

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**NAR (*Punica granatum* L.) KABUK EKSTRAKTININ MİTOMYCİN-C  
GENOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE OLASI ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
*IN VIVO* OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Erhan ULUMAN**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**  
**Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE**

**Ocak 2019**  
**KARS**



T.C.

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**NAR (*Punica granatum* L.) KABUK EKSTRAKTININ MİTOMYCİN-C  
GENOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE OLASI ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
IN VIVO OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Erhan ULUMAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**

**Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE**

**Bu tez çalışması 2017-FM-56 nolu proje ile Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma  
Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.**

**Ocak 2019**

**KARS**

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Erhan ULUMAN'ın Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “Nar (*Punica granatum* L.) Kabuk Ekstraktının Mitomycin-C Genotoksitesisi Üzerine Olası Antigenotoksik Etkilerinin *In vivo* Olarak Araştırılması” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

07 / 01 /2019

**Adı ve Soyadı**

**imza**

**Başkan : Prof. Dr. Süleyman GÜL**

**Üye : Doç. Dr. Furkan ORHAN**

**Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE**

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ....../....../2019 gün ve ..../  
..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fikret AKDENİZ


**Enstitü Müdürü**

## ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



**Erhan ULUMAN**

**07.01.2019**

## ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

NAR (*Punica granatum* L.) KABUK EKSTRAKTININ MİTOMYCİN-C  
GENOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE OLASI ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
*IN VIVO* OLARAK ARAŞTIRILMASI

Erhan ULUMAN

Kafkas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE**

Bu çalışmanın amacı fare kemik iliği hücrelerinde mitomycin-C'nin meydana getirdiği genotoksik etkilere karşı yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan nar (*P. granatum* L.) kabuğu ekstraktının olası antigenotoksik etkilerinin kromozomal aberasyon, mitotik aktivite ve mikronükleus test sistemi ile araştırılmasıdır. I. grup: negatif kontrol grubu, II. grup: pozitif kontrol grubu (2 mg/kg mitomycin-C (MMC)), III. grup: 150 mg/kg *P. granatum* L. (PG) kabuk ekstraktı, IV. grup: 300 mg/kg PG kabuk ekstraktı, V. grup: 150 mg/kg PG + MMC ve VI. grup: 300 mg/kg PG + MMC olmak üzere altı grup oluşturuldu. Nar kabuğu ekstraktı 15 gün boyunca farelere oral gavaj ile verildi. 15. günün sonunda 2 mg/kg MMC intraperitoneal olarak farelere uygulandı. Bu uygulamadan 24 saat sonra disloke edilen farelerin kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyon, mitotik aktivite ve mikronükleus oranları belirlendi.

Yapılan incelemeler sonunda kromozomal aberasyon oranları ve mikronükleuslu polikromatik eritrositler (MNPCE) bakımından MMC grubundaki kromozomal aberasyon ve mikronükleus oranının maksimum seviyede olduğu, MMC ile birlikte 150 mg/kg PG ve 300 mg/kg PG kabuk ekstraktı uygulamasına bağlı olarak bu oranın azaldığı, ayrıca MMC ile birlikte uygulanan PG kabuk ekstraktının doz artışına bağlı olarak bu düşüşü önemli ölçüde arttırdığı belirlendi ( $p<0.001$ ). MMC uygulamasının mitotik aktiviteyi ve Polikromatik eritrosit (PCE)/Normokromatik eritrosit (NCE) oranını düşürdüğü gözlemlenirken, MMC ile birlikte *P. granatum* L. kabuk ekstraktı uygulanan gruplarda ise bu oranların MMC grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı tespit edildi ( $p<0.001$ ). Sonuç olarak *P. granatum* L. kabuk ekstraktının belirtilen dozlarda, mitomycin-C'nin oluşturduğu genotoksositeye karşı fare kemik iliği hücrelerinde antigenotoksik etki gösterdiği belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Nar, *P. granatum* L., Mitomycin-C, Kromozomal aberasyon, Mikronükleus, Mitotik aktivite, Antigenotoksik, Genotoksosite.

**2019, 73 Sayfa**

## ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

### IN VIVO INVESTIGATION OF THE POSSIBLE ANTIGENOTOXIC EFFECTS OF POMEGRANATE (*Punica granatum* L.) PEEL EXTRACT ON MITOMYCIN-C GENOTOXICITY

Erhan ULUMAN

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Biology

**Supervisor: Assistant Professor Pinar AKSU KILIÇLE**

The aim of this study was to investigate the possible antigenotoxic effects of pomegranate (*P. granatum* L.) peel extract which has a high antioxidant activity against genotoxicity caused by mitomycin-C in bone marrow cells by chromosomal aberration, mitotic activity and micronucleus test system. In total six groups were formed: group I: negative control, II. group: positive control (2 mg/kg mitomycin-C (MMC)), III. group: 150 mg/kg *P. granatum* L. (PG) peel extract, IV. group: 300 mg / kg PG peel extract, V. group: 150 mg / kg PG + MMC and VI. group: 300 mg/kg PG+MMC. Pomegranate peel extract was given to the mice by oral gavage for 15 days. At the end of the 15<sup>th</sup> day, 2 mg/kg MMC was administered to the mice by intraperitoneally. Chromosomal aberration, mitotic activity and micronucleus ratios were determined in bone marrow cells of mice dislocated after 24 hours.

At the end of the investigations, regarding chromosomal aberration rates and micronucleus polychromatic erythrocytes (MNPCE), it was determined that chromosomal aberration and micronucleus ratio in MMC group are at maximum level, treatment of 150 mg/kg PG and 300 mg/kg PG peel extract with MMC decreased this rate, in addition, PG peel extract combined with MMC significantly increased this decrease due to increase dose ( $p < 0.001$ ). It was observed that MMC application reduced mitotic activity and Polychromatic erythrocyte (PCE)/Normochromatic erythrocyte (NCE) ratio, whereas in MMC combination with *P. granatum* peel extract applied groups these rates were found to be significantly increased compared to MMC group ( $p < 0.001$ ). As a result, it was determined that pomegranate (*P. granatum* L.) peel extract showed antigenotoxic effect at the indicated doses in mouse bone marrow cells against the genotoxicity of mitomycin-C.

**Key Words:** Pomegranate, *P. granatum* L., Mitomycin-C, Chromosome aberration, Micronucleus, Mitotic index, Antigenotoxic, Genotoxicity.

**2019, 73 pages**



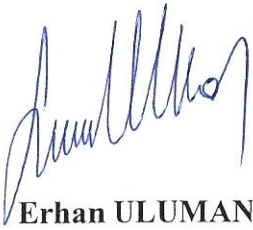
## ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE danışmanlığında hazırlanarak Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek Lisans eğitim dönemim boyunca önemli fikir ve tecrübelerini benimle paylaşan, yol gösteren, yapılan tez çalışmasını büyük bir titizlikle yöneten, başarısı, çalışma azmi ve kişiliği ile her zaman örnek aldığım kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE'ye minnettarım.

Önemli bilgi ve birikimlerinden yararlandığım sayın hocam Prof. Dr. Süleyman GÜL'e, lisans döneminden bu yana her konuda bana yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Furkan ORHAN'a, tez yazım döneminde yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ ve Dr. Öğr. Üyesi Neslihan MUTLU'ya, arkadaşım doktora öğrencisi Ahmet Çağrı ATA'ya, laboratuvar çalışmalarımda emeği geçen doktora öğrencisi Yağmur YILDIZ ASKER ve yüksek lisans öğrencisi Allahverdi RAJABLI'ya, aynı zamanda bu çalışmayı destekleyen Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, başta annem Leyla ULUMAN olmak üzere aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



**Erhan ULUMAN**

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK BEYAN.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT .....	iv
ÖNSÖZ.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
<b>1. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>1</b>
1.1. Giriş .....	1
1.2. Nar ( <i>P. granatum</i> L.).....	3
1.2.1. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Çiçeği.....	6
1.2.2. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Suyu .....	7
1.2.3. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Tohumu.....	8
1.2.4. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuğu.....	9
1.3. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) ile Yapılan <i>In vivo</i> Çalışmalar .....	14
1.4. Antioksidanlar .....	17
1.5. Genotoksisite .....	19
1.5.1. Mikronükleus .....	20
1.5.2. Kromozomal Aberasyon .....	22
1.6. Mitomycin-C .....	23
<b>2. MATERYAL ve METOT.....</b>	<b>24</b>
2.1. Materyal.....	24

2.1.1. Hayvan Materyali .....	24
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler .....	24
2.1.2.1. Kullanılan Ekstraksiyon Tekniği.....	24
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları .....	27
2.2. Metot .....	28
2.2.1. Kromozomal İnceleme ve Mitotik İndeksin Tespiti.....	29
2.2.2. Mikronükleus Frekans Testi .....	30
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>33</b>
3.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları .....	33
3.2. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları.....	37
3.2.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	39
3.2.2. Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	40
3.2.3. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	40
3.2.4. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	41
3.2.5. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	42
3.2.6. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	42

3.3. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Frekansları .....	43
3.3.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	47
3.3.2. Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	48
3.3.3. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	49
3.3.4. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	49
3.3.5. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	50
3.3.6. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	51
<b>4. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>52</b>
<b>5. KAYNAKLAR .....</b>	<b>58</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>73</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 1.1. Punicalagin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü .....	11
Şekil 1.2. Ellagic Asidin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü .....	12
Şekil 1.3. Gallik Asidin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü .....	13
Şekil 1.4. Punicalin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü.....	13
Şekil 1.5. Antioksidan Bileşenleri.....	18
Şekil 1.6. Mitomycin-C'nin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü .....	23
Şekil 2.1. Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozom ve Mikronükleus İnceleme Yöntemi.....	32
Şekil 3.1. Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait Kromozomal Aberasyon Oranları .....	35
Şekil 3.2. Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait Mitotik Aktivite Oranları.....	39
Şekil 3.3. Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait MNPCE Oranları .....	45
Şekil 3.4. Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait PCE/NCE Oranları .....	45

## TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1. Kontrol ve Deney Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları .....	34
Tablo 3.2. Kontrol ve Deney Gruplarına ait Kromozomal Aberasyon İstatistik Sonuçları .....	34
Tablo 3.3. Kontrol ve Deney Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	38
Tablo 3.4. Kontrol ve Deney Gruplarına ait Mitotik Aktivite İstatistik Sonuçları .....	38
Tablo 3.5. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	39
Tablo 3.6. Pozitif Kontrol (Mitomycin-C) Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	40
Tablo 3.7. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	41
Tablo 3.8. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	41
Tablo 3.9. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	42
Tablo 3.10. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları .....	43
Tablo 3.11. Kontrol ve Deney Gruplarının Mikronükleus Test Sonuçları .....	44
Tablo 3.12. Kontrol ve Deney Gruplarına ait Mikronükleus ve PCE/NCE Oranlarının İstatistikî Sonuçları .....	45

Tablo 3.13. Negatif Kontrol Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları.....	48
Tablo 3.14. Mitomycin-C Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	48
Tablo 3.15. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	49
Tablo 3.16. 150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	50
Tablo 3.17. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	50
Tablo 3.18. 300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları .....	51

## RESİMLER DİZİNİ

### Sayfa

Resim 1.1. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) .....	3
Resim 1.2. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Meyve Kısımları .....	5
Resim 1.3. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) .....	6
Resim 1.4. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Meyve İç Kısmı .....	8
Resim 1.5. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Tohum ve Tohum Zarı.....	9
Resim 1.6. Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Tüm Meyve.....	10
Resim 3.1. Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromozom Kırığı Görüntüsü (KK) (x1000).....	35
Resim 3.2. Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Fragment (F) ve Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB) Görüntüsü (x1000).....	36
Resim 3.3. Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB) Görüntüsü (x1000).....	36
Resim 3.4. Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromatid Kırığı (Kk) Görüntüsü (x1000) .....	37
Resim 3.5. Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde PCE, NCE ve MNPCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü (x1000) .....	46
Resim 3.6. Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde PCE, NCE ve MNPCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü (x1000) .....	46
Resim 3.7. Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde PCE, NCE ve 2 Mikronükleuslu MNPCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü (x1000).....	47



## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALS	: Alkali labil bölgeler
ALT	: Alanin amino transferaz
AST	: Aspartat amino transferaz
CA	: Kromozomal aberasyon
CAT	: Katalaz
CCl <sub>4</sub>	: Karbon tetraklorür
CK	: Kreatin kinaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: Difenil-1-pikrihidrazil analizi
DSB	: Çift zincir kırıkları
F	: Fragment
GSH	: Redükte glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
HCBD	: Hekzabütadien
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
KCl	: Potasyum klorür
Kg	: Kilogram
KKB	: Kardeş kromatid birleşimi
KK	: Kromozom kırığı
Kk	: Kromatid kırığı
LDH	: Laktat dehidrogenaz

LDL	: Peroksidasyon
MDA	: Malondialdehit
Mg	: Miligram
MMC	: Mitomycin-C
MN	: Mikronükleus
MNPCE	: Mikronükleuslu polikromatik eritrosit
NCE	: Normokromatik eritrosit
NO	: Nitrik oksit
O <sub>2</sub>	: Oksijen molekülü
OH	: Hidroksit
PCE	: Polikromatik eritrosit
PG	: <i>Punica granatum</i> L.
PCP	: Pentaklorofenol
SCE	: Kardeş kromatid değişimi
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSB	: Tek zincir kırıkları
TCA	: Trikloroasetik asit
%	: Yüzde
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrat derece

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Geçmişten günümüze kadar bitkiler tedavi amacıyla kullanılmalarının yanı sıra, bitkisel ilaç hammaddesi olarak günümüze kadar önemini kaybetmemiştir. Bu sebeple bitkiler üzerinde mikrobiyolojik, farmakolojik ve kimyasal açıdan önemli çalışmalar yapılmaktadır [1]. Bitkisel ilaçların, sentetik ilaçlara göre daha çok tercih edilmesinin asıl sebebi, bitki özütlerinden elde edilen ilaçların genellikle önemli yan etkilere sahip olmaması ve sağlık açısından çok yönlü olarak olumlu etkiler göstermesidir [2].

Canlılarda ilaç, organizmanın ksenobiyotik ve kimyasal maddeler tarafından maruz bırakılması ile başlıca hidroksil, nitrik oksit, süperoksit ve lipid peroksit gibi etkin oksijen grupları oluşturmaktadır. Serbest radikaller ise proteinler, hücre zarı ve DNA gibi yapılarda hasar meydana getirmesiyle canlı organizmalarda oksidatif stres olarak bilinmektedir. Oksidatif stresi önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar denir. Günümüzde antioksidanların yaygın olarak kullanılmasının temel sebebi, serbest radikallerin organizmada meydana getirdiği zararlı etkileri ortadan kaldırmasıdır [3, 4].

Antioksidan maddelerin bir kısmını yediğimiz bazı bitki ve meyvelerden aldığımız gibi, bir kısmını da vücudumuz serbest radikallere karşı savunma sistemi olarak üretir. Antioksidan bakımdan zengin olan bitki ve meyveler tarihten günümüze kadar çok sayıda hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Son yıllardaki teknolojik gelişmeler, bitkisel ilaçların araştırılmasında önemli derecede katkı sağlamıştır. Yapılan çalışmalarda bitki ve meyvelerde bulunan antioksidanların yüksek antioksidan etkisi ve önemsiz yan etkileri rahatça tüketilmesi gerektiğini göstermiştir [5].

Punicaceae familyasının bir üyesi olan nar (*P. granatum* L.); Ortadoğu, İran Körfezi ile Anadolu ve Kafkasya arasında kalan bölgelerde binlerce yıldır üretimi ve tüketimi yapılan bir meyvedir. Oldukça yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan bu meyve, geçmişten günümüze kadar bereket, sağlık ve ebedi yaşamın sembolü haline gelmiştir [6].

Nar kansere karşı koruyucu etkiye sahip olan aynı zamanda kalp ve damar hastalıkları riskini azaltan yüksek flavonoid ve polifenol içeriğe sahip olan önemli bir antioksidandır [1]. Son yıllarda nar ile ilgili yapılan çalışmalarda narın içeriğinde bulunan çeşitli kimyasal bileşenlerin farmakolojik etki bakımından ne kadar önemli olduğunu ortaya koymuştur. Narın meyve ve yaprak kısımlarının ayrı ayrı ekstraksiyonları ile yapılan çalışmalar tedavi edici özelliğini kanıtlamıştır [7].

Nar kabuğu ile yapılan çalışmalarda genellikle antioksidan aktivitesi ve fenolik içerik üzerinde durulmuştur. Son yıllarda ise nar kabuğunun antidiyabetik, antiviral, antikanserojen, antibakteriyal özelliklerinin olduğu saptanmıştır [8]. Nar kabuğunda bulunan bileşenlerin; mandalina, kivi, alıç, üzüm, limon gibi 28 meyvenin kabuğundaki bileşenlere oranla yaklaşık olarak 3 kat daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir [9].

*Streptomyces caespitosus* bakterisinden izole edilen mitomycin-C (MMC), DNA'da çapraz bağ oluşumuna sebep olan aynı zamanda kolon, rektum, göğüs, rahim, rahim ağzı, baş ve boyun, göz, özofagus, pankreas, mesane ve akciğer kanserlerinin tedavisinde kullanılan kimyasal olarak reaktif antibiyotiklerdir. MMC kullanımı eğer uzun süre devam ederse, kemik iliği hücrelerinde kalıcı hasar meydana getirmesinin yanı sıra normal hücrelerde de tümör oluşumuna yol açmaktadır. Ayrıca MMC'nin; mutageniz, DNA sentez inhibisyonu, klastogenez gibi genotoksik etkilerinin olduğuda bilinmektedir [10].

Bu çalışma ile, içeriğindeki polifenoller sayesinde antioksidan aktiviteye sahip olan nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktının, DNA'ya çapraz bağ ile bağlanarak alkilleyici ajan görevi yapan, aynı zamanda DNA sentez inhibisyonu, klastogenez ve mutageniz gibi genotoksik etkilere sahip olan MMC'nin fare kemik iliği hücrelerinde oluşturduğu genotoksik etkilere karşı olası antigenotoksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 1.2. Nar (*P. granatum* L.)

Latince adı *P. granatum* olan nar, ilk kez tarihçi Büyük Pliny'in yazdığı Natural History isimli kitabında *Malum punicum* (kartaca elması) olarak geçmektedir. Punicaceae familyasının iki üyesi *P. granatum* ve yalnızca Yemen'de bulunan *Punica protopunica*'dır [6]. *P. granatum*'un kaynaklara göre kültüre alınması 5000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Bu sebeple tarım ürünleri içerisinde kültüre alınan en eski bitkilerden olan *P. granatum*, tarih boyunca önemini yitirmemiştir [11].



**Resim 1.1:** Nar (*P. granatum* L.) [12].

Kaynaklarda *P. granatum*'un anavatanı Hindistan ve İran çevresi olduğu ifade edilmektedir. Tropik ve subtropik iklim meyvesi olan *P. granatum* Akdeniz iklim kuşağındaki ülkelerin yanı sıra; Ortadoğu, Asya ve Güney Amerika ülkelerinde üretilmektedir. Dünyada *P. granatum*'un üretim istatistiklerine bakıldığında Türkiye dördüncü sırada yer almaktadır [13].

*P. granatum*'un adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması, kısa dönemde meyve vermesi ve sağlık açısından önemli etkilere sahip olması üretiminin gün geçtikçe artmasına sebep olmaktadır [14].

*P. granatum* antik çağlardan bugüne her geçen gün önemi artmış, ilacın kendisi olarak değerlendirilen, din ve kültür sembolü olarak kullanılan önemli bir meyvedir. İngiltere'de bulunan bazı sağlık kuruluşları tarafından *P. granatum* figürlerinin armalarında kullanıldığı bilinmektedir. Birçok ülkede sanat yapıtlarında sıkça kullanılmış olan *P. granatum*, tarihten bugüne Çin medeniyetinde bereket ve doğurganlığın sembolü olup, Budizm ve Zerdüştlük gibi dinlerde kutsal meyve olarak bilinmektedir. Hristiyanlık dininde diriliş ve evrensel kiliseyi sembolize ederken, Yahudilikte ise din adamlarının elbise motiflerinde bulunarak bereket ve doğruluğu temsil etmiştir. İslam dininde ise Kuran-ı Kerim'de nar kelimesi üç ayette geçmektedir [15].

Genellikle kış mücevheri olarak adlandırılan *P. granatum*'un çiçeklenme dönemi yaklaşık 1-1,5 ay olarak bilinmekle beraber meyvenin olgunlaşması Eylül ile Kasım arasında gerçekleşmektedir. Üretimi ise genellikle vejetatif veya çimlenme özelliği olan tohumlarla yapılmaktadır [16].

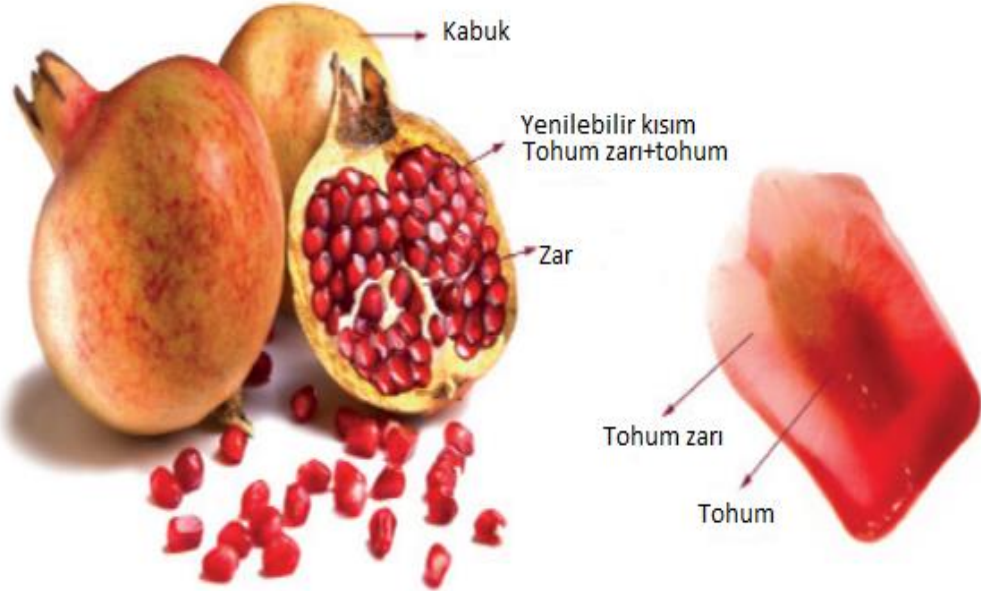
*P. granatum* hacim olarak iri yapılı, şekil olarak küresel ve kutuplardan baskındır. Olgunlaştığı dönemde kaliks segmentleri sayesinde taçlandırılır. Meyve yaklaşık 5-14 cm çapındadır. Meyvenin iç kısmı tohumlarla dolu olup, kabuk kısmı derimsi bir yapıdadır. Kabuk yaklaşık olarak 1-5 mm kalınlığında olup beyaz sarı, yeşil sarı veya kırmızı renklerinde olabilir [17].

İçerisinde bulunan daneler yenilebilir kısımları oluşturur. Bu daneler kabuk uzantılarıyla oluşmuş zar ile ayrılmış ve odacıklara yerleşmiştir. Meyvenin sap ile bağlantılı olduğu kısımda bir göbek, sonra yaklaşık 2 ile 5 adet arası alt odacık ve 5 ile 8 adet arası üst odacık bulunmaktadır. Bu odacıkları ayıran zar kısımları ince yapılı olup, alt ve üst kısımlarda daha kalın ve etli yapılardadır. Bu kalın ve etli yapılara daneler gömülü bir şekilde bağlıdır [18].

Tohum, pulp ve ince bir zardan oluşan daneler, genellikle beyaz ve sarı, pembe ve kırmızı aynı zamanda koyu kırmızı ve mora kadar renk değişiklikleri göstermektedir. Tohumlar sert ve köşelidir. *P. granatum*'un bazı çeşitlerinde tohum kabuğu (testa) yumuşaktır ve nar daneleri yenilirken tohumları yumuşak olduğundan ağızda fark edilmez. Bu şekildeki narlara çekirdeksiz nar adı verilmiştir [19].

Geleneksel tıpta daha çok ateşli hastalıklara karşı ateş düşürücü olarak kullanılan *P. granatum* tansiyon düşürücü, bağırsak parazitlerini azaltıcı, dizanteri ve ishali iyileştirici etkileri bilinmekle beraber, son yıllarda yapılan çalışmalar *P. granatum*'un bu özelliklerini kanıtlamıştır [20]. *P. granatum*'un, içeriğinde bulunan polifenoller sayesinde kan şekerini kontrol altına aldığı, aynı zamanda kan damarlarında oluşan zararları inhibe ettiği bilinmektedir [21].

*P. granatum* çeşitli tıbbi özellikler kazandıran değerli biyoaktif bileşiklere sahiptir. Güçlü bir antioksidan olmasının yanı sıra antitümoral, antidiyabetik ve antimikrobiyal etkiler de göstermektedir. Kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisi bilinmekte aynı zamanda ağız ve cilt sağlığında kullanılmaktadır [22].



**Resim 1.2:** Nar (*P. granatum* L.) Meyve Kısımları [12].

### 1.2.1. Nar (*P. granatum* L.) Çiçeği

*P. granatum*'un çiçekleri büyük ve çift cinsiyetlidir [18]. Renklerinin kırmızı, beyaz veya karışık olduğu bilinmektedir. Çiçekler kısmen sapsız, tek veya bir arada bulunabilirler. Çanak yaprakları etli ve dökülmez yapıdadır. İleride meyve yapısına dönecek tüp şeklinde bir koni yapısı bulunmaktadır [23].



**Resim 1.3:** Nar (*P. granatum* L.) Çiçeği [12].

*P. granatum* çiçeklerinin, petrol eter ile yapılan ekstraksiyonunda; ursolik asit ve sitosterol elde edilmişken, kloroform ekstraksiyonunda asiatic asit, maslinic asit, sitosterol, asetat ekstraksiyonunda daukosterol, urolic asit, metilelajik asit, ve maslinic asit, aseton ekstraksiyonunda etil brevifolinkarboksilat, etanol ekstraksiyonunda; elajik asit, gallik asit, D-mannitol ve metanol ekstraksiyonunda pomegranat, ursolik asit, urolic asit, daukosterol, pelargonidin 3,5 diglikozit, brevifolinkarboksilat, maslinic asit, asiatic asit ve alkan yapılarındaki maddeler izole edilmiştir [24-26].



### 1.2.2. Nar (*P. granatum* L.) Suyu

*P. granatum*'un yenilebilir kısmını oluşturan danelerin ya da bütün meyvenin mekanik preslenmesi sonucu elde edilen sıvı kısımdır. Bütün meyvenin mekanik preslenmesi ile elde edilen *P. granatum* suyunun, sadece meyvenin yenilebilir kısmındaki danelerin preslenmesiyle elde edilen *P. granatum* suyuna göre 20 kat daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve aynı zamanda 6 kat daha fazla fenolik madde içerdiği bilinmektedir. Bunun sebebi bütün meyvenin mekanik preslenmesi ile *P. granatum* meyve kabuğunda bulunan ve suda çözülebilen tanenlerden meydana geldiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [27, 28].

İnsülin bağımlısı olmayan diyabet hastalarına 3 ay boyunca günlük 50 ml *P. granatum* meyve suyu verilerek kan değerleri incelenmiş ve diyabet parametrelerini düzenlediği aynı zamanda makrofaj ve serumda antioksidatif tesirler gösterdiği ve ateroskleroz seviyesinde önemli derecede düşürücü etki gösterdiği belirtilmiştir [29].

*P. granatum* meyve suyu ile yapılan araştırmalarda özellikle serbest radikalleri temizleyici etkileri kanıtlanmıştır. Araştırmalarda antioksidan etkinin yalnızca *in vitro* çalışmalarda değil, *in vivo* çalışmalarda bile yüksek antioksidan etkileri gözlemlenmiştir. *P. granatum* meyve suyunun bir gramında taşıdığı polifenol bileşik miktarı yaklaşık olarak 63 mikrogramdır [30-32].

*P. granatum* meyve suyu tüketildikten yaklaşık 48 saat sonra kandaki antioksidan kapasitesini arttırdığı ve damar sertliğini önemli derecede düzelttiği, bilimsel çalışma ile kanıtlanmıştır [33]. İçeriğinde hidrolize edilebilir tanenler arasında en yüksek değere sahip olan punicalagindir. Glukoz, fruktoz ve inorganik madde kalıntısının yarısını oluşturan kalsiyum aynı zamanda önemli aminoasitlerden glutamik ve aspartik asit bulunur. *P. granatum* meyve suyu kalori bakımından düşük, zengin vitamin değerlerine sahip olan, kalp sağlığını olumlu yönde etkileyen ve antikanserojen etki mekanizması bulunan doğal bir üründür [34].

### 1.2.3. Nar (*P. granatum* L.) Tohumu

*P. granatum*, dilimize çekirdekli elma şeklinde çevrilmektedir. Aril denilen meyvenin yenilebilir kısmının merkezinde bulunan tohum sert ve köşelidir. Meyvenin yaklaşık olarak % 4 ile % 10'luk kısmını tohum oluşturmaktadır. Tohumun % 6 ile % 20'sinde lipid bulunmaktadır. Geri kalan kısımda önemli miktarda selüloz, lignin ve polisakkaritler bulunmaktadır [17, 35].

*P. granatum* tohumu yüksek miktarda C ve K vitamini içermektedir. Vücudun günlük ihtiyacı olan C vitamininin yaklaşık olarak % 20'si, 100 gr *P. granatum* tüketilerek alınabilir. Bunların yanında B1, B2, B3, B5, B6 ve B9 gibi önemli B grubu vitaminlerin çoğunu *P. granatum* tüketimi ile alınmaktadır [36].



**Resim 1.4:** Nar (*P. granatum* L.) Meyve İç Kısım [12].

Meyve içeriği ve kabuk kısımlarında olduğu gibi, *P. granatum* tohumları da yüksek oranda polifenol içermektedir. Özellikle tanen, antosiyaninler ve quercetin bakımından oldukça zengin olması, kanser ve kalp rahatsızlıklarında koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir [37, 38].



**Resim 1.5:** Nar (*P. granatum* L.) Tohum ve Tohum Zarı [12].

*P. granatum* tohumlarında bulunan yağ asidi bileşenleri; monoglisericit, diglisericit, triglisericitlerdir. Serbest yağ asitlerinin majör bileşenleri ise 4-metillaurik asit, steroller, 1-3 dimetilstearik asit, punisik asit aynı zamanda içerdığı hormonlar; estriol, testosteron, estrone ve 17 $\beta$ -estradiol bunların yanında glikozitler, fosfolipidler ve fenil alifatik tespit edilmiştir [39, 40].

#### 1.2.4. Nar (*P. granatum* L.) Kabuğu

*P. granatum* kabuğu oranı türlere göre değişiklik göstermekle birlikte, meyvenin yaklaşık olarak % 40'lık kısmını oluşturmaktadır. Ticari meyve sularının önemli atık ürünlerinden biri olan *P. granatum* kabukları oldukça yüksek fenolik madde miktarına sahiptir. Antik çağlardan günümüze kadar boyar madde olarak kullanılan *P. granatum* kabukları, varyeteye göre sarı, pembe, kırmızı ve mor gibi çeşitli renklerde görülmektedir [41, 42].

İçeriğinde oldukça düşük miktarda alkaloid barındıran *P. granatum* kabukları, yüksek miktarda ise triterpen ve tanen bulundurmaktadır [1]. Yapılan bir antioksidan çalışmasında, *P. granatum* kabuklarının antioksidan kapasitesi çekirdeklerine göre yaklaşık iki kat daha fazla olduğu saptanmıştır [43]. *P. granatum* kabuk ekstraktının *in vitro* bir çalışmada meyvenin yenilebilir etli kısmına oranla yaklaşık olarak 10 kat daha fazla antioksidan etki gösterdiği bilinmektedir [44].



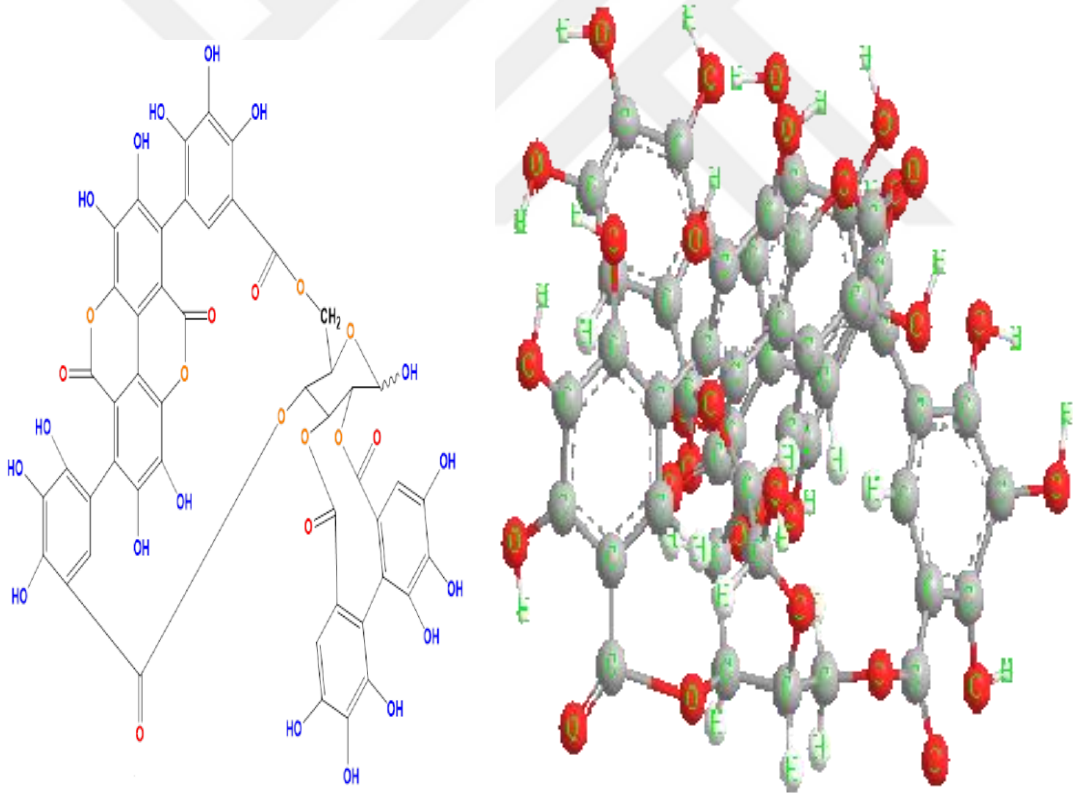
**Resim 1.6:** Nar (*P. granatum* L.) Tüm Meyve [12].

Tarihten günümüze kadar geleneksel tıpta önemli bir yere sahip olan *P. granatum* kabukları, toz haline getirildikten sonra kanlı yaralanmalarda kullanılarak kanı durdurucu ve yara iyileştirici olarak kullanılmıştır [45].

Bağırsak parazitlerini azaltıcı, ishal kesici, cilt enfeksiyonları, kurt düşürücü ve viral hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir [1]. *P. granatum* kabuklarından elde edilen ekstraktlar gebeliği önleyici, akne, dizanteri, diyare, genital enfeksiyon, zührevi hastalıklar, meme iltihabı, orta kulak iltihabı, ağız hastalıkları gibi çeşitli sağlık bozukluklarında tavsiye edilen ilaçların bileşimlerinde kullanılmaktadır [46]. Canlı organizmalarda *P. granatum* kabuk ekstraktının, gastrik ülser tedavilerinde olumlu etkiler gösterdiği ve lipid peroksidasyonunda önemli derecede azalma sağladığı tespit edilmiştir [47].

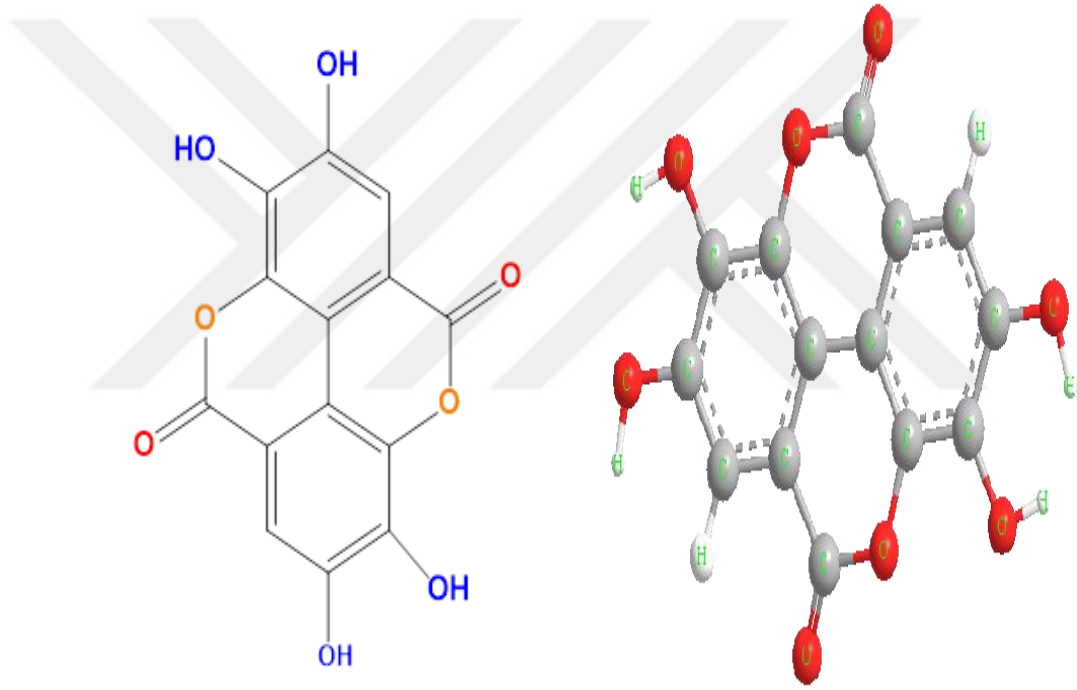
Ayrıca *P. granatum* kabuk ekstraktı, posasının ekstraktı ile karşılaştırıldığında, kabuk ekstraktının fenolik, proantosiyenin ve flavonoid maddeleri bakımından posasına nazaran oldukça fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle kabuk ekstraktının serbest radikalleri engelleme ve uzaklaştırma aynı zamanda LDL oksidasyonunu engelleme yönünden, meyvenin posasına göre daha fazla antioksidan etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır [48].

*P. granatum* kabuklarının Farmakoloji alanında kullanılmasının temel sebebi hepatoprotektif, anti-inflamatory ve antigenotoksik etkilerinden kaynaklanmaktadır. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, *P. granatum* kabuklarında bulunan punicalagininin, metabolize edilebildiği ve plazmaya geçiş yaptığı gözlemlenmiştir [49, 50].

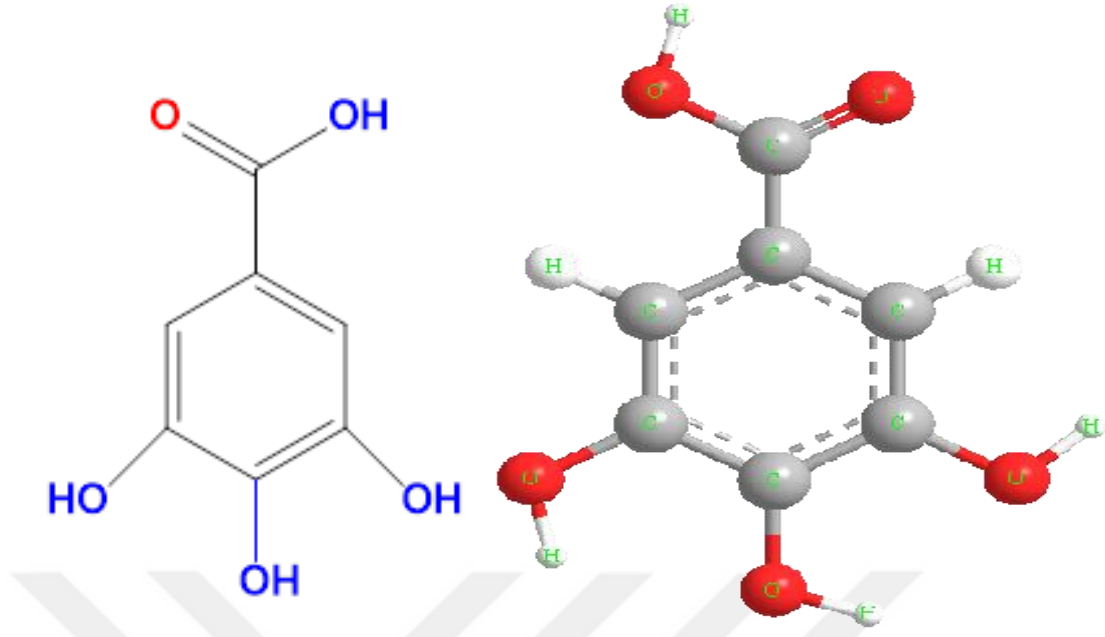


**Şekil 1.1:** Punicalagin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü

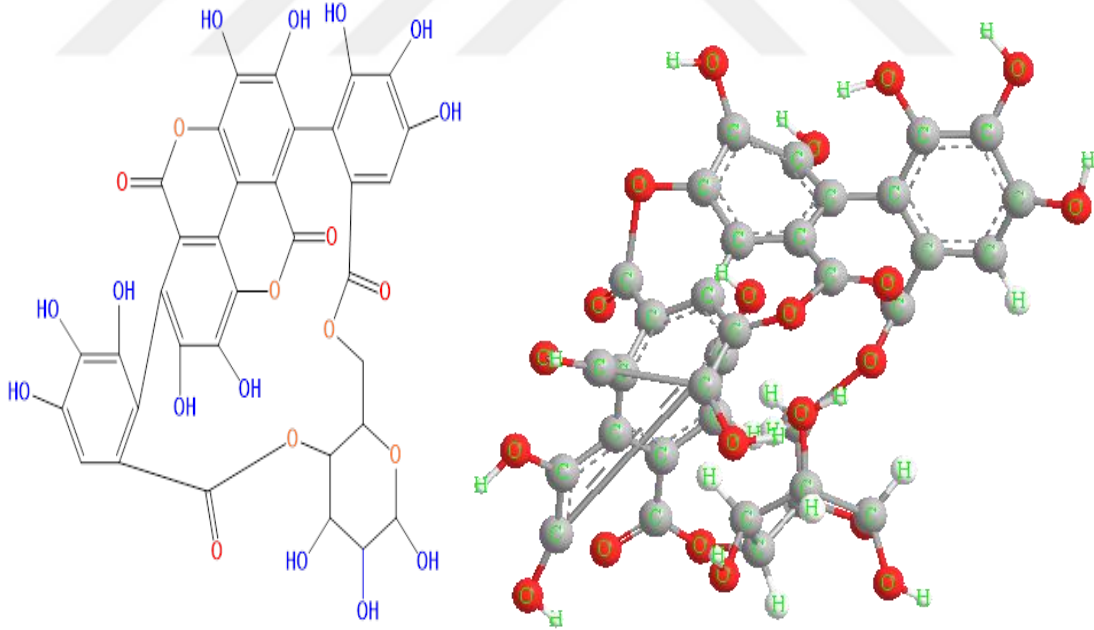
*P. granatum*'un kabuk kısımlarında bulunan punicalagin, suda çözünebilen ve yüksek molekül ağırlığına (1084 g/mol) sahip olan fenolik bir bileşiktir. Aynı zamanda minör düzeyde bulunan ve punicalaginın bileşikleri olan punicalin, ellagic ve gallik asit bileşikleride kabuk kısımlarında mevcuttur. *P. granatum* kabuklarında bulunan fenoller; serbest radikalleri kararlı hale getirebilmek için elektron vererek veya tepkimeye girerek serbest radikalleri uzaklaştırmaktadır. Metanol ekstraktında DPPH analizi ile *P. granatum* kabuk ekstraktlarının yaklaşık % 91 oranında serbest radikalleri uzaklaştırdığı tespit edilmiştir [51-53].



**Şekil 1.2:** Ellagic Asidin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü



Şekil 1.3: Gallik Asidin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü



Şekil 1.4: Punicalin Bileşiğinin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü

*P. granatum* kabuklarında yüksek oranda bulunan punicalalin üzerine yapılan bir çalışmada, 37 gün boyunca yüksek dozda punicalalin farelerin diyetlerine eklenmiştir. Sonuç olarak, punicalalinin herhangi bir toksik etkiye sebep olmadığı, tam tersine antigenotoksik etkilerinin olduğu bu sebeple sağlık alanında bu bileşiğin çok yönlü olarak kullanılabileceği belirtilmiştir [49].

*P. granatum* kabuk kısımlarında başlıca tanenler (kasuarin, pedunculajin, tellimagrandin, elajik asit, gallik asit, granatin A, granatin B, korilajin), flavan-3-oller (epigallokateşin-3-*O*-gallat, epikateşin, kateşin), fenil propanoitler (klorojenik, kafeik asit, *p*-kumarik asit, kuinik), flavon (luteolin 7-*O*-glikozit, luteolin), antosiyanin (siyanidin, pelargonidin, delfinidin), flavonol (kemferol, rutin, kersetin, kemferol 3-*O*-glikozit, kemferol 3-*O*-ramnoglikozit) ve alkaloidler (pelletierin) gibi bileşikler tespit edilmiştir [54-56].

### **1.3. Nar (*P. granatum* L.) ile Yapılan *In vivo* Çalışmalar**

Hiperlipidemik özellikli fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, diyetlerine *P. granatum* çekirdek yağı eklenmiş farelerin, karaciğer triaçilgliserol birikiminde kontrol gurubundaki farelere nazaran iyileşme olduğu belirlenmiştir [57].

Rosenblat ve ark. yaptıkları bir çalışmada 4 ay boyunca yağlı diyetle beslenmiş ve ateroskleroz geliştirilen farelere, *P. granatum* içeriğinde bulunan gallik asiti 17 ve 51,5 µg eqv/kg/gün dozunda enjekte etmişler. Sonuç olarak gallik asit verilen farelerin, peritoneal makrofajlarda oksidatif stres belirteçlerinde azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada, gallik asit verilen grup ile yalnızca su verilen grup arasında kıyaslama yapıldığında; hücresel lipid peroksidasyonda yaklaşık % 42 azalma ve redükte gutasyon seviyesinde % 50 oranında artış olduğu belirlenmiştir [21].



Chidambara-Murthy ve ark. yaptıkları bir çalışmada kurutulmuş *P. granatum* kabuklarının metanol ekstraktını çıkardıktan sonra bu ekstraktla bir grup ratı beslemişler diğer gruba ise karbontetraklorür (CCl<sub>4</sub>) vermişlerdir. Daha sonra bu iki deney grubunu karaciğer katalaz ve glutasyon peroksidaz değerlerini karşılaştırmışlardır. CCl<sub>4</sub> verilmiş ratlarda karaciğer katalaz ve glutasyon peroksidaz değerlerinde düşüş meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Bu değerlerin düşmesinin yanı sıra lipid peroksidasyon değerinin yaklaşık üç kat artış gösterdiği tespit edilmiştir. *P. granatum* kabuk ekstraktının uygulandığı grupta ise 14 gün boyunca kabuk ekstraktı verilip son gün CCl<sub>4</sub> verilerek değerlerine bakıldığında, karaciğer katalaz ve peroksidaz seviyelerinin kontrol grubuyla neredeyse aynı olduğunu aynı zamanda lipid peroksidasyon değerinin % 54 oranında azaldığını gözlemlemişlerdir [58].

Noda ve ark. yaptıkları bir araştırmada farelerin beyinde hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) indüklü LDL oksidasyonunun üzerine, bütün *P. granatum* meyvesinin aseton-su (70:30) ekstresine ve 3 majör antosiyanidin (delfinidin, siyanidin, pelargonidin) antioksidan etkinliğine ESR tekniğiyle bakılmıştır. Hidroksil (OH), süper oksit (O<sub>2</sub>) radikalleri ve nitrik oksit (NO) kullanılmıştır. *P. granatum* ekstraktı, OH ve O<sub>2</sub> iyonuna karşı serbest radikal süpürücü etki göstermiştir. Antosiyanidinler buna ek olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> iyonuna karşı da bu etkiyi göstermiştir. Bu sonuçlardan antosiyanidinlerin *P. granatum* meyvesinde antioksidan etkinliğine katkıda bulunduğu anlaşılmıştır [59].

Aviram ve ark. üç ay boyunca yaptıkları bir *in vivo* araştırmada 200 µg gallik asite eşdeğer çeşitli *P. granatum* ekstraktları verdikleri farelerde, ateromatöz plak oluşumunun azaldığını gözlemlemişlerdir. *P. granatum* çekirdeğinin kolesterol, glikoz ve trigliserid miktarlarını azalttığını, *P. granatum* tanesinin çekirdeksiz bölümünün ise trigliserid düzeyinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu etkilerin ise *P. granatum* içeriğinde bulunan fenolik maddelerin ve kompleks şekerlerin varlığından kaynaklandığını belirtmişlerdir [34].

Faria ve ark. 1 ay boyunca *P. granatum* meyve suyu verilen farelerde, karaciğer homojenatlarına MDA açısından değerlendirmiş ve gruplar arasında gözle görülür bir değer değişimi olmadığını, fakat *P. granatum* suyunun karaciğer GSH düzeyi ile GSH-Px, SOD ve CAT aktivitesini azalttığını, MDA düzeylerinin aynı kalması nedeniyle bu azalmanın oksidan ve antioksidan dengesi çok fazla değişmediğini, fakat antioksidan

enzimlerdeki azalma mekanizmalarının başka çalışmalarla ortaya konulması gerektiğini ifade etmişlerdir [60].

Mandal ve ark. bir çalışmada streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş bir grup rata 300 mg/kg ve diğer grup rata ise 600 mg/kg dozunda *P. granatum* çekirdek ekstraktı uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda, *P. granatum* çekirdek ekstraktının serum glukoz düzeyini düşürdüğü gözlemlenmiştir [61].

Çelik ve ark. bir çalışmada trikloroasetik asit (TCA) verilen ratlara 5 gün boyunca *P. granatum* çayı uygulanmıştır. Çalışma sonrasında TCA verilen grubun AST ve ALT seviyelerinde yükselme; TCA ve *P. granatum* çayı verilen grupta ise ALT, LDH, AST ve CK seviyelerinde gözle görülür derecede düşüş olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmanın verileri de *P. granatum* çekirdek yağının, PCP'nin protein, şeker ve yağ metabolizması üzerindeki genotoksik etkileri azaltıcı ve karaciğer hasarını düzenleyici etkinliğinin olduğunu kanıtlamaktadır [62].

Bouroshaki ve ark. heksabütadien (HCBd) ile nefrotoksisite oluşturmuş rat gruplarına 0.16, 0.32 ve 0.64 mg/kg intraperitoneal *P. granatum* çekirdek yağı vererek antigenotoksik etkisini kontrol etmişlerdir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HCBd verilen rat grubunda bir gün sonra idrarda glikoz, protein, serum kreatinin ve üre seviyesinde önemli derecede artış gözlemlendiğini, HCBd'nin ratlarda böbrek yetmezliğini ortaya çıkardığını, böbrek MDA değerini artırdığını, *P. granatum* çiçek yağı uygulanan gruplarda ise serum kreatinin ve üre seviyesi ile idrar glikoz ve protein değerlerinde azalma olduğunu belirtmişlerdir [63].

*P. granatum* çiçek yağının antitümör etkilerini, konjuge linolenik asitler aynı zamanda linoleik asitlerin farmakolojik özellikleri ile ilgili literatür araştırmaları yapılmıştır. Literatür araştırmaları sonucunda *P. granatum* çiçek yağının antigenotoksik özelliklerinin, farklı mekanizmalar ve bileşiklerin etkisiyle olduğunu göstermektedir. Yapılan bir araştırma sonucunda, diğer araştırmalarda olduğu gibi *P. granatum* çiçek yağının antigenotoksik etkileri ve antilipid peroksidatif etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışmada *P. granatum* çiçek yağının, PCP'nin GSH-Px ve CAT aktivitesi ile NO düzeyinde kontrol grubuna yakın değerler içerdiği, özellikle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve peroksinitrit tarafından oluşan genotoksik etkilere karşı antigenotoksik

özelliklerin olduğunu gözlemlemişlerdir. *P. granatum* çiçek yağının antigenotoksik özelliklerinin hangi bileşikler tarafından ortaya çıktığı detaylı çalışmalar sayesinde literatür bilgisine eklenebilir. Sonuç olarak yapılan bu araştırmada, *P. granatum* çiçek yağının, ratlara oral gavaj yöntemi ile 40 mg/kg uygulanarak PCP'nin karaciğer hasarı, lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim etkinliklerinde azalmalara neden olduğu; 15 mg/kg dozunda 28 gün süreyle verilen *P. granatum* çiçek yağının ratlarda protein, karbonhidrat ve yağ metabolizması üzerine genotoksik etkilere sahip olmadığı, karaciğer üzerinde toksik etkilere yol açmadığı, lipid peroksidasyonu oluşturuca etkilerinin bulunmadığı, *P. granatum* çiçek yağının PCP'nin genotoksik etkileri üzerinde antigenotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir [64].

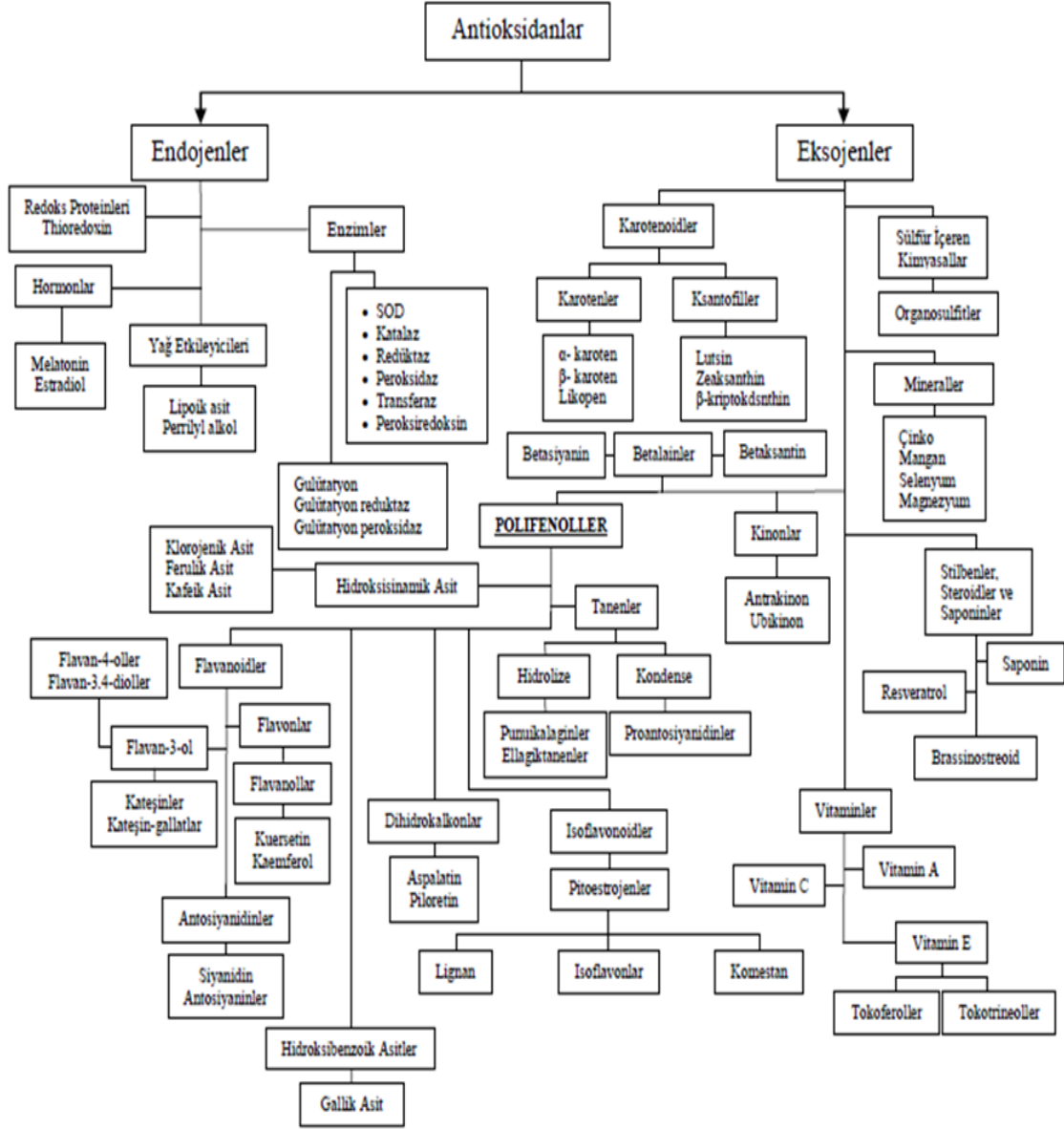
#### **1.4. Antioksidanlar**

Antioksidanlar, canlı organizmalarda serbest radikallerin oluşumunu ve serbest radikallerin meydana getirdiği hasarları engelleyen, yapısında fenolik bileşikler barındıran moleküllerdir [65]. Antioksidanlar; düşük derişimlerle, yükseltgenebilen substratlara karşı önemli derecede etki ederek substratın, prooksidanlar ile başlayan oksidasyonunu ciddi düzeyde engeller veya geciktirirler. Prooksidanlar; lipidler, nükleik asitler ve proteinlerde oksidatif hasar meydana getiren ve çeşitli hastalıklara zemin hazırlayan toksik bir maddedir. Bu tehlikeli madde ve bileşiklerin hasarlarını ortadan kaldıran antioksidanlar günümüzde önemli bir yere sahiptir [66].

Antioksidanlar, dışarıdan alınabildiği gibi, vücut hücreleri tarafından da üretilmektedir. Dışarıdan gıda yoluyla alınan antioksidanlar, flavonoidler, karotenoidler, vitaminler ve polifenollerdir. Yapılan araştırmalarda kalp ve kanser hastalıkları riski meyve ve sebze tüketimi ile yüksek derecede azalmaktadır [67]. Antioksidanlar arasında en önemli bileşik polifenollerdir. Bu bileşik birincil serbest radikalleri tutma özelliği göstererek, zincir reaksiyonların oluşumunu engeller, singlet oksijeni tutarak oksijen derişimini azaltır ve metal iyon katalizörlerini bağlayarak önemli derecede oksidatif hasarları inhibe ederler [68].

Son yıllarda yapılan çalışmalarla doğal antioksidanlara olan ilgi oldukça artmıştır. Bunun temel sebebi, sentetik antioksidanların kanserojen etkilerinin ortaya çıkmasından

kaynaklanmaktadır. Doğal antioksidanlar canlı organizmalarda genellikle önemli yan etkilere sahip değildir. Bu sebeple gıda sanayisinde kullanımı gün geçtikçe artmıştır [69].



Şekil 1.5: Antioksidan Bileşenleri [70].

Antioksidanların, serbest radikallere karşı önemli etki mekanizmaları bulunmaktadır. Bunlar serbest radikalleri tutma ya da zayıf bir molekül haline getirme şeklinde, süpürücü veya toplayıcı etki, zincir reaksiyonlarında serbest radikallere bağlanıp

reaksiyonu belli bölgelerinden ayırarak zincir kırıcı etki, serbest radikallerin yapısına bir hidrojen verip aktiviteyi inaktif hale getirerek bastırıcı veya giderici etki son olarak onarıcı ve tamir edici etki göstererek oksidan moleküllerin hasarlarından hücreleri korumaktadır [71, 72].

### **1.5. Genotoksisite**

Fiziksel veya kimyasal ajanlar tarafından genetik materyalde meydana gelen hasarlar genotoksisite olarak tanımlanmaktadır. Tek zincir kırıkları (SSB), çift zincir kırıkları (DSB), DNA kalıntıları ve alkali labil bölgeler (ALS) bu hasarlara örnek verilebilir [73]. DNA içerisinde bulunan genetik bilgi, replikasyondan sonra aslına uygun bir şekilde, bir sonraki jenerasyona aktarılmaktadır. Bu aktarımda DNA'nın kimyasal, fiziksel ve biyolojik faktörlerle etkileşimi sonrasında birtakım bozulmalar ortaya çıkmaktadır. Genotoksisite bu hasarları ve ortaya çıkaran etmenleri tanımlamak için kullanılan bilim dalıdır [74].

Muller, 1927 yılında *Drosophila melanogaster* üzerinde yapılan bir deneyde X ışınlarının, normale göre 15 bin kat daha fazla mutasyonu arttırdığını gözlemlemiş ve bu çalışma ışığında Genetik Toksikoloji Bilim Dalına giriş yapılmış, günümüze gelinceye kadar gelişen teknoloji ile önemli araştırma alanlarından biri haline gelmiştir [75, 76].

Her canlının kendine ait genetik bilgiyi taşıyan farklı sayılarda kromozomlardan oluşan genetik materyali mevcuttur. Çeşitli kimyasal ve fiziksel etkiler sonucunda bu genetik materyallerde ortaya çıkan değişimlere mutasyon denir [77]. Mutasyonlar fiziksel ve kimyasal etmenler ile ortaya çıkabildiği gibi kendiliğinden de oluşabilmektedir. Bu mutasyonlar, bir sonraki nesile aktarılarak canlının fenotipik ve genotipik özelliklerinde değişimler meydana getirmektedir. Mutajenlerin oluşturdukları hasarlar iki şekilde gözlemlenir. Bunlar vücudun tampon ve savunma sistemi ile onarabildiği hasarlar ya da enzim sistemi ve vücut savunma mekanizması ile onarılamayan kalıcı hasarlardır. Mutasyonlar sonucu meydana gelen en önemli hastalıklar teratojenite, kanser ve alerjidir. Canlılarda olumsuz etkilere sahip olan ve sonucunda mutasyona sebep olan kimyasal ve fiziksel maddelerin tespiti için çeşitli test yöntemleri geliştirilmiştir. Bu test yöntemleri günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bileşiklerin genotoksisitesinin

tespit edilmesinde kullanılan bu yöntemler daha çok ilaç, kimyasal madde ve çevre kirliliği sorunu ile ortaya çıkan birtakım zehirlere karşı kullanılmaktadır. Yapılan genotoksisite testleri çoğu zaman yeterli olmayıp, bu testlerin yanı sıra alerjik testler, antioksidan aktivite, akut ve kronik toksisite testlerine de ihtiyaç duyulabilir [78].

Genetik yapıda meydana gelen hasarların tespit edilmesi için kullanılan genotoksisite testleri, genotoksik ve mutajenik özelliklerde bulunan maddelerin karsinojenik etkilerini değerlendirmek için kullanılmaktadır [79].

Genotoksisite testlerinde ilk hedef DNA molekülü olduğu için, bu testlerden elde edilen sonuçlar, insan sağlığı üzerinde önemli tahminler oluşturulmasında katkı sağlamaktadır. Bu sebeple herhangi bir tür üzerinde DNA hasarı meydana getirdiği bilinen kimyasal maddenin, diğer türler üzerinde benzer etki gösterebileceğini söylemek mümkündür. Günümüzde 200'den fazla mikroorganizma, bitki, böcek ve omurgalı hayvanlar üzerinde uygulanabilecek kısa süreli genotoksisite test yöntemleri bulunmaktadır [80].

Bir madde üzerinde yapılan deneylerde genotoksik veya mutajenik özelliğinin bulunup bulunmadığını öğrenmek amacıyla çeşitli yöntemler keşfedilmiştir. Bunlar; kromozomal aberasyon (CA), kardeş kromatid değişimi (SCE), mikronukleus (MN), ames ve comet assay yöntemleridir. Bu yöntemler sayesinde kromozom anomalileri, gen mutasyonları, DNA kırıkları, DNA eklentileri, anöploidi ve klastojenite gibi hasarlar tespit edilmektedir. Bu testler sayesinde doğal ürünler üzerinde anti-mutajenik ve anti-karsinojenik çalışmalar yapılabilmektedir [81-83].

### **1.5.1. Mikronükleus**

Hücresinin mitoz safhasında ortaya çıkan, asıl çekirdekte bulunmayan, asentrik kromozom veya tam kromozom yapılarından köken alan kısımlardır. Hücre içerisinde çeşitli ajanlar tarafından oluşturulan yapısal ve sayısal anomalilerden kaynaklanan bozukluklar, mikronükleus sayısında artış meydana getirmektedir. Mikronükleus oluşumunun temel sebebi ise, anöploidiyi aktive eden ajanlar tarafından sentromer bölünme problemlerini ve iğ ipliklerinin fonksiyon bozukluklarını ortaya çıkararak mikronükleus oluşumuna temel oluşturmaktadır [84].

Mikronükleus olarak isimlendirilmenin nedeni, telofaz safhasında iğ ipliklerinin bozuklukları sebebiyle geride kalan kromozomlar ve bu kromozomların parçaları etrafında nükleer bir zar yapısı oluşturması, bu yapının ise çekirdekten daha küçük olmasından kaynaklı olarak söylenmektedir. Mikronükleuslar, kromozom kayıpları ve kırılmaları hakkında bilgi almamızı sağlayan önemli yapılardır. Çekirdek bölünmesi bittikten sonra ortaya çıkan mikronükleuslar, hücre döngüsünün binükleer aşamasında gözlemlenebilmektedir [85].

Mikronükleus testi, 1950 yıllarında sadece bitki hücrelerinin kromozom bozukluklarının tespit edilmesinde kullanılmıştır. Yaklaşık 20 yıl sonra araştırmacı Haddle ve arkadaşları vasıtasıyla insan lenfosit hücrelerinde karsinojenlerin tespit edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Daha sonra araştırmacılar, geliştirdikleri bazı modifiye yollar sayesinde anöploidiye sebep olan klastojen ile ajanları ayırmak amacıyla mikronükleus büyüklüklerinden faydalanmışlardır. Klastojenler tarafından uyarılan mikronükleusların küçük, ajanlar tarafından uyarılan mikronükleusların ebat olarak daha büyük olduğunu tespit etmişlerdir [86].

Mikronükleus analizinin eksfoliyatif hücrelere yapıldığı da bilinmektedir. Bu analiz yönteminin bronş, ürotelyal, burun ve ağız hücrelerinde enfeksiyon ve kimyasalların etkileri tespit edilebilmektedir. Bölünme hızları oldukça yüksek olan bu hücrelerin, genotoksik etkiler tarafından hasara uğradıkları kolay bir şekilde gözlenmektedir [87]. Bu sayede hücrelerin oluşturdukları dokularda ortaya çıkan morfolojik bozukluklar, kromozom kırıkları uygulanan mikronükleus analiziyle ortaya çıkarılmakta, aynı zamanda bu analiz yönteminin pestisit, sigara ve enfeksiyon gibi çevresel etkilerin hasarlarını belirlemek için kullanıldığı bilinmektedir [88].

Mikronükleus testi, ekstra kültür basamağına ihtiyaç duyulmadan, kolay ve fazla sayıda hücre tipinde uygulama yapılabilen bir yöntemdir. Klastojenik içerikli bileşikler vasıtasıyla oluşturulan, kromozomal bozuklukların değerlendirilmesinde sıkça kullanılan aynı zamanda *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda kullanılabilen önemli bir genotoksikite testidir [89].

### 1.5.2. Kromozomal Aberasyon

Kromozom sayısında ve yapısında meydana gelen değişikliklere kromozomal aberasyon (KA) denir. Bu test yöntemi ile sayısal ve yapısal anomaliler incelenmektedir. Kromozomların sayısal ve yapısal bozuklukları sonucu genlerin yerleşim düzenleri ve sayılarında değişiklikler olmaktadır. Buna bağlı olarak genotipik değişimler olur. Bu yöntemde genellikle kolşisin ve kolsemid gibi maddeler kullanılmaktadır. Tubilin polimerizasyon inhibitörü olarak kullanılan bu maddeler, hücre bölünmelerini metafaz evresinde durdurarak kromozomların yapısal ve sayısal durumlarını kontrol etmemize yardımcı olur. Yapısal kromozomal aberasyonlar; kromozom kırığı, kromatid kırığı, kardeş kromatid birleşimi, disentrik kromozom, halka kromozom, fragment, translokasyon, inversiyon ve izokromozomlardır [90, 91].

Her iki kromatidin aynı bölgesinde kırılma meydana gelir ise bu duruma kromozom kırığı denir. Böyle durumda hücreler defisiyans kromozom bulundurmaktadır. Yalnızca kromozomun bir kromatidinde kırılmalar meydana gelir ise bu durum kromatid kırığı olarak isimlendirilir [92, 93].

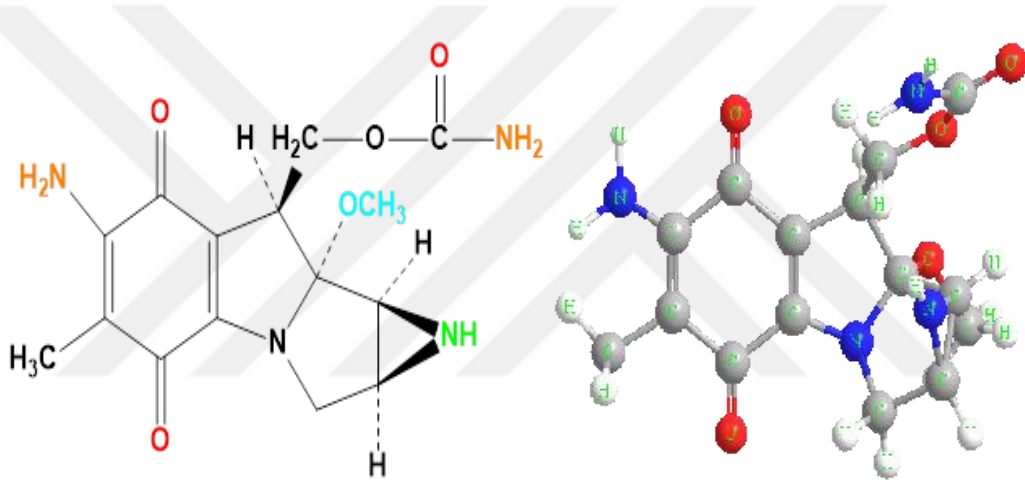
Kromozom kırılmasının meydana gelmesinin ardından, kardeş kromatidler kırılan bölgelerden birbirlerine tutunmasıyla kardeş kromatid birleşimi olur. Mitoz bölünmenin anafaz safhasında zıt kutuba çekilen kromatidler kromozom köprüsü kurarlar. Sentrik fragmentlerin, iki kromozomun uç kısımlarında oluşan kromozom kırığına benzer kırıkların kopuk olan kısımlarını birleştirmesiyle ise disentrik kromozom oluşur [93].

Bir kromozomda meydana gelen iki ucun kopması sonucu kırılan uçların halka şeklini alarak birbirlerine yapışmasına halka kromozom denir. Kırılmış olan kromozom parçalarına ise fragment denir. Metafaz safhasında meydana gelir ve kopmuş olduğu kromozomla birlikte zıt kutuplara çekilirler. Kromozomlardan kopan parça yerine, homolog olmayan kromozomlardan kopan parçanın gelip yapışmasına translokasyon denir. Bu parçanın yer değişimleri karşılıklı ya da tek taraflı olabilir. Kromozomun içinden kırılan parçanın ters dönerek aynı bölgeye yapışması durumu inversiyondur. Bu sebeple kromozomlardaki gen dizilişinde değişimler olur. Primer boğumdaki kırılmalar sonucunda, kardeş kromatidlerin birbirlerine yapışmasına ise izokromozom denir. Bunun sonucunda kromozomun her iki koluda aynı olur [93-95].



## 1.6. Mitomycin-C

*Streptomyces caespitosus*'dan izole edilen mitomycin-C (MMC), ilk kullanımlarda aminoglikozit antibiyotik amacıyla kullanılmış, 1983 yılları sonrasında antitümör aktivite özelliği ile kullanılmaya devam edilen bir antibiyotiktir. Alkilleyici bir ajan olan MMC, DNA çapraz bağ oluşumunu kırarak RNA ve protein sentezini inhibe eder ve antineoplastik özellik gösterir. Geleneksel olarak genitoüriner sistemde bulunan adenokarsinom ve transisyonel tümörlerin tedavisi amacıyla kullanılan ilaçtır. MMC yalnız başına DNA'da reaktif etki göstermemektedir [96-98]. Çapraz bağlanmanın yanı sıra alkilleyici özellik gösterebilmesi için kinon redüksiyonu ve takiben C-10 (üretan grubu) aynı zamanda C-7 (aziridin grubu) ile aktive olmaktadır [99].



Şekil 1.6: Mitomycin-C'nin Kimyasal Yapısı ve Üç Boyutlu Görüntüsü

MMC, mavi ile mor renkli kristal şeklinde bir tozdur. Molekül ağırlığı 334,33 g/mol olup, kimyasal yapısı 7-amino-9 $\alpha$ -metoksimitozandır. Kapalı formülü ise C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> şeklindedir [100]. MMC'nin çapraz bağlayıcı ve alkilleyici ajan olarak DNA'da meydana getirdiği hasar etkileri sırasında, serbest radikaller oluşturarak başka bir yolla DNA üzerinde yeni bir hasar meydana getirmektedir. MMC; fagosit NADPH-oksidad, NADPH- sitokrom P450, Ksantin oksidad, Mitokondrial NADH-dehidrogenaz gibi enzimlerin aktivitelerini engellemektedir. Çoğu enzimde tesir gösterdiği redoks siklusları ile elektron redüksiyon reaksiyonlarında serbest radikal oluşturmakta ve semiquinon ara ürünü meydana getirmektedir [101, 102].

## **2. MATERYAL ve METOT**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1. Hayvan Materyali**

\*Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından 26.04.2017/2017/46 sayılı izni ile çalışma onayı alındı.

Çalışmada 20 ile 30 gram arasında ağırlıklara sahip olan, 8 haftalık dişi fareler (*Mus musculus* var. *albinos*) kullanıldı. Çalışmada, kromozomal aberasyon ve mikronukleus analizlerinin yapılması amacıyla toplam 48 adet fare kullanıldı. Fareler polikarbon malzemeler ile yapılmış ve 121 °C'de otoklave edilebilen kafeslerde 8'li gruplar halinde standart deney hayvanları bakım koşullarına göre yerleştirildi. Fareler distile su ve normal fare yemi ile beslenip, su ve yem ihtiyaçlarının ad libitum olması sağlandı. Günlük olarak 3 kez kontrol edilen fareler, % 50 bağıl nem ve 20 ± 2° C sıcaklığa sahip, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ışık periyotlu laboratuvar ortam ve koşullarında barındırıldı. Çalışmada kullanılacak maddelerin dozları farelerin günlük ağırlıklarına göre hazırlanmış olup, distile suda çözülerek oral gavaj ve intra-peritoneal yol ile verildi.

#### **2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler**

##### **2.1.2.1. Kullanılan Ekstraksiyon Tekniğı**

Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı

Çalışmada kullanılan Nar (*P. granatum* L.) Akdeniz bölgesinden temin edilmiş olup, mevsiminde ve taze olarak laboratuvar ortamına ulaştırıldı. Meyvenin kabuk kısımları alınıp hava sirkülasyonuna sahip ve güneş görmeyen alanda kurutularak öğütücü yardımı ile öğütüldü. Öğütülen bitki örneklerinden 50 gr alınarak ekstraksiyon çözücüsü ile yıkanan soxhlet cihazı kartuşu 500 ml'lik soxhlet ekstraktörü içerisine yerleştirildi.

Ekstraksiyon çözücüsü olarak etanol kullanıldı. Kaynama balonuna 650 ml etanol çözücüsü konuldu.

Çözücü berrak bir hal alıncaya kadar yaklaşık olarak 10 saat süre ile ekstrakte (10-15 sifon) edildi. 10. saat sonunda elde edilen sıvı ekstraktlar mavi band süzgeç kağıdından süzülerek partüküller uzaklaştırıldı. Süzülen ekstrakt örneği rotary evaporatör ile 35-45 °C’de çözücüleri uçuruldu. Balon içerisinde kalan nar kabuğu ekstraktı 12 saat süre ile desikatörde bekletildi. Çözücüsünden tamamen uzaklaştırılan nar kabuğu ekstraktı 0,1 mg hassasiyetle tartılıp ekstrakt kutusuna konularak +4 °C’de yapılacak olan çalışma için muhafaza edildi [103].

#### Mitomycin-C (MMC)

Bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan Mitomycin-C’nin (Sigma cat. No: M0440) kapalı formülü:  $C_{15}H_{18}N_4O_5$ ’dir.

#### Kolşisin (Colchicine)

Mitotik zehir olarak bilinen Kolşisin (colchicine (Sigma cat. No: C9754)), kromozom preparatlarının hazırlanması için kullanıldı. Steril saf su içerisinde hazırlanan kolşisin çözeltisi servikal dislokasyondan 2 saat önce 4 mg/kg dozda intra-peritoneal olarak farelere enjekte edildi. Molekül ağırlığı: 399.4 g/mol ve kapalı formülü:  $C_{22}H_{25}NO_6$ ’dır.

#### Eter (Dietyl Eter, Etoksietan)

Etoksietan veya dietyl eter (Merck cat. No: 100926) olarak da isimlendirilen eter, düşük kaynama noktasına ve karakteristik bir kokuya sahiptir. Çalışmada servikal dislokasyondan önce anestezi olarak kullanılmıştır. Etil eter, etoksietan, 3-oksapentan, etil oksit gibi isimlerde kullanılabilir. Moleküler ağırlığı: 74.12 g/mol ve kimyasal formülü:  $C_4H_{10}O$ ’dur.

### Glasiyal Asetik Asit

Kromozomal aberasyon testinin hazırlanmasında kullanıldı (Merck cat. No: 100056). Hydrogen acetate (HAc), acetyl hydroxide (AcOH), methanecarboxylic acid ve ethylic acid şeklinde çeşitli isimleri vardır. Molekül ağırlığı: 60.05 g/mol, kapalı formülü:  $C_2H_4O_2$ 'dir.

### Hipotonik Eriyik

Çalışmamızda hipotonik eriyik olarak % 0,4'lük KCl (Merck cat. No: 1049360250) kullanıldı. Yapılan her preparasyondan 2 saat önce yeterli ölçüde alınıp, inkübatörde 37 °C ısıya getirilerek kullanıldı.

### Carnoy Fiksatif

Kromozomal aberasyon testinde kullanılan fiksatif, 3 kısım metanol ve 1 kısım glasiyal asetik asit karışımı ile hazırlandı. Fiksatif kullanımından 15 dakika önce hazırlanarak +4 °C'de ağzı kapalı erlenmayerde bekletildi. Her preparat hazırlama işleminden 15 dakika önce hazırlanarak kullanıldı.

### Sorensen Tampon (Sorensen Buffer) Çözeltisi

Sorensen tamponu, eriyik tampon A ve tampon B şeklinde iki stok çözelti halinde hazırlanarak çalışmaya uygun olarak birbiriyle değişik miktarlarda karıştırılıp kullanıldı. Hazırlanan sorensen tamponu ağzı kapalı cam kaplarda oda sıcaklığında muhafaza edildi.

Tampon A: 11. 34 g  $KH_2PO_4$  250 ml saf su içinde çözdürüldü (pH=4.8).

Tampon B: 14. 83 g  $Na_2HPO_4 \cdot 12 H_2O$  250 ml saf su içinde çözdürüldü. (pH=9.3).

### Giemsa

Giemsa boyası (Sigma cat. No: 51811826), çalışmada sorensen tamponu içerisinde hazırlanmış % 10'luk ve % 20'lik boya eriyiği şeklinde preparat boyama işleminde kullanıldı. 80 ml distile su, 5 ml tampon A, 5 ml tampon B, 10 ml giemsa ile % 10'luk giemsa boyası hazırlanmıştır. 70 ml distile su, 5 ml tampon A, 5 ml tampon B, 20 ml giemsa ile % 20'lik giemsa boyası hazırlanmıştır

### May Grünwald

Çalışmada kullanılan May Grünwald boyası (Mediko Kimya, cat no: 25010231000) mikronükleus preparatlarının boyama aşamasında kullanıldı. Sorensen tamponu içerisinde % 0,25'lik ve % 0,125'lik olarak hazırlandı.

### Entellan

Preparatları daimi kullanım haline getirmek için kullanılan preparat kapatma solüsyonudur (Merck cat. No: 107961). Çalışmamızda lam ile lameli birbirine yapıştırmak amacıyla kullanıldı.

### Metanol (Methanol, Metil Alkol, Karbinol)

Kromozomal aberasyon yönteminde fiksatif solüsyonunda kullanılmıştır (Merck cat. No: 106009). Bu kullanımda 3 hacim metanol ve 1 hacim glasiyal asetik asit şeklinde hazırlanmıştır.

### **2.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları**

#### Hassas Terazı

Tartım işlemlerinde Precisa XB 220 A marka 0,0001 gr hassasiyetinde terazi kimyasal ve nar kabuğu tartımlarında kullanıldı.

## Santrifüj

Çalışmamızda 5000 rpm'ye kadar devir hızına sahip, 8 tüp kapasiteli ve 20 dakikalık zamanlayıcı ayarı özellikleri bulunan Elektro-mag marka santrifüj kullanıldı.

## Mikroskop

Preparat incelemelerinde kamera ile fotoğraf makinası monte edilebilen, immersiyon objektifi bulunan ve koordinat cetveline sahip Olympus CX21 marka binoküler ışık mikroskobu kullanıldı.

## Etüv

Çalışmamızda kullanılan bazı eriyiklerin 37 °C'ye ısıtılması için 0 ile 100 °C ayarlanabilir Elektro-mag M 420 Bp marka etüv kullanıldı.

## **2.2. Metot**

**1. Grup** (n:8): Negatif kontrol. Bu gruptaki farelere 15 gün boyunca distile su oral yol ile verildi. (Diğer gruptaki fareler ile aynı stresi yaşamaları için) 16. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

**2. Grup** (n:8): 2 mg/kg Mitomycin-C. Bu gruptaki farelere 15 gün boyunca distile su oral yol ile verildi. Farelere 2 mg/kg mitomycin-C 15. gün intraperitoneal yol ile verildi. 16. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

**3. Grup** (n:8): 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı. Bu gruptaki farelere 150 mg/kg nar kabuk ekstraktı 15 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. 16. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

**4. Grup** (n:8): 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı. Bu gruptaki farelere 300 mg/kg nar kabuk ekstraktı 15 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. 16. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

**5. Grup** (n:8): 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C. Bu gruptaki farelere 150 mg/kg nar kabuk ekstraktı 15 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. 15. günün sonunda 2 mg/kg dozda MMC intraperitoneal yol ile verildi. 16. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

**6. Grup** (n:8): 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C. Bu gruptaki farelere 300 mg/kg nar kabuk ekstraktı oral gavaj yol ile 15 gün boyunca verildi. 15. gün sonunda 2 mg/kg dozda MMC intraperitoneal yol ile verilip 24 saat sonra eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

### **2.2.1. Kromozomal İnceleme ve Mitotik İndeksin Tespiti**

Mitotik aktivite, mikronukleus testi ve kromozomal aberasyon testi için oluşturulan gruplar ayrı dozlarda ve kontrol grubu olmak üzere toplam 6 grup oluşturuldu. Her gruba 8 adet ağırlıkları 20 ile 30 gr arasında değişen 8 haftalık dişi fareler (*Mus musculus* var. *albinos*) yerleştirildi. Çalışmada toplamda 48 adet fare kullanıldı. Farelere tartım sonuçlarına göre, oral gavaj ve intraperitoneal enjeksiyon yöntemleriyle maddeler ağırlık sonuçlarına bağlı olarak verildi. Vücut ağırlıklarına göre 150 ile 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı oral gavaj yol ile verilirken 2 mg/kg MMC intraperitoneal yol ile verildi. Çalışmada kullanılan maddeler distile suda hazırlandı.

Kromozomal aberasyon testi için farelere ötenaziden 2 saat önce 4 mg/kg kolşisin intraperitoneal yol ile distile suda çözülerek verildi. Fareler eter anestezisi yapıldıktan hemen sonra servikal dislokasyon yapılarak femur kemikleri çıkarıldı. Çıkarılan femur kemikleri kaslardan temizlenerek mitotik indeks tespiti ve kromozomal aberasyon testi için kullanıldı. Femur kemiğine ait kemik iliği enjektör yardımı ile alınarak içerisinde 3 ml fetal dana serumu bulunan santrifüj tüplerine alındı.

Femur kemiklerinden birine ait olan örnekler, 1100 devirde 10 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatant kısmı atıldı. Daha sonra 37° C'ye ayarlanmış etüvde 0.075 M 5 ml KCI solüsyonu 30 dakika süre ile ısıtıldı. Hücreler ısıtılan hipotonik çözeltide 20-30 dakika süre ile inkübe edildi. Yapılan inkübasyon sonrası tekrar 1100 devirde 10 dakika boyunca hücreler santrifüj edildi ve süpernatant kısmı atıldı.

Hücreler çalışmadan 1 gün önce hazırlanan, soğuk 5 ml Carnoy's (metanol:glasiyel asetik asit 3:1) çözelti içerisinde fikse edildi. Bu aşamadan sonra tekrar santrifüj yapılarak süpernatant kısmı atıldı. Daha sonra 3 kez fiksasyon işlemi tekrarlanarak, tüp içerisinde 0,5 ml kalacak şekilde süpernatant kısmı atıldı. Dipte kalan hücreler, pastör pipeti yardımıyla süspanse edildi ve nemli temiz lamlara 3-4 cm yukarıdan damlatılarak yayıldı. Mitotik aktivite ve kromozomal aberasyon için metafaz preparatları Preston'a göre laboratuvar ve çalışma koşullarımız göz önünde bulundurularak yapılmıştır [104].

### Boyama İşlemi

Preparatlar yayma işlemi yapıldıktan sonra oda sıcaklığında 24 saat kurutularak 10 dakika % 10'luk giemsa boyası ile boyandı. Tekrar kurutulmaya bırakılan preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirildi. Yapılan mikroskopik incelemeler Olympus CX21 marka ışık mikroskopunun 100X10'luk obje büyütmesi ile her fareden mitotik aktivite için rastgele 1000 adet hücre sayımı yapıldı. Kromozomal aberasyonun tespit edilmesi için ise her fareden rastgele 100 adet metafaz incelendi. Yapılan sayımlarda metafaz safhasında olan hücrelerin sayıları ve kromozom hasarları tespit edilerek istatistiksel olarak sonuçlar belirlendi.

### **2.2.2. Mikronükleus Frekans Testi**

Çalışmada mikronükleus testi için kemik iliği kullanıldı. Çıkarılan femur kemikleri kromozomal aberasyonda olduğu gibi kaslardan iyice temizlenerek iki uçtan kesildi. Kemik iliği enjektör yardımı ile içerisinde 3 ml fötal dana serumu bulunan santrifüj tüpüne alındı. 2000 devirde 5 dakika boyunca santrifüj edilen tüpler çıkarıldıktan sonra



süpernatant alınarak geriye kalan kısım üzerine bir damla fetal dana serumu konuldu ve süspansiyon edildi.

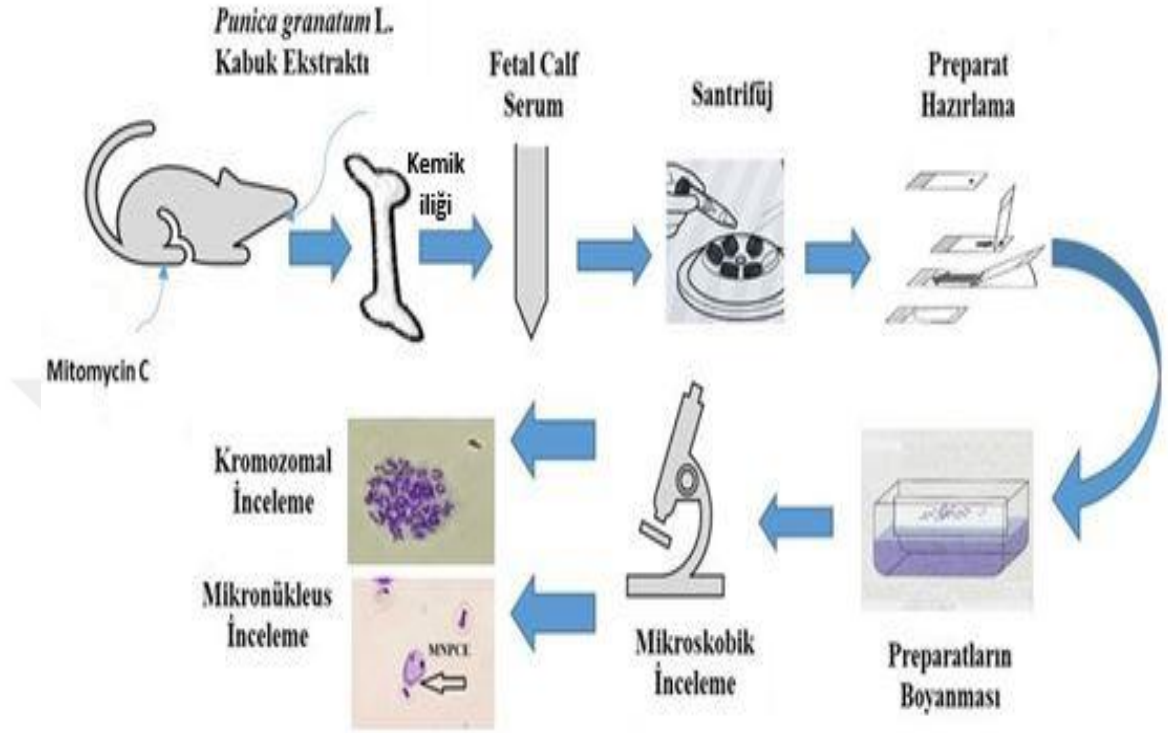
Tüplerden alınan birer damla örnekler nemli ve temiz lamalar üzerine konularak yayma yapıldı. Hazırlanan preparatlar kurutulduktan sonra metil alkolde 10 dakika fikse edildi. İncelemeye aldığımız kemik iliği preparatları 1975 yılında Schmid tarafından geliştirilmiş olup, çalışma koşullarımızın kaynağı olmuştur [105].

### Boyama İşlemi

Fikse edilen preparatlar ilk aşamada 5 dakika boyunca % 0,25'lik May Grünwald boyası ile boyandıktan sonra distile suda yıkandı. İkinci aşamada ise yine 5 dakika boyunca % 0,125'lik May Grünwald boyası ile boyanarak tekrar distile suda yıkandı. Preparatlar son aşamada ise 30 dakika % 20'lik Giemsa boyası ile boyandıktan sonra tekrar distile sudan geçirilerek kurumaya bırakıldı. Boyama aşaması biten preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirildi. Mikronükleus tespitinde Olympus CX21 marka ışık mikroskopunda 100X10'lu obje ile her fareye ait preparatlardan rastgele 2000 adet PCE sayılarak MNPCE sayıları, 1000 adet PCE ve NCE sayılarak PCE/NCE yüzdeleri belirlendi.

### İstatistik Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için SPSS 22 paket programı kullanıldı. Kontrol ve deney grupları arasındaki farklılığın belirlenmesi için, tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) yapıldı ve  $p < 0.05$  istatistiksel olarak önemli kabul edildi.



**Şekil 2.1:** Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozom ve Mikronükleus İnceleme Yöntemi

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları

İçeriğindeki polifenoller sayesinde yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan nar kabuğu ekstraktının genotoksik etkilere sahip olan mitomycin-C'nin dişi fare (*Mus musculus* var. *albinos*) kemik iliği hücrelerindeki, kromozomal aberasyon ve mitotik aktivite üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını belirlemek için her grupta 8 hayvan olmak üzere 6 grup oluşturuldu. Gruplar; negatif kontrol grubu, mitomycin-C grubu, 150 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubu, 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubu, 150 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı + mitomycin-C grubu ve 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı + mitomycin-C grubu, olmak üzere 6 grup olarak belirlendi.

Negatif kontrol olarak belirlenen gruba 15 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile, 150 mg/kg-300 mg/kg olarak belirlenen *P. granatum* kabuk ekstraktı grubundaki hayvanlara ise 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Ayrıca pozitif kontrol grubu ve 150 mg/kg-300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı verilen gruptaki hayvanlara 2 mg/kg dozda mitomycin-C, servikal dislokasyondan 24 saat önce intraperitoneal olarak uygulandı.

Doz gruplarının her birinden beş preparat hazırlandı. Her örneğe ait elde edilen preparatlardan metafaz safhasında olan toplam 100 hücre sayıldı. Bu 100 hücre içerisinde gözlemlenen yapısal kromozomal aberasyon oranları belirlenerek, Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.1:** Kontrol ve Deney Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları

Kontrol ve Deney Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları					
GRUPLAR	KK	Kk	KKB	F	TOPLAM
NK	-	1	1	1	3
MMC	30	36	28	40	134
150 mg/kg PG	-	1	2	1	4
150 mg/kg PG +MMC	19	30	17	20	86
300 mg/kg PG	-	-	3	1	4
300 mg/kg PG +MMC	14	28	10	11	63

\***NK:** Negatif Kontrol Grubu, **MMC:** Mitomycin-C, **PG:** *P. granatum* L., **KK:** Kromozom kırığı, **Kk:** Kromatid kırığı, **KKB:** Kardeş kromatid birleşimi, **F:** Fragment

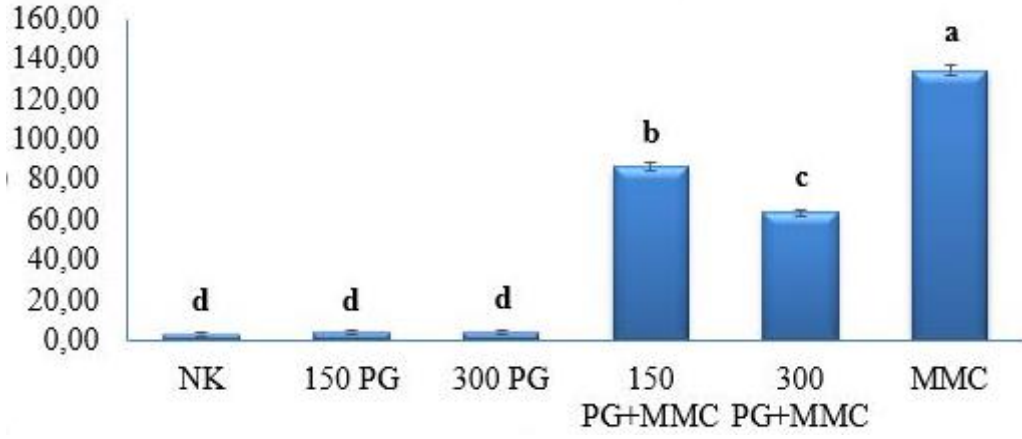
İncelemeler sonucunda gruplar arasında yapılan istatistiki verilere göre; kromozomal aberasyon oranları bakımından gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, MMC grubundaki kromozomal aberasyon oranının maksimum seviyede olduğu, MMC ile birlikte 150 mg/kg ve 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı uygulamasına bağlı olarak ise bu oranın azaldığı, ayrıca MMC ile birlikte uygulanan *P. granatum* kabuk ekstraktının doz artışına bağlı olarak bu düşüşü önemli ölçüde arttırdığı belirlendi ( $p<0.001$ ) (Tablo 3.2, Şekil 3.1).

**Tablo 3.2:** Kontrol ve Deney Gruplarına ait Kromozomal Aberasyon İstatistik Sonuçları

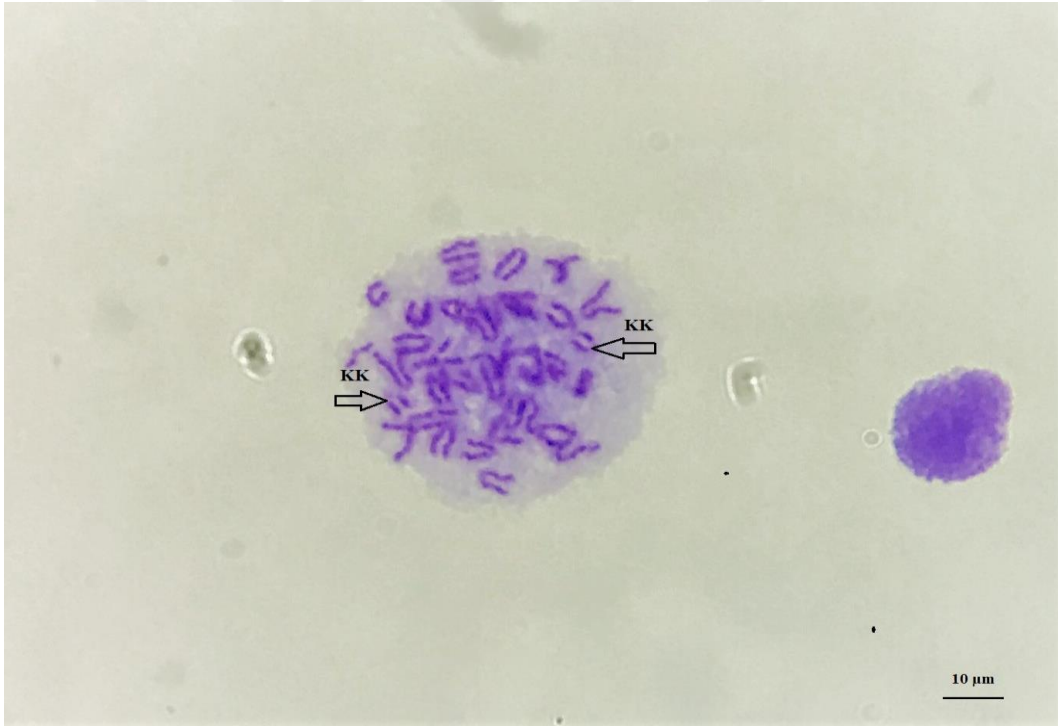
	NK	150 PG	300 PG	150 PG + MMC	300 PG + MMC	MMC	P Değeri
Kromozomal Aberasyon	3.00±0.76 <sup>d</sup>	4.00±1.07 <sup>d</sup>	4.00±1.07 <sup>d</sup>	86.13±2.03 <sup>b</sup>	63.25±1.67 <sup>c</sup>	134.00±2.45 <sup>a</sup>	0.001

\* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir.

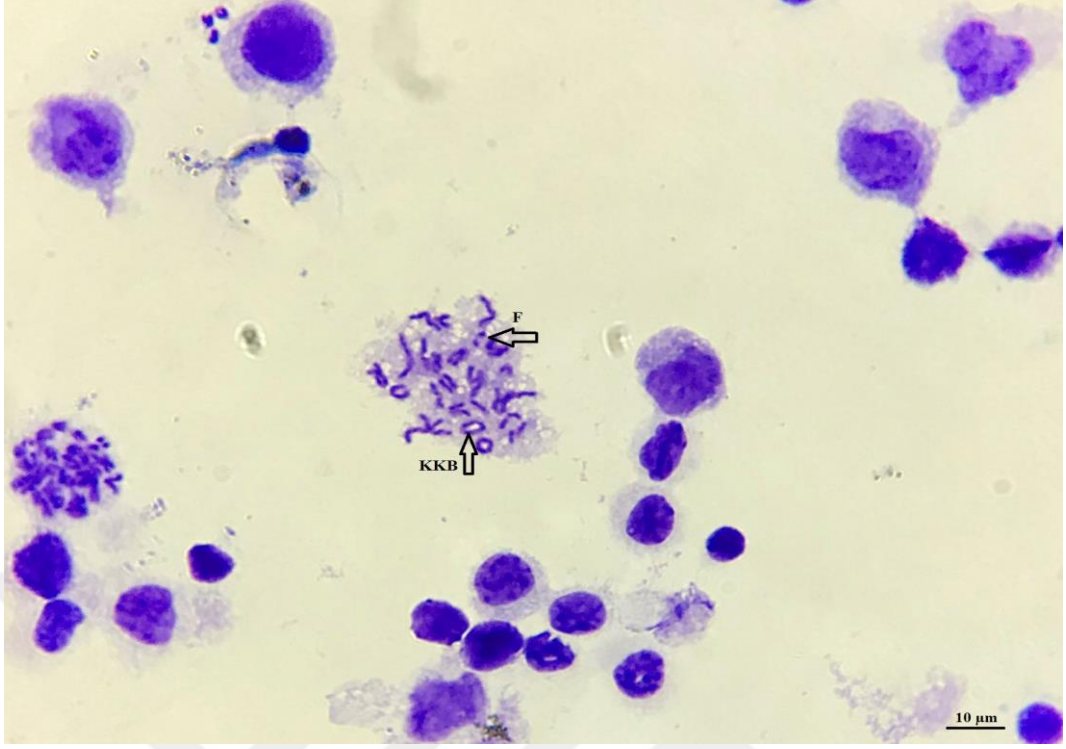
## Kromozomal Aberasyon



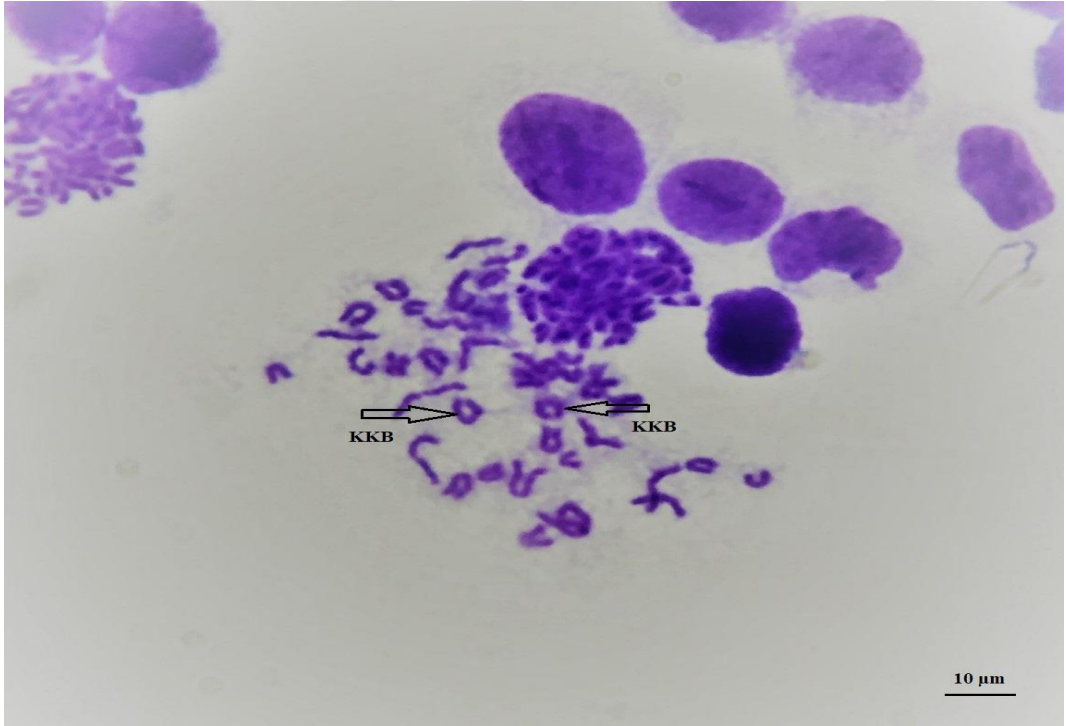
**Şekil 3.1:** Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait Kromozomal Aberasyon Oranları



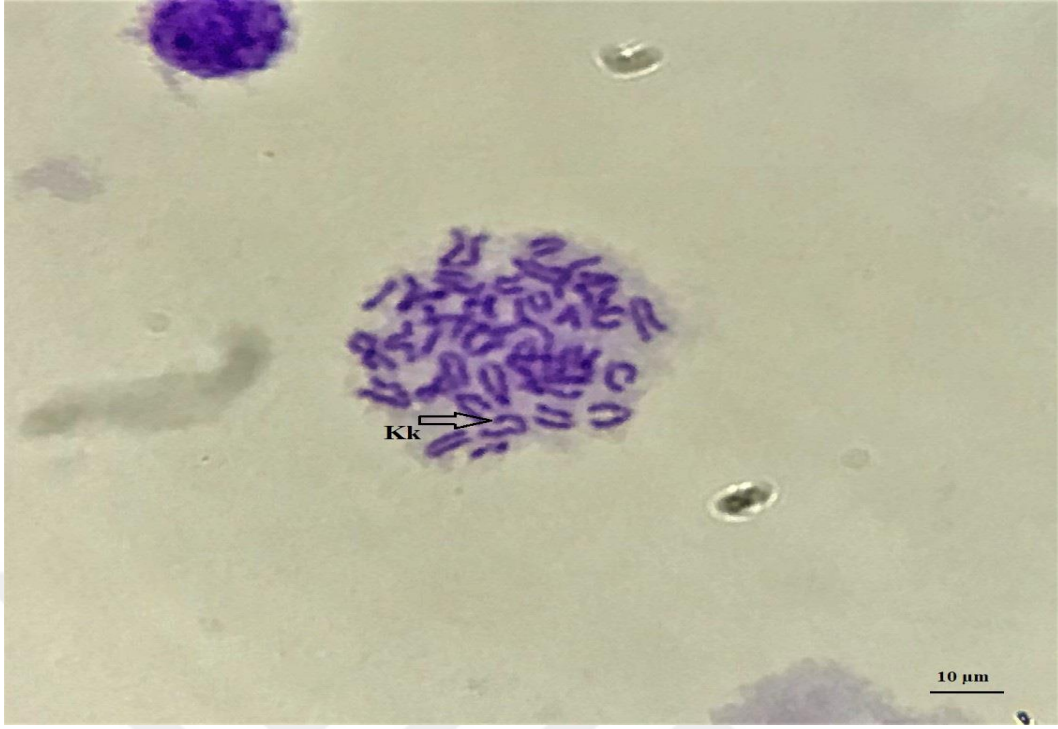
**Resim 3.1:** Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromozom Kırığı Görüntüsü (KK) (x1000)



**Resim 3.2:** Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Fragment (F) ve Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB) Görüntüsü (x1000)



**Resim 3.3:** Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB) Görüntüsü (x1000)



**Resim 3.4:** Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromatid Kırığı (Kk) Görüntüsü (x1000)

### **3.2. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları**

Her hayvandan beş preparat hazırlandı. Hazırlanan kemik iliği preparatlarından her hayvanda rastgele 1000 hücre sayıldı. Metafaz evresindeki hücreler sayılarak mitotik aktivite oranları tespit edildi (Tablo 3.3).

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için SPSS 22 paket programı kullanıldı. Kontrol ve Deney grupları arasındaki farklılığın belirlenmesi için, tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) yapıldı ve  $p < 0.05$  istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

**Tablo 3.3:** Kontrol ve Deney Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

Gruplar	Denek Sayısı	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Grup ortalaması	Metafaz hücre oranı ortalaması (%)
Negatif kontrol	8	8000	7686	314	39,25	3,925
MMC	8	8000	7870	130	16,25	1,625
150 mg/kg PG	8	8000	7688	312	39,00	3,900
150 mg/kg PG+MMC	8	8000	7831	169	21,12	2,110
300 mg/kg PG	8	8000	7691	309	38,625	3,862
300 mg/kg PG+MMC	8	8000	7835	165	20,62	2,062

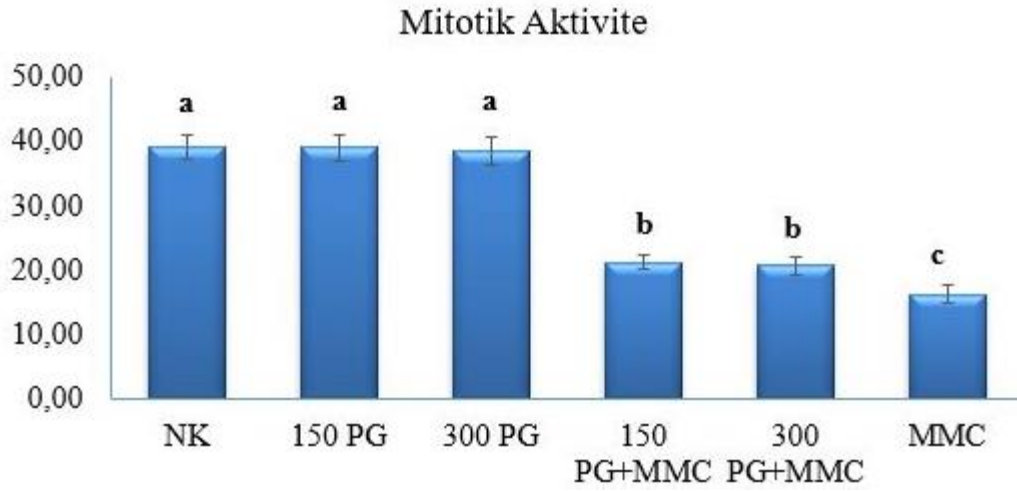
Mitotik aktivite sonuçlarının gruplarda kıyaslanmasına göre, MMC uygulamasının mitotik aktiviteyi düşürdüğü gözlemlenirken, MMC ile birlikte *P. granatum* kabuk ekstraktının uygulanan gruplarda ise bu oranın MMC grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı tespit edildi ( $p<0.001$ ) (Tablo 3.4, Şekil 3.2).

**Tablo 3.4:** Kontrol ve Deney Gruplarına ait Mitotik Aktivite İstatistik Sonuçları

	NK	150 PG	300 PG	150PG+ MMC	300 PG+ MMC	MMC	P Değeri
Mitotik Aktivite	39.25±1.83 <sup>a</sup>	39.00±2.00 <sup>a</sup>	38.63±2.00 <sup>a</sup>	21.13±1.13 <sup>b</sup>	20.63±1.41 <sup>b</sup>	16.25±1.28 <sup>c</sup>	0.001

\* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir.





**Şekil 3.2:** Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait Mitotik Aktivite Oranları

### 3.2.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

Kontrol grubunda bulunan farelere 15 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlendi. Kontrol grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları Tablo 3.5’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.5:** Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

Negatif Kontrol Grubu				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	960	40	4,0
2	1000	960	40	4,0
3	1000	963	37	3,7
4	1000	961	39	3,9
5	1000	959	41	4,1
6	1000	958	42	4,2
7	1000	963	37	3,7
8	1000	962	38	3,8
<b>Grup Ortalaması</b>			<b>39,25</b>	<b>3,925</b>

### 3.2.2. Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

Pozitif kontrol olarak belirlenen mitomycin-C grubundaki farelere 15 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile verildi. Servikal dislokasyondan 24 saat önce 2 mg/kg dozda mitomycin-C intraperitoneal olarak verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlendi. Pozitif kontrol (Mitomycin-C) grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları Tablo 3.6’da gösterilmiştir.

**Tablo 3.6:** Pozitif Kontrol (Mitomycin-C) Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

Pozitif Kontrol (Mitomycin-C)				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	983	17	1,7
2	1000	985	15	1,5
3	1000	986	14	1,4
4	1000	984	16	1,6
5	1000	982	18	1,8
6	1000	983	17	1,7
7	1000	984	16	1,6
8	1000	983	17	1,7
Grup Ortalaması			16,25	1,625

### 3.2.3. 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

150 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlendi. 150 mg/kg nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları, Tablo 3.7’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.7:** 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	961	39	3,9
2	1000	960	40	4,0
3	1000	958	42	4,2
4	1000	959	41	4,1
5	1000	962	38	3,8
6	1000	964	36	3,6
7	1000	963	37	3,7
8	1000	961	39	3,9
Grup Ortalaması			39	3,9

#### 3.2.4. 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

150 mg/kg nar kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Ayrıca servikal dislokasyondan 24 saat önce 2 mg/kg dozda mitomycin-C intraperitoneal yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan, mitotik aktivite grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlendi. 150 mg/kg nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı + mitomycin-C grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları, Tablo 3.8’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.8:** 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	980	20	2,0
2	1000	979	21	2,1
3	1000	980	20	2,0
4	1000	977	23	2,3
5	1000	978	22	2,2
6	1000	978	22	2,2
7	1000	979	21	2,1
8	1000	980	20	2,0
Grup Ortalaması			21,125	2,11

### 3.2.5. 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

300 mg/kg nar kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlendi. 300 mg/kg nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları, Tablo 3.9’da gösterilmiştir.

**Tablo 3.9:** 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	959	41	4,1
2	1000	964	36	3,6
3	1000	965	35	3,5
4	1000	961	39	3,9
5	1000	961	39	3,9
6	1000	962	38	3,8
7	1000	960	40	4,0
8	1000	959	41	4,1
Grup Ortalaması			38,625	3,862

### 3.2.6. 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

300 mg/kg nar kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Ayrıca servikal dislokasyondan 24 saat önce 2 mg/kg dozda mitomycin-C intraperitoneal yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan, mitotik aktivite grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlendi. 300 mg/kg nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı grubu + mitomycin-C için elde edilen mitotik aktivite oranları Tablo 3.10’da gösterilmiştir.

**Tablo 3.10:** 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	980	20	2,0
2	1000	981	19	1,9
3	1000	979	21	2,1
4	1000	978	22	2,2
5	1000	977	23	2,3
6	1000	979	21	2,1
7	1000	980	20	2,0
8	1000	981	19	1,9
Grup Ortalaması			20,625	2,0625

### 3.3. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Frekansları

Yüksek antioksidan aktiviteye sahip olan nar kabuğu ekstraktının, genotoksik etkilere sahip olan mitomycin-C'nin dişi fare (*Mus musculus* var. *albinos*) kemik iliği hücrelerinde sitotoksiste üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını belirlemek için her grupta 8 hayvan olmak üzere 6 grup oluşturuldu.

Gruplar; negatif kontrol grubu, mitomycin-C grubu, 150 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubu, 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubu, 150 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı + mitomycin-C grubu ve 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı + mitomycin-C grubu, olmak üzere 6 grup olarak belirlendi.

Negatif kontrol olarak belirlenen gruba 15 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile, 150 mg/kg-300 mg/kg olarak belirlenen *P. granatum* kabuk ekstraktı grubundaki hayvanlara ise 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Ayrıca pozitif kontrol grubu ve 150 mg/kg-300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı verilen gruptaki hayvanlara 2 mg/kg dozda mitomycin-C servikal dislokasyondan 24 saat önce intraperitoneal olarak uygulandı.

Mikronükleus testi için hazırlanan kemik iliği preparatlarından her hayvana ait beş adet preparat hazırlandı. Toplam olarak bir hayvandan 2000 adet PCE hücre sayımı yapılarak mikronükleus frekansları belirlendi (Tablo 3.11).

**Tablo 3.11:** Kontrol ve Deney Gruplarının Mikronükleus Test Sonuçları

Gruplar	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE (%)	Grup Ortalaması	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
Negatif kontrol	16000	318	1,987	39,75	8000	5517	2483	2,21
MMC	16000	757	4,730	94,62	8000	3895	4105	0,94
150 mg/kg PG	16000	329	2,056	41,12	8000	5374	2626	2,04
150 mg/kg PG+MMC	16000	565	3,531	70,62	8000	4121	3879	1,05
300 mg/kg PG	16000	331	2,060	41,37	8000	5437	2563	2,11
300 mg/kg PG+MMC	16000	482	3,012	60,25	8000	4731	3269	1,44

\* **MNPCE:** Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit, **PCE:** Polikromatik Eritrosit, **NCE:** Normokromatik Eritrosit,

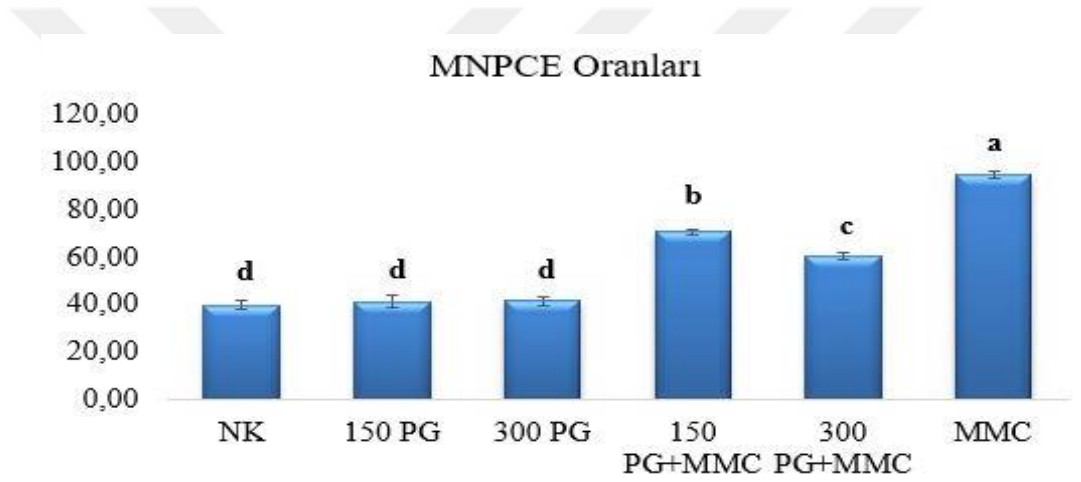
MNPCE oranları incelendiğinde ise diğer parametrelerde olduğu gibi MMC uygulanan gruptaki hayvanların MNPCE oranlarının artış gösterdiği ve *P. granatum* kabuk ekstraktı uygulamasıyla da bu artışın azaldığı, uygulanan *P. granatum* kabuk ekstraktının doz artışına bağlı olarak bu düşüşün paralellik gösterdiği gözlemlendi ( $p<0.001$ ) (Tablo 3.12, Şekil 3.3).

PCE/NCE oranlarına bakıldığında MMC grubunun diğer gruplara göre düşük seviyelerde olduğu, *P. granatum* kabuk ekstraktı uygulanan MMC gruplarında ise bu oranın artmaya başladığı, *P. granatum* kabuk ekstraktının doz artışıyla da doğru orantılı olarak bu oranın arttığı ve istatistiksel olarak önemli olduğu saptandı ( $p<0.001$ ) (Tablo 3.12, Şekil 3.4).

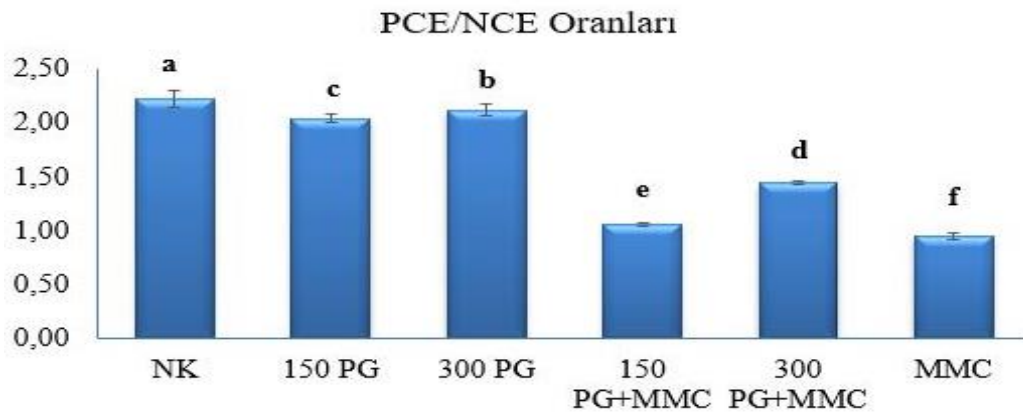
**Tablo 3.12:** Kontrol ve Deney Gruplarına ait Mikronükleus ve PCE/NCE Oranlarının İstatistikî Sonuçları

	NK	150 PG	300 PG	150PG + MMC	300PG + MMC	MMC	P Değeri
<b>PCE/NCE Oranları</b>	2.22±0.08 <sup>a</sup>	2.04±0.04 <sup>c</sup>	2.12±0.06 <sup>b</sup>	1.06±0.01 <sup>e</sup>	1.44±0.02 <sup>d</sup>	0.94±0.03 <sup>f</sup>	0.001
<b>MNPCE Oranları</b>	39.75±1.67 <sup>d</sup>	41.13±2.42 <sup>d</sup>	41.38±1.69 <sup>d</sup>	70.63±1.06 <sup>b</sup>	60.25±1.49 <sup>c</sup>	94.63±1.41 <sup>a</sup>	0.001

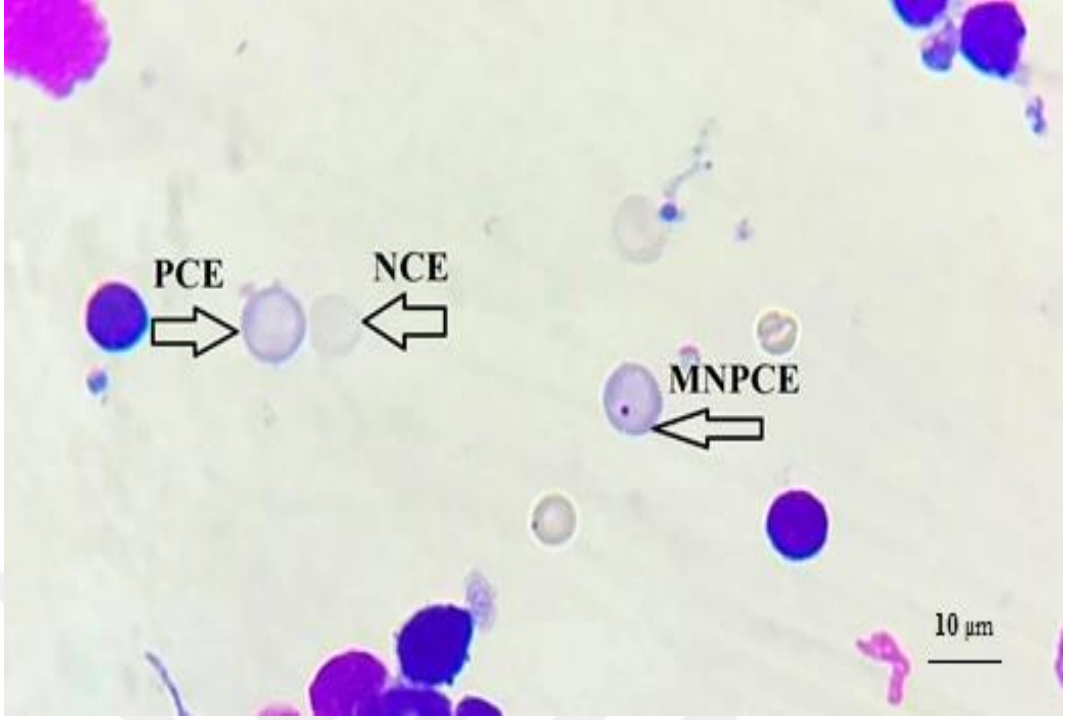
\* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir.



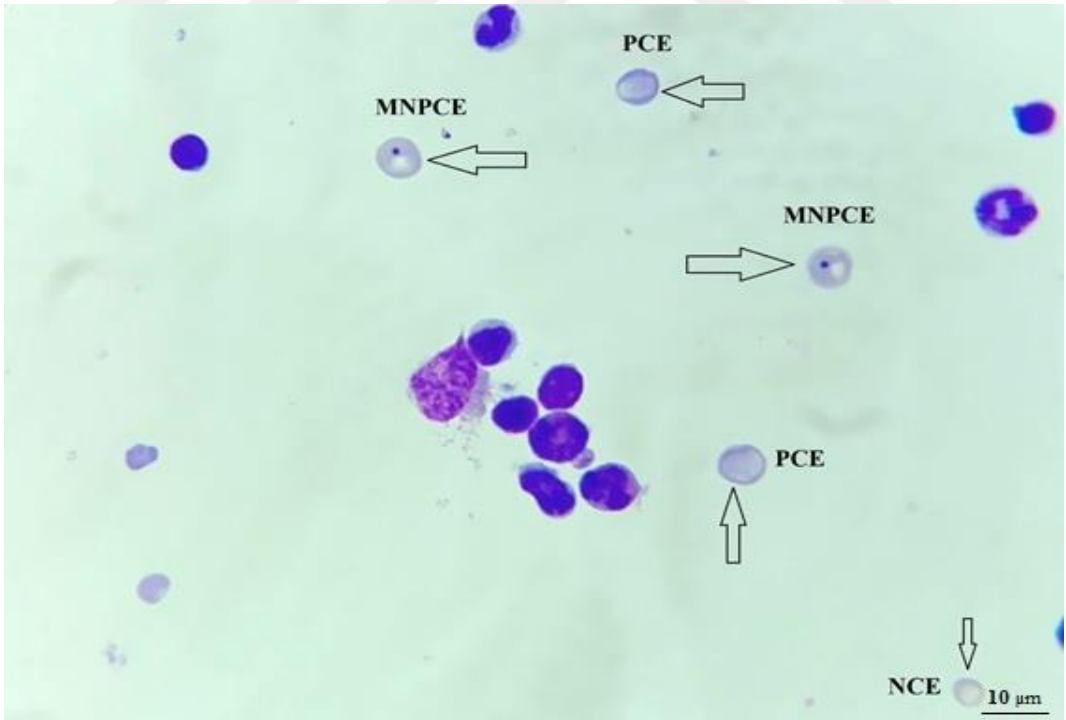
**Şekil 3.3:** Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait MNPCE Oranları



**Şekil 3.4:** Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait PCE/NCE Oranları

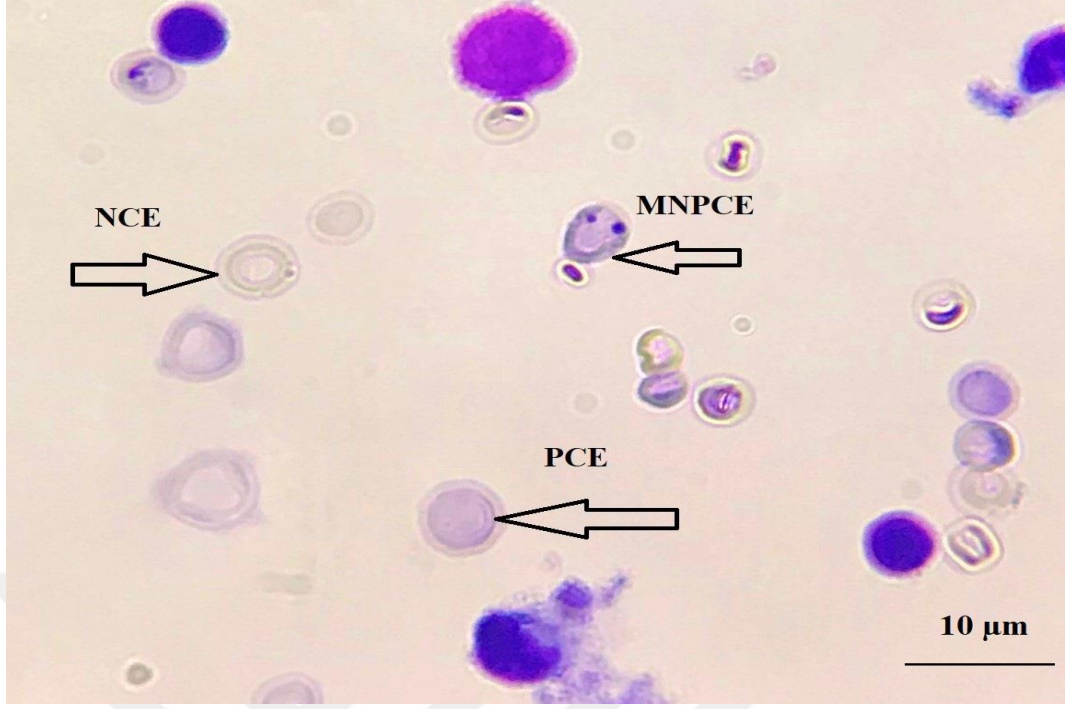


**Resim 3.5:** Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde PCE, NCE ve MNPCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü (x1000)



**Resim 3.6:** Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde PCE, NCE ve MNPCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü (x1000)





**Resim 3.7:** Deney Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde PCE, NCE ve 2 Mikronükleuslu MNPCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü (x1000)

### 3.3.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

Kontrol grubunda bulunan farelere 15 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. Kontrol grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.13'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.13:** Negatif Kontrol Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

Negatif Kontrol Grubu							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	40	2,00	1000	685	315	2,17
2	2000	41	2,05	1000	700	300	2,33
3	2000	42	2,10	1000	680	320	2,12
4	2000	38	1,90	1000	693	307	2,25
5	2000	37	1,85	1000	700	300	2,33
6	2000	39	1,95	1000	692	308	2,24
7	2000	40	2,00	1000	686	314	2,18
8	2000	41	2,05	1000	681	319	2,13
<b>Grup Ortalaması</b>		<b>39,75</b>	<b>1,9875</b>	<b>Grup Ortalaması</b>			<b>2,21</b>

### 3.3.2. Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

Pozitif kontrol olarak belirlenen mitomycin-C grubundaki farelere 15 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile verildi. Servikal dislokasyondan 24 saat önce 2 mg/kg dozda mitomycin-C intraperitoneal olarak verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. Mitomycin-C grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.14’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.14:** Mitomycin-C Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

Pozitif Kontrol (Mitomycin C)							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	93	4,65	1000	489	511	0,95
2	2000	97	4,85	1000	496	504	0,98
3	2000	95	4,75	1000	475	525	0,90
4	2000	94	4,70	1000	483	517	0,93
5	2000	93	4,65	1000	484	516	0,93
6	2000	96	4,80	1000	486	514	0,94
7	2000	95	4,75	1000	495	505	0,98
8	2000	94	4,70	1000	487	513	0,94
<b>Grup Ortalaması</b>		<b>94,625</b>	<b>4,73</b>	<b>Grup Ortalaması</b>			<b>0,94</b>

### 3.3.3. 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. 150 mg/kg nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.15’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.15:** 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	45	2,25	1000	663	337	1,96
2	2000	40	2,00	1000	678	322	2,10
3	2000	39	1,95	1000	673	327	2,05
4	2000	41	2,05	1000	669	331	2,02
5	2000	44	2,20	1000	670	330	2,03
6	2000	40	2,00	1000	672	328	2,04
7	2000	38	1,90	1000	675	325	2,07
8	2000	42	2,10	1000	674	326	2,06
Grup Ortalaması		41,125	2,056	Grup Ortalaması		2,04	

### 3.3.4. 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Ayrıca servikal dislokasyondan 24 saat önce 2 mg/kg dozda mitomycin-C intraperitoneal yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı + mitomycin-C grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.16’da gösterilmiştir.

**Tablo 3.16:** 150 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	71	3,55	1000	513	487	1,05
2	2000	70	3,50	1000	517	483	1,07
3	2000	72	3,60	1000	512	488	1,04
4	2000	70	3,50	1000	519	481	1,07
5	2000	71	3,55	1000	514	486	1,05
6	2000	72	3,60	1000	513	487	1,05
7	2000	70	3,50	1000	515	485	1,06
8	2000	69	3,45	1000	518	482	1,07
<b>Grup Ortalaması</b>		<b>70,625</b>	<b>3,531</b>	<b>Grup Ortalaması</b>			<b>1,05</b>

### 3.3.5. 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.17’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.17:** 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) Kabuk Ekstraktı							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	40	2,00	1000	672	328	2,04
2	2000	42	2,10	1000	681	319	2,13
3	2000	42	2,10	1000	689	311	2,21
4	2000	40	2,00	1000	674	326	2,06
5	2000	41	2,05	1000	675	325	2,07
6	2000	44	2,20	1000	685	315	2,17
7	2000	39	1,95	1000	681	319	2,13
8	2000	43	2,15	1000	680	320	2,12
<b>Grup Ortalaması</b>		<b>41,375</b>	<b>2,06</b>	<b>Grup Ortalaması</b>			<b>2,11</b>

### 3.3.6. 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı grubundaki farelere 15 gün boyunca ekstrakt oral gavaj yol ile verildi. Ayrıca servikal dislokasyondan 24 saat önce 2 mg/kg dozda mitomycin-C intraperitoneal yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) kabuk ekstraktı + mitomycin-C grubu için elde edilen mikronükleus oranları Tablo 3.18’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.18:** 300 mg/kg Nar (*P. granatum* L.) Kabuk Ekstraktı + Mitomycin-C Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

300 mg/kg Nar ( <i>P. granatum</i> L.) + Mitomycin-C							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	62	3,10	1000	586	414	1,41
2	2000	59	2,95	1000	593	407	1,45
3	2000	60	3,00	1000	596	404	1,47
4	2000	61	3,05	1000	591	409	1,44
5	2000	58	2,90	1000	592	408	1,45
6	2000	61	3,05	1000	595	405	1,46
7	2000	62	3,10	1000	590	410	1,43
8	2000	59	2,95	1000	588	412	1,42
<b>Grup Ortalaması</b>		<b>60,25</b>	<b>3,012</b>	<b>Grup Ortalaması</b>		<b>1,44</b>	

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

*P. granatum*, tohum, su ve kabuk kısımlarından oluşan bir meyvedir. Birçok çalışma ile *P. granatum*'un farmakolojik ve terapötik etki mekanizmaları ortaya konmuştur. Flavonoid polifenoller ve fenolik asitler bakımından oldukça zengin olan *P. granatum* aynı zamanda tanenler de içermektedir [106-108].

Geçmişten günümüze kadar yapılan çeşitli çalışmalarda *P. granatum*'un, antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antidiyabetik, antihelmintik, antidiyaretik ve antineoplastik özellikleri belirlenmiştir. *P. granatum* meyvesinin çeşitli kısımlarında bulunan fenolik bileşiklerden dolayı tümörün metastazı önlemesi ve antikarsinojenik etki gösterdiği de bilinmektedir [106, 109-113].

Genetik materyalde meydana gelen defektlerin belirlenebilmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu analiz yöntemleri birçok mutajenin DNA üzerindeki hasar oluşturma risklerinin, bununla birlikte genotoksik etkilerinin ortaya çıkarılmasında çoğunlukla kullanılan kısa süreli yöntemlerdir. Bu yöntemler içerisinde en çok kullanılanlar; mikronükleus, kromozomal aberasyon, ames, comet assay ve kardeş kromatid değişimi test yöntemleridir [114 -120].

Genetik materyalde oluşan hasarlara karşı çeşitli bileşikler ile canlının savunma sistemlerini geliştirmek oldukça önemlidir. Çeşitli oksijen radikalleri oluşturan kanserojen ve mutajen maddeler genetik materyal olan DNA üzerinde hasarlara neden olmaktadır. Bu nedenle antikanserojenik ve antimutajenik olarak bilinen bileşikler serbest radikalleri ortadan kaldıran antioksidan ve serbest radikalleri süpürücü etkiye sahip maddelerdir [121-124].

Fiziksel ve kimyasal maddelerin DNA'da oluşturduğu genotoksik etkileri minimum seviyede tutmak için, son zamanlarda yapılan çalışmalarla doğal bitkisel ürünlerin antigenotoksik etkilerinin araştırılması doğal antioksidanların önemini arttırmıştır [121]. İnsanlar, vücutlarında bulunan doğal antioksidanlar sayesinde maruz kaldıkları mutajen maddelerin olumsuz etkilerine karşı koymaktadırlar. Vücutta bulunan doğal antioksidanların üretimi yaş ilerlemesine bağlı olarak yavaşlamaktadır. Bundan dolayı insanlar antioksidan takviyesine ihtiyaç duymaktadırlar. Canlı vücudunda meydana

gelen genotoksik ajanların DNA'da oluşturduğu hasarların etkilerini minimize etmek için çeşitli antigenotoksik bileşiklerin kullanımının artırılması, mutasyonlar sonucunda meydana gelen kanser gibi hastalıklardan korunmada çok önemli olduğu bildirilmektedir. Çeşitli *in vivo* çalışmalar, *P. granatum* içeriğinde, yüksek miktarda antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin varlığını ortaya çıkarmıştır. Bu yararlı antioksidanlar polifenol olarak bilinmekle beraber vücuttaki serbest radikallere karşı güçlü bir savunmacıdır [5, 122, 125-127].

Valadares ve ark. yaptıkları bir *in vivo* çalışmada *P. granatum* yaprak ve meyvesinden alınan etanol ekstraktının, alkilleyici ajan olarak bilinen siklofosfamid genotoksisitesi üzerine antigenotoksik etkilerini fareler üzerinde mikronükleus test yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmada *P. granatum* yaprak ve meyve ekstraktı 10 gün boyunca oral gavaj yol ile 12.5, 25, 50 ve 75 mg/kg dozlarında farelere verilmiştir. Servikal dislokasyondan 24 saat önce ise 200 mg/kg siklofosfamid intraperitoneal yol ile farelere enjekte edilmiştir. Bu çalışma sonucuna göre yalnızca *P. granatum* verilen gruptaki farelerde herhangi bir mutajenik etkiye rastlanmamıştır. Siklofosfamid ile oluşturulan DNA hasarına karşı ise 50 ve 75 mg/kg *P. granatum* meyve ekstraktının DNA'da oluşan hasarları önemli derecede inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak *P. granatum* yaprak ve tüm meyve ekstraktının herhangi bir mutajenik etkiye sahip olmadığını ve siklofosfamid ile indüklenen oksidatif DNA hasarına karşı ise *P. granatum*'un doza bağlı olarak koruyucu etki gösterdiği literatür bilgisine kazandırılmıştır [128].

Abdou ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada *P. granatum* kabuk ve tohum ekstraktının, CCl<sub>4</sub> genotoksisitesi üzerindeki inhibe etkisi ratlar üzerinde araştırılmıştır. Bu çalışmada testislerin kromozomal sapmaları, sperm anomalileri, moleküler analizler ve nükleik asit tayini kullanılmıştır. Sonuçlar CCl<sub>4</sub>'ün kromozomal bozuklukları arttırdığı, sperm anomalilerine yol açtığı ve amplifiye fragman DNA sayısı olarak genotoksisite ürettiği aynı zamanda toplam çözünebilir protein içeriğini azalttığını belgelemiştir. Fakat CCl<sub>4</sub> genotoksisitesi üzerine, *P. granatum* çekirdeği ekstraktı verilen grupta, *P. granatum*'un genotoksisiteyi önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak CCl<sub>4</sub> genotoksisitesine karşı antigenotoksik etki gösteren *P. granatum* kabuk ve tohum ekstraktının, bu koruyucu etkisini içeriğinde bulunan

antioksidanlar ve serbest radikallere karşı savunucu olmasından kaynaklandığı algısını oluşturmuştur [129].

Al-Megrin yaptığı bir *in vivo* çalışmada, farelerde *Giardia lamblia* tarafından oluşturulan enfeksiyona karşı *P. granatum* kabuk ekstraktını uygulamıştır. Farelere  $10^5$ /mL enjekte edilen *Giardia lamblia* kisti üzerine 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı gavaj yol ile verilmiştir. Sonuç olarak fare dışkıları incelendiğinde mevcut bulgular, *Giardia lamblia* enfeksiyonuna karşı *P. granatum* kabuk ekstraktının iyileştirici etkisi gözlemlenmiştir [130].

Gharzouli ve ark. fareler üzerinde yaptığı bir deneyde etanol ile oluşturulan gastrik hasara karşı *P. granatum* kabuk ekstraktının mide koruyucu etkisini araştırmışlardır. 5 ile 50 mg/kg gavaj yolu ile verilen *P. granatum* kabuk ekstraktının farelerde oluşturulan mide hasarlarına karşı koruyucu etki gösterdiği gözlemlenmiştir [131]. Yine bu çalışmaya benzer bir deney ise Ajaikumar ve ark. tarafından yapılmıştır. Yapılan *in vivo* çalışma, etanol ve aspirin ile oluşturulan gastrik ülserlere karşı *P. granatum* kabuk ekstraktının koruyucu etkisi araştırılmıştır. Sunulan bu çalışmada *P. granatum* kabuk ekstraktının dozları 250 mg/kg ve 500 mg/kg şeklinde oral gavaj yol ile uygulanmıştır. Çalışma sonucuna göre *P. granatum* kabuk ekstraktının gastroprotektif etkisi olduğu ve bu etkinin antioksidan etkisinden kaynaklandığı bildirilmiştir [132].

Hussein ve ark. erkek albino fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, malathion ve atrazin pestisitlerinin neden olduğu genotoksisiteye karşı *P. granatum* kabuk ekstraktının antigenotoksik etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada comet assay analiz yöntemini kullanan araştırmacılar 30 gün boyunca yaptıkları bu deneyde kullandıkları maddeleri oral gavaj yol ile vermişlerdir. Bu çalışmada alınan sonuçlar *P. granatum* kabuk ekstraktının, tek başına malathion ve atrazin pestisitlerinin genotoksisitesine karşı önemli ölçüde antigenotoksik etki göstermediğini rapor etmişlerdir [133].

Karwasra ve ark. kemoterapotik bir ajan olan cisplatinin nefrotoksisitesi üzerine *P. granatum* kabuk ekstraktını ratlar üzerinde araştırmışlardır. Çalışmada intraperitoneal yolla  $8 \text{ mg/kg}^{-1}$  verilen Cisplatin'e karşı *P. granatum* kabuk ekstraktını 50, 100, 200  $\text{mg/kg}^{-1}$  olarak oral gavaj yol ile uygulamışlardır. Bu çalışma sonucunda *P. granatum* kabuk ekstraktının, cisplatinin oluşturduğu böbrek hasarına karşı, apoptoz, oksidatif



stres ve inflamasyonu azalttığı dolayısı ile renoprotektif etki gösterdiğini rapor etmişlerdir [134].

Mestyr ve ark. yaptıkları çalışmada streptozotocin (STZ) ile deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlar üzerine, *P. granatum* metanolik yaprak ekstraktı uygulaması yapmışlardır. Bu çalışmada tek doz olarak 45 mg/kg intraperitoneal yol ile verilen STZ üzerine 2 ay boyunca oral gavaj yol ile 100, 200 ve 400 mg/kg *P. granatum* yaprak ekstraktı verilmiştir. Deney sonucuna göre *P. granatum* yaprak ekstraktının antioksidan, antihiperglisemik ve antiglikasyon özellikler göstererek diyabetli ratlar üzerinde önemli derecede iyileştirici etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur [135].

Padma ve ark. yaptıkları *in vivo* çalışmada çevreye ve insan sağlığına neden olan organik klorlu lindan pestisitinin böbrek ve karaciğer hücrelerinde getirdiği hasarlara karşı gallik asitin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Ratlar üzerinde yapılan bu çalışmada lindan pestisitinin uygulandığı grupta böbrek ve karaciğer dokularının hasara uğradığı sonucuna varılırken, gallik asit uygulamalarında koruyucu etki gözlemlenmiştir. Sonuç olarak lindan pestisitinin oluşturduğu oksidatif hasarlara karşı gallik asidin antioksidan etki mekanizması ile koruyucu etki gösterdiği literatür bilgisine kazandırılmıştır [136].

Malviya ve ark. nar kabuğunun antioksidan ve antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır. Farklı çözücüler kullanılarak yapılan *P. granatum* kabuk ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri en yüksek etanolik ekstraktından alınırken, antibakteriyel aktivitesi dört bakteri suşuna karşı test edilmiştir. Test edilen tüm bakterilere karşı *P. granatum* kabuğunun antibakteriyel etki gösterdiği ve yüksek fenolik içeriği bakımından önemli derecede antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir [137].

Cerda ve ark. *P. granatum* kabuğunda yüksek miktarda bulunan punicalagin ve ellagitanin bileşiklerinin herhangi bir toksik etkisinin olup olmadığı yönünde çalışma yapmışlardır. Ratlar üzerinde yapılan bu çalışmada, yaklaşık olarak % 6 punicalagin diyetlerine eklenerek 37 gün boyunca beslenmeleri sağlanmıştır. Çalışma sonucuna göre glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi enzim değerlerinde kontrol grubu ile benzerlik göstermiştir [3].

Avila ve ark. fare kemik iliğinde kromun meydana getirdiği genotoksisiteye karşı *P. granatum* meyve ekstraktının antigenotoksik etkilerini araştırmışlardır. 10 gün süre ile yapılan bu çalışmada nar meyve ekstraktı dozları 25, 50 ve 75 mg/kg olarak oral gavaj yol ile verilirken, krom dozu 30 mg/kg dozunda intraperitoneal yol ile verilmiştir. *P. granatum* meyve ekstraktının en fazla antigenotoksik etki gösterdiği dozun 50 mg/kg olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucuna göre, *P. granatum* meyve ekstraktı krom genotoksisitesi üzerine önemli derecede antigenotoksik etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir [138].

Zahin ve ark. ratlar üzerinde yaptıkları bir *in vivo* çalışmada *P. granatum* kabuğunda yüksek miktarda bulunan punicalagin ve ellajik asit bileşiklerinin olası antioksidan etkilerini Ames test yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmada mutajenite olarak benzo (a) piren ( $C_{20}H_{12}$ ) kullanılmıştır. Sonuç olarak benzo (a) piren ile oluşturulan mutajeniteye karşı *P. granatum* kabuğunda bulunan punicalagin ve ellajik asit bileşiklerinin doza bağlı olarak önemli derecede antimutajen etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir [139].

Siddique ve Afzal tarafından yapılan bir çalışmada MMC genotoksisitesine karşı apigenin antigenotoksik etkilerine fare kemik iliği hücrelerinde, kromozomal aberasyon ve kardeş kromatid değişimi analiz yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Araştırmacılar apigenin dozlarını 10, 20 ve 40 mg/kg şeklinde intraperitoneal yol ile uygulamışlar ve genotoksik olarak kullanılan MMC dozunu 2 mg/kg şeklinde vermişlerdir. Sonuç olarak, apigenin kardeş kromatid değişimi ve kromozomal aberasyon oranlarında önemli bir azalmanın var olduğunu rapor etmişlerdir [140].

Maatouk ve ark. MMC genotoksisitesi üzerine naringinin antigenotoksik etkilerini araştırmışlardır. Erkek fareler üzerinde yapılan bu çalışmada naringin dozları 20 ve 40 mg/kg şeklinde ayarlanmış ve intraperitoneal yolla termal olarak verilmiştir. Genotoksisite için kullanılan MMC ise 6 mg/kg olarak intraperitoneal yol ile farelere enjekte edilmiştir. Ames test yöntemi kullanılan çalışmada naringinin herhangi bir genotoksik etkiye sahip olmadığı, MMC tarafından oluşturulan genotoksisiteye karşı antigenotoksik etki gösterdiği yapılan bu çalışmayla literatüre kazandırılmıştır [141].

Çalışmada yapılan kromozomal aberasyon, mitotik aktivite ve mikronükleus analiz sonuçlarına göre *P. granatum* kabuk ekstraktının belirlenen dozları herhangi bir

genotoksik etki göstermemiştir. *P. granatum* kabuk ekstraktı için incelenen parametrelerin kontrol grubuna oldukça yakın değerler içerdiği gözlemlendi. Kromozomal aberasyon oranlarına bakıldığında MMC grubundaki aberasyonun en yüksek değerlere sahip olduğu ve MMC ile birlikte uygulanan 150 mg/kg ve 300 mg/kg *P. granatum* kabuk ekstraktı uygulamalarında, ekstraktın doz artışına bağlı olarak bu seviyeleri düşürdüğü belirlendi ( $p<0.001$ ).

Mitotik aktivite oranları açısından yalnızca MMC uygulanan grupta mitotik aktivite seviyesinin düşük olduğu, MMC ile birlikte uygulanan *P. granatum* kabuk ekstraktı gruplarında ise yalnız MMC uygulanan gruba göre önemli ölçüde mitotik aktivite oranını yükselttiği tespit edildi ( $p<0.001$ ).

Mikronükleus analiz incelemeler sonucuna göre PCE/NCE oranları açısından, MMC grubunda düşük seviyeler gözlemlenirken, *P. granatum* kabuk ekstraktı uyguladığımız gruplarda bu oranı arttırdığı ve bu değerlerin doz artışıyla doğru orantılı olduğu, ayrıca istatistiksel sonuçlar bakımından önemli olduğu saptandı ( $p<0.001$ ).

MNPCE oranları incelendiğinde diğer parametrelerde olduğu gibi MMC uyguladığımız grupta bulunan hayvanlarda MNPCE oranlarının yüksek değerler gösterdiği ve *P. granatum* kabuk ekstraktının bu yüksek değerler üzerinde inhibe edici etkisinin ve bu durumu doza bağlı olarak gösterdiği gözlemlendi ( $p<0.001$ ).

Ayrıca *P. granatum* bitki kısımlarının fenolik bileşiklerce zengin olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konulduğundan bu çalışmada kullanılan kabuk ekstrakt dozlarının antigenotoksik etkilerinin fenolik bileşiklerden kaynaklanabileceği, bununla birlikte *P. granatum* kabuk ekstraktının içeriğinde bulunan bileşiklerin ayrı ayrı saflaştırılarak daha ileri moleküler tekniklerle araştırılmasının literatüre önemli derecede katkı sağlayacağı kanısına varıldı.

## 5. KAYNAKLAR

- [1] Dağcı, E. K. ve Dığrak, M., (2005). Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyel ve Antifungal Aktiviteleri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi, 8, 1-8.
- [2] Dikmen, M. E., (2009). Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan İçerikleri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.
- [3] Cerda, B., Ceron, J. J., Tomas-Berberan, F. A. and Espin, J. C., (2003). Repeated Oral Administration of High Doses of the Pomegranate Ellagitannin Punicalagin to Rat for 37 Days is No Toxic. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(11), 3493-3501.
- [4] Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T., (1997). Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon. Dergisi, 3(4), 92-98.
- [5] Garcia, C. L., Filippi, S., Mosesso, P., Calvani, M., Nicolai, R., Mosconi, L. and Palitti, F., (2006). The Protective Effect of L-Carnitine in Peripheral Blood Human Lymphocytes Exposed to Oxidative Agents. Mutagenesis, 21(1), 21-27.
- [6] Ozguven, A. I. and Yılmaz, C., (2000). Pomegranate growing in Turkey, I. International Symposium on Pomegranate, Orihuela (Alicante) Spain, 42, 41-48.
- [7] Jurenka, J., (2008). Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum* L.) a review. Alternative Medicine Review, 13, 128-144.
- [8] Lansky, E. P. and Newman R. A., (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its Potential for Prevention and Treatment of Inflammation and Cancer. The Journal of Ethnopharmacology, 109(2), 177-206.
- [9] Changjiang, G., Yunfeng, L., Jijun, Y., Jingy, W. and Jing, X., (2003). Antioxidant Activities of Peel, Pulp and Seed Fractions of Common Fruits as Determined by FRAP Assay. Nutrition Research, 23(12), 1719-1726.
- [10] Siddique, Y. H., Ara, G., Beg, T., Gupta, M. and Afzal, M., (2010). Assessment of Cell Viability, Lipid Peroxidation and Quantification of DNA Fragmentation After the Treatment of Anticancerous Drug Mitomycin-C and Curcumin in Cultured Human Blood Lymphocytes. Experimental and Toxicologic Pathology, 62(5), 503-508.

- [11] Glozer, K. and Ferguson, L., (2008). Pomegranate production in Afghanistan. College of Agricultural and Environmental Sciences, 1–32 pp. Available at:<http://ip.ucdavis.EDU> (erişim tarihi: 04 Aralık 2018).
- [12] Sanchez, A. C. and Angel, A., (2017). Punicalagin the Pomegranates Natural Antioxidant Properties and Health Benefits. Universital Miguel Hernandez. 16, 13-25.
- [13] Bakır, S., (2015). Sisplatinin Sıçan Böbrek ve Karaciğer Dokusu Üzerindeki Toksik Etkisine Karşı Nar Suyu Özütünün Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Fizyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.
- [14] Karaca, E., (2011). Nar Suyu Konsantresi Üretiminde Uygulanan Bazı İşlemlerin Fenolik Bileşenler Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- [15] Langley, P., (2000). Why a Pomegranate?. British Medical Journals, 7269, 1153-1154.
- [16] Yılmaz, C., (2005). Narda Derim Öncesi Meyve Çatlamaşının Anatomisi ve Fizyolojisi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana.
- [17] Fadavi, A., Barzegar, M. and Azizi, M. H., (2006). Determination of Fatty Acids and Total Lipid Content in Oilseed of 25 Pomegranates Varieties Grown in Iran. Journal of Food Coposition and Analysis, 19(6-7), 676-680.
- [18] Heber, D., Schulman, R. N. and Seeram, P. N., (2006). Pomegranates Ancient Roots to Modern Medicine. Taylor and Francis Group, 12, 232-244.
- [19] Yaşar, M., (2008). Nar Suyuna Farklı Oranda Maltodekstrin Eklenecek Püskürtmeli Kurutucu ile Nar Suyu Tozu Elde Edilmesi Üzerine Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Şanlıurfa.
- [20] Onur, C., (1982). Akdeniz Bölgesi Narların seleksiyonu. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana.

- [21] Rosenblat, M., Volkova, N., Coleman, R. and Aviram M., (2006). Pomegranate Byproduct Administration to Apolipoprotein E-Deficient Mice Attenuates Atherosclerosis Development as a Result of Decreased Macrophage Oxidative Stress and Reduced Cellular Uptake of Oxidized Low-Density Lipoprotein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1928-1935.
- [22] Viuda-Martos, V., Fernandez-Lopez, J. and Perez-Alvarez, J. A., (2010). Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: a Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 635-654.
- [23] Baytop, T., (1999). Türkiye’de Bitkilerle Tedavi, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 305- 306.
- [24] Batta, A. K. and Rangaswami, S., (1973). Crystalline Chemical Components of Some Vegetable Drugs. *Phytochemistry*, 12(1), 214-216.
- [25] Huang, T. H. W., Peng, G., Kota, B. P., Li, G. Q., Yamahara, J. and Roufogalis, B. D., (2005). Anti-Diabetic Action of *Punica granatum* Flower Extract. Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors, 207(2), 13-17.
- [26] Manav, S., (1988). Nar (*Punica granatum* L.) Meyve Kabuklarını Eczacılıkta Değerlendirme Açısından Türkiye’de Yetişen Doğal ve Kültür Nar Çeşitlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [27] Kaya, A. and Sozer, N., (2005). Rheological Behaviour of Sour Pomegranate Juice Concentrates (*Punica granatum* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 40(2), 223–227.
- [28] Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M. and Amir, R., (2007). Antioxidant Activity, Polyphenol Content, and Related Compounds in Different Fruit Juices and Homogenates Prepared from 29 Different Pomegranate Accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9559-9570.
- [29] Rosenblat, M., Hayek, T. and Aviram, M., (2006). Anti-Oxidative Effects of Pomegranate Juice (PJ) Consumption by Diabetic Patients on Serum and on Macrophages. *Atherosclerosis*, 187(2), 363-371.

- [30] Altuğ, M., (2009). Sağlıklı Erişkinlerde Fiziksel Aktivitenin Eritrosit ve Plazmadaki Oksidan/Antioksidan Parametreler Üzerine Olan Etkilerinin Belirlenmesi ve Yüksek Antioksidan Özelliği Olduğu Bilinen Nar Suyunun bu Parametreler Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.
- [31] De Nigris, F., Williams-Ignarro, S., Botti, C., Sica, V., Ignarro, L. J. and Napoli C., (2006). Pomegranate Juice Reduces Oxidized Low-Density Lipoprotein Downregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase in Human Coronary Endothelial Cells. *Nitric Oxide*, 15(3), 259–263.
- [32] Ricci, D., Giamperi, L., Bucchini, A. and Fraternali, D., (2006). Antioxidant Activity of *Punica granatum* Fruits. *Fitoterapia Journal*, 77(4), 310–312.
- [33] Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. and Kader, A. A., (2000), Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4581-4589.
- [34] Aviram, M., Volkova, N., Raymond, C., Dreher, M., Reddy, M. K., Ferreira, D. and Rosenblat, M., (2008). Pomegranate Phenolics From the Peels, Arils, and Flowers are Antiatherogenic, Studies *In vivo* in Atherosclerotic Apolipoprotein e-deficient (E 0) Mice and *In vitro* in Cultured Macrophages and Lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 1148-1157.
- [35] Dalimov, D. N., Dalimova, G. N. and Bhatt, M., (2003), Chemical Composition and Lignins of Tomato and Pomegranate Seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 39, 37-40.
- [36] Patel, C., Dadhaniya, P., Hingorani, L. and Soni, M. G., (2008). Safety Assessment of Pomegranate Fruit Extract, Acute and Subchronic Toxicity Studies. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2728-2735.
- [37] Bartolome, B., Nunez, V., Monagas, M. and Gomez-Cordoves, C., (2004). *In vitro* Antioxidant Activity of Red Grape Skins. *European Food Research and Technology*, 218(2), 173-177.
- [38] Çam, M., Hışıl, Y. and Durmaz, G., (2009). Classification of Eight Pomegranate Juices Based on Antioxidant Capacity Measured by Four Methods. *Food Chemistry*, 112(3), 721-726.

- [39] Dean, P. D. G., Exley, D. and Goodwin, T. W., (1971). Steroid Oestrogens in Plants, Re-Estimation of Oestrone in Pomegranate Seeds. *Phytochemistry*, 10, 2215–2216.
- [40] Hora, J. J., Maydew, E. R., Lansky, E. P. and Dwivedi, C., (2003). Chemopreventive Effects of Pomegranate Seed oil on Skin Tumor Development in CD1 Mice. *Journal of Medicinal Food*, 6(3), 157-161.
- [41] Zarei, M., Azizi, M. and Bashir-Sadr, Z., (2011). Evaluation of Physicochemical Characteristics of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit During Ripening. *Fruits*, 66(2), 121-129.
- [42] Das, D., Bhattacharya, S. C. and Maulik, S. R., (2006). Dyeing of Wool and Silk with *Punica granatum*. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, 31 (4), 559-564.
- [43] Singh, R. P., Chidambara-Murthy, K. N. and Jayaprakasha, G. K., (2002). Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel and Seed Extracts Using *In vitro* Models. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 50(1), 81-86.
- [44] Ardekani, M. R. S., Hajimahmodi, M., Oveisi, M. R., Sadeghi, N., Jannat, B., Ranjbar, A. M., Gholam, N. and Moridi, T., (2011). Comparative Antioxidant Activity and Total Flavonoid Content of Persian Pomegranate (*Punica granatum* L.) Cultivars. *The Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3), 519–524.
- [45] Nasr, C. B., Ayed, N. and Metche, M., (1996). Quantitative Determination of the Polyphenolic Content of Pomegranate Peel. *Zeitschrift Lebensittel Unters Forsch*, 203(4), 374-378.
- [46] Hayam, M. I., Moawad, R. K. and Emam, W. H., (2012). Antioxidant Effect of Pomegranate Rind, Seed Extracts and Pomegranate Juice on Lipid Oxidation and Some Quality Properties of Cooked Beef Patties. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(8), 4023-4032.
- [47] Naveena, B. M., Sen, A. R., Vaithiyanthan, S., Babji, Y. and Kondaiah, N., (2008). Comparative Efficacy of Pomegranate Juice, Pomegranate Rind Powder Extract and BHT as Antioxidants in Cooked Chicken Patties. *Meat Science*, 80(4), 1304-1308.



- [48] Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, S., (2006). Evaluation of Antioxidant Properties of Pomegranate Peel Extract in Comparison with Pomegranate Pulp Extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254–260.
- [49] Kulkarni, A. P., Mahal, H. S., Kapoor, S. and Aradhya S. M., (2007). *In vitro* Studies on the Binding, Antioxidant, and Cytotoxic Actions of Punikalagin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1491-1500.
- [50] Mulinacci, N., Romani, A., Galardi, C., Pinelli, P., Giaccherini, C. and Vincieri, F. F., (2001). Polyphenolic Content in Olive oil Waste Waters and Related Olive Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3509-3514.
- [51] Kulkarni, A. P. and Aradhya, S. M., (2005). Chemical Changes and Antioxidant Activity in Pomegranate Arils During Fruit Development. *Food Chemistry*, 93(2), 319-324.
- [52] Negi, P. S. and Jayaprakasha, G. K., (2003). Antioxidant and Antibacterial Activities of *Punica granatum* Peel Extracts. *Journal of Food Science*, 68(4), 1473-1477.
- [53] Mutreja, R. and Kumar, P., (2015). Comparison of Antioxidant Properties of Pomegranate Peel Extract by Different Methods. *International Conference on Chemical*, 21(2), 4-5.
- [54] Satomi, H., Umemura, K., Ueno, A., Hatano, T., Okuda, T. and Noro, T., (1993). Carbonic Anhydrase Inhibitors from the Pericarps of *Punica granatum* L. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 16(8), 787–790.
- [55] Seppi, A. and Franciosi, A., (1980). Chemical Composition of Pomegranate Juice (*Punica granatum*) Amino Acid Contents. *La Revista Della Societa Italiana di Scienza Dell'alimentazione*, 9, 211–212.
- [56] Sestili, P., Martinelli, C., Ricci, D., Fraternali, D., Bucchini, A. and Giamperi, L., (2007). Cytoprotective Effect of Preparations from Various Parts of *Punica granatum* L. Fruits in Oxidatively Injured Mammalian Cells in Comparison with their Antioxidant Capacity in Cell Free Systems. *Pharmacological Research*, 56(1), 18–26.

- [57] Arao, K., Wang, Y. M., Inoue, N., Hirata, J., Cha, J. Y., Nagao, K. and Yanagita, T., (2004). Dietary Effect of Pomegranate Seed oil Rich in 9 cis, 11 trans, 13 cis Conjugated Linolenic Acid on Lipid Metabolism in Obese, Hyperlipidemic Oletf Rats. *Lipids in Health and Disease*, 3, 24-31.
- [58] Chidambara-Murthy, K. N., Jayaprakasha, G. K. and Singh, R. P., (2002). Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extract Using *In vivo* Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4791-4795.
- [59] Noda, Y., Kaneyuka, T., Mori, A. and Packer, L., (2002). Antioxidant Activities of Pomegranate Fruit Extract and it's Anthocyanidins, Delphinidin, Cyanidin, and Pelargonidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 166–171.
- [60] Faria, A., Monteiro, R., Mateus, N., Azevedo, I. and Calhau, C., (2007). Effect of Pomegranate (*Punica granatum*) Juice Intake on Hepatic Oxidative Stress. *European Journal of Nutrition*, 46(5), 271-278.
- [61] Das, A. K., Mandal, S. C., Banerjee, S. K., Sinha, S., Saha, B. P. and Pal, M., (2001). Studies on the Hypoglycaemic Activity of *Punica granatum* Seed in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Phytother Research*, 15(7), 628-629.
- [62] Celik, I., Temur A. and Isik, I., (2009). Hepatoprotective Role and Antioxidant Capacity of Pomegranate (*Punica granatum*) Flowers Infusion Against Trichloroacetic Acid-Exposed in Rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 145-149.
- [63] Bouroshaki. M. T., Sadeghnia, H. R., Banihasan, M. and Yavari, S., (2010). Protective Effect of Pomegranate Seed oil on Hexachlorobutadiene-Induced Nephrotoxicity in Rat Kidneys. *Renal Failure*, 32(5), 612-617.
- [64] Kohno, H., Suzuki, R., Yasui, Y., Hosokawa, M., Miyashita, K. and Tanaka, T., (2004). Pomegranate Seed oil Rich in Conjugated Linolenic Acid Suppresses Chemically Induced Colon Carcinogenesis in Rats. *Cancer Science Journal*, 95(6), 481-486.
- [65] Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M., (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.

- [66] Prior, R. L. and Cao G., (1999). *In vivo* Antioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1173-1181.
- [67] Ozyurek, M., Bektasoglu, B., Guclu, K. and Apak, R., (2008). Hydroxyl Radical Scavenging Assay of Phenolics and Flavonoids with a Modified Cupric Reducing Antioxidant Capacity (Cuprac) Method Using Catalase for Hydrogen Peroxide Degradation. *Analytica Chimica Acta*, 616, 196-206.
- [68] Shahidi, F., (1997). *Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effects, and Applications*. AOCS Press, Champaign- Illinois 1-11. AOCS Press, Champaign- Illinois, pp. 209.
- [69] Kaur, C. and Kapoor, H. C., (2008). Antioxidants in Fruits and Vegetables the Millennium's Health. *International Journal of Food Science Technology*, 36(7), 703-725.
- [70] Wootton, C. P., ve Ryan, L., (2011). Improving Public Health? The Role of Antioxidant Rich Fruit and Vegetable Beverages. *Food Research International*, 44(10), 3135-3148.
- [71] Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C., (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Clarendon Press, 52, 86-133.
- [72] Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Yayınevi, Sağlık dizisi*, 1(19), 39-40.
- [73] Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gurses, B. ve Alvur, M., (2004). The Comparison of Mikro FADU and Comet Methods in DNA Damage Analysis. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 97-103.
- [74] Brusick, D., (1987). *Principles of Genetic Toxicology*. Plenum Press New York, USA, 284p.
- [75] Muller, H. J., (1927). Artificial Transmutation of the Gene. *Science*, 66, 84-87.
- [76] Çavaş, T., (2004). Endüstriyel Atıkların Genotoksik Etkilerinin Mikronükleus ve AgNOR Analiz Teknikleri Kullanılarak İn-Situ ve Laboratuvar Koşulları Altında Araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Ana Bilim Dalı, Mersin.
- [77] Roos, W. P. and Kaina, B., (2006). DNA Damage-Induced Cell Death by Apoptosis. *Trends in Molecular Medicine*, 12(9), 440-450.

- [78] Klug W. S. Cummings, M. R., (2002). Concepts of Genetic. Genetik Kavramlar, 6<sup>th</sup> Edition, Çeviri Editörü Prof. Dr. Cihan Öner, Palme Yayıncılık.
- [79] Jena, G. B., Kaul, C. L. and Ramarao, P., (2002). Genotoxicity Testing, a Regulatory Requirement for Drug Discovery and Development: Impact of ICH Guidelines. Indian Journal of Pharmacology, 34(2), 86-99.
- [80] Waters, M. D., Stack, H. F., Brady, A. L., Lohman, P. H. M., Haroun, L. and Vainio, H., (1988). Use of Computerized Data Listings and Activity Profiles of Genetic and Related Effects in the Review of 195 Compounds, Mutation Research, 205(1-4), 295-312.
- [81] Şekeroğlu Z. A. ve Şekeroğlu, V., (2011). Genetik Toksikite Testleri. Türk Bilim Araştırma Vakfı Dergisi, 4(3), 221–229.
- [82] Mortelmans, K. and Rupa D. S., (2004). Current Issues in Genetic Toxicology Testing for Microbiologists. Advances in Applied Microbiology, 56, 379–401.
- [83] Zeiger, E., (2004). History and Rationale of Genetic Toxicity Testing an Impersonal, and Sometimes Personal, View. Environmental and Molecular Mutagenesis, 44(5), 363-371.
- [84] Larmarcovai, G., Ceppi, M., Botta, A., Orsiere, T. and Bonassi, S., (2008). Micronuclei Frequency in Peripheral Blood Lymphocytes of Cancer Patients a Meta-Analysis. Mutation Research, 659(3), 274-283.
- [85] Fenech, M. and Morley A. A., (1985). Solutions to the Kinetic Problem in the Micronucleus Assay. Cytobios, 43, 233-246.
- [86] Demirel, S. ve Zamani, A. G., (2002). Mikronükleus Tekniği ve Kullanım Alanları, Genel Tıp Dergisi, 12(3), 123-127.
- [87] Rosin, M. P. and Anwar, W., (1992). Chromosomal Damage in Urothelial Cells from Egyptians with Chronic Schistosoma Haematobium Infections. International Journal of Cancer, 50(4), 539-543.
- [88] Moore, L. E., Smith, A. H., Hopenhayn-Rich, C., Biggs, M. L., Kalman, D. and Smith, M. T., (1997). Micronuclei in Exfoliated Bladder Cells Among Individuals Chronically Exposed to Arsenic in Drinking Water. Cancer Epidemiol Biomarkers Prevetion, 6(1), 31-36.
- [89] Dey, P., Samanta, S. and Susheilia, S., (2012). Micronucleus Assay in Buccal Smears of Breast Carcinoma Patients. Diagn Cytopathology, 40(8), 664-666.

- [90] Natarajan, A. T. and Obe, G., (1982). Mutagenicity Testing with Cultured Mammalian Cells, Cytogenetic Assays. In, Heddle JA(ed) Mutagenicity. New Horizons in Genetic Toxicology, 87(2) 1-213.
- [91] Bonassi, L., Hagmar, U., Stromberg, A. H., Montagud, H., Tinnerberg, A., Forni, P., Heikkila, S., Wanders, P., Wilhardt, I. L., Hansteen, L. E., Knudsen, H. and Norppa S., (2000). Chromosomal Aberrations in Lymphocytes Predict Human Cancer Independently of Exposure to Carcinogens. European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. 60(6), 1619–1625.
- [92] Shaffer, L. G., Slovak, M. and Campbell, L. J., (2009). International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Cytogenetics and Genome Research, 127, 1-4.
- [93] Topaktaş, M. ve Rencüzoğulları, E., (2010). Sitogenetik (2.bs). Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 188.
- [94] Rooney, D. E., (2001). Human Cytogenetics Constitutional Analysis. Third Edition, Oxford University Press, 116.
- [95] Kasap, H., Kasap, M., Demirhan, O., Alptekin, D., Lüleyap, U., Pazarbaşı, A. ve Güzel, İ. A., (2009). Tıbbi Biyoloji ve Genetik. Nobel Kitabevi, Adana.
- [96] Aydın, E., Uçkan, S., Özdemir B. H. and Uyar, P., (2005). Mitomycin-C Effect on Fibrous Adhesions of Rabbit Temporomandibular Joint. Otolaryngol Head and Neck Surgery, 133(5), 672-676.
- [97] Arbag, H., Avunduk M. C., Ozer, B., Öztürk, K. and Ulku, C. H., (2005). Increased Expression of Epidermal Growth Factor Receptors in the Tracheal Epithelia After Topical Mitomycin-C in Rabbits. Auris Nasus Larynx, 32(1), 65-70.
- [98] Fattah, A. H., Hamza, A., Gaafar, A., Hamza, M. and Mourad, Z., (2003). Inhalation Mitomycin-C in Management of Laryngeal Fibrosis Rationale, Benefits, and Pitfalls. International Congress Series, 1240, 831-837
- [99] Crooke, S. T. and Bradner, W. T., (1976). Mitomycin-C a Review. Cancer Treatment Reviews, 3(3), 121-139.
- [100] Kelly, J. D., Williamson, K. E., Weir, H. P., Mcmanus, D. T., Hamilton, P. W. and Keane, P. F., (2000). Induction of Apoptosis by Mitomycin-C in an Ex vivo Model of Bladder Cancer. BJU International, 85(7), 911-917.

- [101] Korkina, L. G., Deeva, I. B., De-Biase, A., Iaccarino, M., Oral, R., Warnau, M. and Pagano, G., (2000). Redox-dependent Toxicity of Diepoxybutane and Mitomycin-C in Sea Urchin Embryogenesis. *Carcinogenesis*, 21(2), 213-220.
- [102] Baumann, R. P., Hodnick, W. F. and Seow, H. A., (2001). Reversal of Mitomycin-C Resistance by Overexpression of Bioreductive Enzymes in Chinese Hamster Ovary Cells. *Cancer Research*, 61(21), 7770-7776.
- [103] Wang, L., Curtis, L. and Weller, S., (2006). Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17(6), 300-312.
- [104] Preston, R. J., Dean, B. J., Galloway, S., Holden, H., Mcfee, A. F. and Shelby, M., (1987). Mammalian *In vivo* Cytogenetic Assays Analysis of Chromosome Aberrations in Bone Marrow Cells. *Journal Mutation Research*, 189(2), 157-165.
- [105] Schmid, W., (1975). The Micronucleus Test. *Journal Mutation Research*, 31(1), 9-15.
- [106] Yılmaz, B. ve Usta, Ç., (2010). Nar'ın (*Punica granatum*) Terapötik Etkileri. *Türk Aile Hekimi Dergisi*, 14(3), 146-153.
- [107] Afaq, F., Saleem, M., Krueger, C. G., Reed, J. D. and Mukhtar, H., (2005). Anthocyanin and Hydrolyzable Tannin-rich Pomegranate Fruit Extract Modulates MAPK and NF-kB Pathways and Inhibits Skin Tumorigenesis in CD-1 Mice. *International Journal of Cancer*, 113(3), 423-433.
- [108] Baser, D. F., (2014). Steatohepatit Tavşan Modelinde Narın (*Punica granatum* L.) Karaciğer Koruyucu Etkisi. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyon.
- [109] Syed, D. N., Afaq, F. and Mukhtar, H., (2007). Pomagranate Derived Products for Cancer Chemoprevention. *Seminars in Cancer Biology*, 17(5), 377-385.
- [110] Borochoy-Neori, H., Judeinstein, S., Tripler, E., Harari, M., Greenberg, A., Shomer, I. and Holland, D., (2009). Seasonal and Cultivar Variations in Antioxidant and Sensory Quality of Pomagranate (*Punica granatum* L.) Fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 189-195.

- [111] Wang, R. F., Ding, Y., Liu, R. N., Xiang, L. and Du, L. J., (2010). Pomagranate Constituents, Bioactivities and Pharmacokinetics in Chandra, R. (Ed.), Pomegranate. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology, 4(2), 77-87.
- [112] Miguel, M. G., Neves, M. A. and Antunes, M. D., (2010). Pomagranate (*Punica granatum* L.) a Medicinal Plant with Myriad Biological Properties a Short Review. Journal of Medicinal Plant Research, 425(25), 2836-2847.
- [113] Lansky, E. P., Harrison, G., Froom, P. and Jiang, W. G., (2005). Pomegranate (*Punica granatum*) Pure Chemicals Show Possible Synergistic Inhibition of Human PC-3 Prostate Cancer Cell Invasion Across Matrigel. Investigational New Drugs, 23(2), 121-122.
- [114] Stetka, D. G. and Wolff, S., (1976). Sister Chromatid Exchange as an Assay for Genetic Damage Induced by Mutagen-Carcinogens. II. *In vitro* Test for Compounds Requiring Metabolic Activation. Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 41(2-3), 343-349
- [115] Macgregor, J. T., Wehr, C. M., Henika, P. R. and Shelby, M. D., (1990). The *In vivo* Erythrocyte Micronucleus Test Measurement at Steady State Increases Assay Efficiency and Permits Integration with Toxicity Studies. Toxicological Sciences, 14(3), 513-522.
- [116] Fenench, M., (2000). The *In vitro* Micronucleus Technique. Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 455(1-2), 81-95.
- [117] Boeria, J. M., Da-Silva, J., Erdtmann, B. and Henriques J. A., (2001). Genotoxic Effects of the Alkaloids Harman and Harmine Assessed by Comet Assay and Chromosome Aberration Test in Mammalian Cells *In vitro*. Basic and Clinical Pharmacology, 89(6), 287-294.
- [118] Tice, R. R., Hayashi, M., Macgregor, J. T., Anderson, D., Blakey, D. H., Holden, H. E., Kirsch-Volders, M., Oleson, F. B., Pacchierotti, F., Pretson, R. J., Romagna, F., Shimada, H., Sutou, S. and Vannier, B., (1994). Report from the Working Group on the *In vivo* Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test. Mutation Research Environmental Mutagenesis and Related Subjects, 312(3), 305-312.

- [119] Tice, R. R., Agurrel, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J. C. and Sasaki, Y. F., (2000). Single Cell Gel Comet Assay Guidelines for *In vitro* and *In vivo* Genetic Toxicology Testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35(3), 206-221.
- [120] Bonassi, S., Fenech, M., Lando, C., Lin, Y., Ceppi, M., Chang, W. P., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E., Ban, S., Barale, R., Bigatti, M. P., Bolognesi, C., Jia, C., Di-Giorgio, M., Ferguson, L. R., Fucic, A., Lima, O. G., Hrelia, P., Krishnaja, A. P., Lee, T. K., Migliore, L., Mikhalevich, L., Mirkova, E., Mosesso, P., Muller, W. U., Odagiri, Y., Scarfi, M. R., Szabova, E., Vorobtsova, I., Vral, A. and Zijno, A., (2001). Human Micronucleus Project International Database Comparison for Results with the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay in Human Lymphocytes I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria and Host Factors on the Frequency of Micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 37(1), 31-45.
- [121] Ferguson, L. R., Bronzetti, G. and De-Flora, S., (2005). Mechanistic Approaches to Chemoprevention of Mutation and Cancer. *Mutation Research*, 591(1), 3-7.
- [122] Taner, G., (2007). Lipoik Asit ve Ferulik Asitin İnsan Lenfosit Kültüründe Mitomycin-C'ye Karşı Antigenotoksik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [123] Marnett, L. J. and Plataras, J. P., (2001). Endogenous DNA Damage and Mutation. *Trends in Genetics*, 17(4), 214-221.
- [124] Wang, Z. Y., Cheng, S. J., Zhou, Z. C., Athar, M., Khan, W. A., Bickers, D. R. and Mukhtar, H., (1989). Antimutagenic Activity of Green Tea Polyphenols. *Mutation Research*, 223(3), 273-285.
- [125] Madrigal-Bujaidar, E., Barriga, S. D., Cassani, M., Marquez, P. and Revuelta, P., (1998). In Cytogenetic Techniques. *Mutation Research*, 204(3), 379-406.
- [126] Malins, D. C., Johnson, P. M., Wheeler, T. M., Barker, E. A., Nayak L., Polissar, N. L., Mark, A. and Vinson, M. A., (2001). Age-related Radical-induced DNA Damage is Linked to Prostate Cancer Research., 61, 6025-6028.
- [127] Ferguson, L. R., (1994). Antimutagens as Cancer Chemopreventive Agents in the Diet, *Mutation Research*., 307(1), 395-410.



- [128] Valadares, M. C., Pereira, E. R. T., Benfica, P. L. and Paula, J. R., (2010). Assessment of Mutagenic and Antimutagenic Effects of *Punica granatum* in Mice. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 46(1), 121-127.
- [129] Abdou, H., Salah, S. H., Hoda, F. and Abdel, R., (2012). Effect of Pomegranate Pretreatment on Genotoxicity and Hepatotoxicity Induced by Carbon Tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) in Male Rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(17), 3370-3380.
- [130] Al-Megrin, W. A., (2017). *In vivo* Study of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extract Efficacy Against *Giardia lamblia* in Infected Experimental Mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(1), 59–63.
- [131] Gharzouli, K., Khennouf, S., Amira, S. and Gharzouli, A. (1999). Effects of Aqueous Extracts from *Quercus Ilex* L. Root Bark, *Punica granatum* L. Fruit Peel and *Artemisia Herba-Alba* Asso Leaves on Ethanol-Induced Gastric Damage in Rats. *Phytotherapy Research*, 13(1), 42-45.
- [132] Ajaikumar, K. B., Asheef, M., Babu, B. H. and Padikkala, J., (2005). The Inhibition of Gastric Mucosal Injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) Methanolic Extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1), 171–176.
- [133] Hussien, N. A., El-Azez, A. M. and Hamza R. Z., (2015). Assessment of the Genotoxic and Mutagenic Effect of Al-Taif Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extract Alone and Combined with Malathion and Atrazine Pesticides in Liver of Male Albino Mice. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(4), 302-307.
- [134] Karwasra, R., Kalra, P., Gubta, K. Y., Saini, D., Kumar, A. and Singh, S., (2016). Antioxidant and Anti-inflammatory Potential of Pomegranate Rind Extract to Ameliorate Cisplatin-induced Acute Kidney Injury. *Food and Function*, 7(7), 3091–3101.
- [135] Mestry, S. N., Dhodi, J. B., Kumbhar, S. B. and Juvekar, A. R., (2017). Attenuation of Diabetic Nephropathy in Streptozotocin-induced Diabetic Rats by *Punica granatum* L. Leaves Extract. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(3), 273-280.

- [136] Padma, V. V., Sowmya, P., Arun, T. F., Baskaran, R. and Poornima, P., (2011). Protective Effect of Gallic Acid Against Lindane Induced Toxicity in Experimental Rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 991-998.
- [137] Malviya, S., Jha, A. and Hettiarachchy, N., (2014). Antioxidant and Antibacterial Potential of Pomegranate Peel Extracts. *The Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 4132–4137.
- [138] Avila, R. I., Guerra, M. T., Borges, K. A. S., Vieira, M. S., Oliveira-Junior, L. M., Furdato, H., Mota, M. F., Arruda, A. F. and Valadares, M. C., (2013). *Punica granatum* L. Protects Mice Against Hexavalent Chromium-induced Genotoxicity. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(4), 689-697.
- [139] Zahin, M., Ahmad, I., Gupta, R. C. and Aqil, F., (2014). Punicalagin and Ellagic Acid Demonstrate Antimutagenic Activity and Inhibition of Benzo[a]pyrene Induced DNA Adducts. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, 38, 2-9.
- [140] Siddique, Y. H. and Afzal, M., (2009). Antigenotoxic Effect of Apigenin Against Mitomycin-C Induced Genotoxic Damage in Mice Bone Marrow Cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47(3), 536-539.
- [141] Maatouk, M., Mustapha, N., Mokdad-Bzeouich, I., Chaaban, H., Ioannou, I., Ghedira, K., Ghoul, M. and Chekir-Ghedira L., (2018). Heated Naringin Mitigate the Genotoxicity Effect of Mitomycin-C in BALB/c Mice Through Enhancing the Antioxidant Status. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 97, 1417–1423.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyadı** : Erhan ULUMAN

**Doğum Yeri** : KARS

**Doğum Tarihi** : 18.06.1992

**Medeni Hali** : Bekar

**Yabancı Dili** : İngilizce

**E-posta** : erhanuluman36@gmail.com

### Eğitim Durumu

**Lise** : Kars Alpaslan Lisesi -2010

**Lisans** : Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü-2016

**Yüksek Lisans** : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji  
Anabilim Dalı-2019