



Soğuk Stres Uygulanan Ratlarda Nar Çiçeğinin (*Punica Granatum*) Plazma Antioksidan ve Oksidan Enzim Düzeyine Etkisi Pomegranate (*Punica Granatum*) Flower's Effects on Plasma Antioxidant and Oxidant Enzyme Levels' in Cold Stressed Rats

Rüveyda Esra Erçim¹, Tuğçe Atçalı², Burhanettin Baydaş¹

¹Bingöl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Bingöl, Türkiye.

²Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bingöl, Türkiye.

Özet

Amaç: Bu araştırma, soğuk stres uygulanan sıçanlarda nar çiçeğinin (*Punica granatum*), plazma total antioksidan kapasite (TAC) düzeyine, plazma total oksidan duruma (TOS) ve Paraoksanaz-1 (PON-1) enzim düzeyine olası etkilerini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Materyal-Metot: Deneysel bir araştırma olan bu çalışmada, ortalama 9 haftalık olan 24 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar rasgele, eşit sayıda 3 gruba ayrılarak, 3 hafta süresince beslenmiştir. Sıçanlara 14 gün süresince nar çiçeği ekstraktı verildikten sonra son 7 gün süresince soğuk stres uygulanmıştır. Soğuk stres uygulaması, sıçanlar sabah 9-10 saatleri arasında yaklaşık 4 °C'de 1 saat süresince soğuk odada bekletilerek yapılmıştır. Deney grupları, sağlıklı kontrol (G1), 7 gün süresince soğuk stres uygulanmış kontrol (G2), 7 gün süresince %0,25 oranında nar çiçeği ekstraktı uygulanıp, son 7 gün süresince soğuk stres ve nar çiçeği ekstraktı uygulanmış grup (G3) olmak üzere 3 grup bulunmaktadır. Soğuk stres uygulamasından sonra deney sonlandırılmıştır. Elde edilen örneklerde, plazma TAC, TOS ve PON-1 enzim aktivitesiyle, leptin ve adiponektin hormonu düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile incelenmiştir.

Bulgular: Deney gruplarına göre, grupların TAC değerleri incelendiğinde, soğuk stres uygulanıp narçiçeği verilen grupta (G3), diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,005). Yine bu grupta (G3), PON-1 enzimi diğer gruplara göre daha yüksek olduğu bulunmuş, ancak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,968). Oksidan parametrelerden TOS değeri, soğuk stres uygulanıp narçiçeği verilen grupta (G3) diğer gruplara göre düşük bulunurken (p=0,941), oksidatif stres indeksi (OSİ) de benzer şekilde bu grupta düşük bulunmuştur (p=0,05).

Sonuç: Bu çalışmada, soğuk stresin TAC değerinde düşüşe neden olduğu, nar çiçeği ekstraktı kullanılmasının TAC değerinin bu düşüşü tersine çevirerek TAC değerini anlamlı şekilde artırdığı saptanmıştır. Bu anlamlı farkta, nar çiçeğinin antioksidan özelliğinin soğuk stres durumunda değişmelere etkisi ile açıklanabilir. Soğuk strese karşı nar çiçeği çayının tüketilmesi antioksidan kapasitenin artırılarak, organizmanın korunmasında yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Soğuk Stres, Nar Çiçeği, *Punica Granatum*, Antioksidan Kapasite, Oksidatif Stres.

Abstract

Objective: The aim of this study was to investigate the possible effects of pomegranate flower (*Punica granatum*) on plasma total antioxidant capacity (TAC), plasma total oxidant state (TOS) and Paraoxanase-1 (PON-1) enzyme levels in cold stressed rats.

Material-Method: In this experimental study, 24 Wistar Albino male rats were used on average 9 weeks. Rats were randomly divided into 3 equal groups and fed for 3 weeks. Rats were given pomegranate flower extract for 14 days and cold stress was applied for the last 7 days. Cold stress application was performed by keeping the rats in the cold room for 1 hour at approximately 4°C between 9-10 am. Experimental groups consisted of three groups; these groups were healthy control group (G1), 7 days cold stress applied control group (G2) and first 7 days 0.25% pomegranate flower extract and last 7 days cold stress- pomegranate flower extract applied group (G3). The experiment was terminated after the application of cold stress. Plasma TAC, TOS and PON-1 enzyme activity and leptin and adiponectin hormone levels were examined by spectrophotometric method.

Results: When the TAC values of the groups were examined according to the experimental groups, it was found to be significantly higher in the cold stress applied group (G3) than the other groups (p=0.005). Additionally, PON-1 enzyme was found to be higher in this group (G3) than the other groups, but this difference was not significant (p=0.968). While the TOS value of oxidant parameters was found to be lower in the group which was given cold stress and given pomegranate (G3) compared to other groups (p=0.941), the oxidative stress index (OSI) was also found to be low in this group (p=0.05).

Conclusions: In this study, it was found that cold stress caused a decrease in the TAC value and that the use of pomegranate flower extract reversed this decrease and increased the TAC value significantly. This significant difference can be explained by the effect of the antioxidant properties of pomegranate flower on changes in cold stress. It has been concluded that the consumption of pomegranate tea against cold stress may increase the antioxidant capacity and help to protect the organism.

Keywords: Cold Stress, Pomegranate Flower, *Punica Granatum*, Antioxidant Capacity, Oxidative Stress.

Giriş

Nar (*Punica granatum*), Punicacea familyasına ait, yenilebilir en eski meyvelerden biridir. Akdeniz, Yakın ve Uzak Doğu ülkelerinde yaygın olarak yetiştirilmekte olan nar, polifenoller ve flavonoller, flavanoidler, gallik asit, ellagik asit, kuarsetin gibi diğer biyoaktif bileşiklerden zengin olup (1, 2), stresli koşullarda sağlığa yararlı etkileri bulunmaktadır (3). Narın yaprağı, kökü, gövdesi ve diğer kısımlarının antioksidan ve antimikrobiyal etkileri önceki çalışmalarda gösterilmektedir (4-6). Nar, nar çiçeği ve nar suyunun antifungal, anti-inflamatuar ve kan basıncını düşürücü etkisi olmasının yanı sıra (5, 7), antioksidan özellik göstererek oksidatif stresi düşürücü etkisinin olduğu da çalışmalarda belirtilmektedir (8-10).

Kardiyovasküler hastalıklar dünya genelinde ölümlerin %20'sini, özellikle gelişmiş ülkelerde ölümlerin %50'sini oluşturmaktadır. Ölüm hızlarının dönemsel varyasyonları tam olarak bilinmemesine rağmen, ölümler soğuk kış günlerinde yüksek düzeylere çıkmaktadır (11). Soğuk havaya maruz kalma Avrupa ve diğer birçok ülkede insan sağlığına karşı tehdit oluşturmaktadır. En yüksek ölüm oranları kış aylarında olmaktadır ve aşırı soğuk iklim ile kardiyovasküler morbidite ve mortalitede artış arasındaki ilişki belirtilmektedir (12-14). Soğuk havanın özellikle kardiyovasküler morbidite ve 65 yaş altı insanlar arasında ölümlere etkisi bulunmaktadır (13, 15). Birçok klinik ve epidemiyolojik çalışmalar da soğuğa maruz kalma ile kan basıncında artış, aritmi gibi kardiyovasküler cevapta bozulma arasında ilişki olduğunu göstermektedir (16-18), ancak soğuk stresin neden olduğu miyokart cevaptaki bozulmalara neden olan mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir (19). Soğuk stresin neden olduğu kardiyovasküler bozukluklar, metabolizma homeostazını bozarak oksidatif stresin tetiklenmesine de neden olmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar ile oksidatif stresin ilişkisini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (20-22).

Oksidatif stresin genel bir tanımı, prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidan yönüne kayması sonucu potansiyel hücresel hasarlara yol açması durumudur (23). Bununla birlikte, oksidatif stres durumunun ölçümü, düzeltme ve onarımı yapan karmaşık endojen savunma sistemlerin olmasından dolayı zor olabilir. Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu oluşmaktadır (24). Bu nedenle, oksidatif stresin saptanmasında, nar çiçeği gibi antioksidan özelliği yüksek olan antioksidan içeceklerin tüketiminin araştırılması antioksidan miktarlarındaki artış, oksidan miktarlarındaki azalış veya oksidatif metabolitlerdeki değişimin incelenip değerlendirilmesi ile olabilmektedir. Literatürdeki bu bilgiler ışığında nar çiçeği ekstraktının, soğuğun tetiklediği oksidatif stresi düzelterebileceği ve soğuğun neden olduğu kardiyovasküler hastalıkların oluşumuna karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir.

Paraoksonaz 1 (PON1) plazma yüksek-dansiteli lipoproteine (HDL) bağlı bir antioksidan enzimdir. PON-1 düşük-dansiteli lipoprotein (LDL) ve HDL'yi oksidasyona karşı koruduğu ve oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (25). Lipid peroksidasyonu ile serum PON1 aktivitesi ile arasında ters

ilişki olduğu, PON-1'in serum ve dokulardaki oksidatif stresi azaltarak kardiyovasküler koruma sağladığı kanıtlanmıştır (26). Soğuğun tetiklediği oksidatif streste PON-1 enziminin değişimine bakılarak, kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu rolü olan PON-1 enziminin, antioksidan özelliği olan nar çiçeğinin ile etkisinin artacağı düşünülmektedir.

Soğuğa maruziyette veya adaptasyonda adipokinlerin rolünün incelenmesi gereklidir. Adipoz doku fonksiyonu ve sempatik sinir sistemi (SNS) aktivitesi birbirine sıkı sıkıya bağlıdır. Yağ dokusu, SNS tarafından uyarılmaktadır. Yağ dokusu tarafından salgılanan adipokinler, enerji homeostazının korunmasında, kan basıncının kontrol edilmesinde, bağışıklık sistemi fonksiyonunda, hemostaz ve aterosklerozda rol oynamaktadır (27). Leptin ve adiponektin yağ dokusu tarafından üretilen anahtar hormonlardır (28). Soğuğa bağlı oksidatif stresin, adipokinler üzerindeki etkisi ve nar çiçeğinin bu adipokinlere etkisi olup olmadığı da incelenecektir.

Çalışmanın amacı, soğuk strese maruz bırakılan sıçanlarda nar çiçeği ekstraktının antioksidan göstergelerden plazma total antioksidan kapasite (TAC) ve PON-1 değerleri üzerine ve oksidan göstergelerden total oksidan durum (TOS) ve oksidatif stres düzeyine etkisini incelemektir.

Materyal-Metot

Çalışma deneysel bir vaka kontrol çalışmasıdır. Çalışma prosedürü aşağıdaki şekilde özetlenmiştir. Çalışma, XXX Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında Nisan-Mayıs ayı içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın etik izni, XXX Üniversitesi Hayvan Deneysel Yerel Etik Kurul Başkanlığı 03/04/2018 tarih ve 04/01 karar sayısı ile alınmıştır.

Deneysel Hayvanların Hazırlanması ve Çalışma Düzeni

Çalışmada her biri 250-300 g ağırlığında 8-10 haftalık 24 adet Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar, XXX Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında, aynı gruptan olan 4 tanesi bir kafeste, 20±2°C'de sıcaklıkta, %50-60 nemde, merkezi havalandırma sistemi ile hava sirkülasyonu olacak şekilde ve 12 saat gece-gündüz döngüsünde barınma ortamı sağlanmıştır. Hayvanlar rastgele, eşit sayıda 3 gruba ayrılmıştır ve adaptasyon süresi ile birlikte 3 hafta süresince bakılmış ve beslenmiştir. Adaptasyon süresi (1. hafta) bittikten sonra, 7 gün süresince (2. hafta) nar çiçeği ekstraktı alan G3 grubuna günlük olarak nar çiçeği ekstraktı verilmeye başlanmıştır. G3 grubundaki sıçanlara 7 gün süresince nar çiçeği ekstraktı verildikten sonra, son 7 gün (3. hafta) G2 ve G3 gruplarındaki sıçanlara, sabah 9-10 saatleri arasında yaklaşık 4°C'de 1 saat süresince soğuk odada bekletilerek soğuk stres uygulaması yapılmıştır (29). Soğuk stres uygulaması bittikten sonra, deney sonlandırılmıştır.

Deneysel hayvanları 1 hafta süresince yeni ortamlarına adaptasyon sürecine alındıktan sonra, 3 gruba ayrılmıştır. Her bir grupta 8 sıçan bulunmaktadır. Birinci grupta (Grup 1), sağlıklı sıçanlardan oluşan kontrol grubudur. Bu gruba herhangi bir müdahale yapılmamıştır. Normal koşullarda, rutin palet yemle beslenmiştir. İkinci grup (Grup 2), soğuk stres uygulanan, fakat deneyle ilgili başka bir müdahale yapılmayan hasta kontrol grubudur. Son gruba ise (Grup 3), soğuk stres

uygulanmıştır. Ayrıca bu gruba ek olarak, insanlarda da çay yapımında kullanıldığı gibi, günlük 2,5 gram kuru nar çiçeği, 1 L kaynamış suya eklenip 5 dakika demlendirilerek 14 gün süresince içme suyu şeklinde verilmiştir (9).

Deneyin Sonlandırılması, Örneklerin Alınması ve Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi

Üç haftalık deneysel süreç sonunda, bir gece öncesinde yem verilmeyen ve 12 saat aç bırakılan sıçanlara, 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alınarak; daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri kalpten 10 ml'lik enjektörle 5-8 ml kan alınmış, 5000 xg devirde santrifüj edilerek serumları çıkarılmıştır ve ileriki analizler için 2 ml'lik tüplere paylaştırılarak -80°C'de saklanmıştır.

Elde edilen örneklerde, plazma TAC, TOS ve PON-1 enzim aktivitesi ile, leptin ve adiponektin hormonu düzeyleri incelenmiştir.

• **Plazma TAC ve TOS ölçümü:** Sıçanların TAC ve TOS belirlenmesinde uygun ticari kitler (Rel Assay Diagnostics kit, Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye; TAC kit no:RL0017, TOS kit no: RL0024) kullanılarak, -800C'de muhafaza edilen serumlarda spektrofotometrik yöntemle ikili çalışılmıştır. Test, geleneksel olarak E vitamini analogu olan Trolox Eşdeğeri olarak adlandırılan stabil bir antioksidan standart çözeltisi ile kalibre edilerek, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini rensiz indirgenmiş ABTS formuna çevirmesi ile, 660 nm'de absorbans değişimi ile ölçülmüştür. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L olarak verilmiştir. TOS ölçümünde, spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Deney hidrojen peroksit ile kalibre edilerek sonuçlar, litre başına düşen mikromolar hidrojen peroksit cinsinden ifade edilmiştir (H2mol H2O2 Eşdeğeri / L) (30).

• **Plazma PON-1 enzim aktivitesinin belirlenmesi:** Sıçanların plazma PON-1 enzim aktivitesi uygun ticari kit (Rel Assay Diagnostics kit, Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye; PON-1 kit no:RL0031) prosedürüne uygun olarak spektrometrik yöntemle belirlenmiş ve analizler ikili çalışılmıştır. Paraoksonaz 1 enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak paraokson kullanılmış ve paraoksonun hidrolizi ile oluşan rengin 412 nm'de, 37°C absorbansı kaydedilmiştir. Sonuçlar U/L olarak verilmiştir. (31).

• **Plazma leptin ve adiponektin düzeyinin ölçülmesi:** Leptin ve adiponektin düzeyleri analize uygun ticari kitin (Optima Elisa Kits, Optima Tıbbi ve Kimyevi Maddeler, İstanbul, Türkiye ve Leptin kit no: OPR1F0441; Adiponektin kit no: OPR1F0032) içeriğindeki prosedüre göre spektrometrik yöntemle belirlendiği gibi 450 nm'de ölçülmüş ve ikili çalışılmıştır.

Verilerin İstatistiksel Analizi

Verilerin analizinde SPSS 22 istatistiksel analiz programı kullanıldı. Sonuçlar normal dağılım göstermediği için verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis Varyans analizi kullanıldı. Güven aralığı %95 ve %5 hata payı ile p değeri 0,05'in eşit ve altında olduğu durumlarda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya alınan deney hayvanlarının canlı ağırlık ve yaşlarının ortalama ve standart sapma değerleri sırası ile 260,9±28,4 gram ve 9,5±0,51 hafta olarak bulunmuştur.

Tablo 1'de tüm grupların antioksidan ve oksidan parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. Buna göre, TAC değerinin, soğuk stres uygulanan grupta düştüğü, nar çiçeği ekstraktı uygulandığında bu değer anlamlı derecede arttığı saptanmıştır (p=0,005). Yine soğuk stres uygulamasının, PON-1 değerini azaltırken, TOS

Tablo 1. Tüm gruplara ait antioksidan ve oksidan parametrelerinin ortalama ve standart sapma değerleri

Parametreler	Çalışma Grupları			p değeri
	G1 (Kontrol)	G2 (Soğuk Stres)	G3 (Soğuk stres+Nar çiçeği)	
Antioksidanlar				
TAC (µmol/L)	1212,1±106,4 ^a	1179,3±148,0 ^b	1508,5±369,6 ^c	0,025*
PON1 (U/L)	211,0±93,6	208,4±101,5	222,3±117,1	0,968
Oksidanlar				
TOS (µmol/L)	10,28±2,8	10,30±4,9	9,23±4,8	0,941
OSİ	0,66±0,34	0,80±0,14	0,61±0,29	0,242

*Kruskal Wallis varyans analizi yapılmıştır. *p<0,05. TAC: total antioksidan kapasite; TOS: total oksidan durum; PON1: paraoksanaz 1 enzimi; OSİ: oksidatif stres indeksi.

Tablo 2. Tüm gruplara ait serum leptin ve adiponektin hormonlarının ortalama ve standart sapma değerleri

Parametreler	Çalışma Grupları			p değeri
	G1 (Kontrol)	G2 (Soğuk Stres)	G3 (Soğuk stres+Nar çiçeği)	
Leptin (ng/mL)	0,48±0,12	0,32±0,07	0,63±0,52	0,219
Adiponektin (ng/mL)	5,20±1,0	5,00±1,2	6,32±2,3	0,096

*Kruskal Wallis varyans analizi yapılmıştır. *p<0,05.

ve OSİ değerini artırdığı bulunmuştur ($p>0,05$). Nar çiçeği ekstraktının uygulanması ile PON-1 değerinin arttığı, TOS ve OSİ değerlerinin ise azaldığı belirlenmiştir, ancak grupların PON-1 ($p=0,968$), TOS ($p=0,941$) ve OSİ ($p=0,242$) değerleri arasındaki değişimlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Leptin ve adiponektin değerlerine bakıldığında (Tablo 2), deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tartışma

Oksidatif stres, yaşlanma (32) ve birçok hastalığın (33-35) temelinde bulunmakla beraber, kalp-damar hastalıklarının da patogeneğinde yer almaktadır (20, 36). Bu çalışmada TAC, soğuk stres uygulanıp narçiçeği verilen grupta diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Yine bu grupta, PON1 enzimi diğer gruplara göre daha yüksek olduğu bulunmuş, ancak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Oksidan parametrelerden TOS değeri, soğuk stres uygulanıp narçiçeği verilen grupta diğer gruplara göre düşük bulunurken ($p>0,05$), oksidatif stres indeksi de benzer şekilde bu grupta düşük bulunmuştur ($p>0,05$; Bkz. Tablo 1). Soğuğa maruziyetin oksidatif stresi artırdığı çalışmalarda gösterilmekte (19, 37) ve oksidatif stresin antioksidan ve oksidan mekanizmalar arasındaki dengenin bozulması (23) sonucu oluşmaktadır. Nar (*Punica granatum*), özellikle polifenoller gibi biyoaktif antioksidan bileşenleri içerdiği ve antioksidan özelliği dışında antiaterojenik, antiproliferatif ve anti-inflamatuvar özellik gösterdiği bilinmektedir (38). Nar suyu, diğer polifenolden zengin meyve suları ve içeceklerle karşılaştırıldığında, en yüksek antioksidan içeriğe sahiptir (39). Nar çiçeği (*Punica granatum*) çayının içerdiği antioksidan kapasite, soğuğa maruziyetle oluşan oksidatif strese karşı koruyucu rol oynayabilir.

Adipoz doku fonksiyonu ve sempatik sinir sistemi (SNS) aktivitesi birbirine sıkı sıkıya bağlıdır. Yağ dokusu, SNS tarafından uyarılmaktadır. Yağ dokusu tarafından salgılanan adipokinler, enerji homeostazının korunmasında, kan basıncının kontrol edilmesinde, bağışıklık sistemi fonksiyonunda, hemostaz ve aterosklerozda rol oynamaktadır (27). Leptin ve adiponektin yağ dokusu tarafından üretilen anahtar hormonlardır (28). Bu çalışmada, leptin ve adiponektin değerlerine bakıldığında, deney grubunda kontrol grubuna göre düşüş görülmüş, ancak fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$; Bkz. Tablo 2). Yapılan bir çalışmada, kısa süreli (6-18 saat arası) soğuğa maruz kalmanın, sıçanların hem kahverengi hem de beyaz yağlarında bu hormonları şifreleyen genlerin ekspresyonuna etkilerini incelenmiş ve leptin gen ekspresyonu, soğuğa maruz kalmayla inhibe edildiği, sempatik aktivite ve yağ asidi akışının soğuğa maruziyete rağmen, beyaz veya kahverengi yağda adiponektin geninin ekspresyonu üzerinde büyük bir etkisi olmadığı, dolayısıyla soğuğa adaptasyonda leptinde az miktarda düşüş olduğu, ancak adiponektinin soğuğa geniş kapsamlı metabolik adaptasyonlarda önemli bir rol oynamasının olası olmadığı sonucuna varılmıştır (28). Başka bir çalışmada da, soğüğün insanlarda adipokinleri uyarması incelenmiş, adiponektin ve

leptin düzeylerinin soğuk ile birlikte azaldığı saptanmıştır (27). Soğuğa maruziyette veya adaptasyonda adipokinlerin rolünün incelenmesinde, daha uzun süreli çalışmaların planlanması, olası mekanizmaların daha net saptanmasını sağlayabilir.

Sonuç

Sonuç olarak; çalışmanın asıl amacı olan soğuk strese maruz bırakılan sıçanlarda nar çiçeği ekstraktının plazma TAC, TOS ve PON1 değerleri üzerine ve oksidatif stres düzeyine etkisine bakıldığında, soğuk stres uygulanan grupta TAC azaldığı ve oksidatif parametrelerin ise anlamlı bir değişiklik göstermediği saptanmıştır. Soğuğa maruziyette nar çiçeğinin TAC düzeyini artırması, oksidatif strese karşı koruyucu olabileceği, leptin ve adiponektin düzeyleri için daha detaylı ve uzun süreli çalışmaların planlanmasının gerektiği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, Azeez JM, Sreeharshan S. Pomegranate fruit as a rich source of biologically active compounds. *Biomed Res Int.* 2014;2014:686921.
2. Shaygannia E, Bahmani M, Zamanzad B, Rafieian-Kopaei M. A Review Study on *Punica granatum* L. *J Evid Based Integr Med.* 2016;21(3):221-7.
3. Zarfeshany A, Asgary S, Javanmard SH. Potent health effects of pomegranate. *Adv Biomed Res.* 2014;3(100):1-9.
4. Bekir J, Mars M, Vicendo P, Ferrich A, Bouajila J. Chemical composition and antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferation activities of pomegranate (*Punica granatum*) flowers. *J Med Food.* 2013;16(6):544-50.
5. Alimoradian A, Changizi-Ashtiyani S, Farahani AG, Kheder L, Rajabi R, Sharifi A. Protective Effects of Pomegranate Juice on Nephrotoxicity Induced by Captopril and Gentamicin in Rats. *Iran J Kidney Dis.* 2017;11:422-9.
6. Abid MA, Ashfaq M, Sharif MJH, Rauf K, Mahmood W, Khan I, et al. Total antioxidant capacity of commonly used fruits, vegetables, herbs and spices of Pakistan. *Pak J Pharm Sci.* 2017;30(6):2147-50.
7. 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.
8. Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS. *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(7):984-93.
9. Celik I, Temur A, Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (*Punica granatum*) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(1):145-9.
10. Ammar A, Turki M, Hammouda O, Chtourou H, Trabelsi K, Bouaziz M, et al. Effects of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress Biomarkers Following Weightlifting Exercise. *Nutrients.* 2017;9(8).
11. Mercer JB. Cold--an underrated risk factor for health.

Environ Res. 2003;92(1):8-13.

12. Cheng X, Su H. Effects of climatic temperature stress on cardiovascular diseases. *Eur J Intern Med.* 2010;21(3):164-7.
13. Song X, Wang S, Hu Y, Yue M, Zhang T, Liu Y, et al. Impact of ambient temperature on morbidity and mortality: An overview of reviews. *Sci Total Environ.* 2017;586:241-54.
14. Okamoto-Mizuno K, Tsuzuki K, Mizuno K, Ohshiro Y. Effects of low ambient temperature on heart rate variability during sleep in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2009;105(2):191-7.
15. Chen TH, Li X, Zhao J, Zhang K. Impacts of cold weather on all-cause and cause-specific mortality in Texas, 1990-2011. *Environ Pollut (Barking, Essex : 1987).* 2017;225:244-51.
16. Hong CH, Kuo TB, Huang BC, Lin YC, Kuo KL, Chern CM, et al. Cold Exposure Can Induce an Exaggerated Early-Morning Blood Pressure Surge in Young Prehypertensives. *PloS one.* 2016;11(2):e0150136.
17. Luo B, Zhang S, Ma S, Zhou J, Wang B. Effects of cold air on cardiovascular disease risk factors in rat. *Int J Environ Res Public Health.* 2012;9(7):2312-25.
18. Medina-Ramon M, Schwartz J. Temperature, temperature extremes, and mortality: a study of acclimatisation and effect modification in 50 US cities. *Occup Environ Med.* 2007;64(12):827-33.
19. Cong P, Liu Y, Liu N, Zhang Y, Tong C, Shi L, et al. Cold exposure induced oxidative stress and apoptosis in the myocardium by inhibiting the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *BMC Cardiovasc Disord.* 2018;18(1):36.
20. Csanyi G, Miller FJ, Jr. Oxidative stress in cardiovascular disease. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):6002-8.
21. Santilli F, Guagnano MT, Vazzana N, La Barba S, Davi G. Oxidative stress drivers and modulators in obesity and cardiovascular disease: from biomarkers to therapeutic approach. *Curr Med Chem.* 2015;22(5):582-95.
22. Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascul Pharmacol.* 2015;71:40-56.
23. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Bio Interact.* 2006;160(1):1-40.
24. Blumberg J. Use of Biomarkers of Oxidative Stress in Research Studies. *J Nutr.* 2004;134(11):3188S-9S.
25. Kurban S, Akpınar Z, Mehmetoğlu İ. Multiple skleroz hastalarında serum paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ile oksidatif stresin araştırılması. *Genel Tıp Derg.* 2010;20(1):13-7.
26. Karakurt Ö, Çağırıcı G, Akdemir R. Paraoksonaz

ve Ateroskleroz. *Türkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci.* 2012;24(2):128-33.

27. Iwen KA, Wenzel ET, Ott V, Perwitz N, Wellhoner P, Lehnert H, et al. Cold-induced alteration of adipokine profile in humans. *Metab Clin Exp.* 2011;60(3):430-7.
28. Puerta M, Abelenda M, Rocha M, Trayhurn P. Effect of acute cold exposure on the expression of the adiponectin, resistin and leptin genes in rat white and brown adipose tissues. *Horm Metab Res.* 2002;34(11-12):629-34.
29. Paula-Freire LI, Mendes FR, Molska GR, Duarte-Almeida JM, Carlini EA. Comparison of the chemical composition and biological effects of the roots, branches and leaves of *Heteropterys tomentosa* A. Juss. *J Ethnopharmacol.* 2013;145(2):647-52.
30. Koksall H, Kurban S. Total oxidant status, total antioxidant status, and paraoxonase and arylesterase activities during laparoscopic cholecystectomy. *Clinics.* 2010;65(3):285-90.
31. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet.* 1983;35(6):1126-38.
32. Cabello-Verrugio C, Simon F, Trollet C, Santibanez JF. Oxidative Stress in Disease and Aging: Mechanisms and Therapies 2016. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:4310469.
33. Chen L, Liu B. Relationships between Stress Granules, Oxidative Stress, and Neurodegenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:1809592.
34. Chen Z, Zhong C. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurosci Bull.* 2014;30(2):271-81.
35. Kelley EE, Paes AM, Yadav H, Quijano C, Cassina A, Trostchansky A. Interplay between Oxidative Stress and Metabolism in Signalling and Disease 2016. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:7013972.
36. Garcia N, Zazueta C, Aguilera-Aguirre L. Oxidative Stress and Inflammation in Cardiovascular Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:5853238.
37. Martarelli D, Cocchioni M, Scuri S, Spataro A, Pompei P. Cold exposure increases oxidative stress. *J Sports Med Phys Fitness.* 2011;51(2):299-304.
38. Husari A, Khayat A, Bitar H, Hashem Y, Rizkallah A, Zaatar G, et al. Antioxidant activity of pomegranate juice reduces acute lung injury secondary to hyperoxia in an animal model. *BMC Research Notes.* 2014;7(664):1-10.
39. Seeram NP, Aviram M, Zhang Y, Henning SM, Feng L, Dreher M, et al. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *J Agric Food Chem.* 2008;56(4):1415-22.