

## Isırgan Otuğunun Dimetilbenzantrazen Uygulanan Tavşanlarda Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Maddeler ve Nitrit-Nitrat Düzeyleri Üzerine Etkisi

Ali ERTEKİN<sup>1\*</sup> İdris TÜREL<sup>2</sup> Gökhan OTO<sup>3</sup> F.Çağlar ÇELİKEZEN<sup>1</sup> Semih YAŞAR<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD, Van, Türkiye

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji AD, Van, Türkiye

<sup>3</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Van, Türkiye

Geliş tarihi: 09.07.2008

Kabul Tarihi: 28.08.2008

### ÖZET

Bu çalışmada, ısırgan otu ekstresinin 7,12-dimetilbenzantrazen(DMBA) verilen tavşanlarda nitrik oksit oksidasyon ürünleri, lipit peroksidasyon ürünleri ve antioksidan maddeler düzeyleri üzerine etkileri araştırıldı. Çalışmayı 21 dişi Yeni Zelanda ırkı tavşan oluşturdu. Tavşanlar üç gruba bölündüler. Deneme süresi 150 gün olarak belirlendi. Kontrol grubuna 0.5 ml/kg/gün dozunda % 10'luk dimetilsülfoksit (DMSO) çözeltisi, DMBA grubuna %10' luk DMSO'da çözündürülen DMBA maddesi 0.5 ml/kg/gün olarak verildi. Diğer gruba DMBA' ya ilaveten ısırgan otu ekstraktı 0.2 ml/kg/gün şeklinde uygulandı. Deneme sonunda kan örnekleri alındı. Yapılan analizlerde kontrol grubu ölçümlerine göre hem DMBA verilen hem de DMBA+ısırgan otu verilen grupta nitrit ve nitrat düzeylerinde gözlenen artışlar istatistik olarak anlamlı bulundu(P<0.001). Malondialdehit(MDA) seviyelerinde gözlenen artışlarda DMBA grubunda P<0.001 kadar, DMBA+ısırgan otu grubunda P<0.01 kadar bir anlam gözlemlendi. Seruloplazmin, glutatyon, retinol ve β-karoten düzeylerindeki artışlar DMBA grubunda P<0.001 kadar bir önem arz ederken, Vit.C' de bu anlam P<0.01 kadardı. DMBA+ısırgan otu verilen grupta glutatyon, Vit.C, retinol ve β-karoten seviyelerindeki düşüşler istatistik olarak P<0.001 kadar bir önem arz etti. Seruloplazminde ise bu anlam P<0.01 olarak gözlemlendi. Sonuç olarak, ısırgan otu ekstraktı verilen grupta hem nitrik oksit oksidasyon ürünlerinde hem de lipit peroksidasyon ürünlerinde diğer deneme grubuna göre daha az artışların gözlenmesi bu bitkinin kısmen de olsa lipit peroksidasyonuna karşı bir koruma özelliği olduğunu göstermiştir.

### Anahtar Kelimeler

Isırgan Otu, Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Maddeler, Nitrit-Nitrat, Tavşan, Dimetilbenzantrazen

### The Effect of Nettle Herb on The Levels of Lipid Peroxidation, Antioxidant Substances and Nitrite - Nitrate in Rabbits Induced With Dimethylbenzanthracene

### SUMMARY

In this study, it was studied the effects of nettle herb on the levels of lipid peroxidation, antioxidant substances and nitrite-nitrate in rabbits induced with Dimethylbenzanthracene (DMBA). 21 female New Zealand Rabbits were used in the study. The rabbits were divided into three groups. Experiment period was to designated as 150 days. The dimethylsulfoxide (DMSO)(%10) solution with the dosage of 0.5 ml/kg/day was applied in control group and DMBA which was dissolved in DMSO(%10) solution was applied as 0.5 ml/kg/day in DMBA group. The extract of nettle herb was applied as 0.2 ml/kg/day to the other group in addition to DMBA. The blood samples were taken in the end of experiment. According to the control group measurements in the analysis, the rise in nitrite and nitrate levels in both of the groups which was given DMBA and DMBA+nettle herb was statistically found to be meaningful (P<0.001). A meaning was observed in the rise of the level of malondialdehyde (MDA) as P<0.001 in DMBA group and P<0.01 in DMBA+nettle herb group. The rise in the levels of ceruloplasmin, glutathione, retinol and β-caroten in DMBA group was important as P<0.001 but this was P<0.01 in Vitamin C. The decrease in the levels of glutathione, Vitamin C and β-caroten was statistically important as P<0.001 in the DMBA+nettle herb group. This meaning was observed as P<0.01 in ceruloplasmin. In conclusion, it showed that even nettle herb has got partial protection against lipid peroxidation, because it was observed that smaller rise was observed in the nitric oxidation products and the group given nettle herb extract was given.

### Key Words

Nettle Herb, Lipid Peroxidation, Antioxidant Substances, Nitrite - Nitrate, Rabbit, Dimethylbenzanthracene

### GİRİŞ

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar(PAH) bilinen en güçlü potansiyel karsinojenlerdir, değişik dokularda ve

hayvan türlerinde tümör meydana getirebilmektedirler (14). Bu etkilerini immün sistemin aktivitelerini inhibe ederek (16), immün sistemi baskılayarak (17), immünotoksik etki gösterek (8) ve serbest radikalleri oluşturarak (38) da yapabilmektedirler. Bu grupta yer alan kimyasal karsinojenlerden sıklıkla kullanılanlar

\* Sorumlu araştırmacı: ertekinali@hotmail.com

dibenzantrasen, 3-metilkolantren ve 7,12-dimetilbenzantrasen sayılabilir (10).

Isırgan otunun (*Urtica dioica L.*) antiinflamatuvar etkilerinin olduğu (30), prostat hiperplazisi tedavisinde kullanılabileceği (17), diüretik etki gösterdiği (36), immunomodülatör aktiviteye sahip olduğu (22), romatizmal ağrıları azaltabileceği (7), romatoid artrit tedavisinde (27) ve düşük tansiyonlularda da (43) kullanılabileceği değişik literatürlerde bildirilmiştir.

Serbest radikal ve son derece reaktif, kısa ömürlü olan nitrik oksit önemli bir biyolojik moleküldür. Reaktif oksijen türleri nitrit ve nitrat, nitrik oksidin oksijenle ve süperoksitle oksidasyonu sonucunda oluşur (18).

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) karsinogenesisin hem başlatılmasında hem de devam ettirilmesinde fonksiyon yapabilirler. Antioksidanlar ROS ve RNS tarafından hücrel ve moleküler düzeyde olabilecek olan hasarlara karşı koruma görevini üstlenir (28). Antioksidanlar bu koruma görevlerini peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek veya serbest radikalleri ortamdan toplayarak yaparlar (32).

Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin etkisi ile membran yapısında bulunan doymamış yağ asiti zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar ve bunun sonucunda yağ asiti zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Bu radikaller moleküler oksijenle etkileşime girerek lipit peroksil radikallerinin oluşumuna neden olurlar. Lipit peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehidir (2).

Antioksidan vitaminlerden Vitamin C' nin süperoksit ve hidroksil radikali ile reaksiyona girip bu radikalleri temizleyerek,  $\beta$ -karoten ve retinolün herhangi bir ayırım yapmaksızın ortamdaki radikalleri toplayarak, glutatyonun serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girip hücreleri oksidatif hasara karşı koruyarak, seruloplazminin ise ferro demiri ferri demire yükseltgeyip serbest radikal oluşumunu inhibe ederek etkilerini gösterdikleri bildirilmektedir (11).

Bu çalışma dimetilbenzantrasen uygulanan tavşanlarda ısırgan otunun, lipit peroksidasyonu, antioksidan maddeler ve nitrit-nitrat düzeyleri üzerine etkisini irdelemek amacıyla planlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada hayvan materyali olarak 21 dişi Yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Tavşanlar Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinden temin edildi.

Çalışmamızda kullanılan bitki materyalini oluşturan ısırgan otu bitkisi Van yöresi Edremit ilçesinden Mayıs-Haziran aylarında toplandı.

Toplanan bitkiler gölgede kurutularak elektrikli değirmende iyice öğütüldü ve 0,4 mm' lik elekten geçirildi, elekten geçirilen bitki materyali renkli cam kavanozlarda gölgelik ortamda kullanımına kadar saklandı. Uygulamaya başlanmadan önce elekten geçirilen ısırgan otu bitkisi, dijestan tarzında 50 °C ye ayarlı soksalet cihazında 12 saat süre ile ekstraksiyona tabi tutuldu. İşlem sonucunda elde edilen ekstrakt evapore edilerek metanolünden ayrıştırıldı. Daha önceden darası alınan balon jodede biriktirilen ekstarktın verimi % 12,5 olarak tespit edildi. Elde edilen ısırgan otu bitkisi ekstarktı % 2' lik Tween 80 solüsyonunda çözündürüldü. Ve 1 ml' sinde 175 mg metanol bulunan ısırgan otu ekstarktı 0,2 ml/kg/gün dozunda intramusküler (i.m.) olarak uygulandı (5).

Çalışmada toksikasyon oluşturmak için kullanılan 7,12 dimetilbenzantrasen % 10' luk dimetilsülfoksit' te çözündürüldü ve bu çözelti şeklinde uygulandı (25).

Tavşanlar 15 gün yem ve adaptasyon amacı ile bekletildikten sonra denemeye alındılar ve bu amaç için üç gruba ayrıldılar.

Kontrol grubu (n:7): fizyolojik tuzlu su ile hazırlanan %10' luk DMSO çözeltisi 0,5 ml/kg/gün dozunda i.m. olarak uygulandı.

DMBA uygulama grubu (n:7): %10' luk DMSO' da çözündürülmüş olan DMBA maddesi 0,5 ml/kg/gün şeklinde i.m. olarak verildi.

DMBA+Isırgan otu ekstraktı uygulama grubu (n:7): 0,5 ml/kg/gün DMBA maddesine ilaveten 0,2 ml/kg/gün dozunda ısırgan otu ekstarktı da i.m. olarak uygulandı.

Çalışma süresi 150 gün olarak ayarlandı (42). Deneme sonunda kontrol ve uygulama grubu hayvanlardan usulüne uygun olarak EDTA' lı ve normal tüplere kan örnekleri alındı. EDTA' lı tüplere alınan kan örneklerinde MDA ölçümleri tiyobarbütirik asit reaktivitesi metodu ile (2), glutatyon EDTA' lı tam kanın presipite edilmesinden sonra elde edilen süzüntünün 5-5-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit ile verdiği renk reaksiyonunun ölçülmesi esasına göre (4) aynı gün içerisinde spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. Normal tüplere alınan kan örneklerinin serumları santrifüj işlemi ile çıkartıldıktan sonra, elde edilen serumda seruloplazmin tayini değiştirilmiş Ravin metoduna göre (29), Vit. C tayini Omaya ve ark. metoduna göre (23),  $\beta$ -karoten ve retinol analizleri ise etanol ve n-hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen filtratın 453 nm' de  $\beta$ -karoten, 325 nm' de retinol okumalarına dayanan Suzuki ve Katoh' un metoduna göre (34) spektrofotometrede yapıldı. Serum nitrit ve nitrat analizleri de yine spektrofotometrik olarak Stahr' ın metoduna göre (33) gerçekleştirildi.

Elde edilen verilerin gruplar arası istatistiksel önem analizleri için SPSS paket programı Independent Sample T Testi kullanıldı (35).

## BULGULAR

**Tablo 1.** Kontrol grubu, DMBA uygulanan grup ve DMBA+Isırgan otu ekstresi uygulanan gruplarda nitrit ve nitrat düzeyleri.

Parametreler	n	Kontrol	DMBA	DMBA+Isırgan Otu
Nitrit (mol/l)	7	5.86±0.166	9.18±1.015*	8.52±0.758*
Nitrat (mol/l)	7	23.11±2.806	30.68±3.584*	28.39±2.866*

(\*P<0,001), (istatistik analizlerde deneme grupları, kontrol grubuna göre karşılaştırılmıştır.)

**Tablo 2.** Kontrol grubu, DMBA uygulanan grup ve DMBA+Isırgan otu ekstresi uygulanan gruplarda seruloplazmin, MDA, GSH, Vit. C, retinol ve  $\beta$ -Karoten düzeyleri.

Parametreler	n	Kontrol	DMBA	DMBA+Isırgan Otu
Seruloplazmin(%mg)	7	18.84±1.728	28.16±2.820*	27.40±5.890**
MDA(nmol/ml)	7	2.48±0.356	3.56±0.388*	3.28±0.403**
GSH(mg/dl)	7	49.27±5.382	70.11±7.174*	72.90±4.461*
Vit. C(mg/dl)	7	0.468±0.030	0.722±0.202**	0.718±0.060*
Retinol( $\mu$ g/dl)	7	6.45±0.405	10.96±0.801*	10.46±0.809*
$\beta$ -Karoten( $\mu$ g/dl)	7	8.32±1.304	20.10±3.944*	16.00±4.167*

(\*p<0.001,\*\*P<0.01), ( i statistik analizlerde deneme grupları, kontrol grubuna göre karşılaştırılmıştır.)

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar doğada yaygın olarak bulunan kimyasal bir gruptur. PAH'lar deney hayvanlarında ve insanlarda güçlü karsinojenik etkiye sahip kimyasal maddelerdir. Özellikle bu grup kimyasallar, deneysel olarak tümör oluşumları başlatıcı, geliştirici ve ilerletici özelliklere sahip karsinojenlerdir. Bu özellikleri sahip oldukları immunotoksik etkileriyle açıklanmaktadır (8).

Isırgan otu bitkisinin tedavilerde özellikle kök, yaprak ve tohumlarından elde edilen ekstraktları kullanılmaktadır (9). Isırgan otu bitkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada, bitkinin antioksidan, antimikrobiyal, antiülser ve aneljezik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (13). Isırgan otu bitkisi ile yapılan diğer bazı çalışmalarda da bitki ekstresinin immunostimülatör (1) ve hepatoprotektif (37) etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Yine aynı bitki ekstresi ile yapılan bir başka çalışmada (3) aflotoksin uygulanan ratlarda ısırgan otu bitkisi ekstresinin lipit peroksidasyonunu anlamlı düzeylerde engellediği ve buna bağlı olarak karaciğer lezyonlarında önemli ölçüde azalmaların şekillendiği, aflatoksinden kaynaklanan hasarlarda da ciddi düzeylerde azalmaların olduğu gözlenmiştir.

Nitrik oksit birçok farklı biyolojik olaylara arabuluculuk yapan güçlü bir biyolojik moleküldür. Nitrik oksit aynı zamanda bir serbest radikaldir. Organizmada peroksinitrit anyonu ve hidroksil radikali gibi pek çok radikallerin üretilmesine neden olabilir. Bu radikaller dokularda istenmeyen durumlara sebep olabilir. Ayrıca mitokondriyal solunum zincirinin inhibisyonuna da neden olabildiği literatürlerde bildirilmiştir (15). Nitrik oksitin oksidasyonu ile şekillenen nitrit ve nitrat, yoğun olarak nitrik oksit aktivitesinin markeri olarak kullanılmaktadır (12). Çünkü nitrik oksit radikalinin kendisini ölçmek, stabilitesi çok zayıf ve yarı ömrü çok kısa olduğu için oldukça zordur (20).

Sunulan çalışmada kontrol grubu nitrit düzeyleri 5.86±0.166 mol/l seviyelerinde ölçüldü. Bu değer DMBA uygulanan grupta 9.18±1.015 mol/l bulunurken, DMBA+Isırgan otu bitkisi uygulanan grupta ise 8.52±0.758mol/l düzeylerinde bulundu. Yapılan istatistik analizlerde kontrol grubuna göre nitrit düzeylerindeki artış hem DMBA uygulanan grupta hem de DMBA+Isırgan otu bitkisi uygulanan grupta anlamlı bulundu (P<0.001). Nitrat düzeyleri ile ilgili yapılan analizlerde kontrol grubu nitrat seviyesi 23.11±2.806 mol/l olarak bulunurken DMBA uygulanan grupta bu seviye 30.68±3.584 mol/l düzeylerinde ölçüldü. Diğer DMBA+Isırgan otu bitkisi verilen grupta ise bu miktarlar 28.39±2.866 mol/l seviyelerinde bulundu. Yapılan istatistik analizlerde gruplar arasında gözlenen artışlar P<0.001 düzeylerinde

bir anlam ifade etti. Yapılan bir çalışmada (15) tümörle ilgili oluşan inflamasyonun ve hatta tümörün kendisinin fazla miktarda nitrik oksit üretimine neden olduğu bildirilmiştir. Artan nitrik oksit üretimi hücrelerde kanser gelişiminde kritik rol oynadığı bunu da angiogenезin stimülasyonu ve DNA hasarı üzerinden serbest radikallerin direk aktivasyonu ile artan mutagenезis ile yaptığı literatürlerde bildirilmiştir (39,40). Karsinom vakalarında reaktif nitrojen ve oksijen türlerinin ayrıca bunların birbirleriyle ilişkilerinin ve oranlarının izlenmesinin teşhiste, tedavide ve tedavinin monitörize edilmesinde yararlı bilgiler verebileceği yapılan bir çalışmada bildirilmiştir (28).

Dokularda oluşan oksidatif hasar serbest oksijen radikallerinin şekillenmesi ve inaktive edilmesi arasında oluşan dengesizliğe bağlı olarak meydana gelmektedir. Bu dengesizlik lipoperoksitlerin ve bunun ürünlerinin üretimine, buna bağlı olarak da membran lipidlerinin yıkılmasına neden olur. Reaktif oksijen türlerinin ortamdan kaldırılması ve inaktivasyonu antioksidatif savunma mekanizması ile yakından ilişkilidir (31). Antioksidanlar peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek veya serbest radikalleri toplayarak lipit peroksidasyonunu ve hücre zararını engellerler. Başlıca antioksidanlar olarak süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz,  $\beta$ -karoten, retinol,  $\alpha$ -tokoferol, askorbik asit, glutatyon ve seruloplazmin sayılabilir (11).

Lipit peroksidasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan malondialdehit vücut için oldukça zararlı olup, hücre membranlarından iyonların alışverişini etkileyerek geçirgenliğin bozulmasına neden olabilir. Ayrıca malondialdehit DNA bazları ile reaksiyona girerek bazların mutajenik karakter kazanması gibi pek olumsuzluklara neden olabilir (21).

Yaptığımız çalışmada kontrol grubu malondialdehit düzeyleri 2.48±0.386 nmol/l olarak ölçüldü. DMBA uygulanan deneme grubunda malondialdehit seviyeleri 3.56±0.388 nmol/l düzeylerinde tesbit edilirken DMBA+Isırgan otu bitkisi ekstresi kombine olarak verilen grupta bu miktarlar 3.28±0.403 nmol/l olarak saptandı. Bu artışlar istatistik olarak değerlendirildiğinde DMBA uygulanan grupta saptanan artışlar kontrol grubuna kıyasla P<0.001 düzeyinde bir anlam ifade ederken DMBA+Isırgan otu bitkisi verilen grupta ise bu anlam P<0.01 düzeyinde bir önem arz etti. Malondialdehit seviyelerinde gözlenen artışlar ilave ısırgan otu ekstresi verilen grupta, diğer sadece kimyasal madde verilen gruba göre daha az olmuştur. Bu da bize ısırgan otu bitkisi ekstresinin kimyasal maddeden kaynaklanan lipit peroksidasyonu kısmen engellediğini göstermektedir. Nitelik yapılan bir çalışmada ısırgan otu bitkisi ekstresinin lipit peroksidasyonundan kaynaklanan doku hasarları üzerine koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir

(24). Doğal kansinömlü hastalarda son yıllarda yapılan bir çalışmada (28), tümöral hücrelerin reaktif oksijen türlerinin yüksek oranda oluşmasına neden olduğunu, oluşan lipid peroksidlerin lipid peroksidasyonunu başlattığını ve bunlarında kanser hücrelerinde patobiyolojik, sitotoksik ve mutajenik değişimlere neden olduğu bildirilmiştir.

Hücre dışı bir antioksidan olan seruloplazmin bu antioksidan özelliğini, süperoksit radikallerini nötralize ederek (6) ve serbest oksijen radikallerini kendisine bağlayıp bunların zincirlerini kırarak fonksiyonlarını engelleyici tarzda göstermektedir (2). Hücre içi bir antioksidan olarak değerlendirilen glutatyon ise antioksidan özelliğini ortamdaki serbest radikallerle birleşip hücrenin oksidatif hasarını engelleyerek ve proteinlerin sülfidril gruplarını redükte halde tutarak göstermektedir. Glutasyonun antioksidan özelliğinin yanında ayrıca ksenobiyotiklere karşı detoksifikasyon mekanizmasında da önemli görevleri vardır (6).

Çalışmamızda seruloplazmin ve glutatyon düzeyleri sırasıyla, kontrol grubunda  $18.84 \pm 1.728$  %mg,  $49.27 \pm 5.382$  mg/dl olarak bulundu. DMBA uygulanan grupta bu düzeyler yine sırasıyla  $28.16 \pm 2.820$  %mg,  $70.11 \pm 7.174$  mg/dl seviyelerinde tespit edildi. DMBA+Isırgan otu bitkisi ekstresi uygulama grubunda ise bu değerler sırasıyla  $27.40 \pm 5.890$  %mg,  $72.90 \pm 4.461$  mg/dl düzeylerinde tespit edildi. Yapılan istatistik analizlerde kontrol gruplarına göre seruloplazmin düzeylerinde saptanan artışlar DMBA grubunda  $P < 0.001$  düzeyinde bir anlam arz ederken DMBA+Isırgan otu bitkisi grubunda bu anlam  $P < 0.01$  olarak gözlemlendi. Glutasyon düzeyleri ile ilgili yapılan istatistiksel analizlerde ise yine kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında hem DMBA uygulama grubunda hem de DMBA+Isırgan otu bitkisi grubunda  $P < 0.001$  kadar bir önem gözlemlendi.

Askorbik asitin zincir kırıcı bir antioksidan olduğu, lipid peroksidasyonunu önlediği ve serbest radikallerden kaynaklanan zincir reaksiyonlarını başlangıçta blokladığı kaynaklarda gösterilmiştir (19). Karotenoidler oksidatif streten kaynaklanan hastalıklara karşı koruyucu etkiye sahiptirler.  $\beta$ -karoten ve retinol antioksidan aktivitesini serbest radikalleri toplayarak ve serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek göstermektedir (26).

Sunulan çalışmada kontrol grubu Vitamin C düzeyi  $0.468 \pm 0.03$  mg/dl olarak tespit edilirken DMBA uygulanan deneme grubunda bu düzey  $0.722 \pm 0.202$  mg/dl, DMBA+Isırgan otu bitkisi verilen grupta da  $0.718 \pm 0.06$  mg/dl seviyelerinde ölçüldü. Retinol ve  $\beta$ -karoten miktarları sırasıyla kontrol grubunda  $6.45 \pm 0.405$   $\mu$ g/dl,  $8.32 \pm 1.304$   $\mu$ g/dl; DMBA verilen grupta  $10.96 \pm 0.801$   $\mu$ g/dl,  $10.46 \pm 0.809$   $\mu$ g/dl; DMBA+Isırgan otu uygulanan grupta ise bu miktarlar yine sırasıyla  $20.10 \pm 3.944$   $\mu$ g/dl,  $16.00 \pm 4.167$   $\mu$ g/dl olarak saptandı. Yapılan istatistik analizlerde kontrol grubuna kıyasla hem retinolde hem de  $\beta$ -karotende gözlenen değişimler her iki deneme grubunda da  $P < 0.001$  kadar bir anlam arz etti.

Serbest radikaller pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynarlar. Çoğu hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı gösterilmiştir (41).

Sonuç olarak, DMBA uygulanan grupta hem nitrik oksit oksidasyon ürünlerinde hem de reaktif oksijen türlerinde anlamlı artışlar gözlemlenmiştir. DMBA+Isırgan otu ekstresi verilen grupta da bu ürünlerde artışlar gözlemlenmiştir, fakat ölçülen miktarlar sadece DMBA verilen gruba göre daha az şekillenmiştir. Her iki grupta da artışlar olduğu için hücrelerde oksidatif streten kaynaklanan olası

yıkılma gerçekleşmiş olabilir. Fakat ısırgan otu ekstresi verilen grupta hem nitrik oksit oksidasyon ürünlerinde hem de MDA düzeylerinde daha az artışların şekillenmesi bu bitki ekstresinin kısmen de olsa lipid peroksidasyonuna ve hasarlarına karşı koruyucu özelliği olduğunu göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Akbay P, Başaran AA, Ündeğer U, Başaran N (2003): Invitro Immunomodulatory Activity of Flavonoid Glycosides from *Urtica Dioica* L.. L. *Phytother Res.* 17:34-37.
2. Akkuş, İ (1995): Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yay. Konya.
3. Ayna E (2006): Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Aflatoksikoziste Isırgan Otu (*Urtica Dioica* L.)' nun Karaciğer Lezyonlarını Engelleyici Etkisinin Araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağ. Bil. Ens., Yüksek Lisans Tezi, Van.
4. Beutler E, Duran O, Kelly BM (1963): Improved Method for the Determination of Blood Glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 61: 882-888.
5. Bnouham M, Merhfour FM, Ziyat A, Mekhfi H, Aziz M, Legssyer A (2003): Antihyperglycemic Activity of the Aqueous Extract of *Urtica Dioica*, *Fitoterapia* 74: 677-681.
6. Byung PY (1994): Cellular Defenses Against Damage from Reactive Species. *Physiol. Rev.* 74: 139-172.
7. Chrusasik S, Eisenberg E (1999): Treatment of Rheumatic Pain with Medicine in Europe. Part 2. *Urtica dioica* L.. *Pain Clinic* 11 (3): 179-185.
8. Davila DR, Mounho BJ, Burchiel SW (1997): Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to the Human Immune System: Models and Mechanism. *TEN* 4: 5-9.
9. Davis P (1982): Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg University Press, Pp: 633-635.
10. Erer H, Kiran MM (2000): Tümörlerin Meydana Geliş Sebepleri, Veteriner Onkoloji Kitabı, Konya, Damla Ofset A.Ş.
11. Ertekin A, Karaca M, Akkan HA, Cemek M, Ormanci N (2003): Köpeklerde Gentamisin Nefrotoksikozisinde Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Maddeler, Antioksidan Vitaminler ve Bazı Hematolojik-Biyokimyasal Parametre Düzeylerinin Araştırılması," *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 27, 535-540.
12. Glantzounis G K, Rocks S A, Sheth H, Knight I, Salacinski H J, Davidson B R, Winyard P G, Seifalian A M (2007): Formation and Role of Plasma S-Nitrosothiols in Liver Ischemia-Reperfusion Injury. *Free Radical Biology & Medicine* 42: 882-892.
13. Gülçin İ, Küfrevioğlu Oİ, Oktay M, Büyükoğlu ME (2004): Antioxidant, antimicrobial, Antiulcer and Analgesic Activities of Nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacol.* 90: 205-215.
14. Hsue SS, Chen YK, Lin LM (2008): Expression of Survivin and XIAP for DMBA-Induced Hamster Buccal Pouch Squamous Cell Carcinogenesis is Associated with p53 Accumulation, *Oral Oncology* 44: 43-49.
15. İmamoğlu GD (2006): Pelvik Bölgeye Radyoterapi Uygulanan Serviks Kanserli Hastalarda Oluşan Yan Etkilerle Serum Nitrik Oksit Seviyesi Arasındaki İlişki, Sağlık Bak. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim. Ve Araşt. Hast. Radyasyon Onk. Klin. İstanbul.
16. Ladics GS, Kawabata TT, White Jr. KL (1991): Suppression of the in Vitro Humoral Immune Response of Mouse Splenocytes by 7,12 Dimethylbenz[a]anthracene Metabolites and Inhibition of Immunosuppression by Alpha-Naphthoflavone, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 110: 31-44.
17. Lichius JJ, Muth C (1997): The Inhibiting Effect of *Urtica dioica* Root Extracts on Experimentally Induced Prostatic Hyperplasia in the Mouse. *Planta Med* 63: 307-310.
18. Marley R, Patel R P, Ori N, Ceaser E, Darley-Usmar V, Moore, K (2001): Formation of Nanomolar Concentrations of S-Nitroso-Albumin in Human Plasma by Nitric Oxide. *Free Radic. Biol. Med.* 31: 688-696.

19. Meister A (1988). Glutathione Metabolism and its Selective Modification. J Biochem. 263:17205-8.
20. Moshage H, Kok B, Johannes R (1995): Nitrite and Nitrate Determination in Plasma, a Critical Evaluation. Clinical Chemistry 46: 892-896.
21. Moslen MT (1994): Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis, Free Radicals in Diagnostic Medicine, pp: 1-15, Editor: D. Armstrong, Plenum Press New York.
22. Musette P, Galelli A, Harbre H (1996): *Urtica dioica* Agglutinin, V Beta 8.3-Specific Superantigen, Prevents the Development or the Systemic Lupus Erythematosus Like Pathology of MRL lpr/lpr Mice. Eur J Immunol 26: 1707-1711.
23. Omayya, ST, Turbul JD, Savberlich HE (1979): Ascorbic Acid Analyses. II. Determination after Derivation with 2,2-Dinitrophenylhydrazine, Selected Methods for Determination of Ascorbic Acid in Animal Cells, Tissues and Fluids. Meth. Enzymol. 62: 7-8.
24. Özen T, Korkmaz H (2003): Modulatory Effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) Leaf Extract on Biotransformation Enzyme Systems, Antioxidant Enzymes, Lactate Dehydrogenase and Lipid Peroxidation in Mice, Phytomedicine 10: 405-415.
25. Penn A, Batastini G, Soloman J, Burns F, Albert R. (1981): Dose Dependent Size Increase of Aortic Lesions Following Chronic Exposure to 7,12-Dimethylbenzanthracene. Cancer Research 41(2): 588-592.
26. Polyakov NE, Leshina VT, Konovalova TA, Kispert LD (2001): Carotenoids as Scavengers of Free Radicals in a Fenton Reaction: Antioxidants or Pro-Oxidants?, Free Radical Biology & Medicine 31(3): 398-404.
27. Randall C, Mccthan K, Randall H, Dobbs F (1999): Nettle Sting of *Urtica dioica* for Joint Pain: an Exploratory Study of this Complementary Therapy. Compl. Ther. Med. 7: 126-131.
28. Rasheed MH, Beevi SS, Geetha A (2007): Enhanced Lipid Peroxidation and Nitric Oxide Products with Deranged Antioxidant Status in Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma, Oral Oncology 43, 333- 338.
29. Ravin, HA (1956): Lancet, 1: 726. Alındı: Yenson, M. (1986): Klinik Biyokimya Ders Notları. Beta Yayın Ltd. Şti. İstanbul.
30. Reihemann K, Behnke B, Schulze-Osthoff K (1999): Plant Extract from Stinging Nettle (*Urtica dioica*), an Antirheumatic Remedy, Inhibit the Proinflammatory Transcription Factor. FEBS Lett. 442: 89-94.
31. Serafini M, Del Rio, D (2004): Understanding the Association Between Dietary Antioxidants, Redox Status and Disease: is the Total Antioxidant Capacity the Right Tool?. Redox Report. 9: 145-152.
32. Sinclair AJ, Barnett AH, Junec J (1990): Free Radicals and Antioxidant Systems in Health and Disease. Bri. J. Hosp. Med. 43: 334-344.
33. Stahr HM (1977): Analytical Toxicology Methods Manual, Iowa State University, Ames, Iowa, pp: 68-71.
34. Suzuki I, Katoh N (1990): A Simple and Cheap Method for Measuring Serum Vit. A in Cattle Using Only a Spectrophotometer. Jpn. J. Vet. Sci. 52: 1281-1283.
35. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V (1998): Biyoistatistik. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
36. Tahri A, Sabah Y, Legssyer A, Aziz M, Mekhfi H, Bnnouham M, Ziyat A (2000): Acute Diuretic, Natriuretic and Hypotensive Effects of a Continuous Perfusion of Aqueous Extract of *Urtica dioica* in the Rat. J Ethnopharmacol 73: 95-100.
37. Türkdöğän MK, Özbek H, Yener Z, Tuncer İ, Ceylan E (2003): The Role of *Urtica dioica* L. and *Nigella Sativa* in the Prevention of Carbontetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rats. Phytrapy Research 17: 942-946.
38. Vardı N, Öztürk F, Öztürk Ç, Batcıoğlu K (2001): 7,12 Dimetil Benzantrazenin Fare İleum Mukozasında Neden Olduğu Histolojik Değişiklikler ve Bu Değişiklikler üzerine E Vitamini+Selenyum ve Melatoninin Etkileri, Journal of Inonu University Medical Faculty - Volüm 8, No. 3.
39. Wamvakas S, Schmidt HHHW (1997): Just say No to cancer? J Natl Cancer Inst. 89: 406-407.
40. Wink DA, Vodovotz Y, Laval J (1998): The Multifaceted Roles of Nitric Oxide in Cancer. Carcinogenesis 19: 711-721.
41. Yagi K(1994): Lipid Peroxidase and Related Radicals in Clinical Medicine, Free Radicals in Diagnostic Medicine. Ed.: D. Armstrong, Plenum Pres, pp: 17-27, New York.
42. Yılmaz M, Kemaloğlu YK, İnal O, Kul O, Yarım M (1997): Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Yassı Hücreli Dil Kanseri Modeline Selenyumun Etkisi, Gazi Üniv. Tıp fak. KBB Hast. ABD, 24. Ulusal Otorinolarongoloji ve Baş Boyun Cerrahisi Kong. 23-27 Eylül 1997, Antalya.
43. Ziyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli A, Serhrouhni M, Benjelloun W(1997): Phytotherapy of Hypertension and Diabetes in Oriental Morocco. J Ethnopharmacol 58: 45-54.