



## Ratların Karaciğer ve Testis Dokusundaki Antioksidan Aktivite Üzerine Nar Suyunun Etkisi

**Abdurrauf YÜCE**  
**Mesut AKSAKAL**

Fırat Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı  
Elazığ-TÜRKİYE

Bu çalışma sağlıklı ratların karaciğer ve testis dokularındaki antioksidan aktivite üzerine nar suyunun (NS) etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Bu amaçla 28 yetişkin Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde ve nar suyunun veriliş miktarına göre 4 gruba ayrıldı ve gruplar kontrol, düşük, orta ve yüksek olarak isimlendirildi. Yedi hafta boyunca her gün kontrol grubuna 1ml distile su, düşük gruba 0,25 ml NS + 0,75 ml distile su, orta gruba 0,50 NS + 0,50 ml distile su ve yüksek gruba da 1 ml NS mide içi sondası ile verildi. Bu süre sonunda ratlar kesildi. Karaciğer ve testis dokularındaki lipit peroksidasyon (malondialdehit, MDA), glutasyon (GSH) düzeyleri ile glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleri araştırıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında nar suyunun farklı dozlarını almış olan ratların doku lipit peroksidasyon düzeylerinde önemli bir azalma gözlenirken glutasyon (GSH) düzeyleri, glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktivitelerinde belirgin bir artış tespit edildi.

Sonuç olarak; nar suyu tüketimi ratların karaciğer ve testis dokusundaki lipit peroksidasyonu azaltırken antioksidan aktiviteyi artırmaktadır. Bu sonuçlar nar suyunun güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olabileceğini desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Nar suyu, Lipit peroksidasyon, Antioksidan aktivite, Karaciğer, Testis, Rat.

### Effect of Pomegranate Juice on Antioxidant Activity in Liver and Testis Tissues of Rats

The aim of this study was to investigate the effects of Pomegranate juice (PJ) on antioxidant activity in liver and testis tissues of healthy rats.

In this study, 28 adult Wistar albino rats were used. Rats were divided into four groups; each group containing 7 rats. These groups were named as control, low, middle and high. One mL distilled water, 0.25 mL PJ plus 0.75 mL distilled water, 0.50 mL PJ plus 0.50 mL distilled water and 1 mL PJ were given by gavage to rats in the control, low, middle and high group, respectively daily for 7 weeks. The rats were sacrificed at the end of treatment period. Lipid peroxidation (malondialdehyde, MDA) and glutathione (GSH) levels, glutathione-peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) activities were investigated in liver and testis tissues.

A significant decrease were observed in lipid peroxidation (MDA) level and marked increases in glutathione (GSH) level, glutathione-peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) activities of rats received different doses of PJ in comparison to the control group.

In conclusion, pomegranate juice consumption decreases the lipid peroxidation, but increases the antioxidant activity in liver and testis tissues of rats. The results suggest that PJ may have a potential antioxidant activity.

**Key Words:** Pomegranate juice, Lipid peroxidation, Antioxidant activity, Liver, Testis, Rat.

**Geliş Tarihi :** 10.08.2007  
**Kabul Tarihi :** 01.11.2007

### Giriş

Nar (*Punica granatum*) orta doğudaki birçok kültürün halk hekimliğinde hastalıklardan korunmak için kullanılmaktadır (1). Narın toplam ağırlığının yaklaşık %52 si yenilebilir kısmı olan meyve ağırlığı olup bunun %78 nar suyundan %22'si de çekirdek kısmından oluşmaktadır (2). Saf nar suyu (NS) C vitamini ile antosiyaninler, punikalajin, ellajik ve gallik asit gibi polifenolik bileşikler içermektedir (3, 4).

Nar günümüzde kanser önleyici (5, 6), antiproliferatif, apoptotik (3), HIV-I inhibitör, mikrobisit (7), kardioprotektif (8), antihiperlipidemik (9) gibi önemli yararlı etkileriyle çok popüler olmuştur. Bunlara ilaveten bir çok araştırmada (10-12) nar ve nardan elde edilen yan ürünlerin güçlü bir serbest radikal süpürücü ve etkili bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS) serbest radikal sınıfına ait yüksek düzeyde oksitlenen reaktif bileşiklerdir. Karaciğer ve testis gibi çeşitli organlarda

### Yazışma Adresi Correspondence

**Abdurrauf YÜCE**  
Fırat Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı  
23119  
Elazığ-TÜRKİYE  
**ayuce@firat.edu.tr**

ROS üretimi normal fizyolojik bir olaydır. Bununla birlikte bunların sentezindeki artışlar hücrelerde oksidasyona ve DNA hasarına yol açmaktadır (13).

Miyokardiyal enfarktüs, diyabet, kanser, katarakt, romatoid artrit, infertilite, solunum, sinir ve üriner sistem hastalıkları ile stres ve yaşlanma sürecinde antioksidan enzim düzeylerinde önemli değişiklikler ve lipit peroksidasyonda artış, birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (14,15).

Antioksidanlar, genellikle ROS ve lipit peroksidasyon oluşumunu iyileştiren, ortadan kaldıran ve baskılayan bileşiklerdir. Bilinen biyolojik antioksidanlar olan glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) serbest radikallerin ortadan kaldırılması ve baskılanmasında önemli bir role sahiptir. Bu yüzden ROS süpürücü etkiye sahip maddelerin testis ve karaciğer fonksiyonlarını düzeltmesi muhtemeldir (13, 16, 17).

Her ne kadar Hippocrates, Soranus ve Dioscorides gibi hekimliğin ataları kadınlarda gebeliği önlemek amacı da narı önerse de (18) günümüzde nar taneli yapısından dolayı kaçınılmaz bir şekilde fertilité ile ilişkilendirilmektedir (19). Bu çalışmada etkili bir antioksidan olan NS'nin ratlara 7 hafta boyunca oral yolla verilerek lipit peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitesine olan etkileri araştırıldı.

## Gereç ve Yöntem

**Nar suyu ve Kimyasallar:** Pastörize nar suyu (%100 saf, Pastörize nar suyu, 250 ml, Elite naturel içecekler A.Ş. Ankara, Türkiye) marketten temin edildi. Diğer kimyasallar Sigma-Aldrich Kimyasal A.Ş. (St Louis, MO, USA)' den sağlandı.

**Hayvanlar ve Çalışmanın Tasarımı:** Bu çalışmada 28 sağlıklı, erişkin Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar rahatça hareket edebilecekleri alanlara sahip, yem ve su kaplarının kafese monte edilen plastik kafeslerde barındırıldı. Yem ve suları ad libitum olarak verildi. Altlık olarak talaş kullanıldı ve kafeslerin temizliği haftalık olarak yapıldı. Hayvanlar standart laboratuvar şartlarında 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda oda sıcaklığında (21±3 °C) muhafaza edildi.

Ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde kontrol, düşük, orta ve yüksek olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna yalnız 1 ml distile su, düşük gruba 0.25 ml NS+0.75 ml distile su, orta gruba 0.5 ml Ns+0.50 ml distile su ve yüksek gruba ise yalnız 1 ml NS 7 hafta boyunca günlük olarak mide içi sondası ile verildi.

**Örnek Toplama:** Ratlar 7 haftalık sürenin sonunda eter anestezisi kullanılarak kesildi. Karaciğer ve testis

örnekleri gün ışığından korunacak şekilde saklandı. Doku örnekleri bir kısmı soğuk serum fizyolojikle yıkandıktan sonra antioksidan aktiviteyi belirlemek için – 20°C de muhafaza edildi. Karaciğer ve testis dokusunun geri kalan kısmı da lipit peroksidasyon düzeylerinin belirlenmesi için hemen kullanıldı.

**Homojenatin Hazırlanması:** Enzimatik analizler için alınmış olan karaciğer ve testis dokusu bir cam üzerinde doğrandı ve cam homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Doku örnekleri 1/10 oranında fosfat tamponuyla (pH 7.4) sulandırıldı.

**Malondialdehit (MDA) ve Antioksidan Enzim Düzeylerinin Tayini:** Karaciğer ve testis dokusunda Malondialdehit (MDA) tayini Placer ve ark. (20)'nin tanımladığı spektrofotometrik yöntemle göre belirlenerek elde edilen sonuçlar nmol/ml olarak ifade edildi.

GSH düzeyleri Sedlak ve Lindsay (21)'in belirttiği şekilde spektrofotometre ile ölçülerek µmol/ml olarak, GSH-Px aktivitesi Lawrence ve ark. (22)'nin bildirdikleri şekilde spektrofotometre ile belirlenerek IU/g-protein olarak ve doku katalaz tayini Aebi (23)'un tarif ettiği şekilde spektrofotometre ile yapılarak k/g-protein olarak ifade edildi.

**İstatistikî Analizler:** Araştırmada elde edilen veriler ortalama ± standart hata değerleri olarak gösterildi. İstatistiksel analizler SPSS 10.0 paket programıyla yapıldı. Karaciğer ve testis dokusunda, MDA ve GSH düzeyleri, GSH-Px ve CAT aktivitelerinin gruplar arasındaki farklılıklar varyans analizi ile değerlendirildi. Aralarında önem bulunan parametreler için Tukey-HSD testinden yararlanıldı (24).

## Bulgular

Ratların karaciğer ve testis dokusundaki MDA ve GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktiviteleri Tablo 1'de verilmiştir. NS'nin bütün dozları, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karaciğer ve testis MDA düzeylerini önemli derecede (p<0.01) azalttı.

NS verilen gruptaki ratların karaciğer (p<0.01) ve testis (p<0.05) GSH düzeylerinde de kontrole göre belirgin bir artış tespit edildi. Dokulardaki GSH-Px aktivitesinde, en fazla yüksek grupta olacak şekilde bütün gruplarda, kontrole göre belirgin bir artış gözlemlendi (p<0.01).

Karaciğer dokusunda CAT aktivitesi yine en fazla yüksek grupta olacak şekilde bütün gruplarda, kontrole göre önemli derecede (p<0.01) artmıştır. Fakat testis dokusundaki CAT aktivitesi sadece yüksek gruptaki ratlarda, kontrole göre önemli derecede (p<0.01) artmıştır.

**Tablo 1.** Kontrol grubu ve nar suyunun farklı dozlarının verildiği hayvanlardaki karaciğer ve testis dokularına ait MDA ve GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktiviteleri

		Gruplar			
		Kontrol	Düşük	Orta	Yüksek
MDA	Karaciğer	32,12±0,59 <sup>A</sup>	26,41±1,13 <sup>B</sup>	25,54±1,41 <sup>B</sup>	20,18±0,21 <sup>C</sup>
	Testis	26,84±0,37 <sup>A</sup>	22,29±1,13 <sup>B</sup>	17,89±0,74 <sup>C</sup>	16,36±0,31 <sup>C</sup>
GSH	Karaciğer	3,48±0,05 <sup>A</sup>	3,90±0,07 <sup>B</sup>	3,97±0,04 <sup>B</sup>	4,06±0,15 <sup>B</sup>
	Testis	3,14±0,09 <sup>A</sup>	3,38±0,03 <sup>ab</sup>	3,41±0,06 <sup>ab</sup>	3,50±0,13 <sup>b</sup>
GSH-Px	Karaciğer	65,26±2,74 <sup>A</sup>	79,38±1,86 <sup>B</sup>	80,50±1,93 <sup>B</sup>	90,95±0,95 <sup>C</sup>
	Testis	53,09±1,04 <sup>A</sup>	59,73±1,96 <sup>B</sup>	61,98±1,10 <sup>B</sup>	83,78±1,84 <sup>C</sup>
CAT	Karaciğer	31,75±1,68 <sup>A</sup>	40,68±3,05 <sup>B</sup>	42,98±2,11 <sup>B</sup>	53,68±1,93 <sup>C</sup>
	Testis	29,63±1,87 <sup>A</sup>	33,30±3,27 <sup>A</sup>	38,33±1,87 <sup>A</sup>	49,37±1,73 <sup>B</sup>

Aynı satırda farklı büyük harf (A, B, C) taşıyan değerler arasında P<0.01 düzeyinde, küçük harf (a, b) taşıyan değerler arasında da P<0.05 düzeyinde önemli farklılıklar vardır.

## Tartışma

Bu çalışmada, 7 hafta boyunca günlük olarak NS tüketilmesinin ratların lipid peroksidasyon düzeylerinde azalmaya, ayrıca GSH düzeylerinde, GSH-Px ve CAT aktivitelerinde bir artışa neden olduğu görüldü.

NS antosiyanin, punikalajin ve punikalın (5), ellajik ve gallik asit (3, 4) ile vitamin C (2) içeren önemli bir kaynaktır. Nar'dan elde edilmiş fenolik bileşiklerin (10-12) ve vitamin C (25)'nin antioksidan ve radikal süpürücü aktivitesi olduğu bildirilmiştir.

Hücreler tarafından metabolize edilen pek çok bileşik hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), singlet-oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), hidroksil radikali (OH) veya peroksinitrit gibi serbest radikallerin artışına yol açan oksijen ile reaksiyona girebilen elektrofilik radikallerin düzeyinde artışlara neden olmaktadır. (26,27). ROS birikmeye başladığında, hücreler çeşitli antioksidan enzimleri kullanarak bir savunma mekanizması oluşturur. Peroksitler için asıl detoksifiye sistemi CAT ve GSH dir. CAT bir katalizör olarak demirin varlığında yüksek derecede bir reaktif OH oluşturarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i yok edebilen antioksidan bir enzimdir. Glutasyon redoks siklusuna katılarak GSH-Px ile birlikte GSH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve lipid peroksitleri toksik olmayan ürünlere dönüştürür (13, 28, 29). Nardan elde edilen fenolik bileşikler (8, 12), vitamin C (25), vitamin E ile melatonin (30), likopen (31-33) değişik organlarda lipid peroksidasyonun oluşturduğu çeşitli yıkımları önlemek için bir antioksidan olarak kullanılabilir.

## Kaynaklar

- Gurib-Fakim A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med* 2006; 27: 1-93.
- El-Nemr SE, Ismail IA, Ragab M. Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit. *Nahrung* 1990; 34: 601-606.
- Seeram NP, Adams LS, Henning SM, et al. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 360-367.
- Lansky EP. Beware of pomegranates bearing 40% ellagic acid. *J Med Food* 2006; 9: 119-122.
- Afaq F, Saleem M, Krueger CG, Reed JD, Mukhtar H. Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-κB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *Int J Cancer* 2005; 113: 423-433.
- Lansky EP, Harrison G, Fromm P, Jiang WG. Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across Matrigel™. *Invest New Drugs* 2005; 23: 121-122.

7. Neurath AR, Strick N, Li Y-Y, Debnath AK. Punica granatum (pomegranate) juice provides an HIV-1 entry inhibitor and candidate topical microbicide. *BMC Infect Dis* 2004; 4: 1-12.
8. Sumner MD, Elliott-Eller M, Weidner G, et al. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart diseases. *Am J Cardiol* 2005; 96: 810-814.
9. Fuhrman B, Volkova N, Aviram M. Pomegranate juice inhibits oxidized LDL uptake and cholesterol biosynthesis in macrophages. *J Nutr Biochem* 2005; 16: 570-576.
10. de Nigris F, Williams-Ignarro S, Lerman LO, et al. Beneficial effects of pomegranate juice on oxidation-sensitive genes and endothelial nitric oxide synthase activity at sites of perturbed shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 4896-4901.
11. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 2006; 99: 191-203.
12. Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis* 2006; 187: 363-371.
13. Sikka SC. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci* 1996; 1: 78-86.
14. Ak H, Dingilođlu T, Habif N, et al. Plasma lipid peroxidation, Vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr J Med Sci* 1994; 26: 11-15.
15. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri, 2. Baskı, Konya: Mimoza Yayınları, 1995.
16. Vernet P, Aitken RJ, Drevet JR. Antioxidant strategies in the epididymis. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 216: 31-39.
17. Sudheesh S, Vijayalakshmi NR. Flavonoids from Punica granatum-potential antiperoxidative agents. *Fitoterapia*. 2005; 76(2): 181-186.
18. Pomegranate. (Accessed February 16, 2007, at <http://www.sisterzeus.com/pomegranate.htm>)
19. La Granada. The pomegranate in New Spain. (Accessed February 16, 2007, at <http://www.collectorsguide.com/-fa/fapdfs/fa115.pdf>)
20. Placer AZ, Linda LC, Johnson B. Estimation of product of lipid peroxidation (Malonyl Dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
21. Sedlak J, Lindsay RHC. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
22. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 4, 952-958.
23. Aebi H. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, Bergmeyer HU (ed.). Academic Press: New York, 1974; 673-677.
24. Sümbüllüođlu K, Sümbüllüođlu VD. *Bioistatistik*. 4. Baskı Özdemir Yayıncılık LTD. ŞTİ. Ankara, 1993.
25. Sönmez M, Türk G, Yüce A. The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats. *Theriogenology* 2005; 63: 2063-2072.
26. de Lamirande E, Jiang H, Zini A, et al. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev Reprod* 1997; 2: 48-54.
27. Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1987; 81: 459-469.
28. Sanocka D, Kurpisz M. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2: 1-7.
29. Calvin HI, Cooper GW, Wallace EW. Evidence that selenium in rat sperm is associated with a cysteine-rich structural proteins of the mitochondrial capsule. *Gamete Res* 1981; 4: 139-145.
30. Sönmez M, Yüce A, Türk G. The protective effects of melatonin and vitamin E on antioxidant enzyme activities and epididymal sperm characteristics of homocysteine treated male rats. *Reprod Toxicol* 2007; 23: 226-231.
31. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Yüce A, Çeribaşı AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology* 2007; 67: 778-785.
32. Ateşşahin A, Karahan İ, Türk G, et al. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol* 2006; 21: 42-47.
33. Ateşşahin A, Türk G, Karahan İ, et al. Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats. *Fertil Steril* 2006; 85(Suppl 1): 1216-1222.
34. 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: 271-278.
35. 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: 984-993.
36. Rosenblat M, Volkova N, Coleman R, Aviram M. 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. *J Agric Food Chem*. 2006; 54: 1928-1935.
37. Pantuck AJ, Leppert JT, Zomorodian N et al. Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12: 4018-4026.