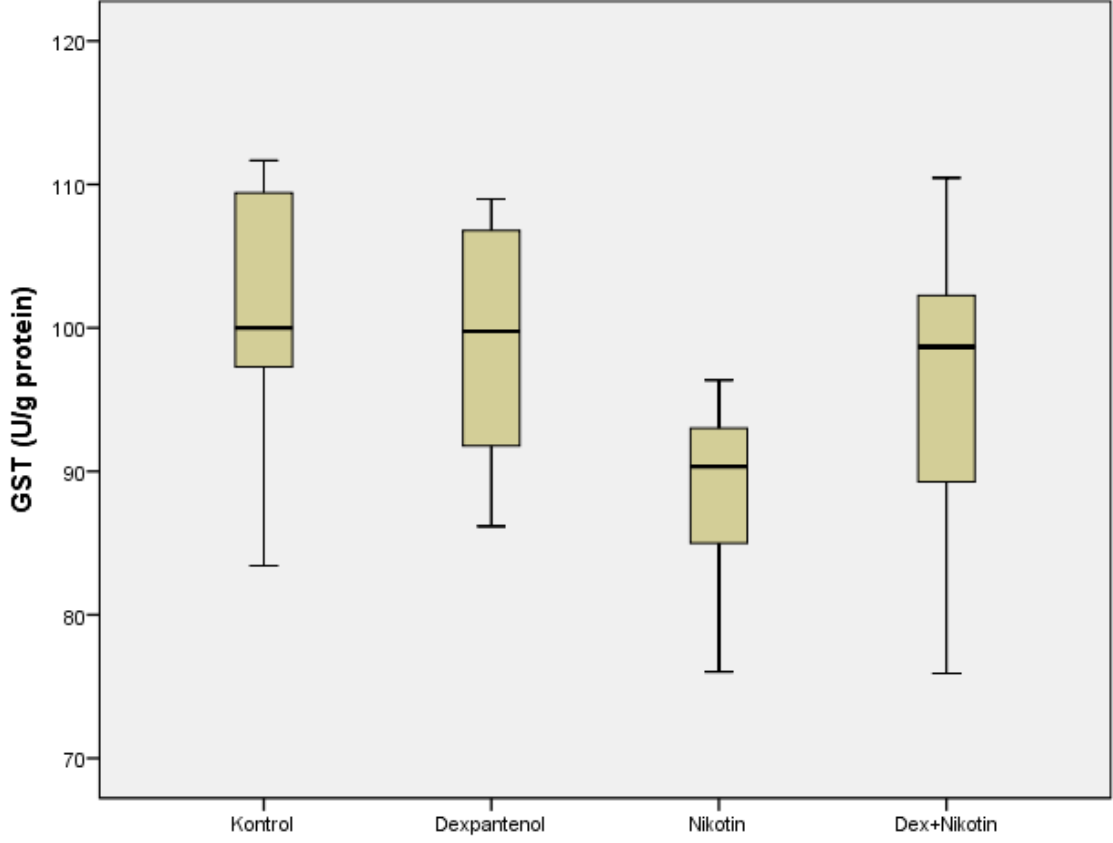
Nikotin grubu GSH düzeyleri diğer gruplara göre istatistiksel açıdan düşüş gösterirken (Şekil 4.19); kontrol grubu, dex grubu ve dex+nikotin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Ancak dekspantenol tedavisi uygulanan dex+nikotin grubunda nikotin grubuna göre GSH düzeyinin artması anlamlı bulunmuştur (P=0.007).



Şekil 4.19. Grupların Akciğer dokusu GSH seviyeleri

#### 4.2.12. Akciğer Dokusu GST Seviyeleri

Nikotin uygulanan grupta GST düzeyi istatistiksel olarak düşüş göstermesine rağmen (Şekil 4.20), bu düşüş diğer gruplar arasında anlamlı bulunmamıştır (P=0.051).

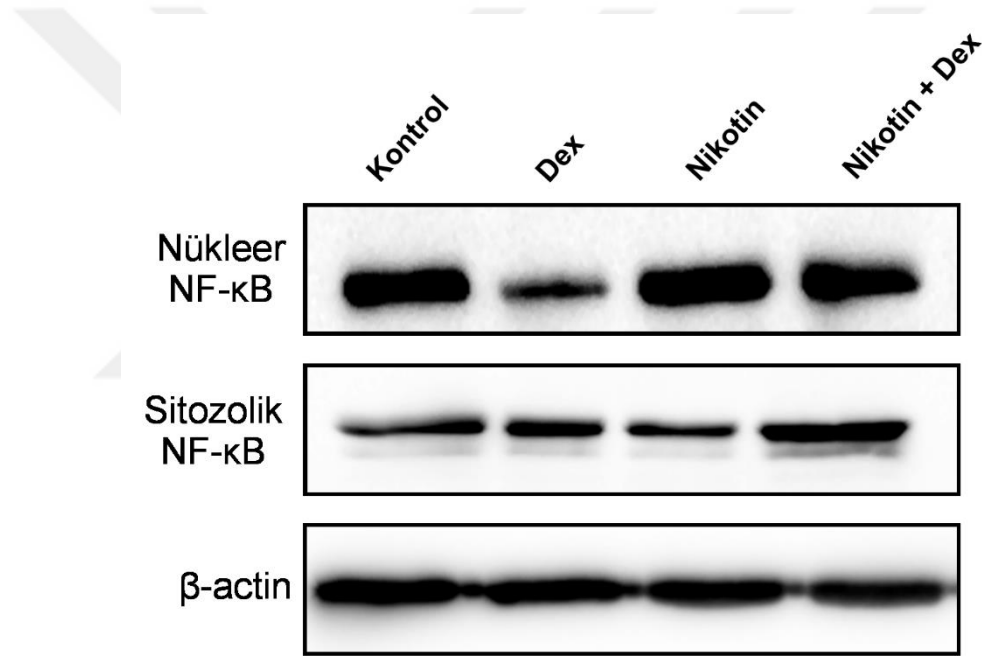


Şekil 4.20. Grupların Akciğer Dokusu GST seviyeleri

#### 4.2.13. Akciğer Dokusu NFKB oranı

Akciğer dokusundaki NFKB (Nükleer Faktör Kappa -B) oranı (Tablo 1), kontrol grubuna göre artış göstermiştir. İstatistiksel olarak, Dekspantenol ve dex+ nikotin gruplarında kontrol grubuna göre düşüş, anlamlı bulunmuştur (P=0.020).

Akciğer Dokusunda Western Blot Yöntemi ile Elde Edilen NF-KB Protein Ekspresyonları yönteminde bantların görüntülenmesinden de görüldüğü gibi nikotin grubunda NFKB oranı artmıştır (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Akciğer Dokusunda Western Blot Yöntemi ile Elde Edilen NF-KB Protein Ekspresyonları

## 5. TARTIŞMA

Sigaradaki ana bağımlılık yapan madde, sigara dumanının solunmasıyla vücuda giren nikotindir. Nikotin bağımlılığı, kompulsif sigara içme ve yoksunluk dönemleri arasında değişen kronik, tekrarlayan durum bozukluğudur. Nikotin bağımlılığı küresel bazda sosyal bir sorundur. Sigara, içerdiği kanserojen maddeler içeriği ile mutajenik ve kanserojenik etkilere sebebiyet vermektedir (1). Türkiye de her gün 300, her yıl 120 bin kişi, sigara tüketiminden kaynaklanan sebeplerle hayata veda ediyor. Üstelik sigara kullanıcıları ile sigaranın dumanına maruz kalan binlerce pasif içici de ciddi zararlar görüyor. İçerisinde 4000'den fazla kimyasal içerik bulunan sigaranın dumanındaki pek çok madde oksidan etkisi gösteriyor. Bundan dolayı sigara kullananların antioksidan gereksinimi kullanmayanlara göre daha fazla oluyor.

Bizde tam bu noktada alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak nikotinin akciğer dokusunda oluşturduğu toksisiteye karşı dekspantenolü kullanmak istedik. Dekspantenol (Provitamin B5) pantothenik asidin biyolojik aktif bir alkol analogudur. Dekspantenol oral veya parenteral yolla kullanılabilir. Memelilerde dokunun içerisinde pantotenik asit'e dönüşür. Pantotenik asit hücre içindeki, Koenzim A (CoA), ATP sentezini ve indirgenmiş glutatyon (GSH) sentezini arttır. Bunlar oksidatif strese hücre savunmasının ana unsurlarını oluşturmaktadır (5,80).

Epitelin yeniden şekillenmesi için gereken dekspantenol'ün rejeneratif ve antiinflamatuvar özellikleri vardır (6,80).

İnflamatuvar işleyişi başlatan polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ve lokal infiltrasyonu serbest radikallerin dolaylı olarak sebep olduğu bir mekanizmadır. Dekspantenol antioksidan özelliğiyle antiinflamatuvar niteliğe sahip olmaktadır (95).

Çalışmamızda nikotin ile oluşturduğumuz deneysel akciğer toksisitesi modelinde dekspantenol kullanımını sonucu inflamatuvar ve oksidatif stres mekanizmalarına bağlı akciğer dokusunda meydana gelebilecek hasarlar ve bununla ilişkili sitokinlerin, oksidan ve antioksidan etkilerini ortaya koyduk. Antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip dekspantenolün oluşan bu hasardaki varsa koruyucu rolünü araştırdık. Dekspantenolün antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri ile akciğer toksisitesini önleyebileceğini veya tedavi edilebileceğini ispatlamaya çalıştık.

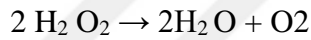
Literatürde nikotin ile oluşturulmuş akciğer toksisitesi için dekspantenol hiçbir rat modelinde kullanılmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada erkek ratlara 8 hafta boyunca i.p nikotin verilerek akciğer toksisitesi oluşturuldu ve tedavi için dekspantenol intraperitoneal olarak uygulandı.

Süperoksit Dismutaz (SOD), her hücre için esansiyel ve endojen üretilen bir enzimdir. Süperoksit radikallerini etkisiz hale getirerek, hücreleri süperoksit radikalının zararlı etkilerinden korur.



SOD, reaktif oksijen radikallerinden süperokside bir elektron vererek  $H_2O_2$ 'ye indirgerken; katalaz ve selenyum-bağımlı glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ise  $H_2O_2$ 'yi suya indirgemektedir (96).

Katalaz (CAT), aerobik canlıların hücrelerinde; çoğunlukla eritrositlerinde ve karaciğerlerinde yoğun olarak bulunur. İskelet kasında, beyinde ve kalpte ise az miktarda CAT bulunmaktadır. CAT (katalaz) ve GSH-Px'1, hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ), su ve atomik oksijene indirgemektedir (97).



Glutatyon (GSH VE GSSG), aerobik canlılarda sistein, glisin ve glutamattan sentez edilmektedir. GSH Redoks döngüsünün bir substratıdır. Hidroksil radikalleri ile singlet oksijenin temizlenmesinde görev alır (68). Serbest radikalleri temizlemesiyle beraber, Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ile birlikte de enzimatik olarak etkilidir. GSH hücrelerde enzimlerin ve diğer hücre sel bileşenlerin redükte olmamaları için bulunması gereken önemli bir enzimdir. GSH çoğu karaciğerde sentezlenir ve yaklaşık %40'ı safra ile atılır. Safrada bulunan GSH'nın beslenmedeki ksenobiyotiklere karşı hücre savunması yaptığı, barsak lümenindeki lipid peroksidasyonu önlediği ve barsak epitelini oksijen radikallerine karşı koruduğu düşünülmektedir (98).

$H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow GSSG + 2 H_2O$   
 $GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2 GSH + NADP^+$   
Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır (99).

OSİ (oksidatif stres indeksi), Oksidatif stres ve antioksidan durum değerlendirilmesinde birçok belirteç ve bunları ölçen farklı yöntemler vardır. Fakat bu parametreler ayrı ayrı masraflıdır ve ölçülmesi zaman alıcı (100).



Bu nedenle son yıllarda toplam oksidan durum (TOS), toplam antioksidan durum (TAS) ölçülmekte ve oksidatif stres indeksi (OSI) hesabı yapılmaktadır (93,101).

Toplu ve ark.'larının 2016 yılında yapmış oldukları sisplatin ile oluşturulan ototoksitite çalışmasında dekspantenolün antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri gösterilmiştir. Biyokimyasal analizlerde sisplatin verilen grupta kontrol grubuna göre MDA, TOS ve OSİ de artış tespit edilmiş. Sisplatin verilen grupta kontrol grubuna göre SOD, CAT, GSH-Px, TAS parametrelerinde azalma tespit edilmiş. Dekspantenol verilen tedavi grubunda artma tespit edilmiştir (102).

Zakaria mm ve ark.'larının 2011 yılında yapmış oldukları ratlarda yapılan beyin iskemi reperfüzyon çalışmasında dekspantenolün faydalı etkileri gösterilmiştir. Bu çalışmada yapılan analizler sonucu GSH düzeyine bakıldığında; iskemi reperfüzyon + dekspantenol grubunda iskemi reperfüzyon grubuna göre GSH daha yüksek bulunmuştur. MDA düzeyi ise düşük bulunmuştur. Ayrıca histolojik olarak bakılan nöron sayıları dekspantenol verilen grupta artmış olarak bulunmuştur (103).

Altıntaş ve ark.'larının 2012 yılında yapmış oldukları ratlardaki böbrek iskemi reperfüzyon hasarı modelinde dekspantenolün faydalı etkileri gösterilmiştir. İskemi reperfüzyon gruplarında kontrol grubuna göre MDA miktarları artmış. İskemi reperfüzyon gruplarında kontrol grubuna göre SOD, CAT, GSH-Px düşük bulunmuş. Tedavi amaçlı dekspantenol verilen grupta kontrol grubuna göre MDA düzeyleri düşük bulunmuş. SOD, CAT, GSH-Px yüksek bulunmuş. BUN ve Kreatinin değerleri de aynı şekilde dekspantenol tedavisi sonrası düşük bulunmuş. Yapılan histolojik değerlendirmelerin hepsinde dekspantenol iyileşme sağlamıştır (104).

Klöcker ve ark.'larının 2004 yılında yapmış oldukları bir çalışmada nazal dekspantenol içeren spreylelerin hücresel büyümeye faydasının olduğu ve spreylelerin içerisindeki diğer bazı ajanların toksik etkilerini azalttığını göstermişlerdir (105).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada biyokimyasal analiz sonuçlarında başlıca oksidatif stres parametreleri olan nikotin verilen grupta kontrole göre MDA, TOS, OSİ değerlerinin arttığını ve SOD, CAT, GSH-Px, TAS, GSH ve GST değerlerinde azalma gözlemledik.

Çağın ve ark.'larının 2016 yılında yapmış oldukları deneysel fare modelinde mezenterdeki iskemi reperfüzyon hasarına dekspantenolün faydalı etkileri histolojik ve biyokimyasal açıdan gösterilmiştir (106)

Koç ve arkadaşların 2015 yılında yapmış oldukları akciğer sintigrafisi sonrası radyasyon hasarının tedavisinde dekspantenol verilen tavşan modelinde akciğer dokusunda histolojik olarak düzelme sağlanmıştır (107).

Ermış ve ark.'larının 2013 yılında yapmış oldukları bleomisin ile indüklenmiş deneysel fibrozis rat modelinde dekspantenolün koruyucu etkilerine bakılmış. Bleomisin ile indüklenen fibrozis grubunda inflamasyon, kollojen deposu ve alveolar makrofajların miktarı artmış. Dekspantenol sonrası düzelme sağlanmıştır (108).

Özdemir ve ark.'larının 2016 yılında yapmış oldukları yenidoğan farelerdeki deneysel kronik akciğer modelinde, kronik akciğer grubunda akciğer dokusundaki MDA, TOS ve OSİ düzeyleri diğer gruplara göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca akciğer dokusunda CAT, GSH-Px, redükte glutasyon aktivitesi kronik akciğer grubunda diğer gruplara göre düşük tespit edilmiştir.

Dekspantenol verilen kronik akciğer grubunda IL-1 $\beta$  düzeyleri kronik akciğer grubuna göre daha düşük bulunmuştur (77).

Sitokinler, çok küçük ve hücreler arası iletişimi sağlayan proteinlerdir. İnflamasyonda Sitokinler önemli rol alırlar. Sitokinler, yüksek afiniteye sahip yüzey reseptörleriyle görevlerini yaparlar. Sitokinler özellikle yakın hücrelere parakrin etki gösterebilirler de köken aldıkları hücrelere otokrin ve uzak organlara da endokrin etki gösterirler. Sitokinler proinflamatuvar sitokinler, antiinflamatuvar sitokinler ve büyüme faktörleri şeklinde alt gruplara ayrılırlar. Proinflamatuvar sitokinler, T hücre kaynaklı sitokinler, eozinofil, nötrofil, monosit/makrofaj ve T-hücrelere kemoatraktan (ilgili hücrelerin dolaşımını artırarak bir bölgede toplanmasını sağlayan) sitokinler (kemokinler). Bunlar IL-1, IL-8, IL-9, makrofaj inflamatuvar protein (MIP), granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF). Antiinflamatuvar sitokinler; tranforme edici büyüme faktör-beta (TGF- $\beta$ ), IL-4, IL-6, IL-10 bulunur. IL-1 monosit, makrofajlar, fibroblast, T-hücre, nötrofil ve havayolu epitel hücrelerinden üretilmektedir. IL-1 $\alpha$  ve 1 $\beta$  olmak üzere ikiye ayrılır. IL1, TNF ve IL-6 aynı zamanda endojen ateş yükselticilerdir. IL-1 $\beta$ 'nın birçok etkisi TNF- $\alpha$ ' ya benzer ve hava yolu epitel hücrelerinde sitokin, RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted), IL-8 ve GM-CSF üretimini artırır. Hem TNF- $\alpha$  hem de IL-1 $\beta$  fibroblast proliferasyonu artırırken, IL-1 $\beta$  ayrıca fibronektin ve kollajen sentezini artırır. IL-1, GM-CSF ve IFN- $\gamma$  gibi sitokinler, monosit ve makrofajlardan TNF- $\alpha$  salınımını arttırırlar (109; 110). Bizim çalışmamızda

da akciğer dokusu biyokimyasal analizinde nikotin uygulanan grupta kontrol grubuna göre IL-1 $\beta$  değerinde artış gözlemlenmiştir.

IL-6 primer olarak B hücre stimulanıdır ve TNF- $\alpha$  ve IL-1 üretimini inhibe ettiği için antiinflamatuvar grupta yer alırlar. IL-6 hücre savunmasında önemli bir rolü olan, çok çeşitli fenotipik aktiviteleri olan bir sitokindir. Ayrıca IL-6 hedef hücreye göre değişim gösteren, büyümeyi stimüle ya da inhibe edici ve farklılaşmayı uyarıcı aktiviteler gösterir. IL-6 inflamatuvar ve enfeksiyon durumlarında spesifik olmayacak şekilde artan bir belirteçtir. Yapmış olduğumuz çalışmada IL-6 değeri; nikotin grubunda kontrol ve dex+nikotin grubuna göre artış anlamlı bulunmazken, dekspantenol grubuna göre anlamlı bulunmuştur (P=0.021).

Li-Mei W ve ark.'larının 2016 yılında yapmış oldukları akut akciğer hasarı fare modelinde dekspantenolün antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerine bakılmış. Lipopolisakkarit verilerek akut akciğer hasarı oluşturulmuş. Akciğer hasarı alveolar hemoraji, alveoler boşuklara nötrofil geçişi, alveol duvarlarında şişlik ile gösterilmiş. Bu değişiklikler dekspantenol verilmesi sonrası geriye dönmüş. Akut akciğer hasarı oluşturulan grupta BAL sıvısında total hücre sayısı, nötrofil sayısı ve MPO değeri artmış. Dekspantenol verilmesi sonrası tekrar azalmış. Akut akciğer hasarı 72 oluşturulan grupta akciğer ödemi artmış. Dekspantenol sonrası gerilemiş. BAL sıvısında TNF- $\alpha$ , IL-6 artmış. Dekspantenol verilmesi sonrası azalmış. Akciğer dokusunda MDA düzeyine bakılmış. Artmış tespit edilmiş. Dekspantenol sonrası azalmış. Akciğer dokusunda SOD ve GPx bakılmış azalmış tespit edilmiş. Dekspantenol sonrası artmıştır (111).

Yapmış olduğumuz çalışma da kontrol, nikotin, dekspantenol, dekspantenol+nikotin gruplarının Galectin -3, MDA, GSH, SOD, GST, CAT, GSH-Px, TAS, TOS, OSİ, IL-6, IL-1 $\beta$  parametrelerini değerlendirdik. Biyokimyasal analiz sonuçlarında başlıca oksidatif stres parametreleri olan nikotin verilen grupta kontrole göre MDA, TOS ve OSİ değerlerinin arttığını; SOD, CAT, TAS, GSH-Px, GSH ve GST değerlerinde azalma gözlemledik.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Nikotin verilen ratların akciğer dokusunda oksidatif stres parametrelerinden; MDA seviyesinin artmasına ve CAT, GSH-Px, SOD, GSH, GST değerlerinin azalmasına neden olmuştur.
2. Nikotin verilen ratların akciğer dokusunda TOS ve OSİ değerlerinde artışa ve TAS değerlerinde azalmaya neden olmuştur.
3. Nikotin verilen ratların serumlarında inflamasyon faktörlerinden, IL-1 $\beta$  ve IL-6 değerlerinde artışa sebep olmuştur.
4. Nikotin verilen ratların akciğer dokularında interalveolar alanlarda lenfosit ve makrofajlardan oluşan yaygın hücre infiltrasyonu izlendi
5. Nikotin uygulanan ratların akciğer dokusunda histopatolojik hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı tespit edildi.
6. Nikotin uygulanan ratların akciğer dokularında bir inflamasyon belirteci olan Galectin-3 artışı gözlenmiştir.
7. Dekspantenol verilen ratların akciğer dokularında CAT, GSH, GSH-Px, SOD, GST değerlerinde artış MDA, OSİ değerlerinde azalmalara sebep olmuştur.
8. Dekspantenol verilen ratların akciğer dokularında TAS değerlerinde artışa TOS seviyelerinde ise azalmaya sebep olmuştur.
9. Dekspantenol verilen ratların serumlarında IL-1 $\beta$  ve IL-6 değerlerinde azalma olmuştur.
10. Dekspantenol verilen ratların akciğer dokularında inflamasyon belirteci olan Galectin-3 seviyesinde de azalma görülmüştür.
11. Dekspantenol uygulanan ratların akciğer dokusunda nikotin grubuna göre hasarın azaldığı tespit edilmiştir.
12. Nikotin ve Dekspantenol verilen ratların akciğer dokusunda biyokimyasal ve histolojik parametrelere bakıldığında nikotin uygulanmış gruba kıyasla iyileşmeler tespit edildi.

Bu sonuçlara göre nikotin inflamasyon ve oksidatif stresi arttırarak akciğer doku hasarına sebep olmuş, dekspantenol ise güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etki göstererek nikotinin akciğerdeki hasarını kısmen indirmişdir.

Tüm bunların ışığında dekspantenolün akciğer toksisitesi tedavisinde faydalı olduğunu histolojik ve biyokimyasal olarak belirlemiş olduk. Sonuç olarak, dekspantenol gelecekte akciğer hasarı tedavisinde öncelikli, alternatif ya da tamamlayıcı bir tedavi olarak kullanılabilir.



## KAYNAKLAR

1. Özcan S, Taş HY, Çetin Y. Sigara ile mücadelede toplumsal bilinç. *Emek ve Toplum* 2013, 2(4): 152-75.
2. Alkan EA, Dikilitaş A, Alkan Ö. Sigara ve periodontal hastalık ilişkisi. *Act. Odont. Turcica* 2013, 30(1): 49-53.
3. Atabek HÇ. Sigara içen bireylerde egzersizin oksidatif stresi azaltmadaki etkisi. *S.D.Ü Sağlık Enstitüsü Dergisi* 2012, 3(1): 45-50.
4. Bourre JM, Galea F. An important source of omega-3 fatty acids, vitamins D and E, carotenoids, iodine and selenium: a new natural multi-enriched egg. *J Nutr Health Aging* 2006, 10(5): 371-6.
5. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak, L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS letters* 2004, 569(1-3): 169-72.
6. Slyshenkov VS, Piwocka K, Sikora E, Pantothenic acid protects jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2001, 30: 1303-10.
7. Richards OW. Maya çoğalmasının pantotenik asit tarafından uyarılması. *Biyolojik Kimya Dergisi* 1936, 113(2): 531-6.
8. Stozkowska W, Piekos R. Investigation of some topical formulations containing dexpanthenol. *Acta Pol Pharm* 2004, 61: 433-7.
9. Majistral Eczacıları Derneği, <https://www.majistraleczaader.org/formul-detay.php?grup=5&id=122> Son Erişim Tarihi: 30.04.2022.
10. WHO World Health Organization. Erişim adresi: [http://gamapserver.who.int/gho/interactive\\_charts/tobacco/use/atlas.html](http://gamapserver.who.int/gho/interactive_charts/tobacco/use/atlas.html) Son Erişim Tarihi: 18.05.2022.
11. Pistillo F, Clementi F, Zoli M, Gotti C. Nicotinic, glutamatergic and dopaminergic synaptic transmission and plasticity in the mesocorticolimbic system: Focus on nicotine effects. *Prog Neurobiol* 2015, 124: 1-27.
12. Gori GB, Benowitz NL, Lynch CJ. Mouth versus deep airways absorption of nicotine in cigarette smokers. *Pharmacol Biochem Behav* 1986, 25(6): 1181-4.

13. Ocak F, Yüce Z. Nikotin ve nikotin taşıyan sistemler. *FABD J. Pharm. Sci* 1996, 22: 145-54.
14. Benowitz NL. Clinical pharmacology of inhaled drugs of abuse: implications in understanding nicotine dependence. *NIDA Res Monogr* 1990, 99: 12-29.
15. Henningfield JE, Keenan RM. Nicotine delivery kinetics and abuse liability. *J Consult Clin Psychol* 1993, 61(5): 743-50.
16. Thatcher TH, Woeller CF, McCarthy CE, Sime PJ. Quenching the fires: Pro-resolving mediators, air pollution, and smoking. *Pharmacol Ther* 2019, 197: 212-24.
17. Xu H, Li Y, Li Y, Lu H. Underwater Observing System For Taiping Floodgate In Taiping River Of Yangzhou. In 2016 International Symposium On Computer, Consumer and Control (IS3C), IEEE, 2016: 748-50.
18. Abramson MJ, Koplein J, Hoy R, Dharmage SC. Population-wide preventive interventions for reducing the burden of chronic respiratory disease. *Int J Tuberc Lung Dis* 2015, 19(9): 1007-18.
19. Ni Y, Shi G, Qu J. Indoor PM<sub>2.5</sub>, tobacco smoking and chronic lung diseases: A narrative review. *Environ Res* 2020, 181: 108910.
20. Benowitz NL, Jacob P, 3rd, Jones RT, Rosenberg J. Interindividual variability in the metabolism and cardiovascular effects of nicotine in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1982, 221(2): 368-72.
21. Lunell E, Molander L, Ekberg K, Wahren J. Site of nicotine absorption from a vapour inhaler--comparison with cigarette smoking. *Eur J Clin Pharmacol* 2000, 55(10): 737-41.
22. Gourlay SG, Benowitz NL. Arteriovenous differences in plasma concentration of nicotine and catecholamines and related cardiovascular effects after smoking, nicotine nasal spray, and intravenous nicotine. *Clin Pharmacol Ther* 1997, 62(4): 453- 63.
23. Perry DC, Davila-Garcia MI, Stockmeier CA, Kellar KJ. Increased nicotinic receptors in brains from smokers: membrane binding and autoradiography studies. *J Pharmacol Exp Ther* 1999, 289(3): 1545-52.

25. Lindell G, Lunell E, Graffner H. Transdermally administered nicotine accumulates in gastric juice. *Eur J Clin Pharmacol* 1996, 51(3-4): 315-8.
26. Dempsey DA, Benowitz NL. Risks and benefits of nicotine to aid smoking cessation in pregnancy. *Drug Saf* 2001, 24(4): 277-322.
27. Benowitz NL, Hukkanen J, Jacob P, 3rd. Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Handb Exp Pharmacol* 2009, (192): 29-60.
28. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, Altman RB, Klein TE. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther* 2012, 92(4): 414-7.
29. Benowitz NL, Jacob P, 3rd, Fong I, Gupta S. Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 1994, 268(1): 296-303.
30. Cashman JR, Park SB, Yang ZC, Wrighton SA, Jacob P, 3rd, Benowitz NL. Metabolism of nicotine by human liver microsomes: stereoselective formation of trans-nicotine N'-oxide. *Chem Res Toxicol* 1992, 5(5): 639-46.
31. Nakajima M, Tanaka E, Kwon JT, Yokoi T. Characterization of nicotine and cotinine N-glucuronidations in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 2002, 30(12): 1484-90.
32. Benowitz NL, Jacob P, 3rd. Trans-3'-hydroxycotinine: disposition kinetics, effects and plasma levels during cigarette smoking. *Br J Clin Pharmacol* 2001, 51(1): 53-9.
33. Zevin S, Jacob P, 3rd, Benowitz N. Cotinine effects on nicotine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 1997, 61(6): 649-54.
34. Takami K, Saito H, Okuda M, Takano M, Inui KI. Distinct characteristics of transcellular transport between nicotine and tetraethylammonium in LLC-PK1 cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, 286(2): 676-80.
35. Urakami Y, Okuda M, Masuda S, Saito H, Inui KI. Functional characteristics and membrane localization of rat multispecific organic cation transporters, OCT1 and OCT2, mediating tubular secretion of cationic drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, 287(2): 800-5.



36. Molander L, Lunell E, Andersson SB, Kuylenstierna F. Dose released and absolute bioavailability of nicotine from a nicotine vapor inhaler. *Clin Pharmacol Ther* 1996, 59(4): 394-400.
37. Benowitz NL, Lessov-Schlaggar CN, Swan GE. Genetic influences in the variation in renal clearance of nicotine and cotinine. *Clin Pharmacol Ther* 2008, 84(2): 243-7.
38. Hukkanen J, Jacob P, 3rd, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev* 2005, 57(1): 79-115.
39. Dani JA, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007, 47: 699-729.
40. Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Rogers SW. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 2009, 89(1): 73-120.
41. Lebbe EK, Peigneur S, Wijesekara I, Tytgat J. Conotoxins targeting nicotinic acetylcholine receptors: an overview. *Mar Drugs* 2014, 12(5): 2970-3004.
42. Howe WM, Ji J, Parikh V, Williams S, Mocaer E, Trocme-Thibierge C. Enhancement of attentional performance by selective stimulation of alpha4beta2(\*) nAChRs: underlying cholinergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2010, 35(6): 1391-401.
43. Tang J, Dani JA. Dopamine enables in vivo synaptic plasticity associated with the addictive drug nicotine. *Neuron* 2009, 63(5): 673-82.
44. Miwa JM, Freedman R, Lester HA. Neural systems governed by nicotinic acetylcholine receptors: emerging hypotheses. *Neuron* 2011, 70(1): 20-33.
45. Hopper SUM, Scarr E, Dean B. Allosteric modulation of cholinergic system: Potential approach to treating cognitive deficits of schizophrenia. *World J Pharmacol* 2016, 5(1): 32-43.
46. Couey JJ, Meredith RM, Spijker S, Poorthuis RB, Smit AB, Brussaard AB, Mansvelder HB. Distributed network actions by nicotine increase the threshold for spike-timingdependent plasticity in prefrontal cortex. *Neuron* 2007, 54(1): 73-87.

47. Zhang T, Zhang L, Liang Y, Siapas AG, Zhou FM, Dani JA. Dopamine signaling differences in the nucleus accumbens and dorsal striatum exploited by nicotine. *J Neurosci* 2009, 29(13): 4035-43.
48. Mansvelder HD, McGehee DS. Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron* 2000, 27(2): 349-57.
49. Drenan RM, Grady SR, Whiteaker P, McClure-Begley T, McKinney S, Miwa JM, Bupp S, Heintz N, McIntosh JM, Bencherif M, Marks MJ, Lester HA. In vivo activation of midbrain dopamine neurons via sensitized, high-affinity alpha 6 nicotinic acetylcholine receptors. *Neuron* 2008, 60(1): 123-36.
50. Fonck C, Cohen BN, Nashmi R, Whiteaker P, Wagenaar DA, RodriguesPinguet N, Deshpande P, McKinney S, Kwoh S, Munoz J, Labarca C, Collins AC, Marks MJ, Lester HA. Novel seizure phenotype and sleep disruptions in knock-in mice with hypersensitive alpha 4\* nicotinic receptors. *J Neurosci* 2005, 25(49): 11396-411.
51. Markou A. Review. Neurobiology of nicotine dependence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008, 363(1507): 3159-68.
52. Kalivas PW. The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nat Rev Neurosci* 2009, 10(8): 561-72.
53. Difranza JR. Thwarting science by protecting the received wisdom on tobacco addiction from the scientific method. *Harm Reduct J* 2010, 7: 1-12.
54. Difranza JR, Rigotti NA, McNeill AD, Ockene JK, Savageau JA, St Cyr D, Coleman M. Initial symptoms of nicotine dependence in adolescents. *Tob Control* 2000, 9(3): 313-9.
55. Matta SG, Balfour DJ, Benowitz NL, Boyd RT, Buccafusco JJ, Caggiula AR, Craig CR, Collins AC, Damaj MI, Donny EC, Gardiner PS, Grady SR, Heberlein U, Leonard SS, Levin ED, Lukas RJ, Markou A, Marks MJ, McCallum SE, Parameswaran N, Perkins KA, Picciotto MR, Quik M, Rose JE, Rothenfluh A, Schafer WR, Stolerman IP, Tyndale RF, Wehner JM, Zirger JM. Guidelines on nicotine dose selection for in vivo research. *Psychopharmacology (Berl)* 2007, 190(3): 269-319.
56. Pidoplichko VI, DeBiasi M, Williams JT, Dani JA. Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 1997, 390(6658): 401-4.

57. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 2010, 35(1): 217-38.
58. Fowler CD, Lu Q, Johnson PM, Marks MJ, Kenny PJ. Habenular alpha5 nicotinic receptor subunit signalling controls nicotine intake. *Nature* 2011, 471(7340): 597-601.
59. Marcinkiewicz CA, Prado MM, Isaac SK, Marshall A, Rylkova D, Bruijnzeel AW. Corticotropin-releasing factor within the central nucleus of the amygdala and the nucleus accumbens shell mediates the negative affective state of nicotine withdrawal in rats. *Neuropsychopharmacology* 2009, 34(7): 1743-52.
60. Gallagher JP, Orozco-Cabal LF, Liu J, Shinnick-Gallagher P. Synaptic physiology of central CRH system. *Eur J Pharmacol* 2008, 583(2-3): 215-25.
61. Inglis FM, Moghaddam B. Dopaminergic innervation of the amygdala is highly responsive to stress. *J Neurochem* 1999, 72(3): 1088-94.
62. Barreto GE, Yarkov A, Avila-Rodriguez M, Aliev G, Echeverria V. Nicotine-Derived Compounds as Therapeutic Tools Against Post-Traumatic Stress Disorder. *Curr Pharm Des* 2015, 21(25): 3589-95.
63. Myers CS, Taylor RC, Moolchan ET, Heishman SJ. Dose-related enhancement of mood and cognition in smokers administered nicotine nasal spray. *Neuropsychopharmacology* 2008, 33(3): 588-98.
64. Kenny PJ. Tobacco dependence, the insular cortex and the hypocretin connection. *Pharmacol Biochem Behav* 2011, 97(4): 700-7.
65. Penton RE, Quick MW, Lester RA. Short- and long-lasting consequences of in vivo nicotine treatment on hippocampal excitability. *J Neurosci* 2011, 31(7): 2584-94.
66. Nashmi R, Xiao C, Deshpande P, McKinney S, Grady SR, Whiteaker P, Huang Q, McClure-Begley T, Lindstrom JM, Labarca C, Collins AC, Marks MJ, Lester HD. Chronic nicotine cell specifically upregulates functional alpha 4\* nicotinic receptors: basis for both tolerance in midbrain and enhanced long-term potentiation in perforant path. *J Neurosci* 2007, 27(31): 8202-18.
67. Schwartz RD, Kellar KJ. Nicotinic cholinergic receptor binding sites in the brain: regulation in vivo. *Science* 1983, 220(4593): 214-6.

68. Marks MJ, Burch JB, Collins AC. Effects of chronic nicotine infusion on tolerance development and nicotinic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1983, 226(3): 817-25.
69. Pietila K, Lahde T, Attila M, Ahtee L, Nordberg A. Regulation of nicotinic receptors in the brain of mice withdrawn from chronic oral nicotine treatment. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998, 357(2): 176-82.
70. Marks MJ, Campbell SM, Romm E, Collins AC. Genotype influences the development of tolerance to nicotine in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 1991, 259(1): 392-402.
71. Doura MB, Gold AB, Keller AB, Perry DC. Adult and periadolescent rats differ in expression of nicotinic cholinergic receptor subtypes and in the response of these subtypes to chronic nicotine exposure. *Brain Res* 2008, 1215: 40-52.
72. Pauly JR, Marks MJ, Gross SD, Collins AC. An autoradiographic analysis of cholinergic receptors in mouse brain after chronic nicotine treatment. *J Pharmacol Exp Ther* 1991, 258(3): 1127-36.
73. Xiao C, Nashmi R, McKinney S, Cai H, McIntosh JM, Lester HA. Chronic nicotine selectively enhances  $\alpha 4\beta 2^*$  nicotinic acetylcholine receptors in the nigrostriatal dopamine pathway. *J Neurosci* 2009, 29(40): 12428-39.
74. Ersungur E. Denesel Akut Respiratuar Distres Modelinde Dexpanthenol'ün Antiinflamatuar Ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Yüksek Lisans Programı. Yüksek Lisans Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, 2019.
75. Sipahi A. Sıçanlarda oluşturulan deneysel karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında dekspantenol'ün koruyucu etkisinin araştırılması. Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2020.
76. Solakhan M. İntersitisyel Sistit Hayvan Modelinde, İntravezikal Dekspantenol Tedavisinin Lipid Peroksidasyonu ve Mesane Histolojisi Üzerine Etkileri. Tıp Fakültesi Üroloji Ana Bilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi, 2008.
77. Özdemir R, Demirtas G, Parlakpınar H, Polat A, Tanbag K, Taslidere E, Karadag A. Dexpanthenol therapy reduces lung damage in a hyperoxic lung injury in neonatal rats. *J Matern Neonatal Med* 2016, 29(11): 1801-7.

78. Ebner F. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *Am J Clin Dermatol* 2002, 3(6): 427-33.
79. Moiseenok A. Pantothenic acid in maintaining thiol and immune homeostasis. *Biofactors* 2000, 11(1-2): 53-5.
80. Slyshenkov VS. Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation. *Free Radic Biol and Med* 1998, 24(6): 894-9.
81. Biro K. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. *Contact Dermatitis* 2003, 49(2): 80-4.
82. Jessop CE, Bulleid NJ. Glutathione directly reduces an oxidoreductase in the endoplasmic reticulum of mammalian cells. *J Biol Chem* 2004, 279(53): 55341-7.
83. Kurt A. Astım Modeli Oluşturulan Farelerde Dekspantenolün Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkileri. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 2016.
84. Pharmetic Girişimci Eczacılar Derneği, <http://pharmetic.org/pastiller> Son Erişim Tarihi: 03.04.2022.
85. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 91. Baskı. Ankara, Feryal Matbaası, 2000: 46.
86. Clarke, EGC. *Clarke's Analysis Of Drugs And Poisons: In Pharmaceuticals, Body Fluids And Postmortem Material*. Vol. 1. Pharmaceutical Press, 2004.
87. Ellman GL. Tissue sulphydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959, 82: 70-7.
88. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem* 1979, 95: 351-8.
89. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967, 70: 158-63.
90. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988, 34: 497-500.
91. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974, 249(22): 7130-9.
92. Aebi HE. Catalase. In: Bergmeyer HU (eds). *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. 3, 3rd., Verlag Chemie, Weinheim, 1983: 273-86.

93. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004, 37(4): 277-85.
94. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38(12): 1103-11.
95. Stozkowska W, Piekos R. Investigation of some topical formulations containing dexpanthenol. *Acta Pol Pharm* 2004, 61: 433-7.
96. Baskin SI, Salem H. *Oxidants, Antioxidants, And Free Radicals*. Washington DC: Taylor and Francis, 1997: 26-35.
97. Garewal HS. *Antioxidants And Disease Prevention*. Florida: CRC Press LLC, 1997: 3-19.
98. Maher P, Lewerenz J, Lozano C. A novel approach to enhancing cellular glutathione levels. *J Neurochem* 2008, 107: 690-700.
99. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997, 43: 1209-14.
100. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002, 30: 620-50.
101. Chung KF. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2001, 18: 50-9.
102. Toplu Y, Sapmaz E, Parlakpınar H. The effect of dexpanthenol on ototoxicity induced by cisplatin. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2016, 9: 14-20.
103. Zakaria MM, Hajipour B, Khodadadi A. Ameliorating effects of dexpanthenol in cerebral ischaemia reperfusion induced injury in rat brain. *J Pak Med Assoc* 2011, 61: 889-92.
104. Altintas R, Parlakpınar H, Beytur A. Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Kidney Blood Press Res* 2012, 36: 220-30.

- 105.Klöcker N, Rudolph P, Verse T. Evaluation of protective and therapeutic effects of dexpanthenol on nasal decongestants and preservatives: results of cytotoxic studies in vitro. *Am J Rhinol* 2004, 18: 315-20.
- 106.Cagin YF, Atayan Y, Sahin N. Beneficial effects of dexpanthenol on mesenteric ischemia and reperfusion injury in experimental rat model. *Free Radic Res* 2016, 50: 354-65.
- 107.Koç ZP, In E, Karslioğlu İ. Evaluation of the preventive effect of dexpanthenol in radiation injury by lung perfusion scintigraphy: a preclinical experimental model of radiation injury. *Nucl Med Commun* 2015, 36: 1227-32.
- 108.Ermis H, Parlakpınar H, Gulbas G. Protective effect of dexpanthenol on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2013, 386: 1103-10.
- 109.Chung KF, Barnes PJ, Drazen JM. *Asthma And COPD: Basic Mechanisms And Clinical Management*. London: Academic Press; 2002: 260-71.
- 110.Oppenheim JJ, Matsushyima K, Yoshimura T. Relationship between interleukin1 (IL-1), Tumor necrosis faktor (TNF) and neutrophil attracting peptide (NAP-1). *Agent Actions* 1989, 26: 134-40.
- 111.Li-Mei W, Jie T, Shan-He W. Anti-inflammatory and Anti-oxidative Effects of Dexpanthenol on Lipopolysaccharide Induced Acute Lung Injury in Mice Inflammation. *Inflammation* 2016, 1757-63.

## **EKLER**

### **EK-1. ÖZGEÇMİŞ**





## **EK-2. ETİK KURUL ONAYI**





