T. C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİSPLATİNİN SIÇAN BÖBREK VE KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİSİNE KARŞI NAR SUYU ÖZÜTÜNÜN KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

SALİH BAKIR

DANIŞMAN

Prof. Dr. MUSTAFA KELLE

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tıp Fakültesi

DİYARBAKIR 2015

T. C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİSPLATİNİN SIÇAN BÖBREK VE KARACİĞER DOKUSU ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİSİNE KARŞI NAR SUYU ÖZÜTÜNÜN KORUYUCU ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

SALİH BAKIR

DANIŞMAN

Prof. Dr. MUSTAFA KELLE

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tıp Fakültesi

DİYARBAKIR 2015

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, çalışmalarıma büyük emeği geçen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa KELLE'ye ve anabilim dalı başkanımız Prof.Dr. Abdurrahman ŞERMET'e, bilimsel anlamda katkılarını esirgemeyen kürsümüzün kıymetli hocaları olan Prof.Dr. Orhan DENLİ'ye, Prof.Dr. Cihat GÜZEL'e, Prof.Dr. Hüda Diken OFLAZOĞLU'na, Prof.Dr. Mehmet AYBAK'a, Prof.Dr. Mukadder ATMACA'ya, Doç.Dr. Basra Deniz OBAY'a, Doç.Dr. Murat BİLGİN'e ve yakın zamanda kaybettiğimiz merhume Prof.Dr. Yüksel KOÇYİĞİT'e, ayrıca histopatolojik laboratuar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Patoloji Anabilim dalında Yrd.Doç.Dr. İbrahim İBİLOĞLU'na, biyokimyasal incelemelerde desteğini gördüğüm Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Murat KIZIL'a ve çalışmanın istatiksel değerlendirmesindeki yardımlarından dolayı Halk Sağlığı Anabilim dalında Yrd.Doç.Dr. Yılmaz PALANCI'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca sabır ve desteklerinden dolayı eşime ve çocuklarıma şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. Ön Sayfalar		**Sayfa No**
1.1. Kapak		
1.2. İç Kapak		
1.3. Onay Sayfası		i
1.4. Teşekkür Sayfası		ii
1.5. İçindekiler		iii
1.6. Şekiller ve Resimler		v
1.7. Tablolar		vi
1.8. Simgeler ve Kısaltmalar		vii
2. Özet Sayfaları		
2.1. Türkçe Özet		viii
2.2. Summary		x
3. Tez Metni		
3.1.	Giriş ve Amaç	1
3.2.	Genel Bilgiler	3
3.2.1.	Sisplatin	3
3.2.1.1.	Sisplatinin toksik etki mekanizmaları	4
3.2.1.2.	Sisplatin nefrotoksisitesi	5
3.2.1.3.	Sisplatin hepatotoksisitesi	7
3.2.2.	Serbest radikaller	8
3.2.3.	Antioksidanlar	9
3.2.4.	Fenolik bileşikler	11
3.2.5.	Antioksidan madde tayini yöntemleri	12
3.2.6.	Nar	13
3.2.6.1.	Nardaki fenolik bileşikler	15
3.2.6.2.	Narın terapotik etkileri	17
3.2.6.3.	Narın klinik uygulamaları	19

3.2.6.4. Toksik maddelere ve ilaç toksisitesine karşı narın terapotik etkileri 28
3.2.6.5. Nar kullanımının güvenirliği ve olası yan etkileri 29

3.3. Gereç ve Yöntem 30
3.3.1. Etik Kurul 30
3.3.2. Deney Hayvanları ve koşullar 30
3.3.3. Çalışmada kullanılan ilaçlar ve anestezik maddeler 30
3.3.4. Çalışma Dizaynı 30
3.3.5. Nar suyunun hazırlanması ve fenolik içerik tayini 31
3.3.6. Örnek Alınması 32
3.3.7. Histopatolojik değerlendirme 32
3.3.8. İstatistiksel Analiz 34

3.4. Bulgular 35
3.4.1. Nar suyunun toplam fenolik madde ve flavonoid miktarları 35
3.4.2. Böbrek dokusuna ait histopatolojik bulgular 35
3.4.3. Karaciğer dokusuna ait histopatolojik bulgular 39

3.5. Tartışma 43

3.6. Sonuç 56

3.7. Kaynaklar 57

3.8. Etik Kurul Raporu 70

3.9. Özgeçmiş 71

ŞEKİLLER ve RESİMLER

Şekil 1. Deneklerin böbreklerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları 15

Şekil 2. Deneklerin karaciğerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları 17

Resim 1. Deneklerin sol böbrek dokuları 18

Resim 2. Deneklerin karaciğer dokuları 21

Resim 3. Kontrol grubunda böbrek tübül epitel hücreleri 18

Resim 4. Nar suyu grubunda normal histolojik özelliklerde böbrek tübülleri 21

Resim 5. Sisplatin grubunda böbrek tübül epitel hücrelerinde şişme, nükleer kondansasyon, tübül hücre nükleuslarında kayıp izlenmekte 22

Resim 6. Sisplatin + nar suyu grubunda tübül epitel hücrelerindeki şişme, nükleer kondensasyon ve tübül epitel hücre kayıplarındaki düzelme izlenmekte 24

Resim 7. Kontrol grubunda normal histoloji gösteren karaciğer dokusu 25

Resim 8. Nar suyu grubunda normal histolojide karaciğer dokusu 33

Resim 9. Sisplatin grubunda hepatosit sitoplazmalarında vakuoler değişiklik 35

Resim 10. Sisplatin+ nar suyu grubunda hepatosit sitoplazmalarında vakuollerde düzelme izlenmemekte 37

TABLOLAR

Tablo 1. Deneklerin böbreklerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları 32

Tablo 2. Deneklerin karaciğerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları 32

SİMGELER ve KISALTMALAR

µmol	Mikromol
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AO	Antioksidan
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DT	Distal tübül
FB	Fenolik bileşik
GFH	Glomerül Filtrasyon Hızı
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
IL	İnterlökin
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MAPK	Mitojenle aktive protein kinaz
NFκB	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik Oksit
PT	Proksimal tübül
ROT	Reaktif oksijen türleri
TNF	Tümör nekroz faktörü
UV	Ultraviole (morötesi)

2. Özet

2.1. Türkçe Özet

Sisplatin, çeşitli kanserlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan platin-bazlı sitotoksik bir ilaçtır. Ancak, özellikle yüksek dozlarda kullanıldığında, nefrotoksisite ve hepatotoksisite gibi ciddi yan etkilere neden olmaktadır. Bu toksisitenin gelişim mekanizmasında son yıllarda daha çok serbest radikallerin yol açtığı hasar ve artmış oksidatif stres sorumlu tutulmaktadır. Oksidatif stres oluşumunu engelleyen bazı antioksidan moleküller nefrotoksisite ve hepatotoksisite oluşumunu engelleyebilir. Nar meyvesinin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, narın antiaterojenik, antikarsinojenik, antidiyabetik, antimikrobik ve anti-enflamatuvar etkileri de bilinmektedir. Nar çekirdeği özütü ve nar çiçeği ile bildirilmiş birkaç literatür olmasına rağmen, nar suyunun taze sıkılmış formu ile ilgili çok az çalışma vardır. Bu çalışmada, histopatolojik yaklaşımlar kullanılarak böbrek ve karaciğerdeki sisplatin kaynaklı toksisiteye karşı taze nar suyunun potansiyel koruyucu etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmada, 28 adet sağlıklı erişkin erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Deney hayvanları herbir grupta 7 adet (n=7) olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Nar suyu uygulanan grub (2 cc/kg/gün, 10 gün boyunca, gavaj yoluyla), Grup 3: Sisplatin uygulanan grub (8 mg/kg/gün, 5.günde, i.p, tek doz) ve Grup 4: Sisplatin ve nar suyu uygulanan grub (Sisplatin 8 mg/kg/gün, 5.günde, i.p, tek doz, Nar suyu 2 cc/kg/gün, 10 gün boyunca, gavaj yoluyla). Çalışmada 10. günün sonunda bütün gruplardaki hayvanlar uygun cerrahi prosedürler takip edilerek sakrifiye edildi, sonra karaciğer ve böbrek dokuları alındı. Alınan böbrek ve karaciğer materyallerindeki sisplatin toksisitesi ve nar suyunun etkinliği histopatolojik incelemeyle değerlendirildi.

Nar suyu alan deneklerin böbrek dokusu, sisplatin grubuna göre kıyaslandığında, sisplatin kaynaklı yapısal değişikliklerin anlamlı olarak düzeldiği görüldü. Ama karaciğer dokusunda, her ne kadar iki denekte sisplatinin neden olduğu toksisite zayıflatılmış olsa da, anlamlı bir düzelme gözlenmedi.

Sonuç olarak, antioksidan etkili nar suyunun sisplatin kaynaklı toksisiteye karşı sıçan böbreğinde koruyucu etkiye sahip olduğu görülmüş, fakat karaciğerde koruyucu etki gözlenmemiştir. Nar suyu, kemoterapi ilaçları alan hastalarda bir diyet takviyesi olarak yararlı olabilir.

Anahtar kelimeler: Sisplatin, nar, antioksidan, nefrotoksisite, hepatotoksisite

2.2. Summary

Cisplatin is a platinum-based cytotoxic agent commonly used in the treatment of a variety of cancer. However, especially when used at high doses, cisplatin can lead to serious side effects such as nephrotoxicity and hepatotoxicity. Free radical damage and increased oxidative stress have been proposed important mediators in the mechanism of cisplatin-induced toxicity. Some antioxidant molecules that prevent the formation of oxidative stress eliminate the nephrotoxicity and hepatotoxicity caused by cisplatin. Pomegranate (Punica granatum L.) has been known to possess strong antioxidant activity. It is also shown that pomegranate exhibits antiatherogenic, anticarcinogenic, antidiabetic, antimicrobial and anti-inflammatory activities. Although there is a few literature on pomegranate extract and flower, there is very little information regarding its freshly squeezed form. For this purpose, the present study was designed to investigate the potential protective effect of fresh pomegranate juice against cisplatin-induced toxicity in kidney and liver of rats using histopatological approaches.

Twenty-eight adult male Wistar albino rats were randomly divided into four groups of seven animals: Group 1: Control, Group 2: Treated for 10 consecutive days by gavage with pomegranate juice (2 cc/kg/day); Group 3: Injected intraperitoneally with cisplatin (8 mg/kg body weight, single dose) onset of the day 5, and Group 4: Treated by gavage with pomegranate juice 10 days before and after a single injection of cisplatin onset of the day 5. After 10 days, the animals were sacrificed and their kidneys and liver tissue samples were removed from each animal after experimental procedures. Cisplatin-induced renal and hepatic toxicity and the effect of pomegranate juice were evaluated by histopatological examinations.

In the kidney tissue, pomegranate juice significantly ameliorated cisplatin-induced structural alterations when compared to the cisplatin alone group. But in the liver tissue, although pomegranate juice attenuated the cisplatin-induced toxicity only in 2 rats, significant improvement was not observed.

In conclusion, these results demonstrate that the antioxidant pomegranate juice might have a protective effect against cisplatin-induced toxicity in rat kidney,

but not in liver. Pomegranate juice could be beneficial as a dietary supplement in patients receiving chemotherapy medications.

Keywords: Cisplatin, Pomegranate, antioxidant, nephrotoxicity, hepatotoxicity

3.1. Giriş ve Amaç

Günümüzde yaşam koşulları, teknoloji ve beslenme şekillerine bağlı olarak oluşan stres faktörleri; serbest radikallerin artmasına, bu da kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığın daha sık oranda ve hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu zararlı etkilere karşı antioksidan maddelerin klinik ve deneysel kullanımı ile ilgili araştırmaların belirgin biçimde arttığı görülmektedir (1).

Fenolik maddeler, birçok meyve ve sebzede bulunan güçlü antioksidan özelliğe sahip fitokimyasallardır. Antioksidan kapasitelerinin vitamin E ve C'den ve beta-karotenden daha fazla olduğunu belirten birçok çalışma vardır (2-4). Fenolik maddelerin güçlü antioksidan etkisi yanında ayrıca, antiinflamatuar (5), antimikrobiyel (6), mikrobisit (7), kardioprotektif (8), antihiperlipidemik (9) etki gibi oldukça geniş potansiyel terapötik özelliklere sahip olduğu gösterilmiş, hatta polifenolik bileşiklerce zengin gıdaları tüketmenin, kanser riskini azalttığı da (antikarsinojenik etki) bildirilmiştir (10-13). Nar meyvesi, içerdiği fenolik asit ve flavonoidler gibi fenolik bileşikler sayesinde, başta antioksidan, antikarsinojenik ve antiinflamatuar etki olmak üzere birçok özelliğe sahiptir ve terapotik etkinliği yapılan birçok çalışmalarla gösterilmiştir (1).

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkilerinin ortadan kaldırılabilmesi veya azaltılabilmesi, üzerinde birçok araştırma yapılan bir konudur. Kemoterapide sık kullanılan etkin bir ajan olan sisplatin, çok çeşitli ve bazen çok ciddi olabilen yan etkilere sahip bir sitotoksik ilaçtır. Özellikle nefrotoksisite, sisplatinin klinik kullanımını sınırlandıran en önemli yan etkisidir (14,15). Bunun dışında sisplatinin yüksek dozlarda uygulanmasından sonra karaciğerde de toksisite gelişebilir (16). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarla, sisplatine bağlı nefrotoksisitenin ve hepatotoksisitenin temelinde, serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidasyona bağlı stresin artışının olduğu iddia edilmektedir (17-20). Bu nedenle çeşitli ajanlar ve antioksidan maddelerin sisplatinin nefrotoksik ve hepatotoksik etkilerine karşı koruyucu etkilerinin olup olmadığını araştırmak amacıyla artan oranda deneysel çalışmalar yapılmaktadır.

Güçlü antioksidan özelliği iyi bilinen narın birçok klinik alanda etkinliğinin araştırıldığı ve olumlu sonuçlar elde edildiği gibi çeşitli ilaçların toksik etkilerine karşı koruyuculuğunu araştıran çalışmalardaki olumlu sonuçlar da dikkat

çekmektedir. Ancak sisplatinin nefrotoksik ve hepatotoksik etkilerine karşı narın koruyucu özelliğinin araştırıldığı çalışma sayısı oldukça azdır (18-20). Bu çalışmalarda nar çiçeği ekstresinden (18) ve nar çekirdeği ekstresinden (19,20) hazırlanmış materyallerin kullanılarak etkinliklerinin araştırıldığı ve olumlu sonuçlar gözlendiği bildirilmiştir. Fakat taze nar suyunun sisplatine bağlı oluşan nefrotoksisiteye veya hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkinliğini araştıran bir çalışma ise bulunmamaktadır. Öte yandan nar suyunun, karbontetraklorid ile nefrotoksisite ve hepatotoksisite oluşturulmuş bir çalışmada (21) ve sisplatin ile ototoksisite oluşturulmuş başka bir çalışmada (22) kullanıldığı ve olumlu sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir.

Sisplatin nefrotoksisitesine karşı nar çekirdeği ve nar çiçeği ile yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmesi, ayrıca nar suyunun ototoksisiteye ve karbontetraklorid ile oluşturulmuş nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkilerinin gösterilmesi ve sisplatin nefrotoksisitesine ve hepatotoksisitesine karşı henüz nar suyu ile yapılmış bir araştırma olmaması bizi bu çalışmayı yapmaya teşvik etmiştir. Sisplatin toksisitesine karşı taze nar suyu kullanılarak yapılmış daha önce benzeri böyle bir araştırma olmaması nedeniyle bu deneysel çalışmamız özgün bir incelemedir. Bu temel düşünceden yola çıkarak planladığımız çalışmamızın amacı; sıçanlarda sisplatin ile oluşturulan böbrek ve karaciğer hasarında, antioksidan özelliği iyi bilinen nar suyunun koruyucu etkilerini, ışık mikroskopik düzeyde histopatolojik olarak incelemektir.

3.2. Genel Bilgiler

3.2.1. Sisplatin

Sisplatin (cis-diamindikloroplatinum, CDDP, cis-platinum), platin bazlı antineoplastik ilaçların ilkidir ve kullanılmaya başlandığı 1970'li yıllardan bu yana halen birçok kanserde ilk seçenek geniş spektrumlu bir antineoplastik ajandır. Terapötik etkisini Deoksiribonükleik asit (DNA) çift zincirinde zincirler arası ve zincir içi çapraz bağlanma yaparak gösterir. Akciğer, testis, mesane, prostat, over, uteroservikal karsinomalar, osteosarkom, nöroblastom ve baş-boyun bölgesinin kanserleri gibi solid tümörlerde ve refrakter lenfoma gibi hematolojik malignensilerde yaygın olarak kullanılır. Miyelosüpresif etkinliği orta derecede olduğu için kombinasyonlara elverişlidir ve daha çok o şekilde kullanılır (23).

Diğer antineoplastik ilaçlar gibi sisplatin de vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerinin ölümüne neden olarak yok ettikleri gibi, özellikle hızlı biçimde çoğalmakta olan hücreler başta olmak üzere normal hücrelerinde çoğalmasını engeller. Oysa ki, kanser kemoterapisinin esası; normal hücrelere zarar vermeden tümör hücrelerini yok etmek, bu mümkün değilse en azından tümörün büyümesini, çoğalmasını durdurmaktır. Antibiyotiklerin bakteri hücresine karşı olan selektiflikleri gibi bir özellik, kanser hücrelerine karşı antineoplastik ilaçlarda oldukça azdır (24). Bu nedenle çoğu diğer kanser ilaçlarında olduğu gibi sisplatin de birçok normal organda fizyolojik homeostazisin bozulmasına neden olur. Nefrotoksisite (böbrek fonksiyon bozukluğu), miyelotoksisite (kemik iliği toksisitesi) sonucu anemi, nötropeni ve trombositopeni ve ayrıca bağışıklık sisteminde baskılanma), ototoksisite (geri dönüşümsüz işitme kaybı, kulak çınlaması ve baş dönmesi), periferal sinir sistemi toksisitesi (motor ve duyusal nöropati), güçlü emetojenik etkinlik (bulantı, kusma), gastrointestinal toksisite (ishal), spermiotoksisite ve hepatotoksisite (doza bağlı karaciğer toksisitesi, karaciğer yetmezliği) belli başlı önemli ve sık görülen yan etkilerdir (14-27). Özellikle nefrotoksisite, sisplatinin klinik kullanımını sınırlandıran en önemli yan etkisidir (14). Böbrek, sisplatinin primer olarak metabolize edildiği organdır ancak karaciğer ve barsakların üst bölümlerinde de yaygın dağılım gösterir. Böbrek hücrelerinin bölünme hızı yüksek olmamasına rağmen, yüksek kan akımı ile karşılaşması,

medüller interstisyumda toksinleri konsantre etme yeteneği ve tübüler epitelde spesifik taşıyıcılara sahip olması nedeniyle toksik zedelenmeye oldukça duyarlıdır (15). Kimyasal formülasyonlar ile mevcut ciddi yan etkileri azaltılmış yeni platin bazlı ilaçlar geliştirilmiş olmasına rağmen, etkinliklerinin birçok kanserde sisplatin kadar olmaması nedeniyle kanser kemoterapisinde sisplatin hala popülaritesini sürdürmektedir (23).

3.2.1.1. Sisplatinin toksik etki mekanizmaları

Sisplatinin başta nefrotoksik etki olmak üzere hücrelerdeki toksik etkilerinin temelinde yatan hücresel mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, bu toksisitenin etiyolojisinde birden fazla faktörün rolünün söz konusu olduğu düşünülmektedir. Bunlardan en çok üzerinde durulanlardan biri, ilacın ilgili organdaki hücre DNA'sı ile etkileşimi yani DNA hasarı sonucu tetiklenen apoptozdur (28). Sisplatin, DNA'ya hasar vererek etki eder, DNA'nın ağır metal alkilleyicisidir. Sisplatinin hidrasyonu sonucunda açığa çıkan metabolitler (monokloromonoakuodiaminplatin veya diakuodiaminplatin) nükleer materyallerin temeli olan pürin ve pirimidini alkiller. DNA çift zincirlerine zincir arası ve zincir içi çapraz bağlanarak, DNA'nın replikasyon ve transkripsiyonunu bozar, hücre siklusunu G2 fazında durdurur (24). Bu hasar nedeniyle DNA yeterince yenilenemez ve hücre küçülmesi, kromatin yoğunlaşması ve DNA parçalanması gibi birtakım morfolojik değişiklikler meydana gelir. Bu DNA hasarı onarılamayacak boyutta ise, apoptoz tetiklenir ve hücre ölümü ile sonuçlanır (28). Ancak, apoptoza yol açan bu olaylar zincirini oluşturan sitoplazmik mekanizmalar henüz net olarak aydınlatılamamış olup birtakım teorilerle açıklanmaya çalışılmaktadır. Bu teorilerden bazılarına göre sisplatinin metabolitlerin hücrelerdeki sülfür içeren gruplara yüksek afinite göstererek sülfidril (–SH) gruplarına bağlanması sitotoksisitenin nedenidir. Sisplatinin yapısındaki platin molekülünün, nükleik asitlerin sülfidril gruplarına bağlanması nedeniyle DNA'ya da bağlanır, bu durum ise hücre siklusunun G2 fazında durmasına yol açarak sitotoksik etki yapar (29). Başka bir teori ise, böbrekte tübüler hücrelerdeki ve başka organlarda farklı hücrelerdeki sitokrom oksidaz ve ATPaz gibi bazı kritik mitokondriyal iç membran proteinlerinin aktivitesinin inhibisyonudur. Bu enzimler için kod oluşturan mitokondriyal DNA'nın, sisplatin ile

hasarlanması sonucunda mitokondriyal protein sentezi yapılamaz, böylelikle mitokondriyal enzim aktiviteleri bozulur ve oksidatif fosforilasyonun inhibisyonu sonucu ATP üretimi azalır (30). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarla, bu ilaca bağlı nefrotoksisitenin ve diğer toksik etkilerin temelinde, serbest oksijen radikallerinin artmasına bağlı olarak meydana gelen oksidasyona bağlı stresin artmasından kaynaklandığı oldukça kabul gören bir iddia haline gelmiştir. Çünkü sisplatin, gerek hidroksil radikalleri gerekse süperoksit iyonları gibi reaktif oksijen moleküllerini üretebilmekte, öte yandan süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi bazı antioksidatif enzimlerin aktivitelerini inhibe edebilmektedir. Ayrıca reaktif oksijen moleküllerini yakalama görevi olan redükte glutatyon'un seviyesini de azalttığı gösterilmiştir (31). Ortaya çıkan bu tablo, DNA hasarına ve membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açarak toksisiteye neden olmaktadır.

3.2.1.2. Sisplatin nefrotoksisitesi

Alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, antrasiklinler gibi kanser tedavisinde kullanılan sitotoksik ilaçlar, vücutta birçok organda fizyolojik homeostazisin bozulmasına neden olur. En sık etkilenen organların başında böbrek gelir ve sitotoksik ilaçlara bağlı nefrotoksisite kemoterapinin en fazla görülen yan etkilerinden birisidir (14) Böbrekteki bu duyarlılığın nedeni; yüksek kan akımı ile karşılaşması, tübüler epitelde spesifik taşıyıcılara sahip olması ve medüller interstisyumda toksinleri konsantre etme yeteneğidir (32). Renal fonksiyonlardaki bozulma sitotoksik ilaçların bazılarında öngörülebilir ve doz bağımlı iken, bazı ilaçlarda ise daha uzun süreli ve hatta bazen geri dönüşümsüz olabilir. Oluşan nefrotoksik etki; serum elektrolit düzensizliği, serum kreatinin artışı, glomerül filtrasyon hızının (GFH) azalması ve kalıcı böbrek yetmezliği gibi ciddi boyutlara ulaşabilen bir aralıkta olabilir (14,33). Yaşlı hastalar, hipovolemi, hipoalbuminemisi olan ve daha önce altta yatan bir renal yetmezliği olan veya kombine kemoterapi alan hastalar nefrotoksisite gelişmesi açısından daha yüksek risklidirler (24).

Kemoterapi ilaçlarının böbrekte tübüler fonksiyonların yanında glomerüler fonksiyonları da bozduğu bilinmektedir. Bu sitotoksik ilaçlar genellikle proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve glomerül olmak üzere nefronun üç ana bölümünde hasarlanmaya ve fonksiyon bozukluğuna neden olur (33). Sisplatinin böbreklerde ilk

hedefi mitokondri organeli yönünden çok zengin olan tübüllerdir. Distal tübüler fonksiyon bozukluğunda idrar pH'sı ve ozmolalitesi artarken, proksimal tübüler fonksiyon bozukluğuna bağlı idrar sodyumunda artma; serum sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, magnezyum ve fosfat seviyesinde azalma izlenir. Sisplatinin sıklıkla yüksek doz veya uzun süreli kullanımında izlenen glomerüler fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak ise GFH'de azalma, serum kreatinin ve idrar protein/kreatinin oranında artma görülür (14,33).

En sık kullanılan ve nefrotoksik etkisi en fazla bilinen platin bazlı antineoplastik ilaçlardan biri olan sisplatinin bu ciddi yan etkisi aynı zamanda klinik kullanımını sınırlandıran en önemli nedendir (14). Nefrotoksik etki oluşumunda sisplatinin üç boyutlu moleküler geometrik yapısı platin atomunun varlığından daha kritik bir rol oynamaktadır. Cis-dikloridamin platin ve trans-dikloridamin platin, her ikisinin de renal platin konsantrasyon miktarları birbirine yakın olmasına rağmen trans- izomeri nefrotoksisiteye yol açmazken cis- izomeri sisplatinin nefrotoksik etkisinden sorumludur (14,33).

Sisplatinin kullanımını kısıtlayan en önemli yan etki doza bağımlı olarak ortaya çıkan akut tübüler nekrozdur ve bu etkiye ilk tedavi küründen sonra %30 oranında rastlanmaktadır (33). Sisplatin saatler içinde böbrek PT'lerinde akut fonksiyonel hasara yol açar. İntratübüler basınç artar ve glomerüllere yansıyan bu basınç GFH'da azalmaya neden olur. Sisplatinin nefrotoksik etkisi geri dönüşümlüdür ve ilacın kesilmesiyle normale döner. Ancak bazen tek doz sisplatin sonrası da akut böbrek yetmezliği gözlenebilmektedir, fakat sıklıkla doza bağlıdır. Uygun monitorizasyon ve destekleyici tedavilere rağmen doza bağımlı kümülatif renal yetmezlik oranının %20-25 olduğu bildirilmiştir (33). Böbrek tutulumunun erken safhalarında histolojik olarak özellikle DT ve toplayıcı tübülleri etkileyen, tübüllerde dilatasyon ve tortu oluşumu ile giden fokal akut tübüler nekroz oluşur. PT'lerde ise özellikle kıvrımlı segmentinde doza bağımlı zedelenme görülür. Sisplatin kullanımı sırasında gelişen akut böbrek yetmezliği, idrar konsantrasyon yeteneğinin erkenden bozulmasına bağlı genellikle non-oligüriktir ve özellikle PT hasarına bağlı elektrolit bozukluklukları (hipomagnezemi, hipokalsemi ve hipokalemi) sık görülür (24,32).

Sisplatin nefrotoksisitesini önlemek amacıyla doz kısıtlamasına gidilmekte ve bu durum tedavide aksaklıklara neden olmaktadır. Sisplatin alan hastalarda tedavi boyunca serum fizyolojik ile hidrasyon (150 - 200 mL/saat) yapıldığında nefrotoksisite oranının azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca sisplatin toksisitesini azaltmak için hipertonik salin infüzyonu, mannitol ve furosemid ile diürez yapılabilir. Hidrasyonda amaç en az 125 mL/saat idrar çıkışı sağlamaktır (24,32). Hidrasyon gibi destekleyici tedaviler dışında birtakım maddelerle antineoplastik ilaçların toksik bileşiklerinin nötralize edilmesi yoluyla da böbrek toksisitesi önlenmeye veya azaltılmaya çalışılmıştır ancak bunların sayıları sınırlıdır. Renal perfüzyonu düzenlediği bilinen prostaglandin E1 (34), N-asetilsistein (35), teofilin (36), antioksidan, antimikrobiyal ve vazodilatör etkili ginkgo biloba ekstresi (37), antioksidan etkinlikleri ile bilinen melatonin (38), E vitamini (39), C vitamini (40) gibi maddeler sisplatin nefrotoksisitesini önleyebilmek amacıyla üzerinde çalışılmış ve bir kısmında olumlu sonuçlar gözlemlenmiştir.

3.2.1.3. Sisplatin hepatotoksisitesi

Karaciğer; vücuttaki toksik kimyasal maddelerin detoksifikasyonunda en önemli role sahip olan organdır (29). Sisplatinin toksik etkili metabolitlerinin vücuttan atılımında homeostazisin en önemli mekanizmalarından biri olan hepatobiliyer sistem, yine homeostazisde çok önemli bir başka organ olan böbrekler ile birlikte çalışır ve nihayetinde sisplatin böbreklerden sonra en fazla karaciğerde birikir (29). İlacın standart dozlarda hepatotoksisite oluşturması nadir olup genellikle karaciğer üzerine olan toksik etkisi dikkate alınmaz. Ancak sisplatinin yüksek dozlarda uygulanmasından sonra karaciğerde toksisite gelişebilir ve o zaman klinik tabloda önemli değişiklikler meydana gelebilir (41-43).

Hepatotoksisite, sisplatin için doz sınırlayıcı bir faktör olarak kabul edilmediğinden buna yönelik araştırmalar sınırlı sayıda kalmıştır. Sisplatinin antineoplastik etki mekanizması olan DNA hasarının hepatotoksisiteninde nedeni olduğu iddia edilmiştir. Sisplatin hepatotoksisitesinin patofizyolojisinde, sisplatin nefrotoksisitesine benzer şekilde reaktif oksijen türlerinin aşın üretiminin indüklediği oksidatif stresin önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar vardır (20, 31).

Literatürde birtakım koruyucu ajanların sisplatin hepatotoksisitesini önlemek için kullanıldığı görülmektedir. (16, 41-44). Sisplatinin süperoksit iyonu, hidroksil radikali gibi aktif oksijen türlerini üretebilme ve normal dokuda aktif antioksidan enzimlerini inhibe edebilme özelliğinden dolayı sisplatin hepatotoksisitesinin önlenmesine yönelik çalışmalarda çeşitli antioksidanlardan zengin meyve ve sebzelerin tedavideki etkinliği araştırılmıştır (16, 17, 31).

3.2.2. Serbest Radikaller

Canlıların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmeleri için enerjiye ihtiyaçları vardır. Bu enerji, glukoz ve yağ asitleri gibi moleküllerin oksidasyonu ile elde edilmektedir. Ancak bu maddelerin oksidasyonu sonucunda bir yandan enerji açığa çıkarken, öte taraftan vücuda zarar verme potansiyeline sahip reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan moleküller oluşmaktadır (3). Yani, oksijen her ne kadar yasamsal olayların devamlılığı için çok elzem olsa da, aynı zamanda birçok hastalık ve dejeneratif bozukluğun kaynağı olarakta görülmektedir.

Gerek canlı hücrelerdeki normal metabolik faaliyetlerdeki oksijen kullanımının bir yan ürünü olarak, gerekse radyasyon, çesitli gazlar, UV, sigara, ağır metaller, herbisitler, pestisitler ve tedavi amaçlı kullanılan birçok ilaç ve diğer zararlı kimyasalların (çevre kirleticileri, pestisitler…) ve çeşitli karsinojenlerin etkisi ile ROT denen bazı aktif oksijen formları kaçınılmaz bir şekilde üretilir. Oksidatif stres (OS) nedeni olarak gösterilen bu ROT'ların çoğunluğunu serbest radikaller oluşturur. Süperoksit ($O2^{\cdot}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), alkoksil ($RO^{\cdot}$), nitrik oksit ($NO^{\cdot}$), singlet (tekli) oksijen ($^1O2$) gibi serbest radikaller ortaklanmamış elektron içerirler ve güçlü oksidanlardır. Hidrojen peroksit (H2O2), hipokloröz asit (HOCl) ve peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) serbest olmayan radikallerdir, ama yine de okside edebilme özelliğine sahiptirler (45).

Normal oksijen molekülüyle kıyaslandığında serbest radikallerin kimyasal reaktiviteleri daha yüksektir. Metabolik ve fizyolojik proçeslerde üretilen ROT'lar, yüksek kimyasal reaktiviteleri sebebiyle organizmada başta lipidler ve proteinler olmak üzere karbonhidratlar ve nükleotid koenzimler gibi birçok önemli molekülle reaksiyona girip yıkıma uğratarak oksidatif hasara neden olurlar. Membran lipid ve proteinlerinin oksidasyonu ile hücre membranının ve hücre fonksiyonunun

kaybolması veya hücre yıkımı, serbest radikallerin yol açtığı ve birçok hastalıkta ortaya çıkan önemli bir hadisedir (45).

Kimyasal bileşikler, iki veya daha çok elementin aralarında kimyasal bağ oluşturması ile meydana gelir. Bu bağlar negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır ve bu elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar. Kararlı bileşiklerin elektronları çift oluşturmuş halde bulunur. Eğer elektron çiftlenmemiş ise molekül daha reaktif ve stabil olmayan duruma geçer. Atomik yörüngelerinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan element veya bileşiklere serbest radikaller denir (3). Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktiflik kazandırır. Normal koşullarda ROT, enzimatik ya da non-enzimatik antioksidatif mekanizmalarla nötralize edilmeleri yada uzaklaştırılmalarına rağmen bazı durumlarda oksidanların düzeylerindeki artışa ve/veya antioksidan (AO) düzeyindeki azalmaya bağlı olarak oksidatif/antioksidatif denge, oksidatif yöne kayar ve oksidatif strese yol açar (3,31,45). Birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu düşünülen ve serbest radikallerin başlattığı oksidatif stres denen bu zincirleme reaksiyonlar dizisi aslında hayatımızda her an yaşamakta olduğumuz doğal bir süreçtir ve AO'lar tarafından durdurulucaya kadar devam eder. Bu nedenle son yıllarda, başta yaşlanma ve kalp-damar hastalıkları olmak üzere, bağışıklık sisteminde zayıflama, nörodejeneratif hastalıklar, katarakt, diyabet, karaciğer hasarı ve kanser gibi birçok hastalığın patogenezinin artmış serbest radikal aktivitesiyle ilişkili olduğu ortaya konmakta ve bunların tedavisi için AO'ların rolüne dikkat çekilmektedir.

3.2.3. Antioksidanlar

Vücutta normal metabolizma sırasında veya çeşitli dış etkenler yoluyla oluşan serbest radikaller, yağlar, proteinler ve nükleik asitler gibi farklı moleküllerin oksidasyonuna neden olarak hücre fonksiyonlarına zarar vermekte, böylelikle birçok dejeneratif hastalığın oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Serbest radikallerin neden olduğu bu zararlar, vücuttaki farklı savunma sistemleri ile kontrol altında tutulabilmektedir. Bu savunma sistemlerinden biri olan insan sağlığı açısından işlevi son yıllarda yapılan araştırmalarla çok daha iyi anlaşılan AO'lar; serbest radikalleri yakalama ve etkisiz hale getirme yeteneği sayesinde bu zararlı moleküller ile

reaksiyona girerek neden olduğu oksidasyonları önler. Bir başka ifadeyle AO'lar, serbest radikallerin neden olduğu oksidasyon reaksiyonlarını durduran ya da yavaşlatan moleküllerin genel adı olarak tanımlanabilir (46).

AO'lar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil AO olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil AO'lar; AO etkinin endojen kısmını oluşturur ve meydana gelen serbest radikal tepkimeleri, birçok AO sistemi ile kontrol edilmektedir. En az dört farklı AO kaynağı bulunmaktadır. Bunlar; (1) enzim (glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi); (2) büyük molekül (albumin, seruloplazmin, ferritin…gibi proteinler); (3) küçük molekül (askorbik asit, glutatiyon, ürik asit, tokoferol, karotenoid, polifenol…) ve (4) hormon (östrojen, anjiotensin, melatonin gibi) yapısındadır (46). Birincil AO'lar her zaman tek başlarına yeterli değildirler. Çünkü bilinmektedir ki; besin yetersizlikleri nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları tahrip olduğu zaman patolojik koşullar oluşabilmekte, böylelikle birincil AO'lardaki ve diğer savunma sistemlerindeki yetersizlik ROT'larda artışa ve vücuttaki AO dengesinin bozulmasına neden olmakta ve oksidatif stres oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Bilhassa günümüzde yaşam koşullarına, teknolojiye ve beslenme şekillerine bağlı olarak oluşan stres faktörleri; serbest radikallerin artmasına, kanserde dahil olmak üzere birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle doku ve hücrelerde serbest radikaller ve AO maddeler arasındaki dengenin sağlanabilmesi amacıyla gıdalara dışarıdan AO maddelerin katılması yoluna gidilmektedir. Yani vücudun AO savunma sisteminin etkinliği; diyetten büyük ölçüde etkilenmekte, diyetle alınan ve ikincil AO'lar denen besin öğeleriyle desteklenmesi gerekmektedir. İkincil AO'lar, oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini (askorbik asit), E vitamini, karotenoid ve polifenoller gibi meyve ve sebzelerde bulunan dietle alınan farklı AO etkili bileşiklerdir (46,47).

E vitamini (tokoferol), yağda çözünebilen bir antioksidan olup tüm hücre membranlarında bulunmakta ve çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korumaktadır. E vitamininin yüksek dozlarda diyete ilavesinin oksidatif strese karşı oldukça koruyucu olduğu bildirilmektedir (46). Askorbik asit de vücudun ekstraselüler sıvılarında bulunan ve suda çözünebilen önemli bir AO'dır. Vücutta sentezlenemediği için gıdalarla dışarıdan alınması gerekmektedir. Karotenoidler ise;

AO aktivitelerini zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltmak suretiyle gösterirler. Önemli diyet karotenoidlerinden β- karoten; sarı, turuncu sebze ve meyvelerde, yeşil sebzelerde, likopen; domateste ve lutein; brokoli ve lifli yeşil sebzelerde bulunmaktadır (47). Fenolik maddeler, son zamanlarda giderek dikkat çeken ve yine bitkilerde bulunan doğal bir AO'dır. Bu bileşiklerin insan sağlığına olumlu etkilerinin olduğu ve hatta AO kapasitelerinin vitamin E ve C'den ve karotenden daha fazla olduğu belirlenmiştir (3,4). Besin yetersizlikleri nedeniyle E vitamini, C vitamini, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi AO madde içeren gıdaların yeterince alınmamasına bağlı reaktif oksijen türlerindeki artış ve savunma sistemlerindeki bir yetersizlik vücuttaki AO dengesinin bozulmasına ve oksidatif stres koşullarının oluşmasına neden olmaktadır.

AO'lar etkilerini serbest radikalleri daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürüp indirgeyerek etkisizleştirme, oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etme, oksidanları kendilerine bağlayarak inaktive etme gibi farklı mekanizmalarla gösterirler (46). Fenolik bileşikler; indirgen ajan, hidrojen verici ve tekli oksijen yakalayıcı olmaları nedeniyle önemli AO'lar arasında sayılmaktadır. AO yapıların etki mekanizmalarının anlaşılmasının, vücuttaki birçok rahatsızlığın önlenmesi veya tedavisinde yol gösterici olacağı düşünülmektedir (47).

Yağlar, proteinler ve nükleik asitler gibi farklı moleküllerin oksidasyonuna yol açan serbest radikaller, birçok kronik hastalık ve kanser oluşumundan sorumlu tutulmaktadır. AO bileşikler, serbest radikalleri etkisiz hale getirme yeteneğine sahip olmaları nedeniyle özellikle farmakolojik çalışmalarda son zamanlarda oldukça önem kazanmışlardır. Bu AO aktiviteye sahip maddelerden biride fenolik bileşiklerdir (47). fenolik bileşiklerce zengin ahududu, böğürtlen, nar, çilek, visne, kiraz, erik, üzüm, lahana, pancar, patlıcan, nar gibi koyu kırmızı ve mor renkli meyve ve sebzelerin bazı kanser tipleri, damar ve kalp rahatsızlıkları gibi erken ölümlere neden olan bazı hastalıkların ortaya çıkışını engellemede çok etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (1, 48).

3.2.4. Fenolik bileşikler

Benzen halkası içeren organik maddeler fenolik bileşik (FB) olarak adlandırılır. FB'ler bitkilerde bulunur, oldukça fazla çeşidi ile meyve ve sebzelerin

renk ve tatları üzerinde önemli rol oynarlar. Bununla beraber, FB'lerin güçlü AO özelliğe sahip olduğu ve böylece birçok kronik hastalığı önleyerek insan sağlığına olumlu etkilerinin oldugu gösterilmiştir (2). Hatta AO kapasitelerinin vitamin E ve C'den ve beta-karotenden daha fazla olduğunu belirten birçok çalışma vardır (3,4). FB'lerin, güçlü antioksidan etki yanında, antiinflamatuar (5), antimikrobiyel (6), mikrobisit (7), kardioprotektif (8), antihiperlipidemik (9) etki gibi oldukça geniş potansiyel terapötik özelliklere sahip olduğu gösterilmiş, hatta polifenolik bileşiklerce zengin gıdaları tüketmenin, bazı kanser hücrelerinde anti-proliferatif, anti-anjiojenik, anti-invaziv ve proapoptotik etkileri sayesinde kanser riskini azalttığı da bildirilmiştir (10-13, 49,50).

En basit FB bir tane hidroksil grubu içeren benzen, yani fenoldür. Tüm FB'ler bundan türemişlerdir. FB'ler; karbon iskeletinin farklılığına göre kimyasal açıdan flavonoidler ve fenolik asitler olmak üzere iki gruba ayrılır. Fenolik asitler; kafeik asit, kumarik asit, klorojenik asit, ferulik asit, ellagik asit, gallik asit, salisilik asit, protokateşik asit, vanilik asit, punikalin, pedunkulagin, punikalagin gibi birçok FB içerir. Flavonoidler ise 6 gruba ayrılıp (antosiyaninler, flavon-3-ol monomerleri ve polimerleri, flavonlar, flavononlar, flavonoller, izoflavonlar), her bir alt grupta karbon iskeletindeki farklılıklar nedeniyle çok sayıda flavonoid vardır (1,48).

Sebze ve meyveler; fenolik bileşikler (fenolik asitler ve flavonoidler) bakımından zengindir. Bu meyve ve sebzelerin bazılarında (ahududu, bögürtlen, çilek, erik, kiraz, lahana, pancar, patlıcan, vişne, üzüm, nar) yapılmış olan çalışmalar sonucunda bazı hastalıklar ve bazı kanserlerin tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (1,48). Sağlıklı bir yaşam için bu bileşiklerce zengin bitkisel ürünlerin tüketimine ağırlık verilmesi veya bitkisel ürünlerden ekstrakte edilip yoğunlaştırılmış formların veya fenolik bileşiklerce zengin bitkisel atıkların kurutulması ve öğütülerek tüketilmek üzere tablet haline getirilmesi oldukça yaygın bir uygulama haline dönüşmektedir. Antik çağlardan beri çeşitli hastalıklara karşı şifa olarak kullanılan nar meyvesi de fenolik madde içeriği bakımından oldukça zengindir (1,48).

3.2.5. Antioksidan madde tayini yöntemleri

Gıdaların içerdiği AO bileşenleri ve dolayısıyla AO kapasiteleri birbirinden farklıdır. Son yıllarda gıdaların en çok tartışılan özelliği olan AO kapasitesi, çeşit,

varyete, işleme, depolama vb. koşullara bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (51). AO kapasite; C vitamini, tokoferol, karotenoid, flavonoid, antosiyanin gibi çok sayıda bileşikten kaynaklanmakta ve bunların etki tarzları da birbirinden farklı olabilmektedir. Gıdaların farklı AO içeriklerinden dolayı bunların AO kapasitesinin belirlenmesinde henüz standart olarak geçerli bir yöntem tanımlanmamıştır. Bu nedenle tek bir yöntem değil birbirlerine göre olumlu ve olumsuz yanları olan çok sayıda farklı analiz yöntemleri uygulanmaktadır (52). Bunların en geçerli olanları ve yaygın kullanılanları oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC), troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ve Folin Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde tayini yöntemleridir (51). AO çalışmalarında yaygın olarak kullanılan FCR ile toplam fenolik madde tayini, gıdaların AO kapasitesinin belirlenmesinde pratik, tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. Standart bileşik olarak genellikle gallik asit kullanılır ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg/L) olarak verilir (52). FCR ayıracı ticari olarak satılmaktadır.

3.2.6. Nar

Nar *(Punica granatum Linnaeus*), *Lythraceae* familyasının (Kınagiller) *Punica* cinsinden tropik-subtropik iklim bitkisi olup bilinen en eski yenilebilir meyvelerden biridir. Ortaçağ'da çekirdekli meyve anlamına gelen "*Pomuni granatum*"dan adını almıştır (Pome: meyve; Granatum: çekirdekli, taneli, tohumlu) (1,48).

Çoğu kaynakta İran ve Hindistan çevresi narın anavatanı olarak işaret edilse de, bütün Akdeniz Havzası'nı içine alan geniş bir sahada nar bitkisi binlerce yıldır tanınmaktadır. Nar, iklim ve toprak şartları açısından toleransı yüksek bir bitki olduğundan bütün Akdeniz ülkeleri dışında, Ortadoğu ülkelerinde, Çin'e kadar uzanan Asya ülkelerinde ve ABD ile Güney Amerika ülkelerinin bir kısmı gibi tropikal ve sub-tropikal iklime sahip oldukça geniş bir coğrafyada yetiştiriciliği yapılmaktadır (1). Narın bu denli geniş bir alana yayılmasında insan eliyle yetiştirilmesi dışında, doğal yollarla tanelerinin kuşlar tarafından tüketildikten sonra çekirdeklerinin dışkılarıyla birlikte geniş bir alanda yayılma imkanı bulmasıyla da alakalıdır (1,53).

Türkiye, narın anavatanı sınırları içerisinde olması nedeniyle, büyük ölçüde nar çeşidi zenginliği göstermektedir ve oldukça önemli bir nar üreticisidir. Ortadoğu'da İran'ın ardından, dünyada ise Hindistan, İran ve Çin'den sonra en fazla nar üreten ülkedir (53). Türkiye'nin nar üretiminin çok büyük kısmı (%61.8), iklimi nar yetiştiriciliğine çok uygun olan Akdeniz bölgesindedir. Güney kıyıları boyunca başta Antalya olmak üzere en fazla Muğla, Mersin ve Adana'da ziraatı yapılmaktadır. Ege (%23.3) ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi (%9.1), daha az olmak üzere nar yetiştiriciliği yapılan yerlerdir (53).

Nar ağacı; boyları 2 ila 5 metre arasında değişen çalı formunda bir bitkidir. Birçok dikenli dallara, 3-7 cm uzunluğunda 2 cm genişliğinde mızrak şeklinde yapraklar ile ve kırmızı, pembe, beyaz veya alacalı çiçeklere sahiptir. Olgun bir nar meyvesi 5-12 cm çapında, yaklaşık 200-300 gram ağırlığında (ortalama 284 gram), yuvarlak şekilli olup kabuk ve meyve kısmından oluşur. Meyveleri çok dâneli ve etli tohumlardan (tart) oluşur. Dâne sayısı 300-800 arasında değişmekte olup ortalama 600 civarındadır. Bu dâneler, narı çevreleyen çok sayıdaki beyaz membranöz bir segment (perikarp) tarafından kısımlara ayrılırlar. Çekirdek (tohum) doymamış yağ asitlerinden oldukça zengindir (1,48).

Narın, koyu kırmızıdan açık pembeye kadar değişik tonlarda renklere ve tatlı, ekşi ve mayhoş olarak gruplandırılmış tatlara sahip 50 kadar çeşidi vardır. Çeşide bağlı olarak kabuk oranı ve dâne oranı değişmektedir (48). Kabuk ve zar toplam meyve ağırlığının % 48'ini teşkil eder. Nar meyvesinin toplam ağırlığının yaklaşık yarısı (%52) ise yenilebilir kısmı olan meyve dânesi kısmıdır. Çeşide göre farklılık göstermekle birlikte, yenilebilir kısmın %78'i nar suyundan, %22'si ise çekirdek kısmından olusmaktadır (30). Narın bu yenilebilir kısmı önemli miktarda asit, şeker, vitamin, polisakkarit, fenolik madde ve bilhassa potasyumdan oldukça zengin mineral içermektedir (1,48).

Narın yüksek adaptasyon kabiliyeti ve ağacının meyvesinin dayanıklılığı, dikildikten 3-4 yıl sonra meyve vermeye başlaması ve çok uzun ömürlü olması (200 yıllık olanlar mevcut) ve ayrıca meyvesinin sağlığa yararlarının dikkat çekmesiyle üretimi gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Bununla beraber, meyve yetiştirme tekniğinde, gıda teknolojisinde ve üretim, depolama ve taşıma alanlarında son yıllarda görülen hızlı gelişmeler sonucu üretimi, tüketimi ve ticareti yıldan yıla artan

bir meyve durumuna gelmiştir (53). Taze meyve olarak tüketilebileceği gibi meyve suyu, şurup, gazoz, likör, reçel, jöle, sirke, nar ekşisi gibi soslar, tatlı ve salatalarda garnitür olarak, yaprak yada çekirdeğinden yapılan çaylar, baharat ve şarap olarak da tüketilmektedir. İlaç olarak hazırlanmış tablet ve toz kapsül formları vardır. Ayrıca farklı endüstriyel kullanım alanlarına da sahip olması (tanen, yağ, boya, kolonya, mürekkep hammaddeleri,..) dünya pazarlarında önem kazanmasına neden olmuştur (1,48,53).

Nara karşı artan ilginin oldukça önemli bir nedeni de, farmakolojik etki mekanizmalarının tanımlanmasında son yıllarda çok ciddi ilerlemelerin görülmesi ve narın herbir bileşeninin (kabuk, su, çekirdek) içerdiği polifenolik bileşiklerin vücut sağlığı açısından çok faydalı olduğunun anlaşılmış olmasıdır.

3.2.6.1. Nardaki fenolik bileşikler

Narda oldukça bol bulunan FB'lerin sağlığı koruyucu veya tedavi edici etkilerinin ortaya çıkması günümüzde bu meyveye olan ilgiyi daha da artırmıştır. Bu FB'ler doğal olarak narın kabuğunda, zarında, çekirdeğinde ve segmentler içerisindeki nar tanelerinin suyunda bulunur. Nar suyundaki, sayıları 100'den fazla olan, fitokimyasallar incelendiğinde; glikoz, fruktoz, sükroz için iyi bir kaynak olduğu ayrıca askorbik asit, sitrik asit, fumarik asit, malik asit gibi bazı organik asitler, çoğu demir olmak üzere birçok mineraller ve özellikle prolin, metionin ve valin olmak üzere tüm amino asitleri içerdiği bulunmuştur (1). Bunlar dışında, nar suyu AO polifenolleri bol miktarda barındırır. Yapılan birçok araştırmayla, nar suyunun önemli miktarda ellajik asit, gallik asit, kafeik asit, quersetin, kateşin ve antosiyanin başta olmak üzere birtakım fenolik maddeler (fenolik asitler ve flavonoidler) içerdiği saptanmıştır (4,50,54-56). Narın suyu yanında kabuğunda, potansiyel AO ve farmakolojik koruyucu aktivitelerinden sorumlu olan polifenollerden çok zengin olduğu bildirilmiştir (1,48). Endüstriyel üretim sırasındaki presleme sırasında uygulanan basınçla meyve kabuğu ve segment zarları ve zedelenmiş çekirdeklerden yüksek miktarda FB meyve suyuna geçmektedir.

Nar, çok çeşitli fenolik asitler ve flavonoid polifenoller içerir. Gallik asit, elajik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, kaffeik asit, ferulik asit ve kumarik asit nar suyunda en fazla bulunan fenol asitleridir ve bu bileşikler nardaki temel AO

kabul edilirler. fenolik asitlerin, serbest radikallere bağlanarak oksidatif hasarlara ve bunların neden olduğu bazı kanser tipleri gibi hastalıklara karsı organizmayı koruduğu, ayrıca bir kısmının lipid peroksidasyonunda E vitamininden daha fazla antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (48,57).

Çok çeşitli sınıflara ayrılan flavonoidlerin başlıcaları kateşinler, antosiyaninler, quersetinler, flavonoller ve flavan 3‑oller'dir. Antosiyaninler (delfinidin, siyanidin, pelargonidin..) nar suyunun kırmızı rengini veren temel renk pigmentleridir (2). Antosiyaninler, nar suyunda yüksek oranda bulunur ve güçlü antiinflamatuar ve AO aktiviteye sahiptir. Bunun dışındaki diğer nar flavonoidleri de AO aktivite gösterir (58). Nar suyundaki toplam FB'lerin yaklaşık %40'ının flavonoid grubuna ait bileşiklerin oluşturduğu bildirilmiştir (54).

Nar suyunun içerdiği fenolik madde miktarını araştıran bir çalışmada nar suyunun fenolik maddelerden zengin yeşil çaydan (1029 mg/L) yaklaşık 2 kat daha fazla FB içerdiği bildirilmiştir (2). Bir başka çalışmada nar suyundaki FB miktarları, yine fenoliklerce zengin olduğu bilinen portakal, ananas ve mango sularındaki FB miktarları ile karşılaştırılmış ve nar suyunda bulunan FB miktarlarının daha fazla olduğu belirlenmiştir (55). Garcia-Alanso ve ark., 28 farklı meyve türünde polifenoller üzerine çalışmış ve en fazla nar, üzüm ve böğürtlende olduğunu rapor etmiştir (56). Tüm bu çalışmalarda genel kanı olarak nar suyunun sağlığa yararlı olması, FB'leri içeriğinin yüksek düzeylerine bağlanmıştır.

Nar suyu dışında, meyvenin kabuk, zar ve çekirdek gibi diğer bileşenlerinin terapötik özelliklerini de inceleyen ve önemli miktarda fenolik madde içerdiğini gösteren çalışmalarda vardır (57). Nar çiçeklerinde temel fenolik maddeler, antioksidan ve hepatoprotektif ve antidiabetik özelliklere sahip maslinik asit, ursolik asit ve asiatik asittir. Çok güçlü AO etkiye sahip olan ellagitanninler ve piperidin alkaloidler nar kökleri ve kabuğunda bol miktarda mevcuttur (1,48). Zar ve içteki beyaz kabuk kısmı, anti-inflamatuar, antimutajen ve antifungal aktiviteye sahip punikalaginler, flavonlar, flavononlar ve diğer flavanoller içerir. Çok iyi AO özelliklere sahip olduğu söylenen nar yapraklarında punikalin ve punikafolin içeren tanenler ve luteolin ve apigenin içeren flavonlar temel FB'lerdir. Nar çekirdeği potasyum, magnezyum, demir, çinko, mangan miktarı bakımından zengindir. Ayrıca büyük kısmı punisik asit olmak üzere çeşitli doymamış yağ asitleri içerir. Nar

çekirdeği yağlarının antiinflamatuvar, antiaterojenik ve antikanserojenik etkili olduğu gösterilmiştir. Bu etkinin sağlanmasında, nar yağında yüksek oranda bulunan (%80) punisik asitin etkisi vardır. Günümüzde özellikle ülseratif kolit gibi bağırsak enflamasyonları, *Helicobacter Pilori* enfeksiyonları gibi enflamatuvar hastalıklarda yapılan çalışmalarda faydalı olduğu bildirilmiştir (1,48).

3.2.6.2. Narın terapotik etkileri

Nar "kendi başına bir eczane" veya “eczane bitki” olarak anılır. Geleneksel tıpta, özellikle asya ülkelerinde, aft, ülser, diyare, sıtma, parazitoz tedavisinde, ayrıca antidiyabetik ve kuvvet verici olarak antik çağlardan beri yüzyıllardır kullanılmakta iken, modern tıpta, bilhassa son 10-15 yılda, narın insan sağlığı açısından olumlu etkileri olduğunu bildiren yayınlara artan oranda rastlanmaktadır. Literatüre bakıldığında, 1950 ve 2000 yılları arasında nar ile ilgili sadece 25 yayın varken, son 15 yıldır nar ile ilgili çalışmalarda ciddi artış görülmektedir. Narın terapotik etkisi ile ilgili 2000 yılından şu ana kadar 200’den fazla hayvan çalışması ve klinik çalışma bildirilmiştir. Bu çalışmalara genel olarak bakıldığında narın en çok AO, antikanserojenik ve antiinflamatuvar özelliklerine odaklanıldığı görülmektedir. Bunun nedeni narın fenolik asit ve flavonoid gibi fenolik bileşenlerden zengin olması ve bu bileşiklerin oksidatif stres, serbest radikaller ve lipid peroksidasyonunu azaltabilmesi, apoptozisi indüklemesi ve bazı inflamatuvar yolaklar ve bu yolaklardaki bazı inflamatuvar mediatörlerin üretimini bloke edebilme özelliğidir (1,48,58).

Narın Antioksidan Aktivitesi

Literatürde narın AO aktivitesinin yüksek olduğunu gösteren çok sayıda in vitro ve in vivo araştırma mevcuttur. Nar suyu ve ekstrelerinin, kırmızı sarap ve yeşil çaydan 2-3 kat (2), üzüm suyu, greyfurt ve portakal suyunda belirlenen miktarlardan 6-8 kat daha fazla AO etki gösterdiği bildirilmiştir (59). Elma, üzüm, armut, ayva ve nar meyvelerinin kullanılarak yapılan bir çalısmada narın en yüksek AO aktiviteye (%62,7) sahip meyve oldugu belirlenmiştir. Bu araştırmada narın toplam fenol içeriğinin 2408±38,9 mg/kg toplam flavonoid içeriğinin ise 459±67 mg/kg oldugu belirlenmistir (4). Ayrıca, 28 farklı meyve türünün kabuk, meyve eti ve tohumundaki AO (toplam fenolik madde ve flavonoidler) aktivitelerinin incelendiği başka bir

çalışmada özellikle nar kabuğu ve üzüm çekirdeği gibi bazı meyvelerin yüksek AO aktiviteye sahip oldukları belirlenmistir (60). Başka bir çalışmada ise nar özünün AO kapasitesinin, elma özünden daha fazla olduğu gösterilmiştir (61). Narın bileşenlerinin (kabuk, su, tohum) AO kapasiteleri ile ilgili yayınlarda farklı sonuçlara rastlanmaktadır. Bu farklı sonuçların nedeni, tüm diğer meyvelerde olabileceği gibi tür, yetiştiği bölge, iklim ve olgunluğa bağlı olarak AO kapasitenin farklılığıdır (60). Ayrıca meyve suyu üretiminde kullanılan yöntem ve teknolojiler de AO kapasiteyi etkileyebilir.

İnsanlarda yapılmış araştırmalarda, narın AO etkisini ve diğer faydalarını ortaya koymuştur. FB'lerin sağlığı koruyucu ve hastalık önleyici etkilerini desteklemek amacıyla sağlıklı bireylerde yapılan bir çalışmada, nar ekstraktı tüketiminin ardından FB'lerin vücuttaki emilimleri ve AO aktiviteleri araştırılmış, sonuçta plazmada belirli bir AO aktivite artışına yol açtığı belirlenmiştir. Düzenli olarak günlük nar suyu tüketimininde insanlar içinde yararlı olduğu gösterilmiştir. Karotis arter stenozu olan olgularda yapılan çalışmada, nar suyu LDL oksidasyonunu azaltmak suretiyle AO aktivite göstermektedir. Nar suyunun, tüketimini izleyen bir yıl süre sonunda sistolik kan basıncını da önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (54).

Nar suyunun AO aktivitesi, içermiş olduğu yüksek oranda ve çok çeşitli fenolik maddelerden kaynaklanır (2). FB'lerin AO aktivitelerinin gücü hakkında farklı sonuçlar vardır. Bazı çalışmalarda, nar sularının AO aktivitesinin önemli bölümü, hidrolize olabilen fenoliklerden (gallik asit, ellajik asit,…..) kaynaklanır (49). Noda ve ark.'na göre nar suyu; fenolik asitlerle beraber delfinidin, siyanidin, pelargonidin gibi antosiyaninlerden dolayı yüksek AO kapasiteye sahiptir. Antosiyaninler canlı hücrelerde oluşan ve doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan serbest radikaller ile reaksiyona girerek bu bileşiklerin oksidasyonunu önlemekte, yani ROT'ların oluşumunu engellemektedir (62). Bunun yanında diğer flavonoid bileşiklerde AO aktiviteye önemli ölçüde katkı sağlayan bileşenlerdir. Bunların in-vitro koşullarda, lipid peroksidasyonunu önlemede ve serbest radikalleri (hidroksil ve superoksit) inhibe etmede etkili oldukları bildirilmiştir (59).

Narın Antikarsinojen Etkileri

Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar sayesinde narın potansiyel antikanser etki mekanizmaları aydınlatılmaktadır. Narda oldukça bol bulunan

FB'lerin, tümörün vücuda yayılma sürecinde yeni kan damarları meydana gelmesini (anjiogenezis) yavaşlatarak yayılmanın gecikmesinde rol oynadığı görülmüştür (13). ABD ve diğer batı ülkelerinde en fazla ölüme yol açan akciğer kanseri ve erkeklerde en fazla ölüme yol açan ikinci kanser türü olan prostat kanserinde de narın antiproliferatif (hücre büyümesini yavaşlatıcı), apoptozisi indükleyici ve AO etki gösterdiği bildirilmiştir (13,49,63,64). Bunun dışında meme, kolon ve cilt kanserleri tedavisinde de etkili olduğunu bildiren yayınlar vardır (12,65,66).

Narın Anti-inflamatuar Etkileri

Narın anti-inflamatuar potansiyeli ile ilgili yapılmış birçok çalışma bildirilmiştir. Miringotomi yoluyla akut inflamasyon oluşturulmuş sıçanlar üzerinde yakın zamanda yapılan bir çalışmada, 100 ul/gün nar ekstresi işlemden 1 gün önce ve işlem sonrası 2 gün tatbik edilmiş, sonuçta ROT seviyelerinin anlamlı ölçüde azaldığı, ayrıca lamina propriya kalınlığının ve damar yoğunluğununda azaldığı bildirilmiştir (67). Nötrofillerde bulunan NADPH-oksidaz ve miyeloperoksidaz enzimleri tarafından üretilen ROT'ların büyük miktarda salınımı, inflamatuar süreçte önemlidir. Anti-inflamatuar etkili polifenollerin, bu enzimleri baskılamak yoluyla etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (68). Başka bir çalışmada, nar bileşenlerinin siklooksijenaz ve lipooksijenaz gibi her ikisi de çok önemli enflamasyon medyatörleri olan aracı enzimleri etkileyerek antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir (69). Nar tohumu yağının, araşidonik asidin prostaglandinlere dönüştürülmesinde anahtar bir enzim olan siklooksijenaz ve araşidonik asidin lökotrienlere dönüşümünü katalize eden lipoksijenaz enzimlerini sırasıyla %37 ve %75 oranlarında inhibe ettiği, nar özüyle yapılan çalışmada ise siklooksijenaz enzimlerinde %23.8 oranında inhibisyon ile sonuçlandığı in vitro olarak gösterilmiştir (70). Başka bir çalışmada ise nar suyunun nitrik oksidin oksidatif yıkımını önleyerek AO ve antiinflamatuvar etkileri desteklediği rapor edilmiştir (5).

3.2.6.3. Narın klinik uygulamaları

Narın AO, antikanserojenik ve antiinflamatuvar özellikleri dışında antimikrobik (bakteriostatik, bakterisit, antifungal, antiviral, antihelmintik), bağışıklık düzenleyici, yara iyileşmesini artırıcı, uyarıcı, kanamayı durdurucu, müshil ve diüretik etki gibi diğer özellikleriyle de oldukça geniş potansiyel terapötik

etkiye sahip olduğu dikkat çekmektedir (1,48,58). Nar meyvesinin tüm bu özellikleri gözönünde bulundurularak; kalp-damar hastalıkları, diyabet, ishal, astım, bronşit, öksürük, ateş, enflamasyon, antibakteriyel, antiviral, antifungal etkinlik, AIDS (edinsel bağışıklık yetersizliği sendromu), osteoartrit, romatoid artrit, kanama, sindirim güçlüğü, ülserler, yaralar, diş ve dişeti hastalıkları, deri lezyonları, ultraviyole radyasyonuna bağlı cilt hasarı ve hatta cilt kanseri, sıtma, ateroskleroz, hipertansiyon, kolesterol bozuklukları, obesite, infertilite, ereksiyon bozukluğu, Alzheimer hastalığı, başta prostat kanseri olmak üzere kolon, meme kanseri gibi birçok hastalığın tedavisinde veya önlenmesinde kullanıldığı görülmektedir (1,48). Bu hastalıklar dışında nar meyvesinin bir diğer potansiyel terapotik uygulama alanı bazı ilaçların veya kimyasalların toksik etkilerinin önlenmesi veya azaltılmasıdır (71,72).

Prostat kanseri

Ratlarda oluşturulan prostat kanserinde nar ekstrelerinin (meyve suyu, tohum yağı, kabuk) prostat kanser hücrelerinin büyümesini baskılayarak ve düzenleyici proteinleri modüle ederek apoptozu uyardığı, yayılmasını ve çoğalmasını güçlü bir şekilde engellediği gösterilmiştir (63). Benzer başka çalışmalarda da nar suyu ve çekirdek yağının beraberde olsa, ayrı ayrı da olsa prostat kanserlerinde programlı hücre ölümlerini hızlandırıcı (pro-apoptotik) etkisi ortaya konmuştur ancak nar yağı ya da suyu ekstreleri birlikte verildiğinde, tek başına uygulanmalarına göre hücre invazyonunu daha güçlü baskıladığı bildirilmiştir (13). Nar suyu, Bax/Bcl-2 oranını arttırarak ve G1-S evresinde (kanser hücresinin çoğalma fazı) hücre çoğalmasında rol oynayan siklin kinaz baskılayıcılarının etkisi ile çoğalmasında baskılayarak hücreyi apoptoza yönelterek etkili olmaktadır (63). Yineleyen prostat kanserli ve yüksek PSA'lı (prostat spesifik antijen) erkeklerde nar suyu verilerek PSA düzeyi, serum lipid peroksidasyonu ve NO düzeyi, prostat kanseri hücresinde çoğalma ve apoptoz indüksiyonunun bakıldığı bir klinik çalışmada, hastaların %35'inde görülen PSA düzeylerinde belirgin düşme (%27), apoptozda artış olması, serum oksidatif streslerinde ve lipid peroksidasyonunda anlamlı azalmalar olması gibi sonuçlar, narın tekrarlayan yüksek PSA düzeyli prostat kanserinin tedavisinde umut verici olduğuna işaret etmektedir (64).

Meme kanseri

Nardaki polifenollerin, aromataz enzimini baskılayarak öströjen biyosentezini inhibe ettiği, böylece meme kanseri hücre kültürlerinde damar oluşumu, tümör büyümesi, hücre çoğalması ve invazyonu etkin bir şekilde baskıladığı, apoptozu indüklediği gösterilmiştir (10,65).

Akciğer kanseri

Narın, akciğer kanserinin tedavisinde de faydalı olduğu iddia edilmektedir. Sıçanlara oral yoldan verilen nar ektresinin akciğer tümörünün büyümesinde anlamlı azalmaya neden olduğu saptanmıştır. İçme suyuna nar ekstresi katılan fareler, yalnızca karsinojen alan grupla karşılaştırıldığında akciğer tümörlerinin daha iyi seyrettiği görülmüştür. Nar, kanser oluşumunda rol oynayan MAPK, PI3K/AKT ve NFκB sinyal yolağını belirgin bir şekilde baskılayarak etkisini göstermektedir. A549 hücreleri implante edilerek tümör oluşturulan sıçanlarda tümörün ortaya çıkmasında 4 gün gecikme (15 gün-19 gün) olduğu gözlenmiştir (73).

Kolon kanseri

HT-29 kolon kanseri hücrelerinde, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) sayesinde nükleer faktör kappa B'nin (NFκB) aktivasyonu yolu ile siklooksijenaz-2 yolağındaki enflamatuar hücre sinyal işlemlerinde artış saptanmıştır ki bu kanserin başlaması ve ilerlemesinin nedeni olarak düşünülmektedir. Bu deneklerde uygulanan nar tedavisinin siklooksijenaz-2 yolağındaki enflamatuar hücre sinyal işlemlerinde önemli bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (66).

Cilt Kanseri

Çeşitli konsantrasyonlarda (5-60 mg/L) nar meyve ektresinin güneş ışınlarındaki UV-A ve UV-B ile indüklenmiş zararlı etkilerine karşı koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Ayrıca, sıçanlar üzerinde yapılmış cilt kanseri modellerinde tümör oluşumunu baskıladığı da bildirilmiştir (12).

Kalp-damar hastalıkları

Nar suyunun kardiovasküler hastalıkların tedavisindeki olumlu etkileri ve potansiyel olarak kalp-damar hastalıklarına karşı koruyucu etkileri ile alakalı bildirilmiş birtakım çalışmalar bulunmaktadır. Çünkü nar suyu yüksek AO potansiyeline, antiaterojenik, tansiyon düşürücü ve anti-enflamatuar etkilere sahiptir. Hipertansiyonlu hastalarda yapılan bir çalışmada nar suyunun güçlü bir

vazokonstrüktör olan anjiyotensin II'nin anjiyotensin I'den dönüştürülmesi için bir katalizör görevi yapan serum anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) aktivitesini baskılayarak, sistolik kan basıncını azalttığı bildirilmiştir (54). Bu çalışmada 1.5 mmol total polifenol içeren nar suyu 50 ml/gün olmak üzere 2 hafta boyunca uygulanmış, 2 haftanın sonunda sistolik kan basıncında %5, serum ACE aktivitesinde %36 azalma tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada hastaların hiçbirinde, zararlı oksijen radikallerini artırdığı iyi bilinen sigara içme alışkanlığının olmadığı vurgulanmıştır (54).

Narın miyokardial perfüzyona olan etkisini araştıran çift kör, randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada, hastalara mevcut aldıkları ilaçları yanında 240 mililitre nar suyu üç ay boyunca günlük olarak içirilmiştir. Kontrol grubuna ise mevcut aldıkları ilaçları yanında benzer renk ve kaloride bir içecek verilmiştir. Başlangıçta, kontrol ve tedavi gruplarında stresle oluşan iskemi değerleri ve anjina sıklığı benzer iken 3. ayın sonunda nar suyuyla tedavi edilen grupta stresle oluşan iskemi değerleri ve anjina sıklığı anlamlı olarak azalmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre nar suyu uygulaması stresle oluşan miyokard iskemisini azaltmakta ve miyokard perfüzyonunu (kanlanmasını) düzeltmektedir (8). Ciddi karotis arter stenozu (darlığı) olan hastalarda yapılan ve 3 yıl süren bir çalışmada, günlük 50 ml nar suyu tüketiminin daha birinci yılda kanda aterosklerotik lezyon gelişimi riskini azaltarak damar duvarı kalınlığında anlamlı ölçüde azalmaya yol açtığı 3 ayda bir yapılan eko-dopler analizleri ile gösterilmiştir (74).

Ateroskleroz

Ateroskleroz gelişimine katkıda bulunan faktörler, artan plazma kolesterol ve oksidatif strestir. Özellikle yüksek plazma LDL (düşük dansiteli lipoprotein) konsantrasyonu, ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür. LDL kolesterol, oksidatif stres ve bir seri inflamatuvar olay sonunda atardamar duvarında meydana gelen plaklarla dejeneratif bir hastalık olan ateroskleroza yol açar. Narın bu oksidasyonu önleyici veya azaltıcı etkisi gösterilmiştir (74). Aterosklerozlu sıçan modellerinde, 14 hafta boyunca yapılan nar suyu uygulamasının, peritoneal makrofajlardaki LDL oksidasyonunu %90 oranında azalttığı, bunun yanında kolesterol emilimini azaltıp, kolesterolün atılımını artırarak, serum kolesterol düzeylerini de belirgin olarak düşürdüğü ve böylelikle aterosklerotik lezyonlarda

oldukça anlamlı azalma saptandığı bildirilmiştir (75). İnsanlarda yapılan bir çalışmada, 2 hafta nar suyu tüketiminin LDL konsantrasyonunu azalttığı ve ayrıca HDL (Yüksek dansiteli lipoprotein) ile ilgili koruyucu bir enzim olan serum paraoksonaz aktivitesinde % 20 oranında artışa yol açtığı, böylelikle total ve LDL kolesterol düzeyinde azalma ve LDL/HDL kolesterol oranında düzelme sağladığı bulunmuştur (74). Hiperlipidemili tip 2 diyabet hastalarında yapılan başka bir çalışmada ise, nar suyunun, kolesterol emilimini azalttığı, kolesterolün dışkı ile atılımını artırdığı, kolesterol metabolizmasında rol oynayan enzimlere olumlu etki yaparak total ve LDL kolesterol düzeyinde anlamlı azalma ile birlikte total/HDL ve LDL/HDL kolesterol oranında düzelme gösterdiği sonucunu rapor etmiştir (76). Böylelikle, AO etkili polifenoller açısından oldukça zengin olan nar meyvesinin, LDL'yi azaltma, HDL'yi artırma, serum paraoksonaz stabilitesi ve NO üretimini artırma gibi etkileri sayesinde kardiyovasküler komplikasyonları önleyebileceği düşünülmektedir (74-76).

Diyabetes Mellitus

Diyabet oluşturulmuş hayvan modellerinde yapılmış farklı çalışmalarda, nar ekstrelerinin insülin duyarlılığını düzeltip glukozidazı baskılayarak, sükrozun glükoza dönüşümünü azalttığı ve insülin düzeylerini artırarak ve pankreas beta hücrelerinin yenilenmesini sağlayarak, diyabetik sıçanlarda belirgin hipoglisemik aktivite sergilediği ve ayrıca diyabetik sıçanların kan lipid profilinde olumlu etki yaptığı gösterilmiştir (51). İnsanlarda yapılan bir çalışmada ise; herbiri 10 kişi olmak üzere, tip 2 diyabet hastalarından ve sağlıklı bireylerden oluşan 2 ayrı gruba 3 ay boyunca 50 mL/gün nar suyu içirilerek yapılan bir klinik çalışmada oksidatif stres, kan şekeri ve lipid profili araştırılmıştır. 3 ay sonunda trigliserid, HDL kolesterol, HbA1C, glükoz ya da insülin değerlerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark görülmemiştir (77). Ancak 3 aylık nar suyu kullanımından sonra, insülin duyarlılığın bir işaretçisi sayılan serum C-peptid değerlerinin %23 düştüğü ve oksidatif stresin azaldığı bildirilmiştir. Sonuç olarak nar suyu kullanımının diyabetik parametrelerin kötüleşmesini engellediği sonucuna varılmıştır (77).

Artrit (eklem iltihabı)

Artritin en yaygın formlarından biri olan osteoartrit, eklem fonksiyonlarını ve hastaların yaşam kalitesini ciddi olarak etkileyebilen progresif dejeneratif bir eklem

hastalığıdır. Bu, enflamasyon ve kıkırdak hasarı gelişimi IL-1 ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinler (hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan protein ve peptidlerin bir grubu) aracılığıyla olur. Bazı protein kinazlar da birçok inflamatuar mediatörlerin üretiminin düzenlenmesinden sorumlu olması nedeniyle bu enflamasyon gelişiminde önemlidir (78). Osteoartrit gelişiminde en çok üzerinde durulan mitojenle aktive protein kinazlar (MAPK) ve NFκB (nükleer faktör kappa B) aracılığıyla IL-6 ve IL-8 gibi enflamasyonun kritik medyatörlerinin artmış üretimidir (79). Bu protein kinaz ailesinin bir üyesi olan P38-MAPK sitokin üretiminden, nötrofil aktivasyonundan, apoptoz ve NO sentezinden sorumludur. Başka çalışmalarda bu protein kinazın inhibisyonunun enflamasyon ve kıkırdak-kemik hasarını baskıladığı gösterilmiştir (79). Sıçanlarda nar özütü ile yapılan bir çalışmada, nar özütü verilen grupta artrit şiddetinin daha az olduğu görülmüş, histopatolojik incelemede eklemin inflamatuvar hücrelerce infiltrasyonunda azalma, kıkırdak ve kemik destrüksiyonunda ise azalma gözlenmiştir (80). Henüz oldukça yeni olan bir klinik çalışmada ise nar özütünün zengin polifenol kaynağı sayesinde NFκB ve P38-MAPK inhibisyonu aracılığı ile IL-6 ve IL-8 aktivasyonunun baskılanması ile oluşan anti-inflamatuvar etkiyle kıkırdak dejenerasyonunu önlemede faydalı olduğu rapor edilmiştir (78). İn vitro başka bir çalışmada nar meyve ekstresinin osteoartritik eklemde yüksek düzeyde bulunan ve ekstraselüler eklem matriksinin yapım ve yıkımında rol oynayan kolajenaz enzimlerinin alt grubu olan matriks metalloproteinazlarını belirgin şekilde baskıladığı gösterilmiştir (79).

Romatoid artrit, dünya çapında % 0.5-1 kadar insanı etkileyen, kadınlarda daha çok rastlanan, enflamasyon ve kemik erozyonu ile karakterize oto-immün bir hastalıktır (78,81). Hastalığın patogenezinde TNF-α, IL-1β, uyarılabilir NO sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 gibi ajanlar, P38-protein kinaz ve NFκB aktivasyonu ile uyarılan kritik aracılardır (78,81). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, nar ekstresinin romatoid artrit başlangıcını ve insidansını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca nar ekstresi ile beslenen farelerde artrit şiddeti, eklem iltihabı ve IL-6 düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır (80). Aktif romatoid artriti olan hastalarda yapılan bir klinik çalışma, nar özütü kullanmanın mevcut tedaviye katkısı olduğu ve tamamlayıcı bir parçası olarak düşünülebileceği sonucunu ortaya çıkarmıştır (81).

Antimikrobik etkisi

Antimikrobiyal ilaçlara karşı artan bakteriyel direnç nedeniyle, şifalı bitkiler alternatif terapotik ajanlar olarak gözönünde bulundurulmaktadır. Nar, antimikrobiyal özelliği sayesinde bunların başında gelmektedir. Çok sayıdaki in vitro çalışma ve insanlar üzerinde yapılan birkaç denemenin sonuçları nar özlerinin antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmiştir (1,48). *Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Diplococcus pneumoniae, Escherichia coli O157:H7, Candida albicans* gibi mikroorganizmalar narın bakterisidal/fungisidal etkinliği ile durdurulmuştur. İdrar yolu enfeksiyonlarının en önde gelen etiyolojik bakterilerinden biri olan *Escherichia coli*'ye karşı nar ekstresinin güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir. İshal, hemorajik kolit, trombositopenik purpura ve hemolitik üremik sendrom gibi ciddi hastalıklara neden olan *enterohemorajik Escherichia coli (E. coli O157 H7)*'ye karşı bakteriostatik ve bakterisidal etkili olduğu gösterilmiştir (82). *Salmonella typhimurium, Vibrio kolera, Yersinia enterocolitica, Shigella spp.,* ve *Listeria monocytogenes* gibi diğer enterik patojen bakterilere karşı bakterisidal aktivitesi gösterilmiştir (1,48). Oral patojen bakterilerin insidansını azalttığı ayrıca plak, dişeti iltihabı ve periodontal hastalık riskini azalttığı bildirilmiştir (83). Fungal enfeksiyonlar için yapılan araştırmalarda, kurutulmuş nar kabuğu tozunun *Candida albicans* için yüksek bir inhibisyon özelliğine sahip olduğu ve oral fungal enfeksiyonların tedavisinde etkili olabileceği, nar ekstresinin immunsupresif hastalarda fırsatçı patojen olan Candida cinsi mantarların patojenitesini engellediği gösterilmiştir (84). Narın antiviral etkinliğine yönelik sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. *İnfluenza virüsü* ve *HIV virüsü*ne karşı yapılmış araştırmalar vardır. Nar suyunun, *HIV virüsü*nün CD4 hücrelerine bağlanmalarını bloke ederek, enfeksiyonun yayılımını önledikleri ve böylece AIDS tedavisinde faydalı olabileceği rapor edilmiştir. Narın antiparazitik aktiviteye sahip olduğu ve serebral sıtmaya karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (1,48).

Dental enfeksiyonlar

Serbest radikallerin, diş etlerinin inflamasyonunda da (periodontit) major etiyolojik ajanlardan biri olduğu bilinmektedir. Narda bulunan ve mükemmel bir antiinflamatuvar özelliğe sahip olan punisik asit, inflamatuvar mediatörlerin oluşumunda anahtar rol oynayan siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini

baskılayarak etkinliğini gösterir (83). Ayrıca nardaki flavonoidler dişeti iltihaplanmalarına neden olan başta *S. sanguis* olmak üzere birçok patojene karşı antibakteriyel etkinlik göstermektedir. Bu patojenler önce dental plak sonra periodental enfeksiyon oluşumuna yol açmaktadır. Nar suyu ekstresinden hazırlanan bir gargara ile klorheksidin içeren bir gargaranın karşılaştırıldığı 60 kişiyi içeren bir klinik çalışmada nar suyu içeren gargaranın dental plak oluşumunu %84, klorheksidinli gargaranın ise %79 engellediği, nar suyu ekstresinden hazırlanan gargara ile ağız çalkalamanın antibakteryel etkinlik gösterdiği ve narın dental plakların tedavisinde veya önlenmesinde bir alternatif olabileceği bildirilmiştir (83). Oral fungal enfeksiyonlarda ve proteze bağlı stomatitlerde, kurutulmuş nar kabuğu tozunun Candida albicans için yüksek bir inhibisyon özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir (84).

Erektil disfonksiyon ve erkek infertilitesi (kısırlık)

Nar, üroloji alanında da üzerinde oldukça yaygın araştırmalar yapılan bir meyvedir. Bilhassa prostat kanserinin tedavisinde umut verici olduğu düşünülmektedir (63). Bunun dışında erektil disfonksiyon ve erkek infertilitesinde de faydaları olduğu bildirilmiştir (85). Erektil disfonksiyon oluşturulmuş tavşanlarda 8 hafta boyunca nar konsantresi uygulanmış olan bir çalışmada nar ekstresinin intrakavernöz kan akımını ve düz kas gevşemesini artırarak erektil aktivite sağladığı bildirilmiştir (85). Bunun sebebinin muhtemelen narın AO etkisi ile artan NO düzeylerine bağlı olduğu düşünülmüştür. Ancak insanlarda yapılan klinik çalışmalarda henüz anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Hafif-orta erektil disfonksiyonu olan 53 erkek (yaş ortalaması 46) üzerinde yapılan ve narın terapötik etkisinin araştırıldığı randomize, çift kör, plasebo kontrollü 10 haftalık bir çalışmada, erektil disfonksiyon iyileşmeye doğru bir eğilim göstermesine rağmen, sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir (86). Narın erkek infertilitesinin (kısırlık) tedavisindeki etkisini araştırmak için sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, nar suyunun epididimal sperm konsantrasyonu ve sperm hareketliliğini düzelttiği ve anormal sperm sayısını azalttığı gösterilmiştir (87).

Cilt hastalıkları

Güneş ultraviyole (UV, morötesi) ışınları neden olduğu DNA hasarı, protein oksidasyonu ve matriks metalloproteinazlarının indüksiyonu ile fotoyaşlanma ve deri

kanseri gibi biyolojik etkilere yol açar. Nar suyu, ekstresi, yağı ve topikal uygulamaları ile yapılan çalışmalarda, UV-A ve UV-B ışınlarının zararlı etkilerine karşı çeşitli mekanizmalarla koruyucu olduğu veya oluşmuş hücre hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir (12).

Mide ülseri

Narın gastrik ülserde mukus salınımını artırmak yoluyla mukozal bariyeri güçlendirdiği ve mide ülserine karşı koruyucu etkisi olduğu da bildirilmiştir. Artan mukus, serbest radikallerin oluşumunu engellemekte ve böylece NO seviyesinin artışı önlenmektedir. Narın antinflamatuar etkisinin ilaçlara, strese veya bakterilere (*Helicobacter pilori*) bağlı gastritte ve barsak inflamasyonlarında etkili olabileceği düşünülmektedir ancak henüz bununla ilgili yeterli klinik çalışma bulunmamaktadır (88).

Alzheimer hastalığı

Narın içeriğindeki polifenollerinin hayvan modellerinde nöroprotektif etkiside araştırılmıştır. Alzheimer patolojisinin benzeri oluşturulan transgenik sıçanlarda nar suyu uygulanmasıyla hastalığın gelişiminde önemli olan hipokampal amiloid birikiminin %50 oranında azaldığı gösterilmiştir (89).

Obesite (şişmanlık)

Şişmanlık tedavisindeki etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada 5 hafta boyunca obez hiperlipidemik sıçanlara verilen nar çiçeği ekstresi ile, vücut ağırlığı, yağ dağılım oranı, enerji alımı, serum kolesterol, trigliserid, glukoz yüzdesi ve toplam kolesterol/HDL oranlarında anlamlı azalma gözlendiği bildirilmiştir (90).

Diğer çalışmalar

Nar, iyi organize olmuş kollajen ve fibroblastları artırarak ve inflamatuar hücrelerde azalmaya yol açarak yara iyileşmesinde olumlu etkiye yol açmaktadır (91). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada nar çekirdeğinin eritrosit sayı ve çaplarını artırarak hemoglobin düzeyleri ve hematokrit değerini artırdığı, bu nedenle eritrositlerin korunması ve aneminin düzeltilmesinde destekleyici antioksidan madde olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (92). Bir başka çalışmada ise yüksek yağlı dietle beslenerek alkole bağlı olmayan hepatosteatozis (karaciğerde yağlanma) oluşturulmuş sıçanlarda günlük 150 mg/kg nar özütünün karaciğerde yağ birikimini anlamlı olarak engellediği rapor edilmiştir (93).

3.2.6.4. Toksik maddelere ve ilaç toksisitesine karşı narın terapotik etkileri

Oldukça geniş bir terapotik etkiye sahip olan narla ilgili araştırılan konulardan biride birtakım toksik maddelere ve ilaçlara bağlı gelişen toksisiteye karşı potansiyel koruyucu etkisi olup olmadığı konusudur. Deneysel çalışmalarda hepatotoksisite oluşturmak için yaygın olarak kullanılan Karbontetraklorür'e bağlı karaciğer hasarlanmalarında nar suyunun olumlu etkisi (71) ve karsinojenik etkisi olduğu bilinen Triklorasetik asit ile yapılan bir çalışmada karaciğerde koruyucu etkisi olduğu (94) gösterilmiştir. Tabiatta oldukça yaygın bulunan aluminyumun yüksek dozlarının ROT'ları artırarak oksidatif stresi artırdığı ve vücutta birçok organda toksisiteye yol açabileceği bildirilmiştir. Nar özütünün aluminyum toksistesine karşı koruyucu olduğu sıçanlarda karaciğer, böbrek gibi organlarda yapılan deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (21).

Çeşitli ilaçların iyi bilinen birtakım toksik etkilerine karşı narın koruyuculuğu farklı organlarda araştırılmış olmakla beraber yine de bu alanda yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Sıçanlarda yapılan deneysel çalışmalarda, doksorubisinin kardiotoksik etkisine karşı kardioprotektif etkili olduğu (95), fenobarbital ile oluşan karaciğer hasarına karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (96). Aminoglikozid grubu antibiyotiklerle yapılan tedaviler sonrası görülen en önemli komplikasyon olan ve yaklaşık % 10-20 sıklıkta görülen nefrotoksisiteye karşı da narın etkinliği araştırılmıştır. Gram-negatif enfeksiyonların tedavisinde yaygın kullanılan bir aminoglikozid olan gentamisin ile yapılan bir deneysel çalışmada nar özütünün akut tübüler nekroz gelişme riskini azalttığı ve bu koruyucu etkisi nedeniyle tedavilere eklenmesi gerektiği bildirilmiştir (97). Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkilerinin ortadan kaldırılabilmesi veya azaltılabilmesi için alternatif yöntemler sıklıkla araştırılmaktadır. Bu yöntemlerden biri yan etkileri en aza indirgeyecek bir ajanın tedaviye ilave edilerek antineoplastik ajan ile birlikte kullanılmasıdır. Kemoterapide sık kullanılan etkin bir ajan olan sisplatin, oldukça sık ve çeşitli yan etkilere sahip bir sitotoksik ilaçtır. Çeşitli ajanlar ve AO maddelerin sisplatinin toksik etkilerine karşı koruyucu etkilerinin olup olmadığını araştırmak için birçok deneysel çalışmalar yapılmıştır. Sisplatine bağlı ototoksisitede bu ilacın sık görülen ciddi bir yan etkisidir. Deneysel çalışmalarla nar suyu uygulamasının ototoksisite sıklığını azalttığı bildirilmiştir (22,72). Nar çekirdeğinden hazırlanmış bir ekstrenin, yüksek

doz sisplatinin karaciğerde neden olduğu hasarlanma üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir deneysel çalışmada hepatotoksisitenin azaldığı gözlenmiştir (19). Sisplatinin neden olduğu nefrotoksisiteye karşı nar çiçeği ve nar çekirdeğinden hazırlanmış ekstrelerin etkinliğinin değerlendirildiği farklı deneysel çalışmalarda olumlu sonuçlar gözlendiği bildirilmiştir (18,20).

3.2.6.5. Nar meyvesinin güvenirliği ve olası yan etkileri

Nar oldukça güvenli biçimde hem geleneksel olarak hemde modern tıpta asırlardan beri kullanılmaktadır. Nar suyu veya tablet şeklinde nar meyve ekstresi kullanımının organlar üzerine toksik etkilerinin olup olmadığını araştıran deneysel ve klinik çalışmalarda günümüze kadar olumsuz kan ve idrar laboratuvar değeri veya olumsuz karaciğer, kalp, böbrek fonksiyonu veya olumsuz histopatolojik sonuç bildirilmemiştir. Sıçanlarda 37 gün boyunca oral olarak verilen nar suyunun organlarda hiçbir toksik etki yapmadığı veya önemli farklılıklar olmadığı histopatolojik analizlerle gösterilmiştir (98). Tablet şeklinde nar meyve ekstrelerinin gönüllü deneklerde, 28 gün boyunca 1420 mg/gün (870 mg GA-gallik asit- eşdeğer) olarak yüksek dozda kullanımının hiçbir toksik etki yapmadığı (99), karotis arter darlığı olan 10 hastada yapılan başka bir çalışmada ise günlük 121 mg/L EA (ellajik asit eşdeğeri) nar suyunun üç yıl gibi uzun süreli kullanımı ile de herhangi bir toksik etkisi olmadığı, böbrek, karaciğer ve kalp fonksiyonunu gösteren kan kimyası analizlerinde değişiklik olmaması ile gösterilmiştir (74).

Terapotik olarak oldukça etkin olduğu gösterilen narın meyve olarak tüketilmesi sırasında ürtikerden, hava yolu obstruksiyonu yapacak kadar solunum sıkıntısına yol açan alerjik reaksiyonlar ve birkaç başka yan etki, sınırlı sayıda olgu sunumu şeklinde bildirilmiştir (100-102). İran'da gebe kadınlar için hazırlanan, başta karabiber, sarımsak ve ezilmiş nar çekirdekleri olmak üzere birtakım maddeler içeren bir karışımın uzun süreli kullanımının özefagusta tahrişe ve hatta kansere yol açtığı bildirilmiştir (103). Bu karışımda nar çekirdeğinin kronik kullanımının özofagusta yaptığı tahribat suçlanmıştır. Mide irritasyonu nar suyu ile yapılan çalışmalarda gözlenmemiş ancak nar kabuğunun ve içindeki beyaz segmentinin kaynatılıp içilmesi sonucunda mide irritasyonu yapabildiği bildirilmiştir (48).

3.3. Gereç ve Yöntem

3.3.1. Etik Kurul

Çalışma için Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 10.06.2014 tarihli 2014/33 protokol numaralı etik kurul kararı ile gerekli onay alındı.

3.3.2. Deney Hayvanları ve koşullar

Çalışmada, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin Payzın Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuarından temin edilen, ağırlıkları 260±35 gram arasında değişen 28 adet sağlıklı erişkin erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Araştırmada deneysel uygulamalar laboratuar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına uygun olarak yürütüldü. Ratlar, rahat hareket edebilecek alanlara sahip (40x60 cm) pleksiglass kafeslerde barındırıldı. Altlık olarak talaş kullanıldı ve kafeslerin temizliği haftalık olarak yapıldı. Herhangi bir besin kısıtlaması içermeyen standart rat pellet yem ve günlük taze çeşme suyu ad libitum olarak verildi. Hayvanlar standart laboratuar şartlarında (12 saat aydınlık/karanlık periyodu, 22°C ±2 oda sıcaklığı, %50 ±10 bağıl nem oranı ve uygun havalandırma sistemi) muhafaza edildi.

3.3.3. Çalışmada kullanılan ilaçlar ve anestezik maddeler

Sisplatin (Cisplatin DBL 10 ml 10 mg flakon, Orna İlaç Sanayi, Türkiye) çalışmanın 5. gününde 8 mg/kg tek doz intraperitoneal (ip) olarak uygulandı. Nar suyu 2 cc/kg/gün olmak üzere orogastrik sonda ile gavaj yoluyla uygulandı. Hayvanlara uygulanan genel anestezi için 5 mg/kg ksilazin (Alfazyne %2, Alfasan Uluslararası BV, Woerden, Hollanda) ile 50 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., Lüleburgaz, Türkiye A.Ş.) kombinasyonu kullanıldı ve intraperitoneal (ip) olarak tatbik edildi.

3.3.4. Çalışma Dizaynı

Çalışma, Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin Payzın Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapıldı. Deney hayvanları herbir grupta 7 adet

(n=7) olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı: Grup 1: Kontrol, Grup 2: Nar suyu, Grup 3: Sisplatin ve Grup 4: Sisplatin + nar suyu. Deneysel uygulamalar şu şekilde gerçekleştirildi:

Grup 1 (n=7): Kontrol grubu, 0.5 ml izotonik sodyum klorür, 5.günde, i.p, tek doz

Grup 2 (n=7): Nar suyu uygulanan grub: 2 cc/kg/gün, 10 gün boyunca, gavaj yoluyla

Grup 3 (n=7): Sisplatin uygulanan grub; 8 mg/kg/gün, 5.günde, i.p, tek doz

Grup 4 (n=7): Sisplatin ve nar suyu uygulanan grub; Sisplatin 8 mg/kg/gün, 5.günde, i.p, tek doz, Nar suyu 2 cc/kg/gün, 10 gün boyunca, gavaj yoluyla

Çalışma süresi 10 gün olarak planlandı. Sisplatin intraperitoneal (ip) yolla, nar suyu orogastrik sonda ile gavaj yoluyla uygulandı. Sisplatin uygulaması yapılan 3. grubtaki ratlara 5.günde, i.p, tek doz 8 mg/kg/gün olacak şekilde yapıldı. Sisplatin ve nar suyunun uygulandığı 4. grupta 2cc/kg çözünmüş nar suyu, deneklere sisplatin uygulamasından 4 gün önce başlandı ve sisplatin uygulamasından sonra 5 gün daha devam edilerek 10 güne tamamlandı. Sisplatin uygulanmayıp sadece nar suyu verilen 2. grubta da nar suyu yine 10 gün boyunca verildi. Sisplatin veya nar suyu uygulamasına bağlı bir alerjik reaksiyon veya ölüm görülmedi. Kontrol grubuna (1. grub), sisplatin ile eşit hacimde 5.günde, i.p, tek doz izotonik sodyum klorür solüsyonu uygulandı.

3.3.5. Nar suyunun hazırlanması ve fenolik içerik tayini

Çalışmanın her bir günü için aynı cins bir adet narın sıkılmasıyla elde edilmiş nar suyu taze olarak deneklere verildi. Narların üzerindeki taş, toprak, kir vb. yabancı maddeler ayıklama ve yıkama işlemleri ile uzaklaştırıldıktan sonra meyve suyunun elde edilmesi için meyve sıkacağı ile sıkılarak presleme işlemi uygulandı. Elde edilen ekstre süzgeç aracılığıyla süzülerek içilebilir hale gelmiş nar suyu elde edildi. Süzülmüş taze nar suyundaki toplam fenolik madde miktarı, Folin-Ciocalteu yöntemiyle (FCR) değerlendirildi (18). Kısaca, 0.5 ml nar suyuna 1.58 ml deiyonize su ilave edildi ve bu 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi ile karıştırıldı. 30 saniye sonra, 30 µl Na_2CO_3 karışıma ilave edildi. Daha sonra karışım, 2 saat boyunca 20° C'de inkübe edildikten sonra, spektrofotometre ile 765 nm dalga boyunda absorbans

değerleri ölçüldü. Sonuçlar, gallik asit eşdeğeri (GAE) (mg GAE/0.5 ml) olarak ifade edildi. Nar suyundaki toplam flavonoid içeriği ise flavonoid alüminyum kompleksi oluşumuna dayanan kalorimetrik metot ile tespit edildi. Sonuçlar, quersetin eşdeğeri (ug QUE / 0.5 ml) olarak ifade edildi.

3.3.6. Örnek Alınması

Çalışmada 10. günün sonunda bütün gruplardaki hayvanlar, 12 saatlik açlığı takiben i.p. 10 mg/kg ksilazin ile 50 mg/kg Ketamin hidroklorür kombinasyonu uygulanarak sağlanan genel anestezi altında uyutuldu, anestezi sonrası kardiyak ponksiyonla hayvanlar sakrifiye edildi, sonra batın açılarak karaciğer ve sol böbrek dokuları alındı (**Resim 1 ve 2**).

Resim 1. Deneklerin sol böbrek dokuları

3.3.7. Histopatolojik değerlendirme

Alınan böbrek ve karaciğer materyallerine ışık mikroskobik incelemeler için %10 formalin ile 48 saat fiksasyon işlemi ve rutin doku takibi işlemi yapıldıktan sonra bloklama işlemi gerçekleştirildi. Parafin bloklardan 5µ kalınlığında mikrotomla (Leica RM2125RTS) kesitler alındı. Kesitlere hematoksilen+eozin boyaları uygulandı, sonra preparatlar entellan ile kapatıldı. Kesitler mikroskop (Olympus

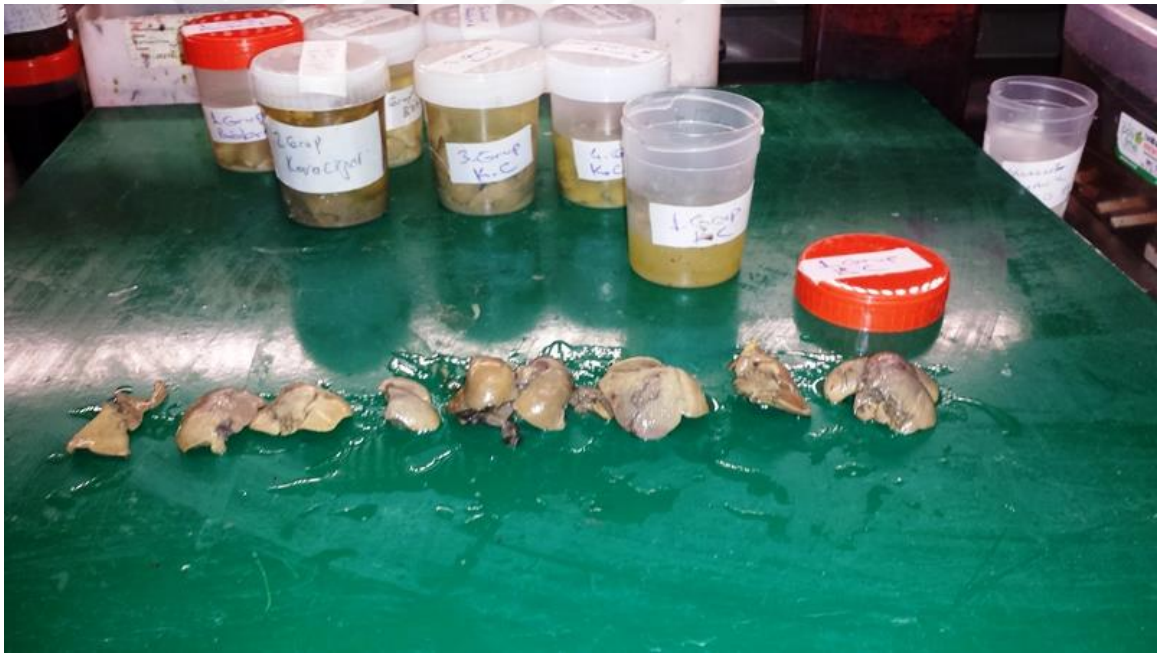
BX53) altında incelendi ve dijital fotoğraf makinesi (OLYMPUS CAMERA DP26) ile fotoğraf çekimleri yapıldı. Histopatoloik incelemede; böbrek cisimcikleri tüm grublarda normal gözlendiği için tübüllerdeki değişimler değerlendirildi. Her bir gruba ait böbrek dokusunda meydana gelen bozukluklar; tübüler şişme, fırçamsı kenar kaybı, nükleer kondansasyon ve tübül nükleuslarındaki kaybın derecesi dikkate alınacak şekilde incelendi. Her bir kesit 0-3 arasında (sırası ile hasar yok= 0; az hasar= 1; orta derecede hasar= 2; şiddetli hasar= 3) skorlanarak derecelendirildi (18).

Derece 0 (hasar yok): Değişiklik yok ya da minimal değişiklikler

Derece 1 (az hasar): Tübüler şişme, fırçamsı kenar kaybı, nükleer kondansasyon, tübülün 1/3'ünde nükleer kayıp

Derece 2 (orta derecede hasar): Derece 1 gibi ancak tübül nükleuslarında 1/3 ila 2/3 arasında kayıp mevcut

Derece 3 (şiddetli hasar): Tübül nükleuslarında 2/3'den fazla kayıp mevcut.



Resim 2. Deneklerin karaciğer dokuları

Öte yandan her bir gruba ait karaciğer kesitlerinde meydana gelen bozukluklar; hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon, fokal nükleer piknoz, parankimal nekroz, sitoplazmik eozinofili, sinüzoidal dilatasyon, hepatik kordlarda doku yapısında kayıp ve konjesyon-tromboz dikkate alınarak incelendi. Her bir kesit

0-3 arasında (sırası ile; hasar yok= 0; az hasar= 1; orta derecede hasar= 2; şiddetli hasar= 3) skorlanarak derecelendirildi (20).

Derece 0 (hasar yok): Değişiklik yok yada minimal değişiklikler

Derece 1 (az hasar): Hepatositlerde sitoplazmik vakuolizasyon ve fokal nükleer piknoz

Derece 2 (orta derecede hasar): Hepatosit sitoplazmalarında vakuolizasyon, konfluent alanlarda balonlaşma var ama belirgin nekroz yok

Derece 3 (şiddetli hasar): Koagülatif nekroz alanları, sitoplazmada hipereozinofili, yoğun sinüzodal dilatasyon ve konjesyon, hemoraji, hepatik kordlarda doku yapısında kayıp

3.3.8. İstatistiksel Analiz

Elde edilen sonuçlar SPSS for Windows 15.0 paket programı ve Ki-kare testi kullanılarak değerlendirildi. $P < 0,05$ anlamlı olarak kabul edildi.

3.4. Bulgular

3.4.1. Nar suyunun toplam fenolik madde ve flavonoid miktarları

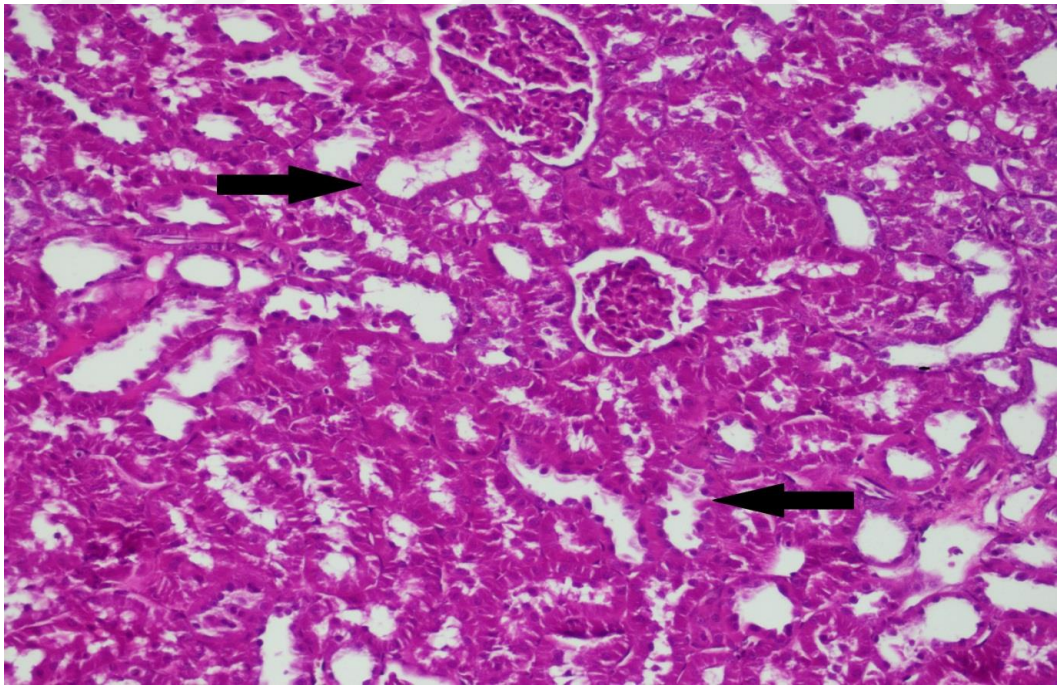
Nar suyunun toplam fenolik madde miktarı; 26.25 mg GAE / 0.5 mL olarak, flavonoid miktarı ise 31.50 µg / 0.5 mL olarak bulunmuştur.

3.4.2. Böbrek dokusuna ait histopatolojik bulgular

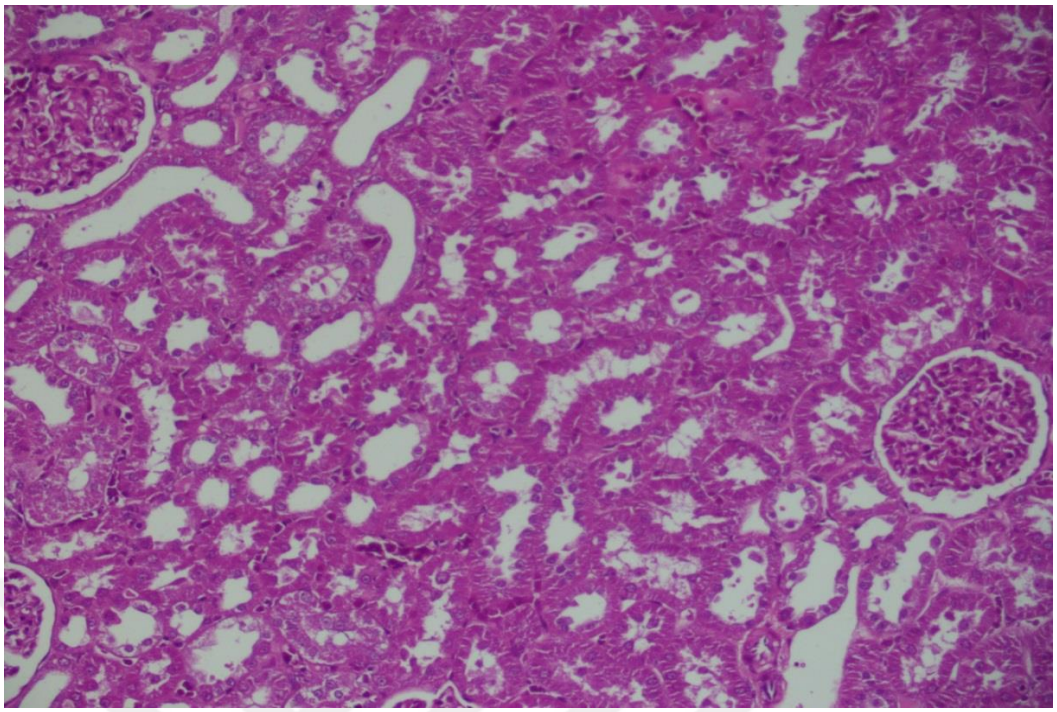
Grupların histopatolojik değerlendirme sonuçları **tablo 1** ve **şekil 1**'de gösterilmiştir.

Kontrol grubu ve nar suyu grubu

Grup 1 (kontrol grubu) ve grup 2 (nar suyu grubu) deneklerinin böbrek dokusunda yapılan ışık mikroskopik incelemelerin sonucunda böbrek cisimcikleri, PT (fırçamsı kenarları düzenli periodisiteye sahip prizmatik hücrelerden oluşan yapı) ve DT'lerin (normal kalınlıkta bazal membranlar üzerine oturmuş, izoprizmatik hücrelerden oluşan yapı) histolojik açıdan normal morfolojik özelliklere sahip olduğu gözlendi (**Resim 3 ve 4**).



Resim 3: Kontrol grubunda böbrek tübül epitel hücreleri (HE; X200)



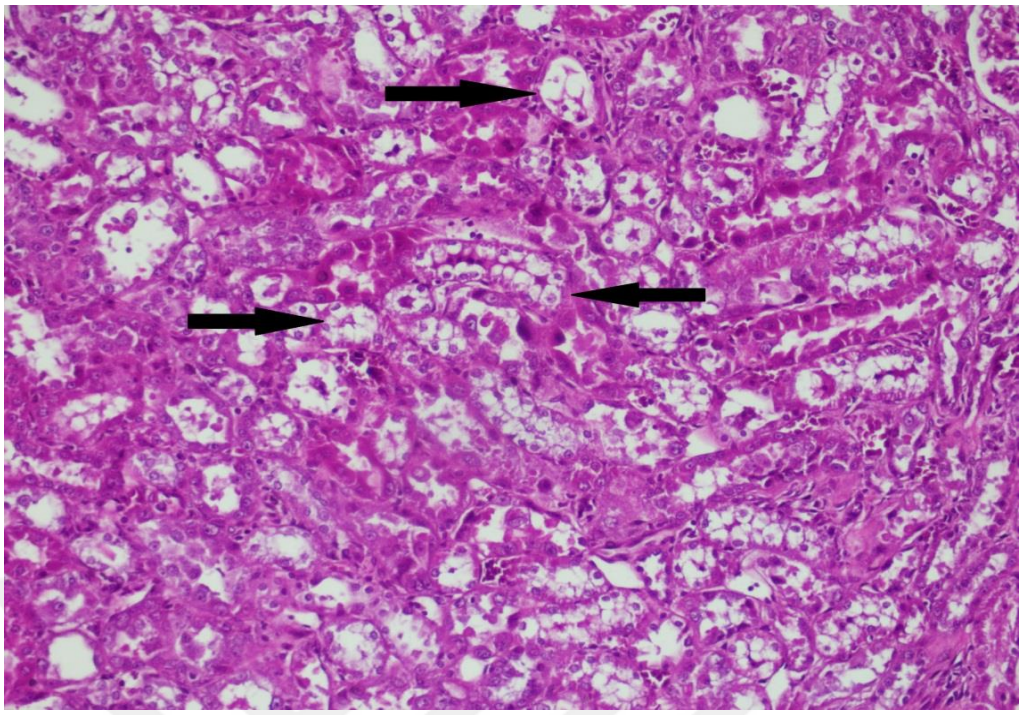
Resim 4: Nar suyu grubunda normal histolojik özelliklerde böbrek tübülleri (HE; X200).

Sisplatin grubu

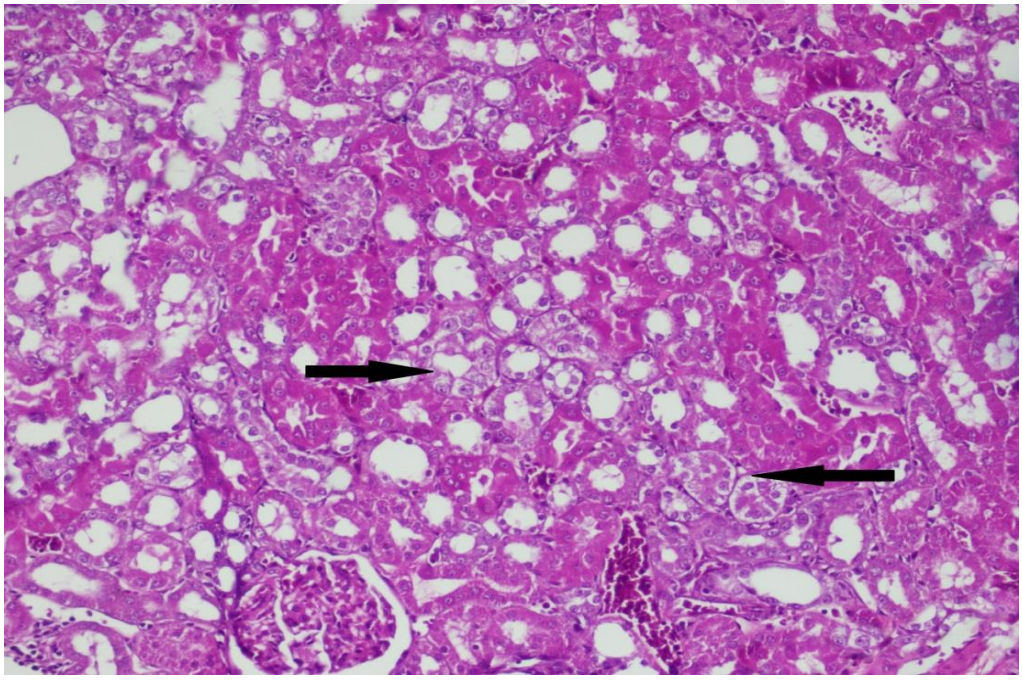
Grup 3 deneklerine (sisplatin uygulanan grup) ait kesitlerde, böbrek cisimcikleri normal izlendi. Tübüler yapılardaki hasarın ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde artmış olduğu izlendi ($p<0.001$). Yapılan histopatolojik incelemelerde bazı tübül hücrelerinde şişme, fırçamsı kenar kaybı, nükleer kondansasyon ve tübül epitel hücre nükleuslarında 1/3 ila 2/3 oranında kayıp izlendi **(Resim 5)**.

Sisplatin + nar suyu grubu

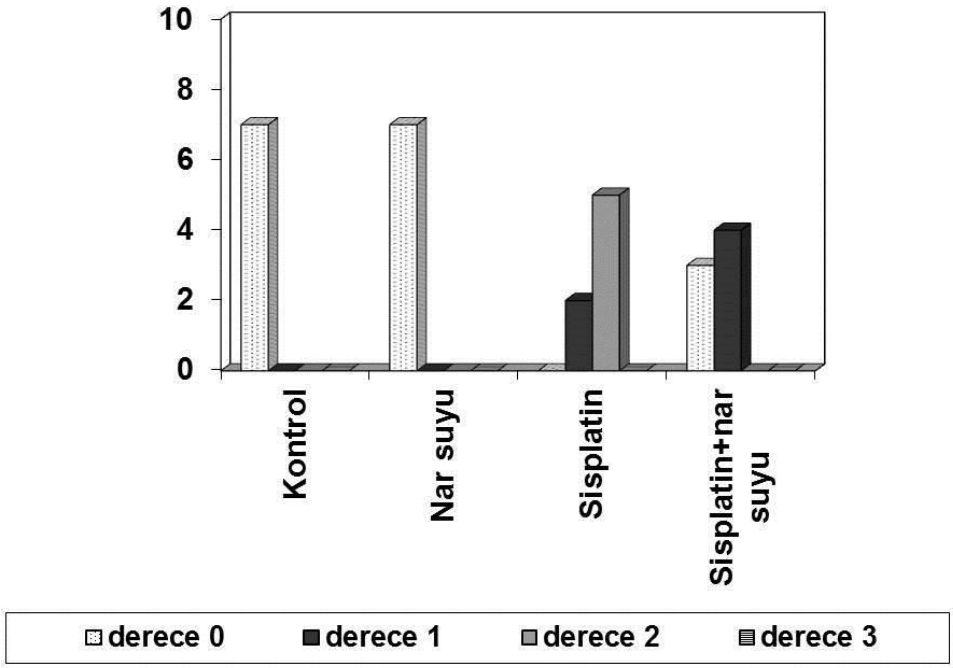
Grup 4 deneklerine (sisplatin + nar suyu grubu) ait preparatlarda yapılan incelemeler sonunda; böbrek cisimciklerinin normal olduğu, tübül hücre hasarlarının 3. gruba göre daha az olduğu, sitoplazmik berraklaşmaların azaldığı, tübül epitel hücre kayıplarının düzeldiği dikkati çekti **(Resim 6).** Sisplatin + nar suyu grubunda gözlenen bu değişiklikler (hasarlanmadaki azalmalar), sisplatin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu izlendi ($p=0.003$).



Resim 5: Sisplatin grubunda böbrek tübül epitel hücrelerinde şişme, nükleer kondansasyon, tübül hücre nükleuslarında kayıp izlenmekte (HE; X200).



Resim 6: Sisplatin + nar suyu grubunda tübül epitel hücrelerindeki şişme, nükleer kondensasyon ve tübül epitel hücre kayıplarındaki düzelme izlenmekte (HE; X200).



Şekil 1. Deneklerin böbreklerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları

Histopatolojik derecelendirme (Böbrek)	**Grublar (n, %)**			
	Kontrol	**Nar suyu**	**Sisplatin**	**Sisplatin+nar suyu**
Derece 0	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	-	3 (% 42,9)
Derece 1	-	-	2 (% 28,6)	4 (% 57,1)
Derece 2	-	-	5 (% 71,4)	-
Derece 3	-	-	-	-

Tablo 1. Deneklerin böbreklerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları

3.4.3. Karaciğer dokusuna ait histopatolojik bulgular

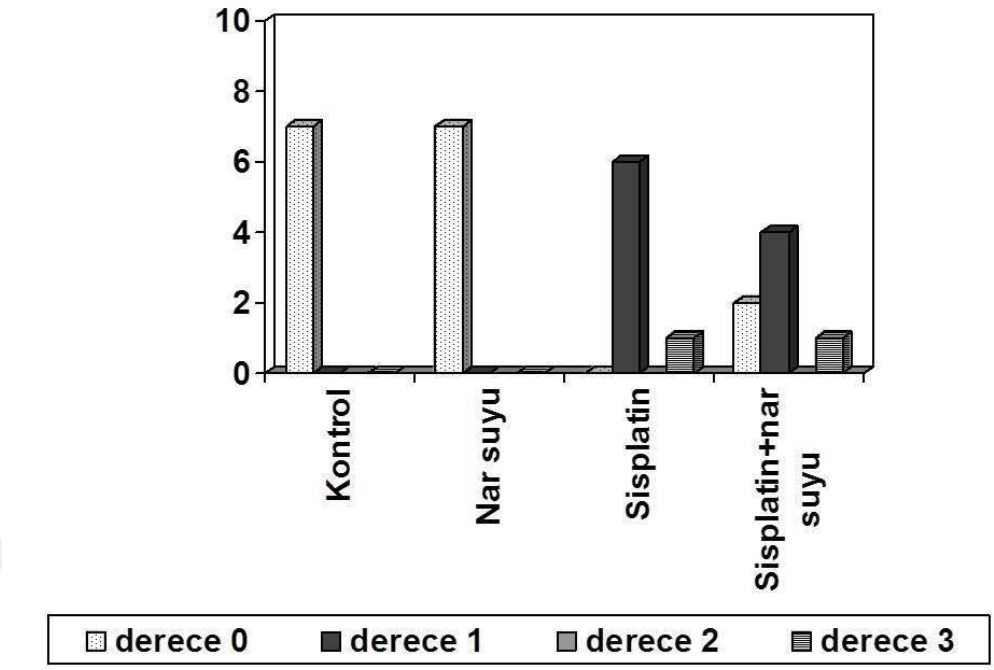
Grupların histopatolojik değerlendirme sonuçları **tablo 2** ve **şekil 2**'de gösterilmiştir.

Kontrol grubu ve nar suyu grubu

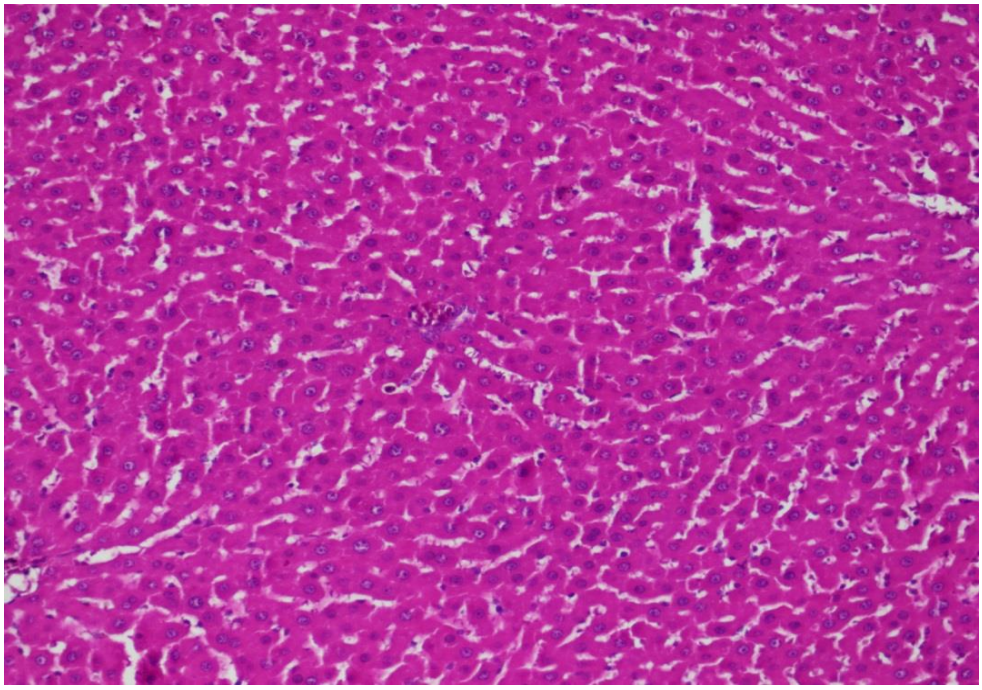
Grup 1 (kontrol grubu) ve grup 2 (nar suyu grubu) deneklerinin karaciğer dokularının ışık mikroskopik incelemesinde; kesitlerin düzenli lobül yapısı sergilediği gözlendi. Karaciğer parankim hücreleri olan hepatositlerin santral venler (V. Centrolobularis) çevresinde ışınsal olarak düzenli bir şekilde yerleşerek hepatosit kordonlarını (Remak kordonları) oluşturduğu ve sinüzoidlere paralel bir yerleşim gösterdiği izlendi. Hepatositler merkezi yerleşimli, yuvarlak ve çoğunlukla tek olmakla beraber bazen çift olan çekirdekler ve hücreye granüler görünüm veren dağılmış glikojen tanecikleri içermekte idi. Portal alanlarda izlenen portal ven (V. Porta) ile hepatik arter (A. hepatica) dalları ve safra kanalları normal görünümde idi Bu grupta sinüzoidal dilatasyon, konjesyon, hepatosit sitoplazmalarında vakuoler değişiklik, sitoplazmik eozinofili, nükleer piknoz, inflamatuar inflamasyon ve parankimal nekroz gibi bulgulara rastlanmadı (**Resim 7 ve 8).**

Histopatolojik derecelendirme (Karaciğer)	**Grublar (n, %)**			
	Kontrol	**Nar suyu**	**Sisplatin**	**Sisplatin+nar suyu**
Derece 0	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	-	2 (% 28,6)
Derece 1	-	-	6 (% 85,7)	4 (% 57,1)
Derece 2	-	-	-	-
Derece 3	-	-	1 (% 14,3)	1 (% 14,3)

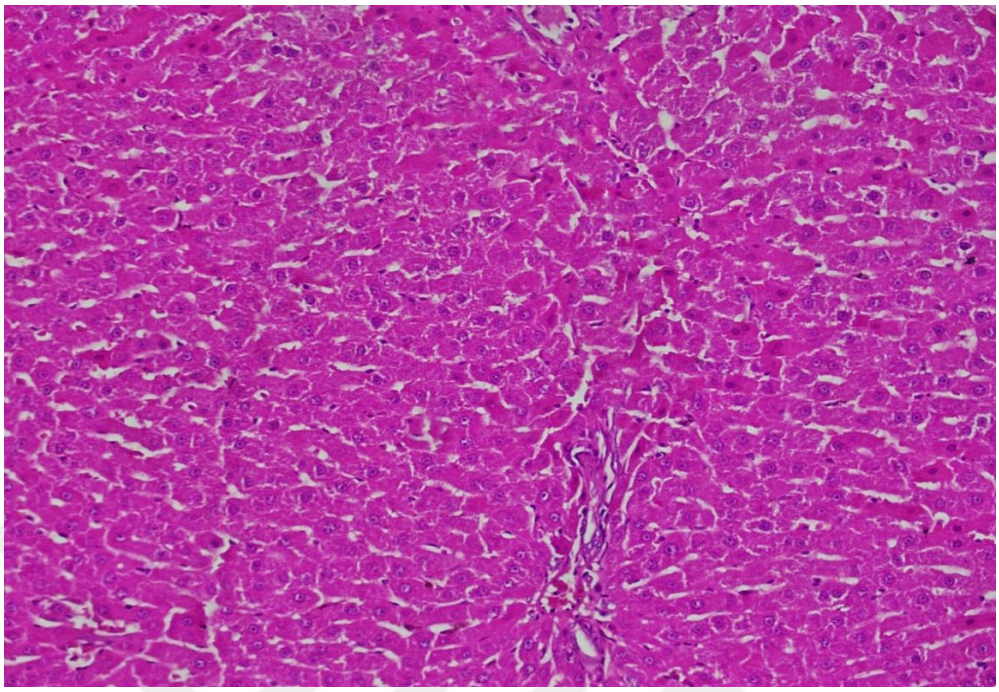
Tablo 2. Deneklerin karaciğerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları



Şekil 2. Deneklerin karaciğerinde meydana gelen hasarlanmaların histopatolojik değerlendirme sonuçları



Resim 7: Kontrol grubunda normal histoloji gösteren karaciğer dokusu (HE; X200).



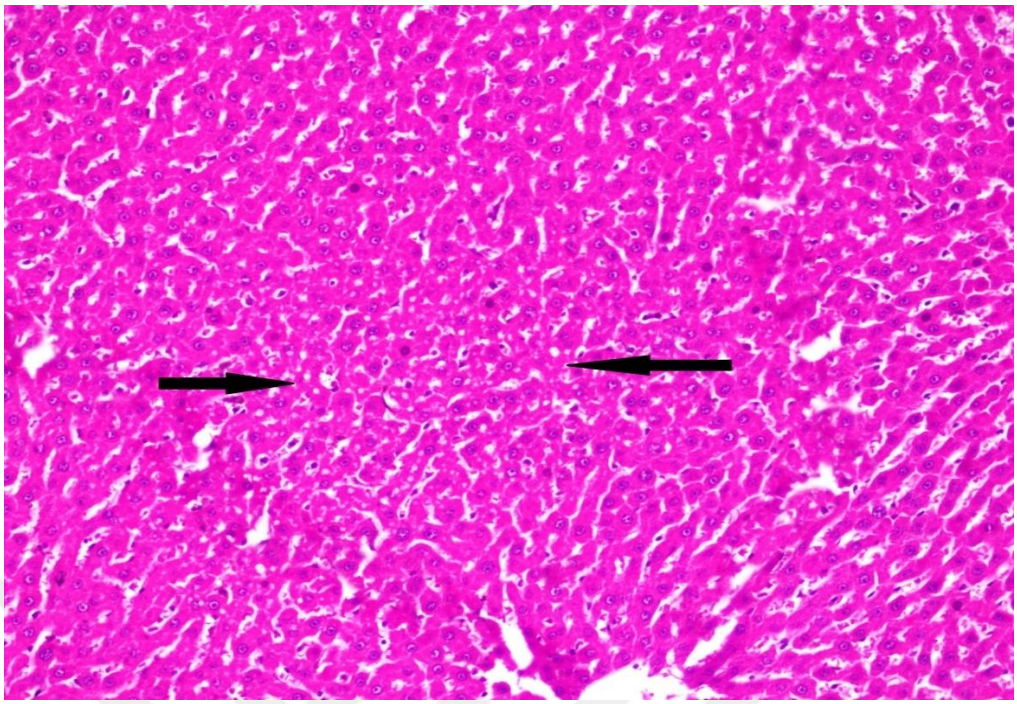
Resim 8: Nar suyu grubunda normal histolojide karaciğer dokusu (HE; X200).

Sisplatin grubu

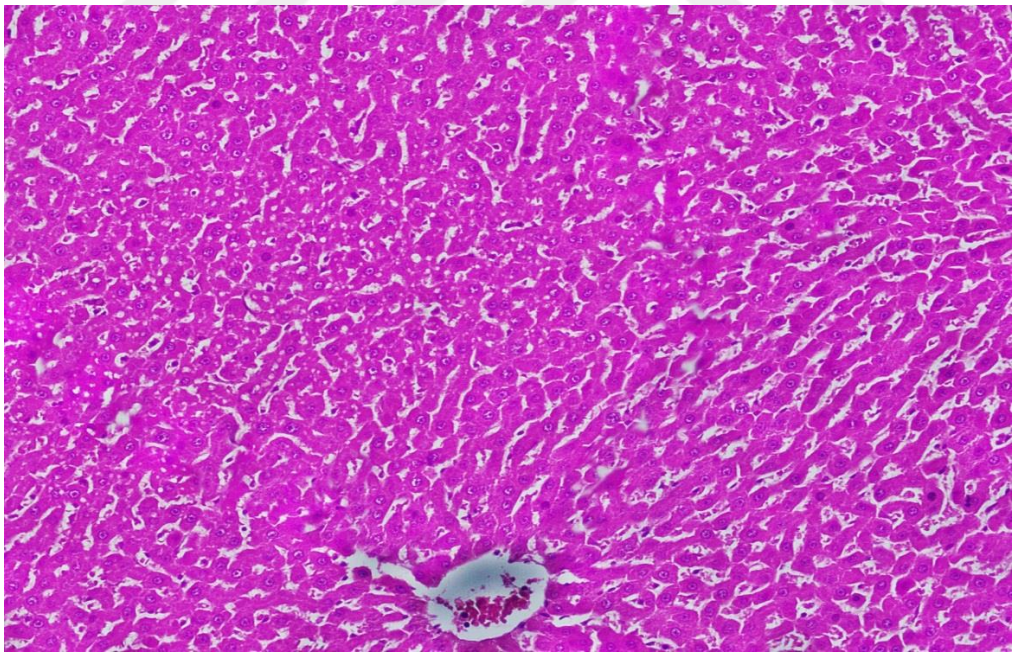
Grup 3'e (sisplatin grubu) ait deneklerin karaciğer dokularının ışık mikroskopik incelemesinde; normal yapıdan farklı olarak tüm hayvanların hepatosit sitoplazmalarında vakuolizasyon izlenmiş olup bir denekte ise koagülatif nekroz alanları, sitoplazmada hipereozinofili, yoğun sinüzodal dilatasyon ve konjesyon gibi daha şiddetli bozukluk mevcuttu. Bulgular, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karaciğerdeki hasarın anlamlı bir şekilde artmış olduğu izlendi ($p<0.001$) (**Resim 9**).

Sisplatin + nar suyu grubu

Grup 4'e (sisplatin ve nar suyu grubu) ait deneklerin karaciğer dokularının ışık mikroskopik incelemesinde; sisplatin uygulanan gruptaki sıçanlardan 2 tanesinde sitoplazmik vakuolizasyonda düzelme izlenmiş olup diğer olgularda değişiklik izlenmedi ($p=0.204$) (**Resim 10**). Sisplatin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak hasarda anlamlı bir düzelme gözlenmedi.



Resim 9: Sisplatin grubunda hepatosit sitoplazmalarında vakuoler değişiklik (HE; X200).



Resim 10: Sisplatin+ nar suyu grubunda hepatosit sitoplazmalarında vakuollerde düzelme izlenmemekte (HE; X200).

3.5. Tartışma

Sisplatin sarkomlar, bazı karsinomlar, lenfomalar ve germ hücreli tümörler gibi çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için 1970'li yıllardan beri sıklıkla kullanılmış olan platin bazlı bir antineoplastik ajandır (23). İlacın etkin olduğu bu kanserlerde ne yazık ki bazen kanser hücrelerinin tedaviye dirençli olduğu ya da tedaviye dirençli hale gelebildiği gözlenmektedir. Günümüzde halen sisplatine direnç gelişen kanserlerde bu direncin üstesinden gelmenin tek yolu ilaç dozajını artırmaktır. Gelişen teknoloji ve destek tedavileri kontrollü olarak buna imkan sağlamaktadır fakat bu durum bazen sitotoksik etkili olan sisplatinin olası yan etkilerinin görülme sıklığının artması ve öte yandan sağlıklı vücut hücreleri için dahada yüksek toksisiteye neden olması ile sonuçlanır (38). Yine gelişen teknoloji ve destek tedavileri sayesinde antineoplastik kemoterapiye bağlı mortalite ve morbidite oranları önemli ölçüde azalırken, kanser hastalarının daha uzun süre yaşaması ve dolayısıyla sisplatinin daha uzun süre kullanımına bağlı olası yan etkilerin görülme riski artmakta ve bu sorunlar bazen daha ön plana çıkmaktadır (24). Çok çeşitli olan bu yan etkilerden özellikle yaşamsal fonksiyonlar için çok büyük öneme sahip olan böbreklerde gelişen toksisite, sisplatinin klinik kullanımını sınırlandıran en önemli faktördür (14,15). Akut böbrek yetmezliği gelişmesi kemoterapi alan hastalarda sık görülen bir olaydır. Kemoterapinin tübüller üzerine direk toksik etkisi yada glomerüllerde harabiyete yol açması sonucu oluşur (24). Sisplatinin böbreklerde primer hedefleri mitokondri organeli yönünden çok zengin olan distal kıvrımlı tübüller ve proksimal düz tübüllerdir. Böbrek tübüllerinde meydana gelen mitokondriyal DNA hasarının kompansasyonunun zayıf olması, bazı otörlerce sisplatin toksisitesinin bu organda daha sık görülmesinin nedeni olduğu düşünülmektedir (29). Sisplatinin sıklıkla yüksek doz veya uzun süreli kullanımında ayrıca gelişen glomerüler hasar sonucu ise glomerüler filtrasyonda azalma görülür (43).

Oksidatif stres, DNA hasarı, apoptoz ve enflamasyon gibi günümüzde halen net olarak aydınlatılamamış birtakım etkenlerle sisplatin metabolitlerinin birikmesi bu hücrelerde hasara yol açar. Hatta ilk tedavi küründen sonra bile % 30 hastada akut tübüler nekroz gelişebileceği bildirilmiştir (24,33). Sisplatin nefrotoksisitesini önlemek için kemoterapi boyunca serum fizyolojik ile hidrasyon (150 ‑ 200 mL/saat)

yapılmasının yada hipertonik salin infüzyonu, mannitol ve furosemid gibi ilaçlarla diürez yapılmasının sisplatin nefrotoksisitesini azalttığı düşünülmektedir ancak bunlar yeterli değildir (32). Hidrasyon ve diürez gibi destek tedavilerine rağmen sisplatin içeren kemoterapilere bağımlı renal yetmezlik oranının ise %20 olduğu bildirilmiştir (24,33). Bu nedenle bu gibi destekleyici tedaviler yanında, birtakım maddelerle sisplatinin toksik metabolitlerinin nötralize edilmesi yoluyla böbrek toksisitesini engellemeyi amaçlayan araştırmalar literatürde mevcuttur. Takayama ve ark., akciğer kanseri nedeniyle sisplatin kemoterapisi yapılan 6 hastaya beraberinde uyguladıkları prostaglandin E1 tedavisi sonunda renal perfüzyonu düzenlediği bilinen prostaglandin E1'in nefrotoksisiteye karşı koruyucu olduğunu rapor ettiler (34). Öte yandan, benzer metodolojiyi uygulayan Kurt ve ark. (104) ise 28 akciğer kanserli hastayı dahil ettikleri çalışmasında, misoprostolün (prostaglandin E1 analoğu) koruyucu etkinlik göstermediğini bildirmiştir. Wu ve ark. (35), N-asetilsistein'in, Benoehr ve ark. (36) ise teofilin'in sisplatine bağlı böbreklerde gelişen toksisiteye karşı faydalı olabileceğini rapor etmişlerdir. Görüldüğü üzere bunların bir kısmında olumsuz, bir kısmında ise olumlu sonuçlar bildirilmekle birlikte henüz etkinliği net olarak gösterilmiş olan yoktur. Dolayısıyla farklı yeni maddelerin etkinliğinin deneysel çalışmalarda araştırılarak literatüre dahil olduğunu görmekteyiz. Bu nedenle sisplatinin neden olduğu nefrotoksik etkiye karşı son yıllarda antioksidan özellikleri ile bilinen çeşitli ajanların etkinlikleri ile ilgili deneysel çalışmaların arttığı görülmektedir. Çünkü her ne kadar sisplatinin nefrotoksik etkisinin temelinde yatan hücresel mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte, son yıllarda birçok çalışmada serbest oksijen radikallerinin artmasına bağlı olarak meydana gelen oksidatif stresin artmasının nefrotoksisitenin kaynağı olduğu rapor edilmiştir (17). Bu çalışmalara göre sisplatin, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit, tekli oksijen ve süperoksit iyonları gibi reaktif oksijen türlerini üretir, artan reaktif oksijen türleri de antioksidan enzimleri inhibe ederek doğal antioksidan savunmayı olumsuz etkiler, ayrıca membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açar ve peroksidasyona karşı koruyucu enzim aktivitelerinde azalmaya neden olur. DNA hasarı ile sonuçlanan bu artmış oksidatif stres, oluşan nefrotoksisiteden sorumlu tutulmaktadır (31). Bu yüzden AO etkili ajanlar sisplatin nefrotoksisitesini önleyebilmek amacıyla üzerinde çalışılmış ve bir kısmında olumlu

sonuçlar gözlemlenmiştir. Shimeda ve ark., kırmızı biberde bulunan AO etkili ‘kapsaisin’ maddesinin lipid peroksidasyonunu ve sisplatine bağlı nefrotoksisiteyi anlamlı olarak azalttığını bildirmiştir (105). Vazodilatör, antimikrobiyal ve AO etkili ginkgo biloba ekstresi ile yapılan bir çalışmada, bu maddenin oksidatif stresi anlamlı olarak azalttığı biokimyasal olarak gösterilmiş ve nefrotoksisiteye karşı koruyucu olduğu rapor edilmiştir (37). Serbest radikalleri süpürücü özelliği nedeniyle AO etkinliği iyi bilinen melatonin’in sisplatin nefrotoksisitesini önleyebilmek amacıyla tedavide kullanılmasının faydalı olduğu başka bir çalışmada bildirilmiştir (106). Kanter ve ark. (39), güçlü bir antioksidan olan E vitamininin uygulanmasıyla, sisplatine bağlı gelişen sıçan böbrek dokusundaki histopatolojik ve morfometrik değişikliklerin kısmen önlenebildiğini bildirmiştir. Yine başka bir güçlü antioksidan olan C vitamini ile yapılan çalışmada da olumlu sonuçlar gözlemlenmiştir (40). En yaygın karotenoidlerden biri olan ve güçlü antioksidan özelliği olan likopen maddesi ile yapılan bir başka çalışmada likopenin oksidatif stresi azaltıcı ve koruyucu olduğu bildirilmiştir (26). Yakın zamanda yapılan ve sisplatin nefrotoksisitesine karşı timol’un (kekik yağı) koruyucu etkisinin histopatolojik olarak araştırıldığı başka bir çalışmada olumlu sonuçlar gözlemlendiği bildirilmiştir (107).

Literatüre bakıldığında, son yıllarda güçlü AO etkisi çok iyi bilinen, meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikleri içeren maddelerin sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkinliğini araştırma amaçlı çalışmaların arttığı görülmektedir. Ahmad ve ark., siyah çayda bol bulunan tannik asitin antioksidan etkisi sayesinde sisplatine bağlı böbrekte meydana gelen oksidatif stresi azalttığını bildirmiştir (108). Zerdeçal bitkisinde bulunan ve güçlü antiinflamatuvar özelliği yanında AO özelliği de bulunan ‘curcumin’ (kurkumin, hint safranı) maddesi ile yapılan deneysel çalışmada sisplatinin neden olduğu böbrek hasarlanmasının şiddetinin azaldığı rapor edilmiştir (109). Ahn ve ark. tarafından yapılan yeşil çayın sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada yeşil çayın koruyucu etkisinin olduğu, hatta sisplatin uygulamasından önce başlanan yeşil çayın, sisplatin uygulamasından sonra başlanan yeşil çaya göre koruyucu etkisinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (110). Yeşil çay fenolik bileşiklerin (polifenoller) oldukça bol bulunduğu bir bitkidir, özellikle flavanoidler bakımından zengindir, daha az olmak üzere fenolik asitlerde içerir (110). Bizim bu çalışmada

etkinliğini araştırdığımız nar meyvesi ise tabiatta fenolik bileşikler bakımından en zengin bitkilerden biridir. Nar suyundaki FB miktarları, yine fenoliklerce zengin olduğu bilinen portakal, ananas ve mango sularındaki FB miktarları ile karşılaştırılmış ve nar suyunda bulunan FB miktarlarının daha fazla olduğu belirlenmistir (55). Nar suyunun içerdiği FB miktarını araştıran başka bir çalışmada ise nar suyunun fenolik maddelerden zengin yeşil çaydan (1029 mg/L) yaklaşık 2 kat daha fazla FB içerdiği bildirilmiştir (2). Garcia-Alanso ve ark., 28 farklı meyve türünde polifenoller üzerine çalışmış ve en fazla nar, üzüm ve böğürtlende olduğunu rapor etmiştir (56). Nardaki fenolik asit ve flavonoid polifenoller miktar bakımından olduğu kadar çeşit bakımından da oldukça zengindir (58). Polifenoller doğal olarak narın kabuğunda, zarında, çekirdeğinde ve segmentler içerisindeki nar tanelerinin suyunda ve hatta çiçeğinde bulunur. Nar suyunda ve kabuğunda oldukça bol bulunan başta gallik asit ve ellajik asit olmak üzere çeşitli fenolik asitler sayesinde güçlü AO ve antikarsinogenez etkili iken, yine başta kateşinler, antosiyaninler olmak üzere oldukça bol bulunan çok çeşitli flavanoidler sayesinde güçlü antiinflamatuvar ve AO etkilidir (58). Literatürde narın AO aktivitesinin yüksek olduğunu gösteren çok sayıda araştırma mevcuttur. Nar suyu ve ekstrelerinin, kırmızı sarap ve yeşil çaydan 2-3 kat (2), üzüm suyu, greyfurt ve portakal suyunda belirlenen miktarlardan 6-8 kat daha fazla AO etki gösterdiği bildirilmiştir (59). Karadeniz ve ark. yaptığı ve elma, üzüm, armut, ayva ve nar meyvelerinin AO özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada narın en yüksek AO aktiviteye sahip (%62.7) olduğu belirlenmiş, bunu sırası ile ayva (%60.4), üzüm (%26.6), elma (%25.7) ve armut (%13.7) izlemiştir (4). Seeram ve ark. tarafından 5 farklı yöntemle yapılan araştırma da en yüksek antioksidan kapasitenin nar suyunda bulunduğu bildirilmiştir. Bunu izleyen içecekler sırası ile kırmızı şarap, konkord üzüm suyu, yabanmersini suyu, vişne suyu, kızılcık suyu, portakal suyu, buzlu çay ve elma suyudur (49). Ayrıca, 28 farklı meyve türünün kabuk, meyve eti ve tohumundaki AO (toplam fenolik ve flavonoidler) aktivitelerinin incelendiği başka bir çalışmada özellikle nar kabuğu ve üzüm çekirdeği gibi bazı meyvelerin yüksek AO aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (60). Başka bir çalışmada ise nar özünün AO kapasitesinin, elma özünden daha fazla olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, sağlıklı yaşlı deneklere 4 hafta boyunca günde 250 mL

nar suyu verildiğinde, plazmanın antioksidan kapasitesinin 1.33 mmol'den 1.46 mmol'e çıktığı, elma suyunun ise anlamlı bir artışa yol açmadığı saptanmıştır (61).

Literatüre bakıldığında sisplatin nefrotoksisitesine veya hepatotoksisitesine karşı nar suyunun koruyucu etkinliğinin araştırıldığı herhangi bir araştırma göze çarpmamaktadır. Sadece bir çalışmada nar suyunun sisplatin ile ototoksisite oluşturulmuş sıçanlarda kullanıldığı ve iç kulaktaki saçlı hücrelerde koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir ki bu çalışma sisplatin toksisitesine karşı ilk defa taze nar suyunun kullanıldığı bir çalışmadır (22). Akdağ ve ark.'nın yaptığı bu çalışmada nar suyundaki antioksidan etkinin en güçlü olduğu zamanın ilk sıkılma anı olduğu ve beklemekle bu etkinin azaldığı ilk sıkıldığı andaki ve bekledikten sonraki ölçümler karşılaştırılarak gösterilmiştir. Nitekim USDA'in (U.S. Department of Agriculture) 2013 yılında yayınladığı ve toplam 506 gıda örneğinin AO kapasitesi ve toplam fenol içeriğinin yer aldığı rapora göre; fenolikler daha çok kabukta yoğunlaştığı için kabuk soyma işlemi AO kapasitenin azalmasına yol açmakta, ayrıca haşlama, pişirme, kızartma gibi işlemler de AO kapasiteyi etkilemektedir (111). Akdağ ve ark. çalışmasına göre ayrıca beklemekte AO kapasiteyi etkilemektedir. Sonuç olarak taze nar suyunun antioksidan etkisinin beklemiş diğer formlardan daha etkili olduğu ve sitotoksik ilaçlara karşı daha etkili olabileceği rapor edilmiştir (22). Bizde çalışmamızda laboratuvar ortamında meyve sıkacağı ile hazırladığımız yeni sıkılmış taze nar suyunu deneklere verdik. Böylelikle nar sularında antioksidan etkinin kaynaklandığı fenolik bileşiklerin bir kısmı doğal olarak segmentler içerisindeki nar tanelerinin suyunda bulunurken, önemli bir kısmı da presleme sırasında uygulanan basınca göre özellikle meyve kabuğu ve kısmen de bölüm zarları ve zedelenmiş çekirdeklerinden meyve suyuna geçmesi sağlanarak daha güçlü bir antioksidan etkiye ulaşılmıştır.

Sisplatin nefrotoksisitesine karşı narın koruyucu etkinliğinin araştırıldığı literatürde sadece iki adet çalışma görmekteyiz. Bu çalışmalardan birinde sisplatinin böbrekteki toksik etkisini engelleyebilmek için nar çekirdeği ekstresinden (20), diğerinde ise nar çiçeği ekstresinden (18) hazırlanmış materyal kullanılmıştır. Nar suyunun sisplatine bağlı oluşan nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkinliğini değerlendiren bir çalışma ise bilgilerimize göre bulunmamaktadır. Ancak nar suyunun karbontetraklorid ile nefrotoksisite oluşturulmuş sıçanlarda kullanıldığı ve

olumlu sonuçlar elde edildiğini bildiren bir çalışma rapor edilmiştir (21). Sisplatin nefrotoksisitesine karşı nar çekirdeği ve nar çiçeği ile yapılan çalışmalarda nar ekstresi kullanılarak olumlu sonuçlar elde edilmesi, ayrıca nar suyunun ototoksisiteye ve karbontetraklorid ile oluşturulmuş nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkilerinin gösterilmesi ve sisplatin toksisitesine karşı henüz nar suyu ile yapılmış bir araştırma olmaması bizi bu çalışmayı yapmaya teşvik etmiştir.

Çalışmamızda sisplatin enjeksiyonu uygulanmış sıçanların böbrek dokusunda özellikle kortikomedüller bölgede yer alan kistik oluşumları içeren dilate tübüller, tübül epitelinde vakuolizasyon, tübül epitel hücre kaybı gibi tübüler hasarlar ile bazı olgularda tübüllerde tortu oluşumları gibi bulgular izlendi ki fokal akut tübüler nekroz düşündüren bu bulgular daha önceki sisplatin ile indüklenen böbrek hasarı oluşturulan çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (20, 26, 27, 110). Zicca ve ark.'nın 7.5 mg/kg sisplatin uyguladıkları deneysel çalışmada proksimal tübül kıvrımlarında kaybolma, tübüler epitelde kısalma ve duvar bütünlüğünde kaybolma ve intertübüler bağ dokuda belirgin artış gözlendiğini bildirmiştir (43). Ateşşahin ve ark., narda ve başka bazı bitkilerde bulunan ellajik asit maddesini kullanarak yaptıkları çalışmada, ellajik asitin böbrekte meydana gelen hasarlanmayı ve oksidatif stresi azaltmakla beraber toksisiteyi yani böbrekte meydana gelen fonksiyon bozukluğunu engelleyemediğini bildirmiştir (27). Çalışmamızda kullanılan taze nar suyunun ellajik asit dışında ayrıca diğer fenolik asitleri ve flavonoidleri de içermesinin daha güçlü bir antioksidan etki ve böylece daha etkin bir koruma sağlayacağını düşünmekteyiz. Nitekim Çayır ve ark. tarafından yapılan ve nar çekirdeği ekstresinin etkinliğinin araştırıldığı *caspase 3* kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada, 7 mg/kg sisplatin uyguladıkları sıçanlarda; PT ve DT'lerde belirgin dejenerasyon ve deskuamasyon ve ayrıca PT ve henle kulpu çevresinde artmış apoptotik aktivitenin gözlendiğini bildirmiştir (20). Nar çekirdeğinden hazırlanan ekstrenin ise *caspase 3* aktivitesini anlamlı olarak azalttığı, yani nar çekirdeği ekstresinin sisplatine bağlı gelişen hasarlanmayı onarmada etkili olduğu rapor edilmiştir. Çayır ve ark. (20), çalışmalarında ilk gün sisplatin uyguladıktan sonra daha sonraki günlerde (15 gün boyunca) nar çekirdeği ekstresi vererek oluşan toksik hasarın onarılıp onarılmadığı araştırılırken çalışmamızda ise sisplatin ile oluşacak hasarı en baştan engellemek veya minimuma indirgemek hedeflenmiştir. Bu nedenle

uygulamamızda nar suyu, sisplatin enjeksiyonundan 4 gün önce verilmeye başlanmıştır. Hipotezimize dayanak olan Ahn ve ark. çalışmasında, sisplatin enjeksiyonundan sonra polifenollerden zengin yeşil çay verilen deneklerin böbrek dokusunda meydana gelen değişikliklerin, sisplatin alan denekler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı yani belirgin düzelme gözlenmediği rapor edilmiştir (110). Sisplatin uygulamasından önce yeşil çay verilmeye başlanan deneklerde ise böbrekte meydana gelen hasarın azaldığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise sisplatin uygulanan grubun tüm parametreler açısından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasarın istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olduğu izlendi ($p<0.001$). Sisplatin + nar suyu verilen grup, hasarla ilgili tüm parametreler açısından sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında ise belirgin düzelme gözlendiği ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p=0.003$). Ateşşahin ve ark. yapmış oldukları çalışmalarında bizim bulgularımıza benzer şekilde sisplatin uygulamasının tübüler dilatasyona ve şiddetli nekroza yol açtığını, ancak ilk gün yapılan sisplatin enjeksiyonunu takiben 10 gün ellajik asit verilen deneklerde böbrekte meydana gelen hasarın azaldığını rapor etmişlerdir (27). Çalışmamızda ise sisplatin enjeksiyonu sonrası sadece 5 gün nar suyu verildi. Çayır ve ark. (20), ilk gün yapılan sisplatin enjeksiyonunu takiben 15 gün nar çekirdeği ekstresi uygulamışlardır. Çayır ve ark. (20), ve Ateşşahin ve ark.'nın (27) sisplatin enjeksiyonu öncesinde koruyucu madde uygulamamış olmakla beraber çıkan olumlu sonuçlar, Ahn ve ark. (110) bulgularıyla çelişkili görünmektedir. Bu durumda çalışmamızda olduğu gibi ya sisplatin enjeksiyonu sonrası uygulanan 5 günlük nar suyunun koruyuculuk için yeterli olduğu veya sisplatin enjeksiyonundan önce vermeye başladığımız nar suyunun antioksidan aktivitesi ile koruyucu etkisini gösterdiğini ve sisplatin toksisitesini azalttığı sonuçlarına vardık. Ancak nar suyu ile ilgili başka çalışma olmaması nedeniyle ilerde yapılacak başka çalışmalarla sisplatin uygulaması öncesi ve sonrası verilecek nar suyunun etkinlikleri karşılaştırılarak ancak kesin kanıya varılabilir. Sonuç olarak, sisplatinin yüksek tek doz kullanımının böbrekte belirgin hasara neden olduğu ve yüksek oranda ve çok çeşitli fenolik maddeler içeren nar suyunun muhtemelen güçlü antioksidan özelliği ve ortamda bulunan süperoksit ve hidroksil gibi radikalleri yakalayarak hücreleri lipid ve protein

oksidasyonuna karşı koruması gibi özellikleri ile sisplatinin hasar yapıcı etkilerini azaltmış olduğu düşünüldü.

Bir başka tartışmalı konu, sisplatin toksisitesine karşı koruyucu olarak kullanılan maddenin enjeksiyondan önce mi, sonra mı verilmesi gerektiğidir. Ahn ve ark.'nın (110) bunu araştırmak için yeşil çaydaki polifenolleri kullanarak yaptığı çalışmada sisplatin uygulamasından önce başlanan grupta 2 gün önceden yeşil çay verilmeye başlanmış ve sisplatin uygulandıktan sonra 4 gün daha devam edilmiştir. Sisplatin uygulamasından sonra yeşil çay başlanan grupta ise sisplatinin uygulandığı gün başlanıp 4 gün daha devam edilmiştir. Sonuç olarak; sisplatin uygulamasından önce başlanan yeşil çayın, sisplatin uygulamasından sonra başlanan yeşil çaya göre koruyucu etkisinin daha fazla olduğu histopatolojik ve biokimyasal olarak gözlemlenmiş ancak bu konu ile yeterince çalışma olmaması nedeniyle başka çalışmalara ihtiyaç olduğu not edilmiştir (110). Bunun dışındaki literatüre bakıldığında hemen hepsinde ilk gün sisplatin uygulaması yapılmakta ve sonraki birkaç gün koruyucu madde verilmektedir. Çayır ve ark.'nın (20) nar çekirdeği ekstresi kullanarak yaptıkları çalışmada başlangıçta sisplatin enjekte edilmiş ve sonraki 15 gün boyunca nar çekirdeği ekstresi verilmiştir. Ancak neden 15 gün verildiğine dair bir açıklama bulunmamaktadır. Nar meyvesi dışında başka koruyucu maddelerin araştırıldığı çalışmalarda da genellikle benzer uygulama (ilk gün sisplatin, diğer günler koruyucu madde uygulaması) dikkat çekmektedir. Motamedi ve ark.'nın (18) nar çiçeği ekstresi ile yaptıkları ve henüz oldukça yeni olan ve 9 gün süren çalışmasında sisplatin uygulamasının 3. gün yapıldığı dikkat çekmektedir. Ancak neden 3. gün yapıldığına dair herhangi bir açıklama göze çarpmamıştır. Bizim çalışmamızda Ahn ve ark.'nın (110) enjeksiyon öncesi 4 gün polifenol içeren yeşil çay uygulaması ile koruyuculuğun daha iyi olduğunu bildirdiği çalışmasının sonuçları dikkate alınarak sisplatin enjeksiyonundan önceki 4 gün nar suyu uygulaması yapıldı, 5. gün sisplatin tedavisi çalışmaya dahil edildi, sisplatin enjeksiyonunu takiben 5 gün daha nar suyu uygulaması yapıldı. Literatüre bakıldığında sisplatin enjeksiyonu sonrasında kaç gün koruyucu tedavinin verilmesi gerektiğine dair bir standart göze çarpmamakta, 2 gün-15 gün arasında uygulamalar olduğu görülmektedir. Birkaç çalışma, sisplatin enjeksiyonu sonrası 5 gün daha nar suyu vermenin gerekli ve yeterli olacağını düşünmemizde faydalı oldu. Bir çalışmada

sisplatine bağlı GFH ve renal kan akımı azalmasının uygulamadan 2-3 gün sonra tespit edildiği, PT'lerde görülen histopatolojik hasarın 2.gün sonrasında belirgin hale geldiği ve proksimal tübüler hasarı yansıtan üriner bir enzim olan beta-2 mikroglobulin itrahının sisplatin sonrası 36-48. saatlerde pik yaptığı bildirilmiştir (104). Ayrıca Kurt ve ark. (104), kemoterapi sonrası 6.günde proksimal tübüler hasarı yansıtan üriner beta-2 mikroglobulin itrahının kemoterapi öncesi seviyelerine döndüğünü bildiren çalışması sisplatin enjeksiyonundan sonraki 5 günün oldukça önemli olduğunu düşündürmüştür. Bu nedenle çalışmamızda sisplatin enjeksiyonu öncesinde 4 gün ve sonrasında 5 gün daha nar suyu verilerek toksisiteye karşı bir savunma bariyeri oluşturulması hedeflendi.

Çalışmamızın önemli avantajlarından biride eş zamanlı olarak hem böbrek hemde karaciğerde meydana gelen değişikliklerin incelenmiş olmasıdır. Çünkü sisplatinin toksik etkili metabolitlerinin vücuttan atılımında homeostazisin en önemli mekanizmalarından biri olan hepatobiliyer sistem, yine homeostazisde çok önemli bir başka organ olan böbrekler ile birlikte çalışır ve nihayetinde sisplatin böbreklerden sonra en fazla karaciğerde metabolize olur (29). Çünkü hepatositlerde renal tübül hücreleri gibi yüksek sayıda mitokondri içermektedir ve bazı otörler tarafından bu organellerde meydana gelen hasarın sisplatin nefrotoksisitesinde olduğu gibi sisplatin hepatotoksisitesinin ilk basamağı olduğu bildirilmiştir (29,43). Maniccia-Bozzo ve ark. (29) yaptıkları çalışmada, hepatositteki mitokondriler ile nükleer bölgedeki platin konsantrasyonunu karşılaştırmış ve mitokondrilerde daha yüksek platin metaboliti biriktiğini bildirmişlerdir (29). Ayrıca bu çalışmalarda sisplatinin böbrekler üzerindeki toksisitesinin karaciğerden yüksek olması, mitokondriyal DNA hasarının böbreklerde daha ileri seviyede olmasına ve karaciğerin hasarlı DNA'yı kompanse etmede böbreklerden daha başarılı olmasına bağlanmıştır. Fakat ilacın standart dozlarda hepatotoksisite oluşturması nadir olup genellikle karaciğer üzerine olan toksik etkisi dikkate alınmamakla beraber, uzun süreli tedavilerde veya gelişen direnç nedeniyle yüksek dozlarda uygulanmasından sonra hepatotoksisite gelişebileceği ve o zaman klinik tabloda önemli değişiklikler meydana getirebileceği bilinmektedir (16,41,42). Bu nedenle yapılmış diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda sisplatinin böbreklerde meydana getirdiği hasarlanmalar yanında karaciğerde meydana getirdiği hasarlanmaları da inceledik.

Benzeri şekilde sisplatine bağlı hem böbrek hemde karaciğerdeki bozulmaları araştıran tek çalışma Çayır ve ark. (20) tarafından yapılmıştır ve bu çalışmada nar çekirdeğinden hazırlanan ekstre kullanılarak koruyuculuğu araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda ise nar suyu kullanılmıştır ve bu yönüyle özgün bir çalışmadır.

Birçok yazar sisplatine bağlı hepatotoksisitenin doza bağımlı olduğu konusunda hemfikirdir. Ancak sıçanlar ile yapılan deneysel çalışmalarda nefrototoksisite oluşturabilmek için gerekli doz aydınlatılabilmişken, çalışma sayısı yeterli olmadığı için sisplatinin hangi dozlarında hepatotoksisite oluşturulabileceği tartışmalıdır. Birçok çalışma; sıçanlara uygulanan 5-10 mg/kg dozda tek bir sisplatin enjeksiyonunun tübüllerde proteinöz birikimler ve orta derecede nekroz ile giden morfolojik değişikliklere yol açtığı, GFH'da belirgin bir azalmaya neden olduğu ve serum kreatinin seviyesinde belirgin bir artışa yol açtığı, böylelikle bu dozun akut böbrek yetmezliği indüksiyonu için yeterli ve uygun olduğunu ileri sürmüştür (20, 26, 27, 105, 110). Bundan daha düşük dozlarda tübüler etkilenme olabilmekle birlikte böbrek cisimciklerinde herhangi bir değişiklik gözlenmediği elektron mikroskobik çalışmalarla bildirilmiştir (39). Yıldırım ve ark. (19) ve Çayır ve ark. (20) sıçanlarda yaptıkları çalışmalarda 7 mg/kg sisplatin ile hepatotoksisite görüldüğünü bildirmiştir. Koç ve ark. (41) ise hepatotoksisite için 10 mg/kg sisplatin uygulamışlardır. Ancak tek bir sisplatin enjeksiyonunun hepatotoksisite ile sonuçlanabilmesi için dozun en az 7.5 mg/kg olması gerektiğini belirten yazarlarda vardır (17,43). Bu nedenle biz de çalışmamızda bunu göz önünde bulundurarak sisplatin dozunu 8 mg/kg olarak planladık.

Sisplatin hepatotoksisitesinin patofizyolojisinde, sisplatin nefrotoksisitesine benzer şekilde ROT'ların aşın üretiminin indüklediği oksidatif stresin önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar vardır (20,31). Hepatotoksisite, sisplatin için doz sınırlayıcı bir faktör olarak kabul edilmediğinden buna yönelik araştırmalar sınırlı sayıda kalmıştır. Dolayısıyla sisplatinin hepatotoksik etki mekanizması hakkında da fazla bilgi bulunmamaktadır. Sisplatinin süperoksit iyonu, hidroksil radikali gibi aktif oksijen türlerini üretebilme ve normal dokuda aktif AO enzimlerini inhibe edebilme özelliğinden dolayı AO etkinliği iyi bilinen birtakım maddelerin (Vit E, vit C, ginkgo biloba, melatonin gibi) sisplatin hepatotoksisitesinin önlenmesine yönelik koruyucu etkilerini araştıran azda olsa deneysel çalışmalar yapılmıştır (16, 17, 20, 31, 41, 44).

Bu çalışmalarda genel olarak; sisplatin metabolizması esnasında karaciğerde birikim sonucu sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon, hepatosellüler dejenerasyon ve karaciğerde inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile kendini gösteren bir toksisite geliştiği bildirilmiştir. Literatürde, bu çalışmamızda kullandığımız taze nar suyu ile yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bir çalışmada, sisplatin gibi herhangi bir toksik madde verilmeden sadece nar suyunun karaciğerde uzun dönem etkinliği değerlendirilmiştir (112). Histopatolojik değerlendirmenin yapılmadığı, sadece biokimyasal olarak oksidan ve AO parametrelerin değerlendirildiği bu çalışmada, 7 hafta boyunca günlük olarak nar suyu tüketilmesinin ratların karaciğerinde lipit peroksidasyonuna olan etkisi ve AO enzim aktivitesi araştırılmıştır. Amaç ve metodoloji olarak çalışmamızdan çok daha farklı olan bu çalışmanın sonucunda sağlıklı deneklerde nar suyunun uzun süreli kullanımının AO etkiyi daha da artırarak faydalı olduğu ve ayrıca karaciğere herhangi bir zarar vermediği gözlenmiştir (112). Fakat kontrol grubunun herhangi bir toksik madde verilmemiş sağlıklı denekler olması nedeniyle bu çalışma bizim çalışmamızdan farklılık göstermektedir. Ayrıca kullanılan nar suyunun marketten temin edilen pastörize nar suyu olması ve içerdiği FB ve flavonoid miktarlarının çalışmada belirtilmemesi yönüyle de çalışmamızdan farklılık göstermektedir. Yani çalışmamız sisplatinin hepatotoksisitesine karşı taze nar suyunun etkinliğinin araştırılması yönüyle özgündür. Ancak narda ve bazı meyvelerde bulunan ellajik asitin ve nar çekirdeğinden hazırlanmış ekstrenin bu amaçla yakın zamanda kullanıldığını gösteren literatürde 2 adet çalışma mevcuttur (20,112). Yüce ve ark.; sisplatin verilen sıçanların karaciğerinde Kupfer hücre aktivasyonu, safra kanalı proliferasyonu, orta derecede periportal nekroz ve hidropik dejenerasyon izlendiğini, sisplatin ile beraber narda en bol bulunan AO etkili madde olan ellajik asitin 10 gün boyunca ilave edildiği gruptaki deneklerin karaciğerinde ise bulguların çok hafif düzeldiğini bildirmiş ancak raporda istatiksel sonuçlarını bildirmemiştir (112). Nar çekirdeği ekstresinin etkinliğinin araştırıldığı *caspase 3* kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmada Çayır ve ark. (20), 7 mg/kg sisplatin uyguladıkları sıçanlarda; sinüzoidal dilatasyon, konjesyon, hepatosit dejenerasyonu, portal alanda inflamasyon ve santral ven çevresinde daha fazla olmak üzere artmış apoptotik aktivitenin gözlendiğini bildirmiştir. Sisplatin enjeksiyonundan sonra 15 gün

boyunca uygulanan nar çekirdeği ekstresinin ise mevcut bulguları ve *caspase 3* aktivitesini anlamlı olarak azalttığı, yani nar çekirdeği ekstresinin sisplatine bağlı gelişen hasarlanmayı onarmada etkili olduğu rapor edilmiştir. Çalışmamızda; sisplatinin yüksek tek doz kullanımının neden olduğu karaciğerdeki morfolojik hasarın kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu izlendi ($p<0.001$) (resim). Ancak bir olgu hariç tamamında, böbrekte daha yoğun gözlemlediğimiz orta derecede hasarlardan farklı olarak, karaciğerdeki hasar 1. derece (sitoplazmik vakuolizasyon ve fokal nükleer piknoz) idi. Bunun nedeni daha önceki çalışmalarda gösterilmiş olan ve sisplatin toksisitesinde primer hedef organ olan hasarlı mitokondriyal DNA'yı ve hasarlı nükleer DNA'yı kompanse etmede karaciğerin böbreklerden çok daha başarılı olması olabilir (29, 43). Sisplatin + nar suyu grubu, sisplatin grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında hepatotoksik değişikliklerin anlamlı olmadığını saptadık ($p=0.204$). Bu durumda böbrekte oldukça faydalı olduğunu gözlemlediğimiz nar suyunun sisplatin ile oluşturulan hepatotoksisiteye karşı etkisinin zayıf olduğu söylenebilir. Yüce (112) ve Çayır'ın (20) çalışmalarında 7 mg/kg olarak uygulanan sisplatinin çalışmamızda biraz daha yüksek dozda uygulanması (8 mg/kg) ya da sisplatin sonrası verilen nar suyu süresinin çalışmamızda daha kısa süreli olması (Çayır; 15 gün nar çekirdeği ekstresi, Yüce; 10 gün ellajik asit) ile bu durum açıklanabilir. Fakat şüphesiz ki, bu konu ile ilgili yeterince çalışma olmaması nedeniyle bu soru işaretlerinin aydınlatılabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Nar suyunun hazırlanması işlemlerinde presleme sırasında nar suyundaki fenolik madde miktarının kabuktan geçen fenolik maddeler ile daha da artması sonucu meyve suyunun buruk bir lezzet kazanması ise bizim çalışmamızın dezavantajı olarak kabul edilebilir. Nar suyunun endüstriyel üretimi üzerine yapılan araştırmalar, presleme boyunca kabuk ve bölmeler arası dokudan meyve suyuna yüksek miktarda FB geçtiğini göstermiştir. Kabukları ile preslenerek elde edilen nar sularının AO aktivitesinin önemli bölümünün, hidrolize olabilen fenoliklerden (ellajitanenler ve gallotanenler), ellajik asitten, antosiyaninlerden ve diğer flavonoid bileşiklerden kaynaklandığı saptanmıştır. Nar suyunun, kabukları ile işlem görmemiş sadece tanelerden gelen suyu içeren doğal halinde bile 2000 mg/L düzeyinde FB içerdiği bildirilmiştir (113). Kabukları ile preslenerek elde edilen nar sularında ise bu

miktar dahada artacak ve mevcut tat bazı kişilerde içim sırasında problem olabilecektir. Fenolik madde fazlalığından kaynaklanan bu olumsuzluk preslemede aşırı basınç uygulamasından kaçınılarak önlenebilir. Çünkü nar ile ilgili bu soruna meyve suyu sanayisinde de rastlanılmaktadır. Çözüm olarak meyve suyunun polivinil pirrolidon (PVPP) ile muamele edilmesi veya durultma sırasında jelatin uygulaması bu olumsuzluğu büyük ölçüde sınırlamaktadır (113). Akla gelebilecek bir soru da sitotoksik etkiye karşı narın sıkmak yerine meyve olarak tüketilmesinin faydalı olup olmayacağıdır. Narın meyve olarak en önemli olumsuzluğu, çoğu kez iri bir çekirdek etrafında küçük bir meyve suyu keseciğinin bulunması nedeniyle meyve suyunu tüketebilmek için bu çekirdeğin de çiğnenmesinin zorunlu olmasıdır. Bu nedenle bu meyveyi tüketebilmenin en iyi yolunun meyve suyuna işlenmesi ve ayrıca kabukları ile preslemeninde antioksidan etkiyi artıracağı düşüncesindeyiz. Ancak meyve suyu randımanı, meyve çeşidine, kullanılan pres tipine ve uygulanan pres basıncına göre değişebileceği göz önünde tutulmalıdır. Çalışmamızın bir diğer sınırlayıcı faktörü de sisplatinin nefrotoksik ve hepatotoksik etkileri üzerine nar suyunun koruyucu etkilerini, oksidan ve antioksidan parametrelere bakılmaksızın sadece histopatolojik skorlarla değerlendirilmesidir.

3.6. Sonuç

Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen verilere göre, kanser tedavisinde kullanılan sisplatinin yüksek tek doz kullanımı böbrekte anlamlı olarak hasara neden olmuştur. Karaciğerde gözlenen hasar ise histopatolojik değerlendirmede çoğu olguda düşük dereceli değişiklikler olması nedeniyle minimal bir hasar gibi gözlenmiş ancak yapılan istatistiksel değerlendirmede bu hasarın anlamlı olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda nar suyu gibi güçlü antioksidan aktiviteye sahip bir maddenin sisplatin uygulamasından önce başlanıp tedavi sonrası idame olarak devam edilmesinin böbrek dokusunda meydana gelen hasarları kısmen engellediği kanısındayız. Karaciğerde ise olumlu düzelmeler görülmesine rağmen bunun koruyucu olduğu söylenemez. Bu yönüyle çalışmamız taze nar suyunu sisplatin toksisitesine karşı alternatif bir koruyucu olarak kullanan ilk çalışma olması ile farklılık arz etmektedir. Sisplatinin böbrek ve karaciğer üzerine olan hasar yapıcı yan etkilerinin ortadan kaldırılması veya azaltılabilmesi için; maliyeti ucuz, kolay bulunabilen ve kolay kullanılabilir olan nar suyunun iyi bir alternatif olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmaya eklenebilecek biokimyasal parametreler, elektron mikroskobik çalışmalar ile güçlü antioksidan özelliğe sahip nar suyunun tedavi edici optimum dozlarının ne olması gerektiğinin tespiti ve ayrıca etkinliğini karşılaştırabileceğimiz diğer antioksidan etkili maddelerle yapılacak ileri deneysel ve klinik çalışmalar bu etkinliğin daha iyi anlaşılabilmesi için yol gösterici olacaktır.

3.7. Kaynaklar

1 Jurenka JS. Therapeutic applications of Pomegranate (Punica granatum L.): A review.Altern Med Rev. 2008;13:128–44.

2 Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J Agric Food Chem 2000; 48: 4581-4589.

3 Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. Int. J. Food Sci. Tech. 2001:36; 703-725.

4 Karadeniz F, Burdurlu HS, Koca N, Soyer Y. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. Turk J Agric For 2005; 29:297-303, TUBITAK.

5 Ignarro LJ, Byrns RE, Sumi D, de Nigris F, Napoli C. Pomegranate juice protects nitric oxide against oxidative destruction and enhances the biological actions of nitric oxide. Nitric Oxide 2006; 15: 93-102.

6 Al-Zoreky NS. Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels. International Journal of Food Microbiology., 2009:134; 244–248.

7 Neurath AR, Strick N, Li YY, Debnath AK. Punica granatum (pomegranate) juice provides an HIV-I entry inhibitor and candidate topical microbicide. BMC Infect Dis. 2004:4; 1-12.

8 Sumner MD, Elliott-Eller M, Weidner G, et al. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. Am J Cardiol 2005; 96: 810-4.

9 Fuhrman B, Volkova N, Aviram M. Pomegranate juice inhibits oxidized LDL uptake and cholesterol biosynthesis in macrophages. J Nutr Biochem. 2005:16; 570-576.

10 Jeune MA, Kumi-Diaka J, Brown J. Anticancer activities of pomegranate extracts and genistein in human breast cancer cells. J Med Food 2005; 8: 469-75.

11 Kawaii S, Lansky EP. "Differentiation- promoting activity of pomegranate (Punica granatum) fruit extracts in HL-60 human promyelocytic Leukemia cells" Journal of Medicinal Food 2004:7(1);13-18.

12 Afaq F, Zaid MA, Khan N, Dreher M, Mukhtar H. Protective effect of pomegranate‐derived products on UVB‐mediated damage in human reconstituted skin. Exp Dermatol 2009;18:553‐61.

13 Lansky EP, Harrison G, Froom P, Jiang WG. Pomegranate (Punica granatum) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across matrigel. Invest New Drugs 2005; 23:121-2.

14 Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. Toxins (Basel) 2010; 2(11):2490-518.

15 Boogaard PJ, Nagelkerke JF, Mulder GJ: Renal proximal tubular cells in suspension or in primary culture as in vitro models to study nephrotoxicity. Chem. Biol. Interact 1990; 76: 281-291.

16 Cayir K, Karadeniz A, Yildirim A, et al.: Protective effect of L-carnitine against cisplatin-induced liver and kidney oxidant injury in rats. Cent Eur J Med 2009;4:184–191.

17 Mansour HH, Hafez HF, Fahmy NM. Silymarin modulates Cisplatin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. J Biochemic Mol Biol. 2006 Nov 30;39(6):656-61.

18 Motamedi F, Nematbakhsh M, Monajemi R, Pezeshki Z, Talebi A, Zolfaghari B, Mansoori A, Saberi S, Dehghani A, Ashrafi F. Effect of pomegranate flower extract on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. J Nephropathol. 2014 Oct;3(4):133-8.

19 Yildirim NC, Kandemir FM, Ceribasi S, Ozkaraca M, Benzer F. Pomegranate seed extract attenuates chemotherapy-induced liver damage in an experimental model of rabbits. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2013 Feb 2;59 Suppl:OL1842-7.

20 Cayır K, Karadeniz A, Simşek N, Yıldırım S, Karakuş E, Kara A, Akkoyun HT, Sengül E. Pomegranate seed extract attenuates chemotherapy-induced acute nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. J Med Food. 2011 Oct;14(10):1254-62.

21 Abdel Moneim AE, El-Khadragy MF. The potential effects of pomegranate (Punica granatum) juice on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats. J Physiol Biochem. 2013 Sep;69(3):359-70. doi: 10.1007/s13105-012-0218-3.

22 Akdağ M, Daşdağ S, Alabalık U, Yılmaz B, Altaş S, Zincircioğlu SB, Gül A, Kaplan İ, Meriç F. Does Short Term Usage of Fresh Pomegranate Juice (FPJ) Protect Cochlear Hair Cells after Cisplatin- Based Chemo-Irradiation? Int Adv Otol 2014; 10(2):128-33.

23 Ramírez-Camacho R, Fernández DE, Verdaguer JM, Gómez MM, Trinidad A, García-Berrocal JR, Corvillo MA. Cisplatin-induced hearing loss does not correlate with intracellular platinum concentration. Acta Otolaryngol. 2008 May;128(5):505-9.

24 Erkurt MA, Kuku İ, Kaya E, Aydoğdu İ. Kanser Kemoterapisi ve Böbrek: Derleme. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2009; 16 (1): 63-68.

25 Erdinç E, Alper A, Ali A. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar ve nefrotoksisite. 2012:26(3); 229 – 235.

26 Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. Toxicology. 2005 Sep 1;212(2-3):116-23.

27 Atessahin A, Ceribasi AO, Yuce A, Bulmus O, Cikim G. Role of ellagic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2007 Feb;100(2):121-6.

28 Jordan P, Carmo-Fonseca M. Molecular mechanisms involved in cisplatin cytotoxicity. Cell Mol Life Sci. 2000 Aug;57(8-9):1229-35.

29 Maniccia-Bozzo E, Espiritu MB, Singh G. Differential effects of cisplatin on mouse hepatic and renal mitochondrial DNA. Mol Cell Biochem 1990;94:83-88.

30 Singh G. A possible cellular mechanism of cisplatin induced nephrotoxicity. Toxicology 1989;58:71-80.

31 Naziroglu M, Karaoglu A, Aksoy AO. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. Toxicology 2004;195:221-30.

32 Eren E, Ata A, Arıcan A. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar ve nefrotoksisite. 2012; 26(3): 229-235.

33 Dos Santos NA, Carvalho Rodrigues MA, Martins NM, dos Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update. Arch Toxicol 2012;86:1233-50.

34 Takayama K, Nakanishi Y, Takano K, Harada T, Inoue K, Osaki S, Minami T, Hara N. Preventive effect of Prostaglandin E1 on cisplatin-induced nephrotoxicity. Gan To Kagaku Ryoho 1999;26(4):503-8.

35 Wu YJ, Muldoon LL, Neuwelt EA. The chemoprotective agent N-acetylcysteine blocks cisplatin-induced apoptosis through caspase signaling pathway. J Pharmacol Exp Ther 2005;312:424-31.

36 Benoehr P, Krueth P, Bokemeyer C, Grenz A, Osswald H, Hartmann JT. Nephroprotection by theophylline in patients with Cisplatin chemotherapy: A randomized, single-blinded placebo-controlled trial. J Am Soc Nephrol 2005;16:452-8.

37 Gulec M, Iraz M, Yilmaz HR, Ozyurt H, Temel I. The effects of ginkgo biloba extract on tissue adenosine deaminase, xanthine oxidase, myeloperoxidase, malondialdehyde, and nitric oxide in cisplatin-induced nephrotoxicity. Toxicol Ind Health. 2006 Apr;22(3):125-30.

38 Yağmurca M, Orhan B, Şahin Ö, Nacar A, Yüksel Ş, Narcı A. Ratlarda Sisplatin İle İndüklenmiş Böbrek Hasarına Karşı Melatonin ve Gingko Bilobanın Koruyucu Etkileri. Kocatepe Tıp Dergisi, 8, 29-34, 2007.

39 Kanter M, Topçu Tarladaçalışır Y, Uygun M. Cisplatin nefrototoksisitesinde E vitaminin koruyucu etkileri: Işık ve elektron mikroskobik çalışma. Tıp Araştırmaları Dergisi 2007: 5(3);83-90.

40 Chen MF, Yang CM, Su CM, Hu ML. Vitamin C protects against cisplatin-induced nephrotoxicity and damage without reducing its effectiveness in C57BL/6 mice xenografted with Lewis lung carcinoma. Nutr Cancer. 2014;66(7):1085-91.

41 Koc A, Duru M, Ciralik H, Akcan R, Sogut S. Protective agent, erdosteine, against cisplatin-induced hepatic oxidant injury in rats. Mol Cell Biochem 2005 Oct;278(1-2):79-84.

42 Pratibha R, Sameer R, Rataboli PV, Bhiwgade DA, Dhume CY. Enzymatic studies of cisplatin induced oxidative stress in hepatic tissue of rats. Eur J Pharmacol. 2006 Feb 27;532(3):290-3.

43 Zicca A, Cafaggi S, Mariggiò MA, Vannozzi MO, Ottone M, Bocchini V, Caviglioli G, Viale M. Reduction of cisplatin hepatotoxicity by procainamide hydrochloride in rats. Eur J Pharmacol. 2002 May 10;442(3):265-72.

44 Topçu Tarladaçalışır Y, Uygun M, Akpolat M, Uz YH. E ve C vitaminlerinin cisplatin hepatotoksisitesini önlemedeki etkilerinin histolojik olarak incelenmesi. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2005;22(3):124-31.

45 Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. Am J Med 1991;91(3C):14S-22S.

46 Moon JK, Shibamoto T. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. J Agric Food Chem 2009:57;1655–1666.

47 Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence and Potential Uses. Food Chemistry 2005:99;191-203.

48 Yılmaz B, Usta C. Nar'ın (Punica granatum) terapötik etkileri. Türk Aile Hek Derg 2010; 14(3): 146-53.

49 Seeram NP, Lee R, Heber D. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (Punica granatum L.) juice. Clin Chim Acta 2004; 348: 63-8.

50 Lansky EP, Newman RA. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 2007;109: 177-206.

51 Huang D, Ou B, Prior LR. The chemistry behind antioxidant capacity assays, J. Agric. Food Chem. 2005:53; 1841-1856.

52 MacDonald-Wicks, LK, Wood LG, Garg ML. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review, J. Sci. Food Agric 2006:86;2046–2056.

53 Muradoğlu F, Balta MF, Ozrenk BK., Pomegranate (Punica granatum L.) genetic resources from Hakkari, Turkey, Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 2006:2(6);520-525.

54 Aviram M, Dornfeld L. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. Atherosclerosis. 2001 Sep;158(1):195-8.

55 Swatsitang P, Tucker G, Salter A. Antioxidant in Fruits. Abstract of a Poster Presentation for the nutrition conference, Lillehammer, Norway, 17-19 June, Scand. J. Nutr, 1999:43(2); 4-19.

56 Garcia-Alanso M, Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Evaluation of the antioxidant properties of fruits, Food Chemistry 2004: 84;13-18.

57 Poyrazoğlu E, Gokmen V, Artik N. Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (Puni¬ca granatum L) grown in Turkey. J Food Compos Anal, 2002: 15(5);567–575.

58 Zarfeshany A, Asgary S, Javanmard SH. Potent health effects of pomegranate. Adv Biomed Res. 2014 Mar 25;3:100. doi: 10.4103/2277-9175.129371. eCollection 2014.

59 Tzulker R, Glazer I, Bar-Ilan I, Holland D, Avıram M, Amır R. Antioxidant Activity, Polyphenol Content, and Related Compounds in Different Fruit Juices and Homogenates Prepared from 29 Different Pomegranate Accessions. J. Agric. Food Chem 2007: 55; 9559–9570.

60 Guo C, Yang J, Wei J, Feng LI, Xu J, Jıang Y. Antioxidant Acitivities of Peel, Pulp and Seed Fractions of Common Fruits as Determined by Frap Assay. Nutrition Research 2003:23;12, 1719-1726.

61 Guo C, Wei J, Yang J, et al. Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. Nutr Res 2008;28:72-77.

62 Noda Y, Kaneyuk T, Mori A, Packer L. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. J Agric Food Chem 2002: 50(1), 166-71.

63 Malik A, Afaq F, Sarfaraz S, Adhami VM, Syed DN, Mukhtar H. Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. Proc Natl Acad Sci 2005; 102: 14813-8.

64 Pantuck AJ, Leppert JT, Zomorodian N ve ark. Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. Clin Cancer Res 2006; 12: 4018-26.

65 Mehta R, Lanksy EP. Breast cancer chemopreventive properties of pomegranate (Punica granatum) fruit extracts in a mouse mammary organ culture. Eur J Cancer Prev 2004; 13: 345-8.

66 Adams LS, Seeram NP, Aggarwal BB, Takada Y, Sand D, Heber D. Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. J Agric Food Chem 2006; 54: 980-5.

67 Kahya V, Meric A, Yazici M, Yuksel M, Midi A, Gedikli O. Antioxidant effect of pomegranate extract in reducing acute inflammation due to myringotomy. J Laryngol Otol 2011;1:370‐5.

68 Boussetta T, Raad H, Lettéron P, Gougerot‐Pocidalo MA, Marie JC, Driss F, et al. Punicic acid a conjugated linolenic acid inhibits TNFalpha‐induced neutrophil hyperactivation and protects from experimental colon inflammation in rats. PLoS One 2009;4:e6458.

69 Tao X, Schulze‐Koops H, Ma L, Cai J, Mao Y, Lipsky PE. Effects of Tripterygium wilfordii hook F extracts on induction of cyclooxygenase 2 activity and prostaglandin E2 production. Arthritis Rheum 1998;41:130‐8.

70 Schubert SY, Lansky EP, Neeman I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. J Ethnopharmacol 1999;66:11-17.

71 Pirinççioğlu M, Kızıl G, Kızıl M, Kanay Z, Ketani A. The protective role of pomegranate juice against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. Toxicol Ind Health. 2014 Nov;30(10):910-8.

72 Yazici ZM, Meric A, Midi A, Arınc YV, Kahya V, Hafız G. Reduction of cisplatin ototoxicity in rats by oral administration of pomegranate extract. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2012 Jan;269(1):45-52.

73 Khan N, Afaq F, Kweon M-H, Kim KM, Mukhtar H. Oral consumption of pomegranate fruit extract inhibits growth and progression of primary lung tumors in mice. Cancer Res 2007; 67: 3475-82.

74 Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, et al. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure, and LDL oxidation. Clin Nutr 2004;23:423-433.

75 Kaplan M, Hayek T, Raz A, ve ark. Pomegranate juice supplementation to atherosclerotic mice reduces macrophage lipid peroxidation, cellular cholesterol accumulation and development of atherosclerosis. J Nutr 2001;131: 2082-9.

76 Esmaillzadeh A, Tahbaz F, Gaieni I, et al. Cholesterol-lowering effect of concentrated pomegranate juice consumption in type II diabetic patients with hyperlipidemia. Int J Vitam Nutr Res 2006;76:147-151.

77 Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. Atherosclerosis 2006; 187: 363-71.

78 Rasheed Z, Akhtar N, Haqqi TM. Pomegranate extract inhibits the interleukin‐1b‐induced activation of MKK‐3, p38a‐MAPK and transcription factor RUNX‐2 in human osteoarthritis chondrocytes.‐Arthritis Res Ther 2010;12:195.

79 Akhtar N, Haqqi TM. Current nutraceuticals in the management of osteoarthritis: a review. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2012 Jun;4(3):181-207.

80 Shukla M, Gupta K, Rasheed Z, Khan KA, Haqqi TM. Consumption of hydrolysable tannins-rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. Nutrition 2008; 24: 733-43.

81 Balbir-Gurman A, Fuhrman B, Braun-Moscovici Y, Markovits D, Aviram M. Consumption of pomegranate decreases serum oxidative stress and reduces

disease activity in patients with active rheumatoid arthritis: a pilot study. Isr Med Assoc J. 2011 Aug;13(8):474-9.

82 Voravuthikunchai SP, Limsuwan S. Medicinal plant extracts as anti-Escherichia coli O157:H7 agents and their effects on bacterial cell aggregation. J Food Prot 2006;69:2336-2341.

83 Menezes SM, Cordeiro LN, Viana GS. Punica granatum (pomegranate) extract is active against dental plaque. J Herb Pharmacother. 2006;6:79–92.

84 Pai MB, Prashant GM, Murlikrishna KS, Shivakumar KM, Chandu GN. Antifungal efficacy of Punica granatum, Acacia nilotica, Cuminum cyminum and Foeniculum vulgare on Candida albicans: An in vitro study. Indian J Dent Res 2010;21:334‑6.

85 Q Zhang, ZM Radisavljevic, MB Siroky, and KM Azadzoi, "Dietary antioxidants improve arteriogenic erectile dysfunction," International Journal of Andrology, vol. 34, no. 3, pp. 225–235, 2011.

86 Forest CP, Padma-Nathan H, Liker HR. Efficacy and safety of pomegranate juice on improvement of erectile dysfunction in male patients with mild to moderate erectile dysfunction: a randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. Int J Impot Res 2007;19:564-567.

87 Turk G, Sonmez M, Aydin M, et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity, and testosterone level in male rats. Clin Nutr 2008;27:289-296.

88 Colombo E, Sangiovanni E, Dell'agli M. A review on the anti-inflammatory activity of pomegranate in the gastrointestinal tract. Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:247145.

89 Hartman RE, Shah A, Fagan AM, et al. Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiol Dis 2006;24:506-515.

90 Lei F, Zhang XN, Wang W, et al. Evidence of antiobesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. Int J Obes (Lond) 2007;31:1023-1029.

91 Hayouni E, Miled K, Boubaker S, Bellasfar Z, Abedrabba M, Iwaski H. Hydroalcoholic extract based‐ointment from Punica granatum L. Peels with enhanced in vivo healing potential on dermal wounds. Phytomedicine 2011;18:976‐84.

92 Şimşek, N., A. Karadeniz and A.G. Bayraktaroğlu, "Ratlarda Periferal Kan Hücreleri Üzerine L-Karnitin, Arı Sütü ve Nar Çekirdeğinin Etkileri" Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2009:15 (1); 63-69.

93 Zou X, Yan C, Shi Y, Cao K, Xu J, Wang X, Chen C, Luo C, Li Y, Gao J, Pang W, Zhao J, Zhao F, Li H, Zheng A, Sun W, Long J, Szeto IM, Zhao Y, Dong Z, Zhang P, Wang J, Lu W, Zhang Y, Liu J, Feng Z. Mitochondrial dysfunction in obesity-associated nonalcoholic fatty liver disease: the protective effects of pomegranate with its active component punicalagin. Antioxid Redox Signal (2014) 10;21(11):1557-70.

94 Celik I, Temur A, Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (Punica granatum) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. Food Chem Toxicol. 2009 Jan;47(1):145-9.

95 Hassanpour Fard M, Ghule AE, Bodhankar SL, Dikshit M. Cardioprotective effect of whole fruit extract of pomegranate on doxorubicin-induced toxicity in rat. Pharm Biol. 2011 Apr;49(4):377-82.

96 Shaban NZ, El-Kersh MA, El-Rashidy FH, Habashy NH. Protective role of Punica granatum (pomegranate) peel and seed oil extracts on diethylnitrosamine and phenobarbital-induced hepatic injury in male rats. Food Chem. 2013 Dec 1;141(3):1587-96.

97 Cekmen M, Otunctemur A, Ozbek E, Cakir SS, Dursun M, Polat EC, Somay A, Ozbay N. Pomegranate extract attenuates gentamicin-induced

nephrotoxicity in rats by reducing oxidative stress. Ren Fail. 2013;35(2):268-74.

98 Cerda B, Ceron JJ, Tomas-Barberan FA, Espin JC. Repeated oral administration of high doses of the pomegranate ellagitannin punicalagin to rats for 37 days is not toxic. J Agric Food Chem 2003;51:3493-3501.

99 Heber D, Seeram NP, Wyatt H, et al. Safety and antioxidant activity of a pomegranate ellagitanninenriched polyphenol dietary supplement in overweight individuals with increased waist size. J Agric Food Chem 2007;55:10050-10054.

100 Gaig P, Bartolome B, Lleonart R, Garcia-Ortega P, Palacios R, Richart, C. Allergy to pomegranate (Punica granatum). Allergy 1999; 54: 287-8.

101 Igea JM, Cuesta J, Cuevas M, ve ark. Adverse reaction to pomegranate ingestion. Allergy 1991; 46: 472-4.

102 Damiani, E., Aloia, A.M., Priore, M.G., Nardulli, S., and Ferrannini, A. Pomegranate (Punica granatum) allergy: clinical and immunological findings. Ann Allergy Asthma Immunol. 2009; 103: 178–180

103 Ghadirian, P. Food habits of the people of the Caspian Littoral of Iran in relation to esophageal cancer. Nutrition and Cancer 1987; 9: 147-57.

104 Kurt E, Evrensel T, Gönüllü G, Kanat Ö, Demiray M, Arslan M, Ünlü Ö, Dilek K, Manavoğlu O. Cisplatin'e Bağlı Böbrek Toksisitesi ve Sentetik Oral Prostaglandin E1 Analoğunun Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002:28 (2): 17-20.

105 Shimeda Y, Hirotani Y, Akimoto Y et al. Protective effects of capsaicin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. Biol Pharm Bull 2005;28:1635–8.

106 Kilic U, Kilic E, Tuzcu Z, Tuzcu M, Ozercan IH, Yilmaz O, Sahin F, Sahin K. Melatonin suppresses cisplatin-induced nephrotoxicity via activation of Nrf-2/HO-1 pathway. Nutr Metab (Lond). 2013 Jan 12;10(1):7.

107 Hosseinimehr SJ, Asadian R, Naghshvar F, Azizi S, Jafarinejad M, Noaparast Z, Abedi SM, Hosseini SA. Protective effects of thymol against nephrotoxicity induced by cisplatin with using 99mTc-DMSA in mice. Ren Fail. 2014 Dec 26:1-5.

108 Ahmad ST, Sultana S. Tannic acid mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. Hum Exp Toxicol. 2012 Feb;31(2):145-56.

109 Sahin K, Orhan C, Tuzcu M, Muqbil I, Sahin N, Gencoglu H, Guler O, Padhye SB, Sarkar FH, Mohammad RM. Comparative in vivo evaluations of curcumin and its analog difluorinated curcumin against cisplatin-induced nephrotoxicity. Biol Trace Elem Res. 2014 Feb;157(2):156-63.

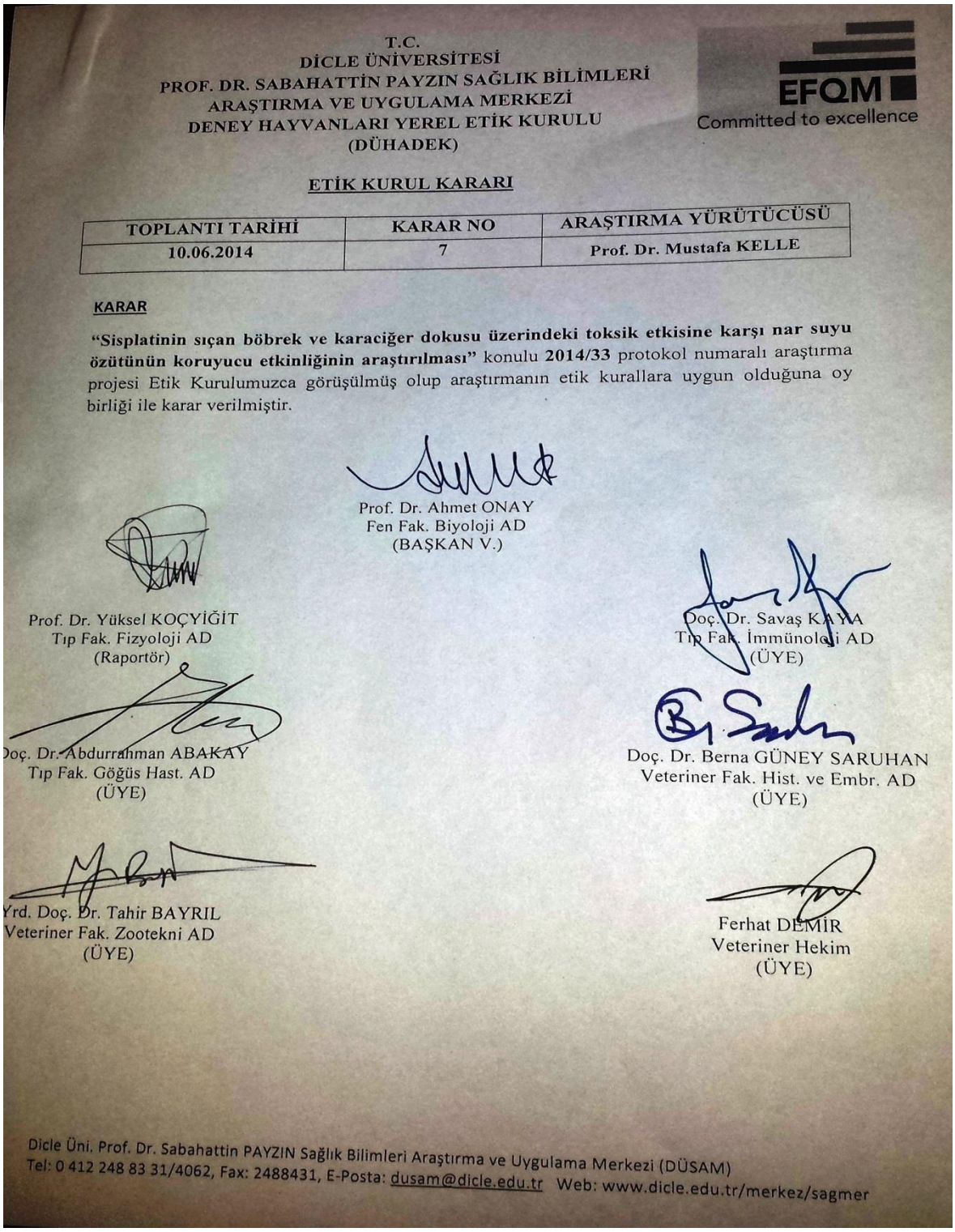
110 Ahn TG, Kim HK, Park SW, Kim SA, Lee BR, Han SJ. Protective effects of green tea polyphenol against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. Obstet Gynecol Sci. 2014 Nov;57(6):464-70.

111 http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=6231

112 Yüce A, Ateşşahin A, Ceribaşi AO, Aksakal M. Ellagic acid prevents cisplatin-induced oxidative stress in liver and heart tissue of rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2007 Nov;101(5):345-9.

113 Cemeroğlu B. Nar Suyu Üretim Teknolojisi Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, No: 664, 71s. 1977, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.

3.8. Etik Kurul Raporu



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
PROF. DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ
ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU
(DÜHADEK)

EFQM
Committed to excellence

ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	KARAR NO	ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ
10.06.2014	7	Prof. Dr. Mustafa KELLE

KARAR

"Sisplatinin sıçan böbrek ve karaciğer dokusu üzerindeki toksik etkisine karşı nar suyu özütünün koruyucu etkinliğinin araştırılması" konulu **2014/33** protokol numaralı araştırma projesi Etik Kurulumuzca görüşülmüş olup araştırmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet ONAY
Fen Fak. Biyoloji AD
(BAŞKAN V.)

Prof. Dr. Yüksel KOÇYİĞİT
Tıp Fak. Fizyoloji AD
(Raportör)

Doç. Dr. Savaş KAYA
Tıp Fak. İmmünoloji AD
(ÜYE)

Doç. Dr. Abdurrahman ABAKAY
Tıp Fak. Göğüs Hast. AD
(ÜYE)

Doç. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN
Veteriner Fak. Hist. ve Embr. AD
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Tahir BAYRIL
Veteriner Fak. Zootekni AD
(ÜYE)

Ferhat DEMİR
Veteriner Hekim
(ÜYE)

Dicle Üni. Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM)
Tel: 0 412 248 83 31/4062, Fax: 2488431, E-Posta: dusam@dicle.edu.tr Web: www.dicle.edu.tr/merkez/sagmer

3.9. Özgeçmiş

Adı: Salih

Soyadı: BAKIR

Doğum Yeri ve Tarihi: K.Maraş/01.01.1975

Eğitim Bilgileri:

1995-2001 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi

2002-2006 Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıpta Uzmanlık

2009-2010 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Uzman Hekimlik

2010-2013 Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı Yardımcı Doçentlik

25.10.2014 Kulak Burun Boğaz Doçentlik Unvanı

2011-2015 Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Eğitimi

Yabancı Dili: İngilizce