



Ratlarda Pentaklorofenol Zehirlenmesinde Nar Çekirdeği Yağının Lipid Peroksidasyonu ve Biyokimyasal Parametrelere Etkileri**

Zeynep Soyer Sarıca¹ Bilal Cem Liman²

¹ Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kayseri-TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji Toksikoloji Anabilim Dalı, Kayseri- TÜRKİYE

Özet: Çalışma Sprague-Dawley ırkı erkek sıçanlarda yapıldı. Çalışmada ilki kontrol olmak üzere 4 grup oluşturuldu. İkinci gruba 0.15ml/kg dozunda nar çekirdeği yağı (NÇY), üçüncü gruba 40mg/kg dozunda pentaklorofenol (PCP) ve dördüncü gruba 40mg/kg dozunda PCP+0.15ml/kg dozunda NÇY 28 gün boyunca gavaj ile uygulandı. Deneme sonunda eritrositte hemoglobin, katalaz ve glutasyon peroksidaz, nitrik oksit, malondialdehit, süperoksit dismutaz parametreleri; serumda 8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) ve biyokimyasal parametreleri incelendi. Sonuç olarak, bu çalışmada sıçanlara oral yoldan gavaj ile 40mg/kg uygulanan PCP'nin karaciğer hasarına, lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzim etkinliklerinde azalmaya yol açtığı; NÇY'nin PCP'nin istenmeyen etkileri üzerine koruyucu rolü olduğu belirlendi.

Anahtar kelimeler: Lipid peroksidasyon, nar çekirdeği yağı, pentaklorofenol, rat

Effects of Pomegranate Seed Oil on Pentachlorophenol Toxicity Lipid Peroxidation and Some Biochemical Parameters in Rats

Summary: In the study, Sprague-Dawley male rats were used and four groups were formed. The first group was held as the control group. The second group was given 0.15 ml/kg pomegranate seed oil (PSO), the third group was given 40mg/kg pentachlorophenol (PCP) and, the fourth group was given 40mg/kg PCP+0.15 ml/kg PSO during 28 days as specified into stomach by gavages. At the end of the experiment, erythrocyte haemoglobin, catalase, glutathione peroxidase, nitric oxide, blood serum 8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) and biochemical parameters were analysed. As a result, 40mg/kg PCP applied by gavage, caused liver damage, lipid peroxidation and decreased the anti-oxidant enzyme activity and 0.15ml/kg PSD applied for 28 days, had no negative effect on protein, oil and carbohydrate metabolism, had no toxic effect on liver and had no effect on lipid peroxidation. Overall, it's determined that pomegranate seed oil prevents the negative effects of the pentachlorophenol.

Key words: Lipid peroxidation, pentachlorophenol, pomegranate seed oil, rat

Giriş

Pentaklorofenol geçmişte fungusid, bakterisid, herbisid, molluskisid, algisid ve insektisid olarak yaygın biçimde kullanılmış bir maddedir. Günümüzde daha çok ağaç endüstrisinde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Pentaklorofenol hayvanlar için zehirli (sınıf Ib) bir maddedir.

Geliş Tarihi / Submission Date : 17.11.2015

Kabul Tarihi / Accepted Date : 26.01.2016

*Bu çalışma Erciyes üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSD-09-758 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Bu çalışma 8. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

Öldürücü doz 50'si sıçanlarda ağızdan 25-210mg/kg'dır. Pentaklorofenol canlılarda metabolizma zehiri olarak etki gösterir, mitokondrilerde elektron taşıma zincirini etkilemeden ATP üretimini azaltır (4,10,20).

Pentaklorofenol maruziyetinde hedef organlar karaciğer, böbrek ve kemik iliğidir (37). Madde hasar görmemiş deri ve akciğerlerden de emilebilir; deri ve mukozalar için iritan bir maddedir. Pentaklorofenole maruz kalmış renge talaşın altlık olarak kullanıldığı etçi piliçlerde iştahsızlık, civcivlerde immün sistemde baskılanma, yaban domuzlarında fertilité kaybı görüldüğü bildirilmektedir. Maddenin memelilerde ve kemirgenlerde aplastik anemi, eritrosit sayısında, hemoglobün konsantrasyonunda ve hematokrit değerlerinde azalmaya neden olduğu ortaya konulmuştur (4,30,41).

Nar (*Punica granatum*) dünyada özellikle Akdeniz ve Asya ülkelerinin çoğunda yaygın olarak yetişen bir bitkidir (5,21,23). Nar meyvesi dışında, ağacının kabuğu, meyve kabuğu, çiçeği, meyve suyu ve çekirdeğinden de faydalanılan bir bitkidir (21). Nar çekirdeği yağı (NÇY) konjuge yağ asitleri bakımından (linoleik ve linolenik yağ asitleri) oldukça zengindir (20). İçeriğinde yoğun olarak bulunan punisik asitin (trikosanik asit) antikanseröjen etkileri olduğu bildirilmektedir (13,16,45). Nar çekirdeği yağında bitkisel steroller de (beta-sitosterol, kampesterol, stigmasterol) yüksek düzeylerde (4089-6205 mg/kg) bulunmaktadır (19). E vitamini içeriği oldukça yüksek olan NÇY antioksidan polifenoller açısından da oldukça zengindir. NÇY'nın güçlü antioksidan, anti-inflamatuvar, antikanser ve antimikrobiyal etkileri bulunmakta; diyabet, iskemi, alzheimer, obezite, ishal, ülser gibi olgularda yararlı etkileri olduğu bildirilmektedir (16,23).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller

olarak tanımlanır (14,15,27). Serbest oksijen radikalleri organizmada yüksek konsantrasyonda bulunduğunda, protein, lipid ve DNA'yı içeren hücrel yapıların oksidasyonuna yol açarlar. Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri ise enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlarla dengelenir (22).

Gereç ve Yöntem

Hayvan materyali: Araştırma için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Komitesi (EÜ HADYEK) onayı alındı (08/74). Çalışmada, Erciyes Üniversitesi Deneysel araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 4-5 aylık, 40 adet Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar konvansiyonel deney hayvanı barındırma şartlarında [kontrollü sıcaklık (21±2 °C), nem (%50±5), hava değişimi (saatte 12 devir), sıcaklık (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık)] ve *ad libidum* besleme ile barındırıldı.

Çalışma grupları: Çalışmada her birinde 10 sıçan bulunan 4 grup oluşturuldu. İlk grup (Grup 1) kontrol olarak tutuldu ve bu gruptaki sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci gruba (Grup 2) 0.15 ml/kg dozunda NÇY, üçüncü gruba (Grup 3) 40mg/kg dozunda PCP ve dördüncü gruba (Grup 4) 40 mg/kg dozunda PCP+ 0.15 ml/kg dozunda NÇY 28 gün boyunca gavaj yolu ile mideye verildi.

Analiz yöntemleri: Eritrosit hemoglobün analizlerinde Fairbanks ve Klee (11) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı. Plazma MDA analizleri Yoshioka ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem kullanıldı (49). Serum nitrik oksit tayininde Griess reaksiyonu olarak bilinen diazotizasyon yöntemi (37) kullanıldı. Eritrosit katalaz analizleri Luck tarafından geliştirilen spektrofotometrik metoda (26) göre yapıldı. Eritrosit SOD aktivitesi Sun (36) tarafından bildirilen metotla belirlendi. Eritrosit GSH-Px analizlerinde Paglia ve Valentine (31) tarafından geliştirilen metot kullanıldı.

Serum 8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) analizleri Bio-tek ELx50 ELISA (Kayseri, Türkiye) okuyucuda Cayman marka kit (Cayman Chemical- 589320) kullanılarak yapıldı. Serumlarda glukoz, total protein, albumin, BUN, kreatinin, ürik asit, total bilirubin, trigliserit, kolesterol, HDL, LDL, üre, AST, ALT, ALP analizleri ticari kitler (Abbott) kullanılarak Abbott C 16000 Architech otoanalizörde yapıldı.

İstatistik analizleri SPSS 15.0 paket programı ile yapıldı. Çalışmada gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analiziyle (One-way ANOVA), farklılık gösteren grupların belirlenmesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile yapıldı.

Bulgular

Çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında NÇY verilen grupta (Grup 2) MDA, NO, CAT, SOD ve GSH-Px değerlerinde önemli bir değişimin olmadığı ($p>0.05$); kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PCP verilen grupta (Grup 3) MDA ve NO düzeylerinde yükselme ile CAT ve GSH-Px aktivitesinde azalma ve SOD aktivitesinde yükselme olduğu ($p<0.05$); PCP (Grup 3) grubu ile karşılaştırıldığında PCP+NÇY (Grup 4) verilen grupta MDA ve NO düzeylerinin azaldığı, CAT ve GSH-Px aktivitelerinin ise yükseldiği ($p<0.05$) gözlemlendi (Tablo 1). Tüm gruplarda 8-OH-dG düzeylerinde önemli bir değişimin olmadığı ($p>0.05$) gözlemlendi (Tablo 1).

Çalışmada, kontrol grubuna göre NÇY verilen grupta (Grup 2) HDL, total protein ve albumin düzeylerinde yükselme; kolesterol ve LDL düzeyinde azalma olduğu ($p<0.05$); kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PCP verilen grupta (Grup 3) BUN, glukoz, kolesterol, kreatinin, trigliserit, LDL, ürik asit, ALT, AST ve ALP değerlerinde yükselme ile HDL, total protein ve albumin düzeylerinde azalma olduğu ($p<0.05$); PCP verilen grupla (Grup 3) karşı-

laştırıldığında PCP+NÇY verilen grupta (Grup 4) HDL, total protein ve albumin düzeylerinde yükselme ile BUN, glukoz, kolesterol, kreatinin, trigliserit, LDL, ürik asit, ALT, AST ve ALP değerlerinde azalma olduğu ($p<0.05$) belirlendi (Tablo 2).

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada, kontrol grubuna göre NÇY'nin serum HDL, albumin ve total protein düzeyini yükselttiği, kolesterol ve LDL düzeyini ise düşürdüğü (Tablo 2) ($p<0.05$); plazma MDA, NO ve 8-OH-dG düzeyleri ile eritrosit CAT, SOD ve GSH-Px düzeylerinde önemli bir değişime yol açmadığı ($p>0.05$) görülmektedir. Çalışma sonuçları 15ml/kg dozda 28 gün süre ile sıçanlara verilen NÇY'nin sistemik bir toksisiteye yol açmadığını, aksine lipid metabolizması ve protein metabolizması üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Özellikle konjuge linoleik asit ile cis ve trans izomerlerinin, vücutta yağların depolanmasını sağlayan lipoprotein-lipaz enziminin aktivitesini engelleyerek vücutta yağların depolanmasını azalttığı ve kolesterol düzeyini dengelediği bildirilmektedir (32). Bu çalışmada, NÇY verilen grupta kolesterol ve LDL düzeyindeki azalma ile HDL düzeyindeki yükselme, NÇY'nin içeriğindeki punikik asit, linoleik asit ve oleik asit gibi doymamış yağ asitlerince zengin oluşu ile ilişkilendirilebilir. Yapılan çalışmalarda NÇY'nin insanlarda serum lipid değerlerini azalttığı (29), farelerde damarlarda lipidlerle ilişkili plak oluşumunu geriletmediği ve serum lipid parametreleri üzerine olumlu etkilerinin olduğu (2) bildirilmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar referans alınan çalışmalarda olduğu gibi NÇY'nin lipid metabolizmasını düzenleyici etkileri olduğunu göstermektedir.

Çalışmada, NÇY verilen grupta kontrol grubuna göre MDA, NO, SOD, CAT, GSH-Px ve 8-OH-dG düzeylerinde anlamlı bir değişim olmadığı görülmektedir. Daha önce yapılan bir

Tablo 1. Plazma MDA ve NO düzeyi, eritrosit SOD, CAT ve GSH-Px ve 8-OH-dG enzim aktiviteleri

	N	Grup 1 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 2 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 3 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 4 $\bar{X} \pm S_x$	P değeri
Malondialdehit (MDA) (nmol/ml)	10	3.53±0.61 ^a	3.27±0.88 ^a	4.81±0.68 ^b	3.74±1.36 ^a	p< 0.05
Nitrik Oksit (NO) (µmol/ml)	10	1.72±0.79 ^a	2.02±0.71 ^a	3.98±1.53 ^b	2.15±1.12 ^a	p< 0.05
Katalaz (CAT) (k/gHb)	10	94.86±12.68 ^a	82.70±19.57 ^{ab}	53.68±16.96 ^c	74.01±16.31 ^b	p< 0.05
Süperoksit Dismutaz (SOD) (U/mgHb)	10	1.01±0.12 ^a	1.23±0.25 ^{ab}	1.64±0.33 ^c	1.36±0.29 ^b	p< 0.05
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) (µmolNADPH+/gHb)	10	50.55±6.51 ^a	58.10±16.85 ^a	29.14±5.09 ^c	40.05±7.46 ^b	p< 0.05
8-hidroksi-2-deoksi guanosin (8-OH-dG) (pg/ml)	10	0.16±0.00	0.17±0.01	0.16±0,00	0.20±0.05	p< 0.05

$\bar{X} \pm S_x$: Ortalama \pm Std.Hata ; Grup 1 kontrol, grup 2 NÇY, grup 3 PCP, grup 4 PCP+NÇY*

* Her satırda farklı harfler taşıyan gruplar anlamlıdır.

Tablo 2. Grupların serum biyokimyasal değerleri

	N	Grup 1 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 2 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 3 $\bar{X} \pm S_x$	Grup 4 $\bar{X} \pm S_x$	P değeri
Kan Üre Azotu (Bun) (Mg/Dl)	10	13.60±2.26 ^a	12.20±2.09 ^a	16.39±1.50 ^b	14.12±1.72 ^a	p< 0.05
Glukoz (Mg/Dl)	10	149.37±35.20 ^a	172.00±16.95 ^a	298.00±33.80 ^c	228.25±24.34 ^b	p< 0.05
Yüksek Dansiteli Lipoprotein (Hdl) (Mg/Dl)	10	61.37±6.36 ^c	75.50±5.60 ^d	40.75±7.99 ^a	50.50±3.96 ^b	p< 0.05
Kolesterol (Mg/Dl)	10	75.87±5.61 ^b	51.00±6.92 ^a	92.12±8.60 ^c	72.12±3.52 ^b	p< 0.05
Kreatinin (Mg/Dl)	10	0.20±0.07 ^a	0.23±0.10 ^a	0.52±0.08 ^b	0.41±0.15 ^b	p< 0.05
Trigliserid (Mg/D)	10	73.50±9.25 ^a	64.25±8.54 ^a	111.0±9.53 ^b	73.62±5.62 ^a	p< 0.05
Düşük Dansiteli Lipoprotein (Ldl) (Mg/Dl)	10	12.70±1.24 ^b	9.87±2.26 ^a	20.40±2.60 ^d	16.37±1.50 ^c	p< 0.05
Ürik Asit (Mg/Dl)	10	0.99±0.14 ^a	1.08±0.20 ^a	2.38±0.89 ^b	1.29±0.17 ^a	p< 0.05
Total Bilirubin (Mg/Dl)	10	0.13±0.05	0.13±0.05	0.17±0.04	0.13±0.05	p< 0.05
Alanin Aminotransferaz (Alt)(U/L)	10	45.50±8.60 ^a	50.25±10.18 ^a	89.37±8.34 ^c	69.0±7.17 ^b	p< 0.05
Aspartat Aminotransferaz (Ast)(U/L)	10	68.87±16.95 ^a	67.25±18.29 ^a	133.25±17.27 ^c	99.00±15.25 ^b	p< 0.05
Alkalin Fosfataz(Alp)(U/L)	10	143.75±14.55 ^a	134.25±36.83 ^a	411.37±43.19 ^c	221.00±64.63 ^b	p< 0.05
Total Protein (G/Dl)	10	6.33±0.43 ^b	6.86±0.35 ^c	5.73±0.35 ^a	6.33±0.53 ^b	p< 0.05
Albümin (G/Dl)	10	2.43±0.26 ^b	2.60±0.25 ^c	1.30±0.10 ^a	2.23±0.22 ^b	p< 0.05

$\bar{X} \pm S_x$: Ortalama \pm Std.Hata ; Grup 1 kontrol, grup 2 NÇY, grup 3 PCP, grup 4 PCP+NÇY*

* Her satırda farklı harfler taşıyan gruplar anlamlıdır.

araştırmada farelere dört hafta boyunca verilen nar suyunun karaciğer GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerinde azalmaya neden olmakla birlikte, lipid peroksidasyonun önemli göstergelerinden birisi olan MDA ve 8-OH-dG düzeylerinde önemli bir değişime neden olmadığı (12), başka bir araştırmada iki hafta boyunca nar suyu verilen farelerde lipid peroksidasyonunu baskıladığı (3) ortaya konulmuştur. Bu durum belirtilen çalışma sonuçlarına benzer bir şekilde, çalışmamızda seçilen doz ve sürede verilen NÇY'nin lipid peroksidasyonu ve genotoksik etkilere yol açmadığı gibi PCP'nin oluşturduğu lipid peroksidasyonu üzerinde olumlu etkilere sebep olduğunu göstermektedir.

Grup 1 ve Grup 3 karşılaştırıldığında PCP verilen grupta serum AST, ALP, ALT enzim aktiviteleri ile BUN, glukoz, kolesterol, kreatinin, trigliserid, LDL ve ürik asit değerlerinde yükselme; HDL, albumin ve total protein düzeylerinde azalmanın olduğu; lipid peroksidasyon parametrelerinden plazma MDA ve NO düzeyleri ile SOD aktivitesinde yükselme; CAT ve GSH-Px değerlerinde ise azalmanın meydana geldiği görülmektedir ($p<0.05$). Özellikle serum ALT aktivitesindeki yükselmeler canlıda karaciğer hasarının göstergeleri olarak değerlendirilmektedir (17,34). Serum AST aktivitesinde artış karaciğer ve kas hasarı sonucunda olabilmektedir. ALP aktivitesindeki yükselmenin ise özellikle safra kanallarında hasar oluşumu sonucu gerçekleştiği bilinmektedir (18,40). PCP toksisitesinin ortaya konulduğu araştırmalarda ratlara bir ay süre ile yemle verilen maddenin karaciğerde dejenerasyona, AST aktivitesinde yükselmeye neden olduğunu göstermektedir (6,46). Çalışmamızda, daha önce yapılan çalışmalarda da ortaya konulduğu gibi, PCP verilen grupta karaciğer hasarının göstergesi olan serum AST, ALP ve ALT aktivitelerinin yükseldiği görülmektedir. CYP-450 enzim aktiviteleri sonucu oluşan serbest radikaller aracılı hepatik hasara yol açtığı bilinen (25,38)

PCP'nin, bu mekanizma ile karaciğerde AST ve ALP gibi sitozolik enzimlerin hücre dışına çıkışını sağlayarak serumdaki düzeylerinin arttığını; ALP aktivitelerindeki yükselme de karaciğer hasarının safra kanallarını da kapsayacak şekilde şiddetli olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmadaki serum biyokimya bulguları, PCP'nin protein (albumin ve total protein değerlerinde azalma), yağ (serum kolesterol, trigliserit ve LDL değerlerinde yükselme, HDL'de azalma) ve şeker (serum glukoz düzeyinde artış) metabolizması üzerine olumsuz etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır.

PCP verilen grupta MDA ve NO düzeyindeki yükselme ile birlikte SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerindeki azalma PCP'nin süperoksit, H₂O₂, peroksinitrit, OH gibi farklı serbest radikallerin birikimine yol açtığını; antioksidan enzimlerin oluşan radikalleri etkisizleştirmede yetersiz kaldıklarını göstermektedir. Antioksidan enzim etkinliklerindeki azalma, serbest radikal üretimindeki artışla birlikte bu enzimlerin kullanıldığını ve tükenme noktasına geldiğine işaret etmektedir. PCP'nin deney hayvanlarında süperoksit radikali oluşturucu etkileri olduğu (35) ve lipid peroksidasyonu tetiklediği (24,39) bildirilmiştir. Sonuç olarak PCP'nin lipid peroksidasyon oluşturucu etkilerinin daha önceki araştırmalarda da belirtildiği üzere (28,38), sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sistemi etkinliğinin artışına bağlı olarak antioksidan enzim sisteminin etkisizleştirme kapasitesi üzerinde serbest radikal oluşumuna bağlı olduğu söylenebilir.

Yapılan araştırmalar farklı dozlarda, sürelerde ve farklı yollarla verilen PCP'nin farelerde (42,43,44) ve ratlarda (24,35,47) karaciğer 8-OH-dG düzeyinde yükselmeye yol açtığını göstermektedir. Diğer çalışmaların aksine, bizim çalışmamızda 40mg/kg dozda 28 gün süre ile verilen PCP'nin 8-OH-dG düzeyinde anlamlı bir değişime yol açmadığı ortaya ko-

nulmuştur. Bu durum PCP dozu, verilme yolu, süresi ve şekli, tür farklılığı ve kullanılan analitik yöntemin hassasiyeti gibi faktörlerle ilişkilendirilebilir. -

Grup 3 ve Grup 4 serum biyokimyasal parametreleri değerlendirildiğinde Grup 4 AST, ALP, ALT aktiviteleri ile BUN, glukoz, kolesterol, trigliserit, LDL, ürik asit, düzeylerinde azalma, HDL, total protein ve albumin düzeylerinde ise yükselme; Grup 1 ve Grup 4 karşılaştırmasında ise Grup 4'de serum ALT, AST ve ALP aktiviteleri ile glukoz, kreatinin, LDL düzeylerinde artış, HDL düzeyinde ise azalmanın olduğu ortaya konulmuştur.

Çalışmanın verileri NÇY'nin PCP'nin protein, yağ ve şeker metabolizması üzerindeki olumsuz etkileri önleyici ve karaciğer hasarını düzenleyici etkinliğinin olduğunu göstermektedir. Önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi (4,8,9), NÇY'nin biyokimyasal parametreleri düzenleyici etkilerinin, bileşiminde bulunan punisik asit ve linoleik asit gibi yağ asitleri (33,34) ile birlikte punigalasin ve punikalın gibi fenolik maddelerle (1,48) ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Grup 3 ve Grup 4 lipid peroksidasyon parametreleri değerlendirildiğinde, Grup 4 serum MDA ve NO düzeyleri ile eritrosit SOD aktivitesinde azalma, eritrosit CAT ve GSH-Px aktivitesinde ise yükselmenin olduğu; Grup 1 ve Grup 4 karşılaştırmasında ise eritrosit CAT, SOD ve GSH-Px aktivitesinde azalma olmakla birlikte değerlerin kontrol grubuna yaklaştığı gözlenmektedir. Çalışma sonuçları NÇY'nin PCP tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonunun şiddetini azalttığını göstermektedir. Antioksidan enzim aktivitelerinin tekrar kontrol grubu değerlerine doğru yaklaşması da NÇY'nin antioksidan enzimlerin etkinliğini artırarak serbest radikallerin etkisizleştirildiğine işaret etmektedir. Daha önce yapılan araştırmalar NÇY'nin antioksidan ve koruyucu etkilerinin

içerisinde bulunan fenolik bileşikler (7) ve yağ asitleri ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmada NÇY'nin, PCP'nin GSH-Px ve CAT aktivitesi ile NO düzeyini kontrol grubu değerlerine doğru yaklaştırması, yukarıda belirtilen mekanizmalarla ilişkili olarak, NÇY'nin özellikle H₂O₂ ve peroksinitrit aracılı oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak sunulan çalışmada, oral yoldan gavaj ile 40mg/kg (ca) uygulanan PCP'nin karaciğer hasarına, lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzim etkinliklerinde azalmaya yol açtığı; 15ml/kg ca dozunda 28 gün boyunca verilen NÇY'nin ratlarda protein, yağ ve karbonhidrat metabolizması üzerine istenmeyen etkilerinin olmadığı, karaciğer üzerinde toksik etkilere yol açmadığı, lipid peroksidasyonu oluşturucu etkilerinin bulunmadığı; NÇY'nin PCP'nin istenmeyen etkileri üzerinde koruyucu rolü olduğu belirlenmiştir.

Kaynakça

1. Araq K, Wang YM, Inoue N, Hirata J, Cha JY, Nagao K, Yanagita T. Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9cis, 11trans, 13cis conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF rats. *Lipids Health Dis* 2004; 9: 3-7.
2. Aviram M, Volkova N, Raymond C, Dreher M, Reddy MK, Ferreira D, Rosenblat M. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies in vivo in atherosclerotic apolipoprotein e-deficient (E0) mice and in vitro in cultured macrophages and lipoproteins. *J Agric Food Chem* 2008; 56(3): 1148-57.
3. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B. Pomegranate

- juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(5): 1062-76.
4. Bagri P, Ali M, Aeri V, Bhowmik M, Sultana S. Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(1): 50-4.
 5. Baytop T. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1999; p. 305-6.
 6. Chhabra RS, Maronpot RM, Bucher JR, Haseman JK, Toft JD, Hejtmancik MR. Toxicology and carcinogenesis studies of pentachlorophenol in rats. *Toxicol Sci* 1999; 48(1): 14-20.
 7. Chidambara Murthy KN, Jayaprakasha GK, Singh RP. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *J Agric Food Chem* 2002; 50(17): 4791-5.
 8. Çelik I, Temur A, Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food Chem Toxicol* 2009; 47(1): 145-9.
 9. Das AK, Mandal SC, Banerjee SK, Sinha S, Saha BP, Pal M. Studies on the hypoglycaemic activity of *Punica granatum* seed in streptozotocin induced diabetic rats. *Phytother Res* 2001; 15(7): 628-9.
 10. Dökmeci İ, Dökmeci AH. Toksikoloji: Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Dördüncü Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2005; p. 602.
 11. Fairbank VF, Klee GG. Biochemical aspect of haematology. Tiez NW, Saunders WB, eds. In: *Fundamentals of Clinical Biochemistry*. Philadelphia: 1987; pp. 803-4.
 12. Faria A, Monteiro R, Mateus N, Azevedo I, Calhau C. Effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice intake on hepatic oxidative stress. *Eur J Nutr* 2007; 46(5): 271-8.
 13. Grossmann ME, Mizuno NK, Schuster T, Clearly MP. Punicic acid is an ω -5 fatty acid capable of inhibiting breast cancer proliferation. *Int J Oncol* 2010; 36(2): 421-6.
 14. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 5-12.
 15. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5): 715-25.
 16. Jurenka J. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): A review. *Altern Med Rev* 2008; 13(2): 128-44.
 17. Kanbur M, Eraslan G, Beyaz L, Silici S, Liman BC, Altinordulu S, Ataserver A. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Exp toxicol Pathol* 2009; 61(2): 123-32.
 18. Karagül H. Klinik biyokimya. Ankara: Medisan Yayınevi, 2000; p. 133.

19. Kaufman M, Weisman Z. Pomegranate oil analysis with emphasis on MALDI- TOF/ MS triacylglycerol fingerprinting. J Agric Food Chem 2007; 55 (25): 10405-13.
20. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, eds. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. İkinci Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi, 2002; p. 467.
21. Kaya S. Tıbbi Botanik ve Tıbbi Bitkiler. Ankara: Medisan Yayınevi, 2008; p.131-2.
22. Kılıksız S, Demirel C. Oksidatif stres, radyasyona bağlı hasar ve radyo koruyucu olarak n-asetil-sistein'in potansiyel rolü. Turk Onkol Derg 2008; 23(4): 200-7.
23. Lansky EP, Newman RA. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. J Ethnopharmacol 2007; 109(2): 177-206.
24. Lin PH, La DK, Upton PB, Swenberg JA. Analysis of DNA adducts in rats exposed to pentachlorophenol. Carcinogenesis 2002; 23(2): 365-9.
25. Lin PH, Waidyanatha S, Pollack GM, Swenberg JA, Rappaport SM. Dose-specific production of chlorinated quinone and semiquinone adducts in rodent livers following administration of pentachlorophenol. Toxicol Sci 1999; 47(1): 126-33.
26. Luck HS, Bergmeyer HU, eds. Catalase Methods in Analysis, London: Academic Press, 1965; p. 885-94.
27. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU Vet Fak Derg 2004; 15(1-2): 91-6.
28. Michielsen C, Boeren S, Rietjens I, van Mil F, Vos J, Bloksma N. The mercapturic acid biotransformation pathway of hexachlorobenzene is not involved in the induction of splenomegaly, or skin and lung lesions in the Brown Norway rat. Arch Toxicol 2000; 74(10): 609-17.
29. Mirmiran P, Fazeli MR, Asghari G, Shafiee A, Azizi F. Effect of pomegranate seed oil on hyperlipidaemic subjects: A double blind placebo-controlled clinical trial. Br J Nutr 2010; 104(3): 402-6.
30. National Toxicology Program. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Pentachlorophenol. NTP Report 87-86-5, Newyork: 1999; p. 5-53.
31. Paglie D, Valentie WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Med 1967; 70: 158-9.
32. Pariza MW, Park Y, Cook ME. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. Prod Lipid Res 2001; 40(4): 283-98.
33. Saha SS, Ghosh M. Ameliorative role of conjugated linolenic acid isomers against oxidative DNA damage induced by sodium arsenite in rat model. Food and Chem Tox 2010; 48: 3398-405.
34. Saha SS, Ghosh M. Comparative study of antioxidant activity of alpha-eleostearic acid and punicic acid against oxidative stress generated by sodium arsenite. Food Chem Toxicol 2009; 47(10): 2551-6.
35. Sai-Kato K, Umemura T, Takagi A, Hasegawa R, Tanimura A, Kurokawa Y. Pentachlorophenol-induced oxidative

- DNA damage in mouse liver and protective effect of antioxidants. *Food Chem Toxicol* 1995; 33(10): 877-82.
36. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34(3): 497-500.
37. Tracey WR, Tse, J, Carter G. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: Pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 272(3): 1011-5.
38. Tsai CH, Lin PH, Troester MA, Rappaport SM. Formation and removal of pentachlorophenol-derived protein adducts in rodent liver under acute, multiple, and chronic dosing regimens. *Toxicol Sci* 2003; 73(1): 26-35.
39. Tsai CH, Lin PH, Waidyanatha S, Rappaport SM. Characterization of metabolic activation of pentachlorophenol to quinones and semiquinones in rodent liver. *Chem Biol Interact* 2001; 134(1): 55-71.
40. Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Konya: Bahçivanlar Basım Sanayi, 2000; p.189.
41. United States Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Decision for Pentachlorophenol. EPA Report 739-R-08-008, ABD: 2008; p. 10-37.
42. Umemura T, Sai-Kato K, Takagi A, Hasegawa R, Kurokawa Y. Oxidative DNA damage and cell proliferation in the livers of B6C3F1 mice exposed to pentachlorophenol in their diet. *Fundam Appl Toxicol* 1996; 30(2): 285-9.
43. Umemura T, Kuroiwa Y, Kitamura Y, Ishii Y, Kanki K, Kodama Y, Itoh K, Yamamoto M, Nishikawa A, Hirose M. A crucial role of Nrf2 in in vivo defense against oxidative damage by an environmental pollutant, pentachlorophenol. *Toxicol Sci* 2006; 90(1): 111-9.
44. Umemura T, Kai S, Hasegawa R, Sai K, Kurokawa Y, Williams GM. Pentachlorophenol (PCP) produces liver oxidative stress and promotes but does not initiate hepatocarcinogenesis in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 1999; 20(6): 1115-20.
45. Vroegrijk IOCM, Van Diepen JA, Van Den Berg S, Westbroek I, Keizer H, Gambelli L, Hontecillas R, Bassaganya-Riera J, Zondag GC, Romijn JA, Havekes LM, Voshol PJ. Pomegranate seed oil, a rich source of punicic acid, prevents diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Food and Chem Tox* 2011; 49(6): 1426-30.
46. Wang YJ, Lee CC, Chang WC, Liou HB, Ho YS. Oxidative stress and liver toxicity in rats and human hepatoma cell line induced by pentachlorophenol and its major metabolite tetrachlorohydroquinone. *Toxicol Lett* 2001; 122(2): 157-69.
47. Wang YJ, Ho YS, Chu SW, Lien HJ, Liu TH, Lin JK. Induction of glutathione depletion, p53 protein accumulation and cellular transformation by tetrachlorohydroquinone, a toxic metabolite of pentachlorophenol. *Chem Biol Interact* 1997; 105(1): 1-16.
48. Yamasaki M, Kitagawa T, Koyanagi N, Chujo H, Maeda H, Kohno-Murase J, Imamura J, Tachibana H, Yamada K. Dietary effect of pomegranate seed oil on

immune function and lipid metabolism in mice. Nutrition 2006; 22(1): 54-9.

49. Yoshioka T, Kawada K, Schimada T. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. Am J Obstet Gynecol 1979; 135: 372-6.

Yazışma Adresi

Dr. Veteriner Hekim Zeynep SOYER SARICA
Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar
Uygulama ve Araştırma Merkezi
Melikgazi/ Kayseri
Tel: 0352 2076666/24414
E-posta: zsarica@erciyes.edu.tr