

İnsan Sağlığında Pknogenol: Bir Genel Derleme

Merve BECİT*, Sevtap AYDIN**°, and Nurşen BAŞARAN**

Pycnogenol in Human Health: An Overview

SUMMARY

Pycnogenol, natural dried extract obtained from the bark of Pinus pinaster, is commonly consumed as a dietary food supplement due to its strong antioxidant and antiinflammatory effects. It is believed that some natural compounds might reduce the development of cancer through the antioxidant activity. The studies have supported the therapeutic role of Pycnogenol. Pycnogenol does not have toxic effect when consumed at the recommended doses, however, it should be noted that its high doses or long-term consumption of Pycnogenol may have toxic effects. It is predicted that the further studies needs to be performed to clarify the mechanisms of Pycnogenol. In this review, the information on the pharmacokinetic and pharmacological properties of Pycnogenol and mechanisms of action, toxicity and safety of Pycnogenol were presented.

Key Words: *Pinus pinaster, Pycnogenol, phenolic compounds, antioxidant, toxicity, safety.*

İnsan Sağlığında Pknogenol: Bir Genel Derleme

ÖZET

Pinus pinaster kabuğundan elde edilen doğal kurutulmuş ekstresi pycnogenol, kuvvetli antioksidan ve antiinflatuvar etkileri nedeniyle besin takviyesi olarak yaygın tüketilir. Bazı doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesi aracılığıyla kanser gelişimini azaltabileceği düşünülmektedir. Çalışmalar Pknogenolün terapötik rolünü desteklemektedir. Önerilen dozlarında tüketildiğinde Pknogenolün toksik etkileri bulunmamaktadır, ancak Pknogenolün yüksek dozları veya uzun süreli tüketiminin toksik etkilere sahip olabileceği unutulmamalıdır. Pknogenolün mekanizmalarını aydınlatmak üzere daha ileri çalışmaların gerekli olduğu öngörülmektedir. Bu derlemede, Pknogenolün farmakokinetik ve farmakolojik özellikleri ile pknogenolün etki mekanizmaları, toksisitesi ve güvenliliği hakkında bilgiler sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: *Pinus pinaster, Pknogenol, antioksidan, toksisite, güvenlik.*

Received: 31.03.2017

Revised: 11.04.2017

Accepted: 13.04.2017

* Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Atatürk University, 25240, TURKEY

** Department of Pharmaceutical Toxicology, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, Ankara, 06100, TURKEY

° Corresponding Author:
Tel: 312 3052178
Fax: 312 311477
E-mail: sevtapay@hacettepe.edu.tr

GİRİŞ

Piknogenolün Doğal Kaynakları ve Kullanımı

Piknogenol, Fransa'nın güneybatı sahillerinde yetişen *Pinus pinaster* (*Pinus maritima*)'den elde edilen flavonoid/polifenol yapısında bir bitki ekstresidir (D'Andrea, 2010).

Piknogenol terimi, antik Yunanca'da kondanse anlamına gelen "puknos" ile aile, sınıf anlamına gelen "genos" sözcüklerinden oluşturulmuştur. Flavan-3-ol türevlerinden oluşan flavonoidlerin bir alt sınıfını belirtmek için ortaya çıkan bu terim, günümüzde çam kabuğundan elde edilen prosiyanidinlerin özel bir karışımını ifade etmektedir ve "Piknogenol (PYC) (Horphag Research Ltd, UK, Geneva, İsviçre)" adı altında patentlidir (D'Andrea, 2010; Packer et al., 1999).

Çam ağacı kabuklarının eski dönemlerde inflamatuvar hastalıklarda, yara iyileşmesinde, kanamaları önlemede, öksürük şurubu olarak, diş ağrılarının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir (D'Andrea, 2010; Packer et al., 1999). Ayrıca piknogenolün antimikrobiyal etkilerinden dolayı ağız ve cilt sağlığını koruyucu olarak geleneksel kullanımına rastlanmaktadır (Torras et al., 2005).

Piknogenolün, güçlü antioksidan ve antiinflamatuar etkisi yapılan *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmalar ile aydınlatılmıştır. Kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olarak, diyabet hastalarında glisemik kontrolü sağlayıcı ve komplikasyonları iyileştirici olarak ve dismonere, kas ve kramp ağrıları, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu, alerji ve solunum yolu gibi birçok fizyolojik hastalıklarda destekleyici tedavide yeri olan piknogenolün gıda takviyesi olarak dünya çapında oral tüketimi bulunmaktadır (D'Andrea, 2010; Maimoona et al., 2011).

Piknogenolün Fizikokimyasal Özellikleri

Çam kabuğu ekstresi kırmızımsı-kahverengi renkli, aromatik kokulu kuru toz halindedir. Kuru ve karanlık ortamda stabildir. Isıya karşı dayanıklıdır. Yapısında yüksek oranda bulunan proantosiyanidin suda yüksek oranda çözünmesini sağlar (Rohdewald, 2005a). USP 28'de "Maritime pine bark ekstresi" adı altında piknogenolün kalitesi belirlenmiştir (USP, 2005). Bu monografa uygun olarak hazırlanan standardize edilmiş piknogenol ekstresi (Pycnogenol®) yapısında %65-75 oranında kateşin ve epikateşin alt ünitelerini taşıyan prosiyanidin içermektedir. Yapısındaki diğer bileşenler ise polifenolik monomerler, benzoik veya sinnamik asit ve bunların glikozitleridir (D'Andrea, 2010; Rohdewald, 2002). Piknogenolün tanımında kullanılan ve analizi için asıl kabul edilen bileşenler; prosiyanidinler, taksifolin, ferulik asit, kateşin ve kafeik asittir (USP, 2005). Ayrıca glukoz ve

inorganik bileşikler de düşük miktarda bulunmaktadır (Rohdewald, 2002).

Piknogenolün Farmakokinetik Özellikleri

Piknogenolün sağlıklı gönüllüler üzerinde oral alınımından sonra farmakokinetik özelliklerini belirlemek üzere yapılan kapsamlı bir çalışmada, piknogenol bileşenlerinin birçoğunun oral alınımında iyi absorbe edildiği, biyoyararlanımının yüksek olduğu ve önemli oranda metabolize edildiği, vücut dokularına hızlı dağıldığı ve ayrıca bilinen bileşiklerin plazma konsantrasyonlarının nanomolar düzeyinde olduğu belirtilmiştir (Maimoona et al., 2011; Rohdewald, 2005a; Grimm et al., 2006a).

Piknogenol deriden de kolaylıkla absorpsiyona uğrayabilmektedir. Polietilen glikol ile hazırlanan %5'lik piknogenol solüsyonunun 10 kadavraya topikal uygulandıktan sonra transdermal biyoyararlanımı incelendiğinde; gallik asit, protokateşik asit, kateşin, p-hidroksibenzoik asit, vanilin, taksifolinin absorbe olduğu tespit edilmiştir (Oliff, 2010; Sarikaki et al., 2004). Gönüllü insanlarda yapılan çalışmada piknogenolün oral alınımından 2-3 saat sonra, sülfatasyon ve glukronidasyona uğradığı ve idrarda ferulik asit, taksifolin olarak ve M1 δ -(3,4-dihidroksi-fenil)- γ -valerolakton) ve M2 (δ -(3-metoksi-4-hidroksi-fenil)- γ -valerolakton) metabolitleri halinde atıldığı tespit edilmiştir (Oliff, 2010; Duweler & Rohdewald, 2000). Bir başka çalışmada benzer şekilde piknogenolün oral alınımından sonra sağlıklı gönüllü bireylerin idrarında serbest ve konjuge ferulik asit belirlenmiştir. İdrarda ferulik asitin çam kabuğu ekstresi tüketiminin bir biyobelirteci olarak görülebileceği belirtilmiştir (Virgili et al., 2000). 24 saat boyunca flavonoid içermeyen diyetle beslenen yaşları 18-30 arasında değişen 11 gönüllüye oral yoldan 300 mg tek doz piknogenol uygulandığı bir çalışmada 14 saat sonra plazmada kateşin, kafeik asit, ferulik asit, taksifolin, M1 metabolitinin yanı sıra bilinmeyen 10 bileşik daha tanımlanmıştır. Bilinmeyen 10 bileşiğin, önceki literatür bilgilerinde yer alan (-)-epikateşin, gallik asit, 4-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit ya da M2 gibi diğer bileşenlerine yapıca benzemediği belirtilmiştir. Kateşin, kafeik asit, ferulik asit ve bilinmeyen bir bileşik için t_{max} (maksimum plazma konsantrasyon gözlemlendiği zaman) 5 saat, taksifolin ve bilinmeyen iki bileşik için t_{max} 10 saat, M1 ve bilinmeyen iki bileşik için ise t_{max} yaklaşık olarak 10 saat olarak belirtilmiştir. Maksimum plazma konsantrasyonu (C_{max}) düzeyleri ise kateşin için 107 ng/mL, taksifolin için 33 ng/mL, kafeik asit için 17 ng/mL, ferulik asit için 15 ng/mL ve M1 için 4 ng/mL olarak ölçülmüştür (Grimm,2006a). Aynı araştırmacılar tarafından deney tekrarlanmış ve 5 gönüllüye 200 mg piknogenol verilmesinin ardından 4 saat sonra plazma örneklerinde benzer metabolit ve bileşenler

tespit edilmiştir. Kateşin, ferulik asit, kafeik asit, M1 ve bilinmeyen bileşiklerden dördü plazmada kararlı duruma ulaşmış olarak belirlenirken, taksifolin ve bilinmeyen iki bileşiğin plazma düzeyi belirlenen limitin altında bulunmuştur. Ayrıca birçok bileşiğin sülfat ve glukoronik asit konjugatları belirlenmiştir. Konjugasyonların derecesinin bireysel değişiklik gösterdiği ve ortalama kateşin için konjugasyon derecesi %56.5, kafeik asit için %69.4 olarak belirtilmiştir (Grimm et al., 2006a; Oliff, 2010). Piktogenolün karışım olarak gösterdiği biyolojik etkinin içeriğindeki saflaştırılmış bileşenlerinin tek başlarına gösterdikleri etkilerin toplamından daha yüksek olduğu, karışım halinde sinerjistik etki ile biyoyararlanımlarının yüksek olduğu belirtilmiştir (D'Andrea, 2010).

Piktogenolün Farmakolojik Etkileri

Piktogenolün biyolojik etkileri birçok çalışmaya konu olmuştur. Kanseri, diyabet, inflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, immün sistem hastalıkları, erkek infertilitesi, menopozal belirtiler, diş eti kanamaları ve ödem gibi birçok patolojik durumda piktogenolün etkili olduğu bildirilmiştir (D'Andrea, 2010).

a) Antioksidan etkisi

Piktogenolün biyolojik etkilerinin altında yatan mekanizmaların moleküler temeli olarak reaktif oksijen ve nitrojen türlerini süpürücü özelliği ileri sürülmektedir (D'Andrea, 2010). Yapısında bulunan fenolik asitler, polifenoller ve özellikle flavonoidler aracılığıyla, piktogenolün güçlü serbest radikal süpürücü etkiye ve güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu *in vivo* ve *in vitro* deneylerde ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir (Packer et al., 1999; Rohdewald, 2005a).

Piktogenolün yapısındaki hidroksil gruplarının sayısı, fenolik eşleşme reaksiyonları ve nükleofilik eklenmeler yüksek radikal tutucu özelliği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (D'Andrea, 2010). Piktogenolün radikal süpürücü etkisinde serbest nitrojen türlerini, indüklenebilir nitrik oksit sentez (iNOS) ve iNOS-mRNA ekspresyonunu inhibe ederek belirgin şekilde nitrojen monooksit üretimini azaltarak etki gösterdiği de ileri sürülmüştür (Packer et al., 1999).

Piktogenolün bileşenleri tek tek değerlendirildiğinde, kateşinin askorbik asite benzer nitelikte süperoksit aktivitesini inhibe ettiği ve M1 metabolitinin hem kateşinden hem askorbik asitten daha güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu *in vitro* olarak gösterilmiştir (Grimm et al., 2004). Prosiyanidince zengin çam kabuğu ekstresi olan piktogenolün bilinen güçlü antioksidan etkisinin sentetik antioksidanlar (askorbik asit, trolox) ile birlikte kullanıldığında sinerjistik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Sivonova et al., 2006).

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) çinko bağımlı proteolitik enzim ailesinden olup çeşitli kronik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Reaktif oksijen radikallerinin MMP'leri çeşitli hücre içi sinyal yolları ile aktive edildiği bilinmektedir. Piktogenolün MMP'ler üzerindeki patofizyolojik rolü araştırılmış ve MMP 1, 2 ve 9 salıverilmelerini ve etkilerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu bulgulara göre piktogenolün MMP'nin aşırı artması ile ilişkili pek çok hastalığın önlenmesi ve tedavi seyri için olumlu etkileyebileceği öngörülmektedir. Örneğin; artrit düzeyleri yükseldiği tespit edilen MMP-1 (kollajenaz 1) ve MMP-9 (jelatinaz B), kırık hasarına yol açmaktadır. Pulmoner fibroziste MMP-2 (jelatinaz A) artışı, astımda MMP-9 artışı görülmektedir. (Grimm et al., 2004; Grimm et al., 2006b; Peng et al., 2012).

Piktogenol, oksidatif stres ile ilişkili birçok hastalığa karşı koruyucu rol oynamaktadır. Piktogenolün intraselüler antioksidan koruma sistemlerini stabilize ederek başta oksidatif hasarda temel hedef olan lipit, protein ve DNA olmak üzere tüm biyomolekülleri oksidatif hasara karşı koruduğu belirtilmektedir (Maimoona et al., 2011; Gulati, 2015).

İnsan karaciğer kanser hücrelerinde (U1285), piktogenolün hücrel redoks sistemleri üzerine antioksidan etkisinin incelendiği bir çalışmada piktogenol uygulamasının oksidatif strese karşı endojen savunmanın aktif enzimlerinden tioredoksin redüktaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinde ve mRNA ekspresyonlarında azalmaya yol açtığı ve glutatyon redüktaz aktivitesini ise etkilemediği gösterilmiştir (Gandin et al., 2009).

İnsan nöroblastoma hücresi (SH-SY5Y) üzerinde piktogenolün akrolein tarafından indüklenen sitotoksositeye ve oksidatif hasara karşı koruyucu etkinliği gösterilmiştir. Piktogenolün kan beyin bariyerini aşarak merkezi sinir sistemi dokularını koruyabileceği ve oksidatif stres ile ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisi yaklaşımında umut verici olabileceği düşünülmektedir (Rohdewald, 2002; Ansari et al., 2008).

Radyoterapinin reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile artan oksidatif hasarın piktogenolün güçlü antioksidan aktivitesi ile önlenebileceği ve radyasyona karşı güvenli bir koruyucu olabileceği sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ileri sürülmüştür (de Moraes Ramos et al., 2006).

Siklofosfamid ile üreme/gelişimsel toksisite modeli oluşturulan sıçanlarda piktogenolün lipit peroksidasyonu engellediği ve embriyo-fetüs toksisitesinden koruduğu gösterilmiştir (Kim et al., 2012).

Piktogenol ile zenginleştirilmiş meyve sularının

(0.5 g/L piknogenol) kolon kanser hücreleri (Caco-2) üzerinde antioksidan ve antiproliferatif etkisinin değerlendirildiği çalışmada piknogenol içeriği zengin örneklerde antioksidan kapasitenin arttığı bildirilmiştir (Frontela-Saseta et al., 2011).

İskemi reperfüzyon ile indüklenen oksidatif renal hasarda piknogenolün biyokimyasal ve histopatolojik hasar bulgularını düzelttiği *in vivo* olarak gösterilmiştir. Piknogenolün serbest radikalleri azalttığı, doku nötrofil infiltrasyonunu azalttığı ve böbrek üzerine koruyucu etkisinin olabileceği ileri sürülmüştür (Şehirli et al., 2009).

Piknogenolün plazma antioksidan kapasitesi 25 gönüllüye (10 erkek, 15 kadın, yaş ortalaması 30±8) 150 mg/gün doz 6 hafta süre ile uygulanarak araştırılmıştır. Plazma antioksidan potansiyelinin, oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi tayini ile ölçüldüğünde %40 arttığı bulunmuştur (Devaraj et al., 2002).

b) Antiinflamatuvar etkisi

Piknogenolün doz-bağımlı antiinflamatuvar etkisi ve kronik inflamatuvar hastalıklardaki terapötik rolü birçok çalışma ile desteklenmiştir. (Maimoona et al., 2011; Gulati, 2015; Devaraj et al., 2002).

Reaktif oksijen türleri, hücre hasarına yol açmakla ve dejeneratif süreci başlatmakla kalmaz aynı zamanda nükleer faktör-kappa B (NF-κB) aktivasyonu gibi diğer proinflamatuvar süreçleri de etkilemektedir. Piknogenolün proinflamatuvar sitokinlerin gen ekspresyonu üzerine etkisi ve etki mekanizmasının araştırıldığı bir *in vitro* çalışmada, NF-κB ve aktivatör protein-1 (AP-1) gibi temel faktörleri inhibe ederek IL-1betayı ve mRNA düzeylerini doz-bağımlı olarak azalttığı ayrıca; forbol,12-miristat,13-asetat ve iyonomin tarafından indüklenen interlökin (IL)-2 gen ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Cho et al., 2001).

Deneysel inflamatuvar barsak modeli oluşturulan hayvanlarda piknogenolün makroskopik hasarı azalttığı, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesini doz-bağımlı azaltarak antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir (Mochizuki & Hasegawa, 2004).

Gönüllü bireylerden alınan serum örneklerinde inflamatuvar yanıtı aracılık eden prostoglandin gibi kimyasal mediyatör kaskat üretiminden sorumlu enzimlerin (siklooksijenazlar, COX-1 ve COX-2) aktivitelerinin piknogenol ile inhibe edildiği gösterilmiştir. 300 mg tek doz piknogenol uygulanan 10 sağlıklı bireyin serum örneklerinde görülen siklooksijenaz enzim inhibisyonu trombosit agregasyonunun inhibisyonuna neden olacağı için antiinflamatuvar etkisinin kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisini de açıklamaktadır (Schafer et al., 2006). Bir diğer çalışmada ise

yaş aralığı 35-50 olan sağlıklı gönüllülere 5 gün süre ile 150 mg oral yoldan verilen piknogenolün COX-1 gen ekspresyonunun düzenlenmesi ile ilişkili olan ve lökotrien biosentezinin azalmasına yol açan COX-2 ve 5-lipoksigenaz (5-LOX) gen ekspresyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir. Aynı zamanda fosfolipaz A2 aktivitesi de inhibe olmuştur. Bu bulgular, piknogenolün insan polimorfonükleer lökositlerindeki antiinflamatuvar yanıtın COX-2 ve 5-LOX gen ekspresyonundan kaynaklandığını göstermektedir (Canali et al., 2009).

Osteoartrit tedavisi ile ilgili yapılan klinik bir çalışmada piknogenolün semptomları iyileştirdiği gösterilmiştir ve uygulanan osteoartrit tedavisinde bir tedavi seçeneği olarak ileri sürülmektedir (Farid et al., 2007).

Piknogenolün antiinflamatuvar etkisine bağlı olarak ağrıyı azaltabileceği düşünülmektedir. Dismenore, migren, kas ve kramp ağrılarında piknogenol takviyesinin ağrıda belirgin azalma sağladığı klinik olarak tespit edilmiştir (Suzuki et al., 2008; Chayasisobhon, 2006; Vinciguerra et al., 2006). Antiinflamatuvar etkili piknogenolün kronik inflamatuvar, kardiyovasküler, otoimmün hastalıkların tedavisinde yeri olabileceği görülmektedir.

Piknogenolün alerjik hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğini gösteren çalışmalar da vardır. Piknogenolün mast hücrelerinden histamin ve proinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesini inhibe ederek immünoglobülin (Ig)-E aracılı alerjik yanıtı önemli derecede azalttığı ortaya konulmuştur. Hem *in vivo* hem *in vitro* modellerin kullanıldığı çalışmada, antialerji etki mekanizması mast hücrelerinde NF-κB aktivitesinin ve kalsiyum geri-alımını baskılanması esasına dayanmaktadır (Choi & Yan, 2009). Piknogenolün alerji mevsimi başlamasından en az 5 hafta önce alınması alerjik rinit semptomlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (Wilson et al., 2010).

c) Antigenotoksik etkisi

Piknogenolün genom üzerindeki olumlu etkilerinin *in vitro* olarak araştırıldığı çalışmada, mutajen olduğu bilenen maddelerin mutajenitelerini önemli ölçüde azalttığı yani antimutajenik bir madde olduğu belirtilmektedir (Krizkova et al., 2008).

Sisplatin sitotoksitesi oluşturulan sıçanlarda 5 gün süre ile 200 mg/kg oral verilen piknogenolün antioksidan ve antigenotoksik etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda sisplatin tarafından indüklenen prooksidan enzimlerin (MPO, ksantin oksidaz), malondialdehit ve nitrik oksit düzeyinin piknogenol ile normalize edildiği, kromozom hatalarını azalttığı ve mitotik indekslerinin arttırıldığı gösterilmiştir. Bu bulgular, piknogenolün sisplatin tedavisi ile ilişkilendirilen oksidatif, inflamatuvar ve genotoksik hasara

karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir (Aydm et al., 2011).

d) Antimikrobiyal etkisi

Prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmalara karşı piknogenolün antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Gram (+/-) bakterilere karşı bakteriyostatik etkisi ve *Candida* gibi ökaryotik mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu etkiler, piknogenolün ağız ve cilt sağlığını koruyucu bir madde olarak kabul edilebileceğini düşündürmektedir (Torras et al., 2005).

Peptik ülseri neden olan *Helicobacter pylori*'nin eradikasyonunda antibiyotiklere karşı direnç gelişimi, araştırmacıları alternatif bir tedavi bulmaya yönlendirmiştir. Antimikrobiyal etkileri olduğu düşünülen piknogenolün gastrik hücrelerde *H.pylori* üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, piknogenolün dozbağımlı ve anlamlı olarak bakterinin üreme ve gelişimini ve gastrik hücreye adhezyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Rohdewald & Beil, 2008).

Piknogenolün antimikrobiyal etkisinin gıda endüstrisinde doğal koruyucu madde olarak kullanılabileceğini öne süren bir çalışma da bulunmaktadır. Pişmiş kırmızı etteki *Staphylococcus aureus*'a karşı piknogenolün bakteri sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Kocabaş et al., 2008).

e) Antiviral etkisi

Piknogenolün viral miyokardit üzerinde hem antiinflamatuvar hem de antiviral etkilerinden dolayı önemli bir etmen olabileceği düşünülmüştür. Viral miyokarditte proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu baskılamasından ve viral replikasyonun inhibisyonu ile miyokardiyal nekrozu artırmasından kaynaklandığı *in vivo* çalışmada belirtilmiştir (Matsumori et al., 2007).

İn vitro bir çalışmada, piknogenolün hücre-içi antioksidan bir protein olan mangan süperoksit dismutaz ekspresyonunu artırarak AIDS'e neden olan HIV-1 (*human immunodeficiency virus-1*, insan immün yetmezlik virüsü-1) replikasyonunu inhibe ettiği ve virüsün çoğalmasını kontrol edebilen yeni bir anti-HIV-1 ajanı olarak kullanılabilmesi, aynı zamanda diğer virüs ile ilişkili hastalıklarda da koruyucu ve tedavi edici değeri olabileceği ileri sürülmüştür (Feng et al., 2008).

Karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinoma riskini artıran hepatit C virüsünün replikasyonunun piknogenol tarafından inhibe edilebileceği hipotezine dayanan *in vitro* araştırmada, mevcut tedavide kullanılan ilaçlar (interferon-alfa, ribavirin, telaprevirin) ile kombine kullanımının sitotoksitesiteyi artırmadan sinerjistik etki gösterdiği, ilaca dirençli hücrelerde bile antiviral etki gösterdiği belirlenmiştir (Ezzikouri et

al., 2015).

f) Antikanser etkisi

Piknogenolün malign ovaryum germ hücreleri için seçici toksik olduğu belirtilmektedir. Ovaryum hücrelerinde yapılan *in vitro* çalışmada, talk ile indüklenen proliferasyon ve neoplastik dönüşüm sırasında piknogenolün reaktif oksijen türlerinin üretimini azalttığı, hücre proliferasyonunu azalttığı, neoplazm görülen kolonilerin sayısını azalttığı belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre piknogenolün ovaryum kanser oluşumunu önleyebileceği ileri sürülmüştür (Buzzard & Lau, 2007). Aynı zamanda piknogenolün seçici bir şekilde göğüs kanseri hücrelerinde (Huynh & Teel, 2000) ve insan promiyeloid lösemi hücrelerinde (Huang et al., 2005) apoptozu arttırdığı gösterilmiştir. Klinik bir araştırmada ise piknogenolün kemoterapinin ve radyoterapinin neden olduğu yan etkileri azalttığı, kemoterapötik ilacın tolere edilebilirliğini arttırdığı ve hastanede kalım süresini kısalttığı ileri sürülmüştür (Maimoonia et al., 2011; Belcaro et al., 2008a).

g) Antidiyabetik etkisi

DeneySEL ve klinik çalışmalar piknogenolün tip 2 diyabetli hastalarda glisemik kontrol ve diyabet komplikasyonlarında iyileşme sağlayabileceği bildirilmektedir. Piknogenolün 100 mg/gün konvansiyonel diyabet tedavisinin üç ay boyunca izlendiği klinik araştırmaya göre, düşük glukoz düzeyleri ve endotel işlevlerinde iyileşme olduğu ve bir aylık piknogenol takviyesinin glikozillenmiş hemoglobin düzeylerini belirgin oranda düşürdüğü belirtilmiştir (Liu et al., 2004).

Tip 2 diyabetiklerde artan alfa glukozidaz enziminin piknogenol etkisi ile azaldığı ve kan glukoz düzeyinin düştüğü *in vitro* deneyler ile gösterilmiştir. Piknogenolün aktivitesi alfa-glukozidaz inhibitörü olarak bilinen akarboz ile karşılaştırılmıştır. Piknogenolün akarbozdan daha güçlü bir alfa-glukozidaz enzim inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Piknogenolün insülin sekresyonu üzerinde bir etkisi bulunmadığı belirtilmiştir (Schafer & Hogger, 2007).

Sağlıklı ve streptozosin ile diyabet modeli oluşturulmuş sıçanlara 10 mg/kg ip olarak 14 gün boyunca piknogenol uygulandığında, piknogenolün diyabetik sıçanlarda kan glukoz düzeyini %28 oranında azalttığı gösterilmiştir (Maritim et al., 2003). Diyabet modeli oluşturulan sıçanların karaciğerlerindeki hiperglisemik hasara karşı piknogenolün koruyuculuğu gösterilmiştir; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında piknogenolün (10 mg/kg va, 4 hafta, ip) sıçanlarda antioksidan savunma mekanizmaları ve histopatolojik bulguları düzenlediği saptanmıştır (Parveen et al., 2010). Diyabetik retinopatili hastalar üzerinde yapılan klinik çalışmalarda piknogenol ile olumlu sonuçların alın-

diği belirtilmiştir. Piknogenolün, damar permeabilitesini azalttığı, nitrik oksit üretimini artırarak kılcal damar direncini artırarak retina içine sızıntıları azalttığı, hasta tarafından toleransının iyi olduğu ve yan etkilerinin çoğunlukla gastrointestinal sistem üzerine olduğu belirtilmiştir. Piknogenolün retinopatinin preproliferatif aşamalarının ilerlemesini durdurucu etki gösterdiği belirtilmiştir (Schonlau & Rohdewald, 2002). Piknogenolün retinopatinin erken evrelerinde mikrosirkülasyonu arttırarak ve retinal ödemi azaltarak diyabetik retinopatiji azalttığı ve görme üzerinde yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (Steigerwalt, 2009).

Streptozosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda, 14 gün boyunca 10 mg/kg ip piknogenolün diyabetik hayvanlarda katarakt oluşumunu azalttığı, retina glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz enzim işlevlerini artırdığı gösterilmiştir. Piknogenolün diyabetik retinopati ve katarakt tedavisinin seyrinde önemli rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Kamuren, 2006).

Böbrek tübül hücrelerinde yüksek doz glukoz ile oluşturulan oksidatif stresin ve inflamasyonun piknogenolün antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkileri ile baskılandığı ve apoptozu düzenlediği belirtilmiştir. Diyabetik nefropatiye karşı piknogenolün umut verici bir madde olabileceği ve daha fazla çalışma ile desteklenmesi gerektiği ortaya konmuştur (Kim et al., 2011).

Piknogenolün mikrosirkülasyonu arttırdığı için diyabetik ülserde yararlı olabileceği düşünülmektedir. Diyabetik ülserde piknogenolün lokal ve sistemik uygulama yolları ile toplam 30 hasta üzerinde etkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda ülserli bölgedeki semptomların giderilmesi açısından özellikle lokal ve sistemik uygulamanın birlikte uygulandığı kontrollü klinik çalışmada olumlu sonuçlar kaydedilmiştir (Belcaro et al., 2006a).

Cesarone ve arkadaşları tarafından 4 hafta süreyle oral olarak 150 mg/gün piknogenol verilen diyabetik mikroanjyopati hastalarında özellikle diyabetik mikroanjyopatideki ödem üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Cesarone et al., 2006).

Kan glukoz düzeyinin yüksek seyretmesi kardiyovasküler hastalıklar açısından da risk oluşturmaktadır. Piknogenolün diyabetik sıçanların kalplerinde piknogenolün biyometrik ve hemodinamik parametrelerde farmakolojik olarak etkili olduğu, elektriksel parametrelerde anlamlı bir değişiklik tespit edilemediği bildirilmiştir (Kralova et al., 2015). Piknogenol takviyesinin diyabetiklerde kardiyovasküler risk faktörlerini azaltabileceği ve kardiyovasküler rahatsızlığı olan diyabetik hastalarda antihipertansif ilaç kullanımını azaltabileceği aynı zamanda da diyabeti kontrol altına alabileceği hipotezine dayanarak yapılan klinik çalış-

ma sonuçlarında bu hipotezlerin doğrulandığı belirtilmiştir (Zibadi et al., 2008).

h) Kardiyovasküler sistem üzerine etkisi

Piknogenolün hücre içi glutatyon peroksidaz, disülfid redüktaz, süperoksit dizmutaz (SOD) ve katalaz aktivitesini arttırarak serbest oksijen radikallerini süpürücü etkisi ile kardiyovasküler hastalıklarda damar endotelinde hasar oluşmasını önlediği ileri sürülmektedir (Wei et al., 1997).

Piknogenol, inflamatuvar bölgede lökosit alınında rol oynayan ve vasküler hastalıkların gelişimine de katkıda bulunan vasküler hücre adezyon molekülünü (VCAM)-I ve hücrelerarası adezyon molekülü (ICAM)-I inhibe ettiği de gösterilmiştir (Peng et al., 2000).

Ayrıca piknogenolün, insanlarda endotelial nitrik oksit sentazı aktive ederek endotelial nitrik oksit salıverilmesine bağlı vazodilatatif etki gösterdiği belirtilmektedir. Piknogenolün endotel bağımlı vazodilatasyon üzerine etkileri randomize, çift kör, plasebo kontrollü 16 sağlıklı gönüllü birey ile değerlendirilmiştir. 180 mg/gün piknogenolün 2 hafta süre ile kullanımının plasebo ile kıyaslandığında vazodilatasyonu arttırdığı gösterilmiştir (Nishioka et al., 2007).

Bir diğer çalışmada, piknogenolün 4 mg/kg i.v. olarak uygulandığı sıçanlarda anjiyotensin dönüştürücü enzimi inhibe ederek kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (Blazsó et al., 1996).

Piknogenolün, asetilsalisilik asit ile platelet agregasyonunun inhibe edilmesinde sinerjistik etki gösterdiği *in vitro* olarak gösterilmiştir (Golanski et al., 2006). Ayrıca kardiyovasküler rahatsızlığı olan bireylerde piknogenol takviyesinin platelet agregasyonunu belirgin olarak azalttığı ve mikrosirkülasyonu geliştirdiği belirtilmiştir (D'Andrea, 2010; Wang et al., 1999).

Sigara kullanımının kan basıncını ve kanın pıhtılaşma eğilimini artırarak koroner kalp hastalığı için bir risk teşkil ettiği bilinmektedir. Piknogenolün sigaranın platelet reaktivitesi üzerindeki etkiyi azalttığı iki çalışmada gösterilmiştir. Çalışmalardan birinde 23 sigara içicisine (günde 15 adetten fazla) verilen 100 mg piknogenolün sigara ile indüklenen platelet agregasyonunda 500 mg aspirin ile eşdeğer etki görülmüştür. Diğer çalışmada ise 16 sigara içicisine verilen 125 mg piknogenolün platelet agregasyonunu kısmen azalttığı, kan basıncı ve kalp atım hızına etki etmediği belirtilmiştir (Putter et al., 1999).

Piknogenolün platelet agregasyonu üzerindeki kronik etkilerinin değerlendirildiği bir diğer klinik çalışmada, 5 yıldan uzun süredir günde 15 adetten fazla sigara içen 4 kişi ile 16 sigara içmeyen birey karşılaştırılmıştır. Her iki grup da 8 hafta boyunca 200 mg/gün piknogenol kullanmıştır. Çalışma sonunda

ilk sigaradan 3 saat önce alınan piknogenolün platelet reaktivite indeksini sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığına önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. (Araghi et al., 1999)

Arteriosklerotik plaklar ve trombozlar ile karakterize aterosklerozda, piknogenolün güçlü antioksidan etkisinin yanı sıra nitrik oksit (NO) sentaz ile endotel bağımlı vazodilatör etkisi ile endotel işlevlerinde iyileşme sağlanmaktadır (Maimoona et al., 2011; Nishioka et al., 2007). Piknogenol ile aterosklerozun önlenmesi vasküler olayların kontrolünde önemlidir. Piknogenolün ateroskleroza karşı koruyucu etkisinin daha ileri ve kontrollü insan çalışmaları ile desteklemek gerekmektedir.

Antihipertansif ilaçların neden olduğu ödemin önlenmesi üzerinde piknogenolün etkisi klinik olarak değerlendirilmiştir. Piknogenolün kalsiyum kanal antagonisti nifedipinin ve anjiyotensin dönüştürücü enzim blokörü ilaçların neden olduğu ödem üzerinde yararlı etkisi gösterilmiştir. Hipertansif hastalarda uzun dönem hasarı önlediği, piknogenolün antihipertansif ilaçların daha düşük doz kullanılmasını sağladığı bildirilmiştir. Dolayısı ile antihipertansif ilacın yan etkisini bu yönü ile de azaltmaktadır. Örneğin anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörlerinin yaptığı kuru öksürüğün piknogenol ile belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir (Belcaro et al., 2006b).

Yapılan bir klinik çalışmada piknogenolün kronik venöz yetmezlik komplikasyonlarını azalttığı ve tolere edilebilirliğinin iyi olduğu gösterilmiştir (Cesarone et al., 2010).

Piknogenolün plazma lipit seviyeleri üzerine etkilerini inceleyen klinik bir çalışmada 6 hafta boyunca 150 mg/gün piknogenol verilen 25 gönüllüde düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL)'yi önemli oranda (%7) azalttığı ve yüksek yoğunluklu lipoproteini (HDL)'yi önemli oranda (%10.4) arttırdığı, kolesterol ve trigliserit düzeyine belirgin etkisinin olmadığı görülmüştür (Devaraj et al., 2002). Sistematik bir derleme çalışmasında ise piknogenolün dislipidemi üzerinde anlamlı bir etki göstermediği, ancak lipit profilini olumsuz etkilemediği bildirilmiştir (Sahebkar, 2013).

Nitrik oksit sentez aktivitesi engellenerek kalp yetmezliği oluşturulan farelerde 300 mg/kg piknogenol oral olarak 4 hafta uygulandığında hipertansiyon ve kardiyak hipertrofiyi belirgin oranda azalttığı gösterilmiştir. Bu etkinin MMP-9'un gen ekspresyonu ve aktivitesinin azaltılması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar, piknogenolün kalp yetmezliği olan hastalarda MMP aktivitesini ve ekspresyonunu düzenleyerek ve kardiyak kollajen degradasyonunu azaltarak kardiyak doku hasarının sınırlandırılmasında yararlı olabileceğini göstermektedir (Zibad et al., 2007).

Piknogenolün yapısındaki zengin prosiyanidin içeriği sayesinde güçlü antioksidan özelliği ile kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu ve düzenleyici olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (Devaraj et al., 2002; Zibadi et al., 2008). Kardiyovasküler hastalıklar üzerinde piknogenolün koruyucu etkisinin ve altında yatan mekanizmalarının aydınlatılması için daha kapsamlı çalışmaların gerekli olduğu görülmektedir.

i) Karaciğer üzerine etkisi

Hepatotoksik olduğu bilinen karbon tetraklorüre maruz kalan sıçanlarda piknogenolün akut hepatotoksiteyi azalttığı gösterilmiştir. Çalışmada i.p. yoldan 14 gün süre ile piknogenolün farklı dozlarının (10mg/kg ve 20 mg/kg) ardından tek doz karbon tetraklorür (1.25 mg/kg) uygulanmıştır. Karbon tetraklorür ile önemli derecede indüklenen aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) konsantrasyonları, hepatik lezyonlar ve oksidatif hasarın piknogenol ile doz-bağımlı olarak belirgin şekilde azaldığı belirlenmiştir (Yang et al., 2008). Diğer bir çalışmada yağ oranı yüksek diyet uygulanan sıçanların diyetlerine eklenen piknogenolün serum AST ve ALT düzeylerinde belirgin azalmaya neden olduğu kaydedilmiştir (Mei et al., 2012).

Sıçanlarda sisplatin ile indüklenen hepatotoksite ve oksidatif strese karşı piknogenolün koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada ise piknogenolün sisplatinin neden olduğu histopatolojik lezyonlarının ve aminotransferaz düzeylerinin artmasını engellediği bildirilmiştir (Ko et al., 2014).

j) Sinir sistemi üzerine etkisi;

Piknogenol gibi güçlü antioksidan etkiye sahip maddelerin oksidatif stres ile ilişkili nörodejeneratif durumları düzeltebileceği düşünülmektedir (Maimoona et al., 2011). Alzheimer'a neden olduğu düşünülen nöron apoptozunun piknogenol tarafından azaltıldığı *in vitro* bir çalışmada gösterilmiştir (Peng et al., 2002).

Hiperaktivite ve dikkat eksikliği sendromu olan çocuklarda adrenal ve noradrenalin düzeylerinin normal çocuklara göre yüksek olduğu bilinmektedir. Piknogenol ile dikkat eksikliği ve hiperaktivite tedavisi alan çocuklarda katekolamin düzeylerinin normal düzeye geldiği ve hiperaktivitenin azaldığı görülmüştür. Dikkat eksikliği ve hiperaktivite olan 57 çocuğa (47 erkek, 10 kız, 6-14 yaşlarında) 1 ay süre ile 1 mg/kg piknogenol uygulanmasında dopamin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş belirlenmiştir (Dvorakova et al., 2007).

k) Solunum yolu hastalıkları üzerine etkisi

Piknogenolün 5-LOX ekspresyonunu inhibe etmesi ve bunun sonucu olarak lökotrien düzeylerini düşürmesi ve ayrıca antiinflamatuvar etkiye sahip ol-

ması nedeniyle astımlı bireylerde tedaviyi destekleyebileceği düşünülmektedir. Astım hastalarında yapılan çift-kör plasebo kontrollü klinik çalışma sonucunda günlük 100 mg (2x50 mg) piknogenol takviyesi alan hastalarda astım semptomlarında ve solunum işlevlerinde iyileşme görülürken plazma lökotrien konsantrasyonunda azalma gösterilmiştir. Yapılan çalışmada piknogenolün ilaca olan ihtiyacı azalttığı ve astım semptomlarını düzeltebildiği belirtilmiştir (Belcaro et al., 2011; Hosseini et al., 2001).

1) Üreme sistemi üzerine etkisi

Piknogenolün reaktif oksijen türleri aracılığıyla bozulan sperm morfolojisi ve işlevlerinde düzenleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Klinik bir çalışmada subfertil 19 bireyde 90 gün boyunca 200 mg/gün piknogenol uygulamasının sperm yapısına etkisi incelenmiştir. Piknogenolün sperm morfolojisinde, istatistiksel olarak anlamlı, %38 bir gelişme ve mannoz bağlanma testinde %19'luk bir artış belirlenmiştir. Sperm sayısında değişiklik gözlenmemiştir. Bu sonuçlar piknogenolün erkeklerin doğurganlık durumunu olumlu etkileyebileceğini düşündürmektedir (Roseff, 2002).

L-arjinin ve piknogenol kombinininin sperm kalitesini artırıcı etkiye sahip olduğu, aynı zamanda hafif ve orta derece erektil disfonksiyonun tedavisinde bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Piknogenol endotelial nitrik oksit sentaz (e-NOS) aktivasyonuna bağlı nitrik oksit üretimini artırarak vazodilatasyon ile erektil disfonksiyonunda etkili bulunmuştur. Artan nitrik oksit, siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretmek üzere guanilat siklazı aktive eder, G sinyal yolu cGMP protein kinaz ise sperm motilitesinde artışa yol açmaktadır. Piknogenol ile L-arjinin birlikte kullanımının testosteron seviyesini ve seksüel aktiviteyi artırdığı bildirilmiştir. L-arjinin (690 mg) ve piknogenol (60 mg) kullanılarak sağlıklı gönüllüler üzerinde yapılan klinik çalışmada sperm ve erektil işlevleri üzerinde olumlu etkiler gözlenmiştir. Piknogenolün diğer bir olumlu etkisi ise iNOS inhibisyonudur. Bu enzimin aşırı ekspresyonu spermlerin oksidatif hasara uğramasına dolayısıyla sperm morfolojisinin bozukluğuna, *oligo-asteno-teratozoospermi* sendromuna, yol açmaktadır. Bu kombinasyonun oligo-asteno-teratozoospermi kaynaklı infertilitede, bir yan etkiye neden olmadan, etkili olduğu gösterilmiştir (Kobori et al., 2015).

Kohama ve arkadaşları endometriozis tedavisinde kullanılan gonadotropin salveren hormon agonistine bir alternatif olarak piknogenolü etkili bulmuşlardır (Kohama et al., 2007).

Perimenapozal dönemde olan kadınlar üzerinde yapılan çalışmalarda, yan etkiye sebebiyet verme-

den klimakterik semptomları giderdiği belirtilmiştir (Yang et al., 2007).

m) Cilt üzerindeki etkisi

Piknogenolün güçlü antioksidan özelliği ile cildi UV radyasyondan koruduğuna dair bilgiler bulunmaktadır. Ayrıca piknogenolün hiperpigmentasyonu azalttığı ve cildin bariyer işlevini, hücre dışı matriks homeostazını koruduğu da belirtilmektedir (Grether-Beck et al., 2016).

Piknogenol, tirozinaz aktivitesine ve melanin biyosentezine etkisinin araştırıldığı B16 melanoma hücreleri üzerinde yapılan çalışmada, piknogenolün serbest radikalleri (peroksinitrit, süperoksit, nitrik oksit, hidroksil radikali) baskıladığı ve indirgenmiş glutatyon/oksidlenmiş glutatyon oranını upregüle ettiği ve ayrıca antitirozinaz etki gösterdiği ve melanin biyosentezini inhibe ettiği gösterilmiştir. Piknogenol antimelanojenik etki gösterdiği bildirilmiştir (Kim et al., 2008).

Piknogenolün sıçanlar üzerinde doz-bağımlı yara iyileşme zamanını ve skar çapını azalttığı gösterilmiştir (Blazso et al., 2004). Klinik çalışmalarda oksidatif stres ile indüklenen dermatozların topikal tedavisinde de etkili olabileceği bildirilmektedir (D'Andrea, 2010).

Piknogenol Toksisitesi

a) Akut-subakut toksisitesi

Piknogenol az toksik olarak kabul edilmektedir. Fare, sıçan ve domuzlarda oral uygulama sonrasında LD₅₀ değerleri 14 farklı akut toksisite testinin sonucunda popülasyonun %50'sinde ölüm meydana getiren doz (LD₅₀) değerlerinin 1000-4000 mg/kg arasında değiştiği bildirilmiştir. Oral uygulamada yan etki gözlenmeyen doz (*No observed adverse effect level*, NOAEL) değeri 100 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir (Rohdewald, 2005a).

b) Kronik toksisitesi

Kronik toksisite testlerinde sıçanlara 2000 mg/kg/gün doza kadar oral uygulamanın klinik olarak anlamlı herhangi bir değişikliğe (görsel, biyokimyasal veya davranışsal) yol açmadığı bildirilmiştir (Oliff, 2010; Rodhewald, 2005b).

c) Genotoksisitesi

Toksisite testlerine ve klinik çalışmalara göre piknogenolün güvenli doğal bir ürün olduğu ortaya konmaktadır (Rohdewald, 2005c). Piknogenolün *in vivo* fare kemik iliği hücrelerinde Ames ve mikronükleus testleri ile ayrıca *in vitro* insan lenfositlerinde kromozom aberasyon testi ile mutajenitesi araştırılmıştır. Piknogenolün mutajenik olmadığı belirtilmiştir (Oliff, 2010; Rodhewald, 2005b). Çin hamster over hücrelerinde nötral kırmızı boya geri alım testi ile

24 saatlik maruziyette piknogenolün sitotoksitesi araştırıldığında piknogenolün 150 µg/ml'e kadar sitotoksik etki göstermediği, ancak bu konsantrasyon üzerinde sitotoksite başladığı ve 300 µg/ml konsantrasyonunda %50'nin altında canlılık tespit edildiği bildirilmiştir (Taner et al., 2013). Piknogenolün 150 µg/ml'ye kadar genotoksik etki göstermediği bildirilirken, 600 µg/ml'ye kadar insan lenfositlerinde kromozomal aberasyonlara neden olmadığı belirtilmiştir (Rohdewald, 2005c; Taner et al., 2013). Fare kemik iliği kullanılarak yapılan mikroçekirdek testi sonuçlarına göre 1500 mg/kg piknogenolün kromozom anormallliği göstermediği bildirilmiştir (Rohdewald, 2005c). Bu çalışmalar, piknogenolün mutajenik ve genotoksik olmadığını göstermektedir. Ayrıca birçok çalışmada piknogenolün genotoksik hasara karşı koruyucu rolü olduğu belirtilmektedir. Chovanova ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu olan çocuklarda kontrol grubu ile kıyasla 8-okso-7,8-dihidroguanin (8-oksoG) konsantrasyonlarının arttığı belirtilmiştir. Piknogenol takviyesi kullanan çocuklarda 8-oksoG düzeylerinin önemli ölçüde azalmasının piknogenolün DNA'yı hasardan koruduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebileceğini göstermektedir (Chovanova et al., 2006).

d) Üreme toksisitesi

Fare, sıçan ve domuzlarda yapılan 6 üreme toksisite çalışmasına göre herhangi bir teratojenik etki, perinatal toksisite ya da infertilite üzerine olumsuz bir etki göstermediği bildirilmiştir (Rohdewald, 2005a). Siklofosfamid ile indüklenen embriyo-fetal gelişim toksisitesine karşı piknogenolün koruyucu rolü sıçanlar üzerinde gösterilmiştir. Siklofosfamid uygulaması ile sıçanlarda fetal ve plasental ağırlıkta azalma ve fetal malformasyonda artma gözlenmiştir. Ayrıca sıçanlara gebelik süresince uygulanan piknogenolün siklofosfamid tarafından indüklenen embriyo-fetal gelişimsel toksisitede olumlu etkilere yol açtığı gözlenmiştir (Kim et al., 2012). Piknogenolün oksidatif stres ile uyarılan çeşitli teratojenik etkenlere karşı koruyucu bir madde olabileceği düşünülmektedir.

e) Duyarlılık reaksiyonları

Tavşanlarda deri ve göz tahriş testleri ve domuzlarda temas aşırı duyarlılık testinde piknogenolün iritan olmadığı gösterilmiştir. Gönüllü insanlarda patch-oklüzyon testinde deri irritasyonu gözlenmediği bildirilmiştir (Rohdewald, 2005a).

f) Riskli dönemlerde kullanımları

Gebelikte piknogenol için bildirilen herhangi bir kontrendikasyon belirtilmemiştir. Toksikolojik çalışmalarda mutajenik, teratojenik ve perinatal toksisite bulguları görülmemiştir. Fakat genel bir yaklaşım

prensibi olarak gebeliğin ilk trimestrinde kullanılması önerilmektedir (Rohdewald, 2005a; 2002; Oliff, 2010). Hamilelik ve emzirme döneminde ve 6 yaş altındaki çocuklarda piknogenol kullanımının güvenilirliliği hakkında yeterli bilgi mevcut olmadığından dolayı kullanımı önerilmemektedir (Gulati, 2015).

Piknogenolün güvenliliğinin değerlendirilmesi

Piknogenolün gıdalarda kullanımına ilişkin klinik güvenlilik ve prelinik toksikolojik değerlendirilmesine dayanarak, bağımsız toksikoloji uzmanları tarafından "Genellikle Güvenli Kabul Edilir, GRAS, *Generally recognized as safe*" kabul edilmektedir (Maimonia et al., 2011; Oliff, 2010; Gulati, 2015).

Piknogenolün istenmeyen etkilerine dair yapılan çalışmalarda uzun sürede güvenli ve etkin olduğu, oldukça yüksek dozlarda bile ciddi bir akut veya kronik toksisiteye neden olmadığı belirtilmiştir (Rohdewald, 2005a; Kim et al., 2012).

2010 yılında yayınlanan bilimsel ve klinik bir monografya; piknogenolün uzun dönemde 20-100 mg'lık dozlarda ve kısa dönemde 100-300 mg dozlarında kullanımının toksik olmadığı kabul edilmektedir (Maimonia et al., 2011; Oliff, 2010). Piknogenolün insanlarda 100-200 mg/günlük dozunun güvenli olabileceği öngörülmektedir (Li et al., 2015).

Sağlıklı ve hasta bireylerden oluşan toplamda 5723 kişinin bulunduğu yaklaşık 70 klinik çalışmadan elde edilen verilere dayanarak piknogenolün güvenilir olduğu ileri sürülmektedir. Klinik çalışmalarda piknogenolün günlük dozunun (80 mg/gün ortalama dozda, 30-450 mg/gün doz aralığında, 4665 kişi) advers etki oranı % 2.4 olarak, sağlıklı kişilerde (2116 kişi) bu oran %0.19 olarak belirlenmiştir. Bu klinik çalışmaların ortak sonucunda kullanım süresi ya da dozunun yan etki ile ilişkili olmadığı sonucuna varılmıştır (Maimonia et al., 2011; Oliff, 2010; Rohdewald, 2005b).

Klinik araştırmaların sonucunda piknogenolün en sık rastlanan yan etkisinin gastrointestinal rahatsızlıklar olduğu ve yemekle birlikte ya da yemekten sonra alınmada bu yan etkinin görülmediği belirlenmiştir (Oliff, 2010; Rohdewald, 2005b). Bunun yanı sıra baş dönmesi, baş ağrısı ve bulantı da sık bildirilen yan etkilerdendir (Oliff, 2010). Bu yan etkiler hafif şiddetli bulunmuştur. Piknogenolün daha yüksek dozlarında bile ciddi yan etki göstermediği belirtilmiştir (Maimonia et al., 2011; Oliff, 2010; Rohdewald, 2005b).

Piknogenolün normotansif bireylerde kan basıncı ve kalp atım hızı, 4 klinik araştırma (kişi sayısı: 185) ile değerlendirildiğinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı belirtilmiştir (Oliff, 2010).

Avrupa ve Asya'da 2002-2005 yılları arasında piknogenol kullanan binlerce bireylerde 3 ürtiker, 1 baş

ağrısı, 1 mide bulantısı, 1 egzama ve diyare vakası bildirilmiştir. Sonuç olarak, 1970 yılında Avrupada piyasaya sürülen piknogenolün kullanımı ile ilgili ciddi bir advers etki bildirilmemiştir (Oliff, 2010). Genellikle yetişkin veya geriyatrik popülasyon tarafından kullanılan piknogenolün diğer ilaçlar ile, alkol ve besinler ile birlikte alınmasına bağlı olarak bildirilen bir etkileşme bildirilmemiştir. Aspirin kullanan hastalarda piknogenolün alınması protrombin zamanını (INR)'yi etkilememiştir (Oliff, 2010; Gulati, 2015).

Kardiyovasküler bozukluğu olan 40 hastada 2 ay süre ile günde 300 mg kullanılan piknogenolün herhangi bir yan etkiye neden olmadığı ve güvenle kullanılabileceği bildirilmiştir (Arcangeli, 2000).

Diz osteoartriti olan 156 kişi ile yapılan klinik çalışmada piknogenolün üç ay boyunca kullanımının plasebo ile kıyasla bir yan etkiye yol açmadığı, aksine tedavide kullanılan nonsteroidal antiinflamatuar ilaçların neden olduğu gastrointestinal rahatsızlıklara yol açmadan semptomatik tedavide güvenle kullanılabileceği belirtilmiştir (Belcaro et al., 2008b).

Klinik çalışmalarda piknogenolün 40-100 mg/gün ya da 1 mg/kg va doz aralığında kahvaltı ile birlikte alınması önerilmektedir (Rohdewald, 2005a).

SONUÇ

Birçok çalışmada oksidatif stres ile ilişkili kanser, diyabet, inflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, immün sistem hastalıkları gibi birçok patolojik durumda piknogenolün faydalı olabileceği bildirilmektedir. Piknogenolün intraselüler antioksidan koruma sistemlerini düzenleyerek başta oksidatif hasarda temel hedef olan lipid, protein ve DNA olmak üzere tüm biyomolekülleri oksidatif hasara karşı koruduğu bildirilmektedir.

Piknogenolün gıda takviyesi olarak kullanımının güvenli olduğu görülmektedir. Piknogenolün insanlarda 100-200 mg/günlük dozunun güvenli olabileceği öngörülmektedir. Piknogenol oksidatif strese bağlı birçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesi açısından tedavide destekleyici bir alternatif olarak düşünülmektedir. Birçok hastalığın temelinde yatan oksidatif hasarın güçlü antioksidan özellikli piknogenol aracılığı ile azaltılabileceği ve birçok hastalığın tedavisinde olumlu etkileri nedeniyle yeni ilaç sistemlerinde kullanılabileceği görülmektedir.

Piknogenol üzerine yapılan çalışmalar piknogenolün terapötik etkisinin desteklemektedir. Bu etkilerinin altında yatan mekanizmaların daha iyi aydınlatılması için ileri düzeyde çalışmaların yapılması gerektiği görülmektedir. Yüksek dozlarında ve uzun süreli tüketimine bağlı oluşabilecek toksik etkileri göz ardı edilmemelidir. Piknogenolün hamilelik ve süt

verme döneminde, çocuklarda kullanımının güvenli olduğuna dair çalışmalar yeterli değildir. İlaç etkileşmeleri açısından da yeterli çalışmaların bulunmadığı görülmektedir. Klinik ve epidemiyolojik çalışmalarla piknogenolün etkilerinin desteklenmesi ve ayrıca tüketime bağlı geri bildirimler önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Ansari, M.A., Keller, J.N., Scheff, S.W. (2008), Protective effect of Pycnogenol in human neuroblastoma SH-SY5Y cells following acrolein-induced cytotoxicity, *Free Radical Biology and Medicine*, 45 (11), 1510-9.
- Araghi, N.M., Hosseini, S., Larson, D.F., Rodhewald, P., Watson, R.R. (1999), Pine bark extract reduces platelet aggregation, *Internal Medicine*, 2 (2), 73-77.
- Arcangeli, P. (2000), Pycnogenol in chronic venous insufficiency, *Fitoterapia*, 71, 236-244.
- Aydın, B., Unsal, M., Sekeroglu, Z.A., Gulbahar, Y. (2011), The antioxidant and antigenotoxic effects of pycnogenol® on rats treated with cisplatin, *Biological Trace Element Research*, 142 (3), 638-50.
- Belcaro, G., Cesarone, M.R., Errichi, B.M., Ledda, A., Di Renzo, A., Stuard, S. et al. (2006a), Diabetic ulcers: microcirculatory improvement and faster healing with pycnogenol, *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 12 (3), 318-23.
- Belcaro, G., Cesarone, M.R., Errichi, S., Zulli, C., Errichi, B.M., Vinciguerra, G., et al. (2008b), Treatment of osteoarthritis with Pycnogenol. The SVOS (San Valentino Osteo-arthritis Study) evaluation of signs, symptoms, physical performance and vascular aspects, *Phytotherapy Research*, 22 (4), 518-23.
- Belcaro, G., Cesarone, M.R., Genovesi, D., Ledda, A., Vinciguerra, G., Ricci A., et al. (2008a), Pycnogenol may alleviate adverse effects in oncologic treatment, *Panminerva Medica*, 50 (3), 227-34.
- Belcaro, G., Cesarone, M.R., Ricci, A., Cornelli, U., Rodhewald, P., Ledda, A., et al. (2006b), Control of edema in hypertensive subjects treated with calcium antagonist (nifedipine) or angiotensin-converting enzyme inhibitors with Pycnogenol, *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 12 (4), 440-4.
- Belcaro, G., Luzzi, R., Cesinaro, D.R.P., Cesarone, M.R., Dugall, M., Feragalli, B. et al. (2011), Pycnogenol improvements in asthma management, *Panminerva Med*, 53 (3 Suppl 1), 57-64.

- Blazsó, G., Gábor, M., Schönlau, F., Rohdewald, P. (2004), Pycnogenol® accelerates wound healing and reduces scar formation, *Phytotherapy Research*, 18 (7), 579-581.
- Blazso, G.R., Gaspar, R., Gabor, M., Rueve, H.J., Rohdewald, P. (1996), ACE inhibition and hypotensive effect of procyanidins containing extract from the bark of Pinus pinaster sol. *Pharmaceutical and Pharmacological Letters*, 6 (1), 8-11.
- Buz'Zard, A.R., Lau, B.H. (2007), Pycnogenol reduces talc-induced neoplastic transformation in human ovarian cell cultures, *Phytotherapy Research*, 21 (6), 579-86.
- Canali, R., Comitato, R., Schonlau, F., Virgili, F. (2009), The anti-inflammatory pharmacology of Pycnogenol in humans involves COX-2 and 5-LOX mRNA expression in leukocytes, *International Immunopharmacol*, 9 (10), 1145-9.
- Cesarone, M.R., Belcaro, G., Rohdewald, P., Pellegrini, L., Ledda, A., Vinciguerra, G., et al. (2010), Improvement of signs and symptoms of chronic venous insufficiency and microangiopathy with Pycnogenol: a prospective, controlled study, *Phytomedicine*, 17 (11), 835-9.
- Cesarone, M.R., Belcaro, G., Rohdewald, P., Pellegrini, L., Ledda, A., Vinciguerra, G., et al. (2006), Improvement of Diabetic Microangiopathy With Pycnogenol(R): A Prospective, Controlled Study, *Angiology*, 57 (4), 431-6.
- Chayasirisobhon, S. (2006), Use of a pine bark extract and antioxidant vitamin combination product as therapy for migraine in patients refractory to pharmacologic medication, *Headache*, 46 (5), 788-93.
- Cho, K.J., Yun, C.H., Chung, A.S. (2001), Inhibition mechanisms of bioflavonoits extracted from the bark of Pinus maritima on the expression of proinflammatory cytokines, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928, 141-56.
- Choi, Y.H., Yan, G.H. (2009), Pycnogenol inhibits immunoglobulin E-mediated allergic response in mast cells, *Phytotherapy Research*, 23 (12), 1691-5.
- Chovanova, Z., Muchova, J., Sivonova, M., Dvorakova, M., Zitnanova, I., Waczulikova, I., et al. (2006), Effect of polyphenolic extract, Pycnogenol, on the level of 8-oxoguanine in children suffering from attention deficit/hyperactivity disorder, *Free Radical Research*, 40 (9), 1003-10.
- D'Andrea, G. (2010), Pycnogenol: A blend of procyanidins with multifaceted therapeutic applications?, *Fitoterapia*, 81 (7), 724-36.
- de Moraes Ramos, F.M., Schonlau, F., Novaes, P.D., Manzi, F.R., Boscolo, F.N., de Almeida, S.M. (2006), Pycnogenol protects against Ionizing radiation as shown in the intestinal mucosa of rats exposed to X-rays, *Phytotherapy Research*, 20 (8), 676-9.
- Deveraj, S., Vega-Lopez, S., Kaul, N., Schonlau, F., Rohdewald, P., Jialal, I. (2002), Supplementation with a pine bark extract rich in polyphenols increases plasma antioxidant capacity and alters the plasma lipoprotein profile, *Lipids*, 37 (10), 931-934.
- Duweler, K.G., Rohdewald, P. (2000), Urinary metabolites of French maritime pine bark extract in humans, *Pharmazie*, 55 (5), 364-8.
- Dvorakova, M., Jezova, D., Blazicek, P., Trebaticka, J., Skodacek, I., Suba, J., et al. (2007), Urinary catecholamines in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD): modulation by a polyphenolic extract from pine bark (pycnogenol), *Nutritional Neuroscience*, 10 (3-4), 151-7.
- Ezzikouri, S., Nishimura, T., Kohara, M., Benjelloun, S., Kino, Y., Inoue, K., et al. (2015), Inhibitory effects of Pycnogenol® on hepatitis C virus replication, *Antiviral Research*, 113, 93-102.
- Farid, R., Mirfeizi, Z., Mirheidari, M., Rezaieyazdi, Z., Mansouri, H., Esmaeli, H., et al. (2007), Pycnogenol supplementation reduces pain and stiffness and improves physical function in adults with knee osteoarthritis, *Nutrition Research*, 27 (11), 692-7.
- Feng, W.Y., Tanaka, R., Inagaki, Y., Saitoh, Y., Chang, M.O., Amet, T. et al. (2008), Pycnogenol, a procyanidin-rich extract from French maritime pine, inhibits intracellular replication of HIV-1 as well as its binding to host cells, *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 61 (4), 279-285.
- Frontela-Saseta, C., Lopez-Nicolas, R., Gonzalez-Bermudez, C.A., Peso-Echarri, P., Ros-Berruezo, G., Martinez-Gracia, C., et al. (2011), Evaluation of antioxidant activity and antiproliferative effect of fruit juices enriched with Pycnogenol(R) in colon carcinoma cells. The effect of *in vitro* gastrointestinal digestion, *Phytotherapy Research*, 25 (12), 1870-5.
- Gandin, V., Nystrom, C., Rundlof, A.K., Jonsson-Videsater, K., Schonlau, F., Horkko, J., et al. (2009), Effects of the antioxidant Pycnogenol on cellular redox systems in U1285 human lung carcinoma cells, *the Federation of European Biochemical Societies Journal*, 276 (2), 532-40.

- Golanski, J., Muchova, J., Golanski, R., Durackova, Z., Markuszewski, L., Watala, C. (2006), Does pycnogenol intensify the efficacy of acetylsalicylic acid in the inhibition of platelet function? *In vitro* experience, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Advances in Hygiene and Experimental Medicine)*, 60, 316-321.
- Grether-Beck, S., Marini, A., Jaenicke, T., Krutmann, J. (2016). French Maritime Pine Bark Extract (Pycnogenol®) Effects on Human Skin: Clinical and Molecular Evidence, *Skin Pharmacology and Physiology*, 29 (1), 13-7.
- Grimm, T., Chovanova, Z., Muchova, J., Sumegova, K., Liptakova, A., Durackova, Z., et al. (2006b), Inhibition of NF-kappaB activation and MMP-9 secretion by plasma of human volunteers after ingestion of maritime pine bark extract (Pycnogenol), *Journal of Inflammation (London)*, 3 (1), 1-6.
- Grimm, T., Schafer, A., Hogger, P. (2004), Antioxidant activity and inhibition of matrix metalloproteinases by metabolites of maritime pine bark extract (pycnogenol). *Free Radical Biology and Medicine*, 36 (6), 811-22.
- Grimm, T., Skrabala, R., Chovanova, Z., Muchova, J., Sumegova, K., Liptakova, A., et al. (2006a), Single and multiple dose pharmacokinetics of maritime pine bark extract (pycnogenol) after oral administration to healthy volunteers, *BMC Clinical Pharmacology*, 6 (4), 1-12.
- Gulati, O.P. (2015), Pycnogenol in metabolic syndrome and related disorders, *Phytotherapy Research*, 29 (7), 949-68.
- Hosseini, S., Pishnamazi, S., Sadrzadeh, S.M.H., Farid, F., Farid, D., Watson, R.R. (2001), Pycnogenol in the management of asthma, *Journal of Medicinal Food*, 4 (4), 201-209.
- Huang, W.W., Yang, J.S., Lin, C.F., Ho, W.J., Lee, M.R. (2005), Pycnogenol induces differentiation and apoptosis in human promyeloid leukemia HL-60 cells, *Leukemia Research*, 29 (6), 685-92.
- Huynh, H.T., Teel, R.W. (2000), Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells (MCF-7) by pycnogenol, *Anticancer Res*, 20 (4), 2417-20.
- Kamuren, Z.T., McPeck, C.G., Sanders, R.A., Watkins, J.B. (2006), Effects of low-carbohydrate diet and pycnogenol® treatment on retinal antioxidant enzymes in normal and diabetic rats, *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 22 (1), 10-18.
- Kim, S.H., Lee, I.C., Lim, J.H., Moon, C., Bae, C.S., Kim, S.H., et al. (2012), Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50 (2), 109-15.
- Kim, Y.J., Kang, K.S., Yokozawa, T. (2008), The anti-melanogenic effect of pycnogenol by its anti-oxidative actions, *Food and Chemical Toxicology*, 46 (7), 2466-71.
- Kim, Y.J., Kim, Y.A., Yokozawa, T. (2011), Pycnogenol modulates apoptosis by suppressing oxidative stress and inflammation in high glucose-treated renal tubular cells, *Food and Chemical Toxicology*, 49 (9), 2196-201.
- Ko, J.W., Lee, I.C., Park, S.H., Moon, C., Kang, S.S., Kim, S.H., et al. (2014), Protective effects of pine bark extract against cisplatin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats, *Laboratory Animal Research*, 30 (4), 174-80.
- Kobori, Y., Suzuki, K., Iwahata, T., Shin, T., Sadaoka, Y., Sato, R., et al. (2015), Improvement of seminal quality and sexual function of men with oligoasthenoteratozoospermia syndrome following supplementation with L-arginine and Pycnogenol®, *Archivio Italiano di Urologia, Andrologia*, 87 (3), 190-3.
- Kocabas, E.E.H., Yesil, O., Isleten, M., Sukan, F.V. (2008), Antimicrobial activity of pine bark extract and assessment of potential application in cooked red meat, *Gıda*, 33 (3), 123-127.
- Kohama, T., Herai, K., Inoue, M. (2007), Effect of French maritime pine bark extract on endometriosis as compared with leuprorelin acetate, *Journal of Reproductive Medicine*, 52 (8), 703-8.
- Kralova, E., Jankyova, S., Mucaji, P., Gresakova, E., Stankovicova, T. (2015), Pycnogenol(R) and its fractions influence the function of isolated heart in rats with experimental diabetes mellitus, *Pathology, Research and Practice*, 211 (2), 156-61.
- Krizkova, L., Chovanova, Z., Durackova, Z., Krajcovic, J. (2008), Antimutagenic *in vitro* activity of plant polyphenols: Pycnogenol and Ginkgo biloba extract (EGb 761), *Phytotherapy Research*, 22 (3), 384-8.
- Li, Y.Y., Feng, J., Zhang, X.L., Cui, Y.Y. (2015), Pine bark extracts: nutraceutical, pharmacological, and toxicological evaluation, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 353 (1), 9-16.

- Liu, X., Wei, J., Tan, F., Zhou, S., Wurthwein, G., Rohdewald, P. (2004), Antidiabetic effect of Pycnogenol French maritime pine bark extract in patients with diabetes type II, *Life Sciences*, 75 (21), 2505-13.
- Maimoona, A., Naeem, I., Saddiqe, Z., Jameel, K. (2011), A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract, *Journal of Ethnopharmacology*, 133 (2), 261-77.
- Maritim, A., Dene, B.A., Sanders, R.A., Watkins, J.B., (2003), 3rd. Effects of pycnogenol treatment on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 17 (3), 193-9.
- Matsumori, A., Higuchi, H., Shimada, M. (2007), French maritime pine bark extract inhibits viral replication and prevents development of viral myocarditis, *Journal of Cardiac Failure*, 13 (9), 785-91.
- Mei, L., Mochizuki, M., Hasegawa, N. (2012), Hepatoprotective effects of pycnogenol in a rat model of non-alcoholic steatohepatitis, *Phytotherapy Research*, 26 (10), 1572-4.
- Mochizuki, M., Hasegawa, N. (2004), Therapeutic efficacy of pycnogenol in experimental inflammatory bowel diseases, *Phytotherapy Research*, 18 (12), 1027-8.
- Nishioka, K., Hidaka, T., Nakamura, S., Umemura, T., Jitsuiki, D., Soga, J. et al. (2007), Pycnogenol®, french maritime pine bark extract, augments endothelium-dependent vasodilation in humans, *Hypertension Research*, 30 (9), 775-780.
- Oliff, H. Scientific and Clinical Monograph for Pycnogenol. [Internet]. American Botanical Council. 2010. Erişim adresi: http://abc.herbalgram.org/site/DocServer/Pycnog_FullMono120809_LOW.pdf, Erişim tarihi: 3 Ocak 2017.
- Packer, L., Rimbach, G., Virgili, F. (1999), Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (pinus maritima) bark, pycnogenol, *Free Radical Biology & Medicine*, 27 (5-6), 704-724.
- Parveen, K., Khan, M.R., Mujeeb, M., Siddiqui, W.A. (2010), Protective effects of Pycnogenol on hyperglycemia-induced oxidative damage in the liver of type 2 diabetic rats, *Chemico-Biological Interactions*, 186 (2), 219-27.
- Peng, Q., Wei, Z., Lau, B.H. (2000), Pycnogenol inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced nuclear factor kappa B activation and adhesion molecule expression in human vascular endothelial cells, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57 (5), 834-41.
- Peng, Q.L., Buz'Zard, A.R., Lau, B.H.S. (2002), Pycnogenol protects neurons from amyloid-beta peptide-induced apoptosis, *Molecular Brain Research*, 104 (1), 55-65.
- Peng, Y.J., Lee, C.H., Wang, C.C., Salter, D.M., Lee, H.S. (2012), Pycnogenol attenuates the inflammatory and nitrosative stress on joint inflammation induced by urate crystals, *Free Radical Biology and Medicine*, 52 (4), 765-74.
- Putter, M., Grottemeyer, K.H., Wurthwein, G., Araghi, N.M., Watson, R.R., Hosseini, S. et al. (1999), Inhibition of smoking-induced platelet aggregation by aspirin and pycnogenol, *Thrombosis Research*, 95 (4), 155-161.
- Rohdewald, P. (2002), A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology, *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 40 (4), 158-68.
- Rohdewald, P. (2005b), Pycnogenol® - Scientific file-section 19. Geneva, Switzerland: Horphag Research.
- Rohdewald, P. (2005c), Pycnogenol protects DNA against oxidative damage *in vivo*. *Phytotherapy Research*, 19 (3), 262.
- Rohdewald, P., Beil, W. (2008), *In Vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* growth and adherence to gastric mucosal cells by pycnogenol®, *Phytotherapy Research*, 22 (5), 685-688.
- Rohdewald, P.J. (2005a), Pycnogenol, French maritime pine bark extract, *Encyclopedia of Dietary Supplements*. DOI:10.1081/E-EDS-120022123.
- Roseff, S.J. (2002), Improvement in sperm quality and function with French maritime pine tree bark extract, *Journal of Reproductive Medicine*, 47 (10), 821-824.
- Sahebkar, A. (2013), A systematic review and meta-analysis of the effects of pycnogenol on plasma lipids, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 19 (3), 244-55.
- Sarikaki, V., Rallis, M., Tanojo, H. (2004), *In vitro* percutaneous absorption of pine bark (Pycnogenol) in human skin, *Journal of Toxicology - Cutaneous and Ocular Toxicology*, 23 (3), 149-58.

- Schafer, A., Chovanova, Z., Muchova, J., Sumegova, K., Liptakova, A., Durackova, Z., et al. (2006), Inhibition of COX-1 and COX-2 activity by plasma of human volunteers after ingestion of French maritime pine bark extract (Pycnogenol), *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60 (1), 5-9.
- Schafer, A., Hogger, P. (2007), Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol) effectively inhibit alpha-glucosidase, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 77 (1), 41-46.
- Schönlau, F., Rohdewald, P. (2002). Pycnogenol® for diabetic retinopathy, *International Ophthalmology*, 24 (3), 161-171.
- Sehirli, O.A., Sener, G., Ercan, F. (2009), Protective effects of pycnogenol against ischemia reperfusion-induced oxidative renal injury in rats, *Renal Failure*, 31 (8), 690-697.
- Sivonova, M., Zitnanova, I., Horakova, L., Strosova, M., Muchova, J., Balgavy, P. et al. (2006), The Combined Effect of Pycnogenol with Ascorbic Acid and Trolox on the Oxidation of Lipids and Proteins, *General Physiology and Biophysics*, 25 (4), 379-396.
- Steigerwalt, R., Belcaro, G., Cesarone, M.R., Di Renzo, A., Grossi, M.G., Ricci, A., et al. (2009), Pycnogenol improves microcirculation, retinal edema, and visual acuity in early diabetic retinopathy, *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 25 (6), 537-40.
- Suzuki, N., Uebaba, K., Kohama, T., Moniwa, N., Kanayama, N., Koike, K. (2008), French maritime pine bark extract significantly lowers the requirement for analgesic medication in dysmenorrhea: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study, *Journal of Reproductive Medicine*, 53 (5), 338-46.
- Taner, G., Aydın, S., Aytac, Z., Basaran, A.A., Basaran, N. (2013), Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and antigenotoxic potential of Pycnogenol in *in vitro* mammalian cells, *Food and Chemical Toxicology*, 61, 203-8.
- Torras, M.A.C., Faura, C.A., Schonlau, F., Rohdewald, P. (2005), Antimicrobial activity of pycnogenol, *Phytotherapy Research*, 19 (7), 647-648.
- United States Pharmacopeia. (2005), Maritime Pine Extract. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 28, 2115-6.
- Vinciguerra, G., Belcaro, G., Cesarone, M.R., Rohdewald, P., Stuard, S., Ricci, A. et al. (2006), Cramps and muscular pain: prevention with pycnogenol in normal subjects, venous patients, athletes, claudicants and in diabetic microangiopathy, *Angiology*, 57 (3), 331-9.
- Virgili, F., Pagana, G., Bourne, L., Rimbach, G., Natella, F., Rice-Evans, C., et al. (2000), Ferulic acid excretion as a marker of consumption of a French maritime pine (*Pinus maritima*) bark extract, *Free Radical Biology and Medicine*, 28 (8), 1249-56.
- Wang, S., Duanjun, T., Yusheng, Z. (1999), The effects of Pycnogenol on the microcirculation, platelet function and ischemic myocardium in patients with coronary artery diseases, *European Bulletin of Drug Research*, 7 (2), 19-25.
- Wei, Z.H., Peng, Q.L., Lau, B.H. (1997), Pycnogenol enhances endothelial cell antioxidant defenses, *Redox Report*, 3 (4), 219-24.
- Wilson, D., Evans, M., Guthrie, N., Sharma, P., Baisley, J., Schonlau, F. et al. (2010), A randomized, double-blind, placebo-controlled exploratory study to evaluate the potential of pycnogenol for improving allergic rhinitis symptoms, *Phytotherapy Research*, 24 (8), 1115-9.
- Yang, H.M., Liao, M.F., Zhu, S.Y., Liao, M.N., Rohdewald, P. (2007), A randomised, double-blind, placebo-controlled trial on the effect of Pycnogenol on the climacteric syndrome in peri-menopausal women, *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 86 (8), 978-985.
- Yang, Y.S., Ahn, T.H., Lee, J.C., Moon, C.J., Kim, S.H., Jun, W., et al. (2008), Protective effects of Pycnogenol on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague-Dawley rats, *Food and Chemical Toxicology*, 46 (1), 380-7.
- Zibadi, S., Rohdewald, P.J., Park, D., Watson, R.R. (2008), Reduction of cardiovascular risk factors in subjects with type 2 diabetes by Pycnogenol supplementation, *Nutrition Research*, 28 (5), 315-20.
- Zibadi, S., Yu, Q., Rohdewald, P.J., Larson, D.F., Watson, R.R. (2007), Impact of Pycnogenol® on cardiac extracellular matrix remodeling induced by l-NAME administration to old mice, *Cardiovascular Toxicology*, 7 (1), 10-18.