

## Meme Kanseri Oluşturulmuş Ratlarda Isırgan Otunun Total Antioksidan Durumu Üzerine Etkisi\*

Selda TELLO<sup>1</sup>  
İhsan HALİFEOĞLU<sup>1</sup>  
Mahmut BOZKURT<sup>1</sup>  
Özgür BULMUŞ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Fizyoloji Anabilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışmada; ısırgan otunun, meme kanseri oluşturulmuş ratlardan total antioksidan durumuna olan etkisinin incelenmesi amaçlandı. Bütün gruplar 15 rattan oluşturuldu. Grup 2'de iki rat öldüğünden bu grup 5.5 aylık deney süresini 13 sıçan olarak tamamladı. Ratlar 21 günlük olduktan sonra deneysel aşamaya geçildi. Meme kanseri oluşturmak için MNU (*N*-Metil-*N*-Nitroso-Ürea) kullanıldı. Kontrol grubu (Grup 1): Sadece bazal diyet ve su verildi. MNU uygulanan grup (Grup 2): 50 mg/kg MNU i.p olarak enjekte edildi ve bazal diyet ve su ile beslenmeleri sağlandı. MNU uygulanan + Isırgan otu verilen grup (Grup 3): İkinci grup ile aynı zamanda ve aynı dozda MNU uygulandı ve 50 gr/kg ısırgan otu olacak şekilde yem hazırlanıp beslenmeleri sağlandı. Ayrıca 50 gr/L olacak şekilde ısırgan otu kaynatılıp soğuduktan sonra süzülde ve bu su içme suyu olarak kullanıldı. Isırgan otu verilen grup (Grup 4): Ratların yemleri ve içme suları grup 3'teki gibi hazırlanarak beslenmeleri sağlandı. Plazma malondialdehit (MDA) düzeyi Satoh ve Yagi yöntemi ile, total antioksidan durumu (TAS) ise ticari kit kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata olarak tarif edildi. Grup 2'nin MDA düzeyleri grup 4'e ve grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (sırasıyla  $p < 0.01$  ve  $p < 0.05$ ). Grup 2'nin TAS düzeyi grup 1 ve grup 4'e göre anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Hem MDA hem de TAS'ta diğer gruplar arasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). Sonuç olarak, ısırgan otunun artan MDA düzeyini azalttığı ve TAS düzeyini de yükselttiği koruyucu etki gösterdiği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Isırgan otu, meme kanseri, total antioksidan durumu.

### Effect of Urtica Dioica on Total Antioxidant Status (Tas) in Rats With Experimentally-Induced Breast Cancer

The present study aimed at exploring effect of *Urtica dioica* on total antioxidant status (TAS) in rats with experimentally-induced breast cancer. All groups were composed of 15 female rats during 5.5 months experimental period while Group 2 had 13 animals since two rats were dead. When rats were 21 days old, experimental phase was initiated. *N*-methyl *N*-nitroso urea (NMU) was used for induction of breast cancer. Control Group (Group 1): fed with basal diet and water, MNU Group (Group 2): 50 mg/kg MNU was injected i.p. and animals were fed with basal diet and water. MNU-administered and *Urtica dioica* given group (Group 3): In addition to 50 gr/kg *Urtica dioica* which was given with food, animals in these group also received MNU along with the animals in Group 2. Additionally, 50 gr/L *Urtica dioica* was boiled, cooled, filtered and used as drinking water. *Urtica dioica* given group (Group 4): food and drinking water for rats were prepared similar to Group 3. Plasma malondialdehyde (MDA) levels were determined by the method of Satoh and Yagi and TAS levels were determined by a commercial kit. Results were expressed as mean  $\pm$  SEM. MDA levels in Group 2 was determined to be significantly high compared to Group 4 and Group 1 ( $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ , respectively). TAS level of Group 2 was reduced significantly compared to Group 4 and Group 1 ( $p < 0.05$ ). In conclusion, it is believed that *Urtica dioica* shows its protective effect by lowering increased MDA level and increasing TAS.

**Key Words:** *Urtica dioica* L, breast cancer, total antioxidant status.

Geliş Tarihi : 14.10.2007  
Kabul Tarihi : 18.04.2008

Yazışma Adresi  
Correspondence

İhsan HALİFEOĞLU

Fırat Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
23119  
Elazığ, TÜRKİYE

halifeoglu@hotmail.com  
ihalifeoglu@yahoo.com

### Giriş

Kanser hastalarının başvurduğu tamamlayıcı ve alternatif tıp, yaygın olarak kullanılmakta (1-3) ve diğer kanser hastalıklarında olduğu gibi meme kanserinde de bu tedavi ilgili çeşitli yayınlar bulunmaktadır (4). Meme kanseri günümüzde birçok ülkede kadınlarda görülen en yaygın kanser türlerinden biri olup, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda görülen önemli ölüm nedenlerinden biridir (5).

Bazı kültürlerde yüzyıllardan beri kullanılan şifalı otlar veya kombinasyonları geleneksel Türk tedavilerinde önemli bir yer tutmaktadır (6). Bu amaçla kanser hastalarında en sık kullanılan bitki ısırgan otudur. Kökleri ve yaprakları genellikle kaynatıldıktan sonra kullanılan (7) ısırgan otu, Urticaceae (nettle) ailesinden olup

\* Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (proje no:1015)

dünyada ılıman bölgelerde yetişen yabancı bir ottur. Isırganotu; kök ve tohumdan çoğalan yavaş yayılan ve yıl boyunca sürekli bulunan bir bitkidir. Yaprakları ve gövdesi yakıcı tüylerle kaplanmıştır. Taze ısırgan otunun yakıcı tüylerine dokunulduğunda deride asetilkolin, histamin, 5-hidroksitriptamin ve serotonin salınımına sebep olarak yakıcı etki gösterir (8). Isırgan otu; formik asit, yüksek oranlarda klorofil, flavonoidler, bitki steroller, bitki enzimleri, fenilpropanlar, kumarinler, terpenoidler, potasyum tuzları, vitamin C, polisakkaritler, bitki lignanları ve köklerinde küçük moleköl ağırlıklı lektin (*Urtica dioica* aglutinin(UDA)) içermektedir (7, 9). Yapılan bir çalışmada ısırgan otundaki referans değerden dört kat fazla Ca bulunmuştur (10). Isırgan otunun antinflamatuar (11, 12), antiviral (13), antioksidan (14), immün sistem stimulatörü (10, 15) olarak davranmakta ve bu etkisini de yapısında bulunan çok sayıda flavanol glikozidleri (10) vasıtasıyla gerçekleştirdiği belirtilmektedir (16). Ayrıca ısırgan otu ekstraktında fenollere denk olan pirokatekol olması lipid peroksidasyonunu durdurduğunu (14) ve buna bağlı olarak polifenollerin günlük 1gr'ın üzerinde sebze ve meyvelerden zengin diyetlerle alınmasının mutagenез ve karsinogenezi inhibe ettikleri savunulmaktadır (17). Isırgan otunun köklerinden elde edilen %20 metanolik ekstraktın, prostat büyümesini %51.4 inhibe ettiği, prostat epitel hücre ve stromal hücrelerin proliferasyonunu açıkça azalttığı gösterilmiştir (18, 19).

Son yıllarda alternatif tıbbın kanser tedavisinde kullanılması (20) ve bazı kanser türlerinde olumlu etkilerinin tespit edilmesi (21) bu alanda yeni çalışmaların yapılmasını teşvik etmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ısırgan otunun meme kanseri gibi hormon bağımlı bir kanser olan prostat kanserinin gelişimini gerilettiğinin tespit edilmesi (18, 19) bizi ısırgan otunun meme kanseri üzerindeki etkilerini araştırmaya yöneltmiştir.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda 21 günlük 60 adet dişı Wistar albino rat kullanıldı. Ratların bakım ve beslenmeleri Fırat Üniversitesi Tıp Faköltesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (FÜTDAM) yapıldı. Ratlar rahatça hareket edebilecekleri alanlarda, yem ve su kaplarının kafese monte edilen plastik kafeslerde barındırıldı. Yem ve suları ad libitum olarak verildi. Kafeslerin temizliği haftalık olarak yapıldı ve altlık olarak talaş kullanıldı. Hayvanlar standart laboratuvar şartlarında 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda oda sıcaklığında (22±3 °C) muhafaza edildi.

Fırat Üniversitesi Tıp Faköltesi Etik Kurulundan gerekli onay alındıktan sonra çalışma başlatıldı. Denekler 4 gruba ayrıldı ve her grup 15 rattan oluştu. Meme kanseri oluşturmak üzere bir direkt karsinojen olan *N*-Metil-*N*-nitrosoüre (MNU)(Sigma Chemical Company Munich-Germany) kullanıldı.

**Grup 1:** Kontrol grubu: Kanser oluşturulmayan ve sadece bazal diyetle beslenen grup.

**Grup 2:** MNU uygulanan grup: 21 günlük dişı ratlara 50 mg/kg MNU periton içine (i.p.) enjekte edildi ve bazal

diyetle beslenmeleri sağlandı. Bu grupta 2 rat öldüğünden, 13 rat ile çalışmaya devam edildi.

**Grup 3:** MNU uygulanan + Isırgan otu verilen grup: Bu gruptaki ratlara da ikinci grup ile aynı zamanda ve aynı dozda MNU uygulandı. 21 günlük ratlar 5,5 ay boyunca kg yem başına 50 gr ısırgan otu olacak şekilde yem hazırlanıp deney sonuna kadar beslenmeleri sağlandı. Ayrıca litre başına 50 gr olacak şekilde ısırgan otu kaynatılıp su olarak ta bunun tüketilmesi sağlandı (Yemler haftalık olarak hazırlandı ve suyla birlikte buzdolabında muhafaza edildi).

**Grup 4:** Isırgan otu verilen grup: 21 günlükten itibaren üçüncü gruptaki beslenme şekliyle aynı olmak üzere ısırgan otu verildi.

**Kimyasal ve Bitkisel Materyalin Hazırlanması:** MNU, rat başına 50 mg/kg olarak tek doz halinde uygulandı. MNU birkaç damla %3'lük asetik asitte çözöldü. Sonra stok solüsyonu 10 mg MNU/ml olacak şekilde distile su ile sulandırılarak iki saat içinde ratlara ip. olarak enjekte edildi (22).

Isırgan otu Elazığ'daki yerel aktarlardan elde edildi. Kurutulmuş olarak alınan ısırgan otu blender ile toz haline getirildi. Toz halindeki ısırgan otunun 20 gr'ı 400 ml su ile 15 dakika kaynatıldı ve süzgeçten geçirildikten sonra 5,5 ay boyunca ratların bu su ile beslenmesi sağlandı (17). Yine 5,5 ay boyunca, kg yem başına 50 gr olacak şekilde toz halindeki ısırgan otu toz halindeki rat yemiyle harmanlandıktan sonra su ile hamur haline getirildi ve şekil verildikten sonra kurutuldu ve ratlar bu şekilde beslendi.

**Örneklerin Alınması ve Hazırlanması:** Palpasyon ile meme dokusunda tespit edilen kitlenin patoloğlar tarafından histopatolojik olarak tümör olduğu doğrulandıktan sonra, ratlar dekapite edilerek kan örnekleri alındı. Elde edilen kanın bir kısmı plazma hazırlanması için EDTA'lı tüplere alındı ve plazmada MDA, bir kısım kan ise heparinli tüplere alınarak elde edilen plazmada total antioksidan durum (TAS) çalışılmak üzere -20°C derecede saklandı.

**Biyokimyasal ölçümler: Plazma Lipid Peroksid Düzeylerinin Ölçümü:** Plazma lipid peroksid düzeylerinin (malondialdehit) ölçümü Satoh (23) ve Yagi'den (24) modifiye edilen bir yöntemle spektrofotometrik olarak ölçöldü. Bu yöntemin prensibi, pH'nın 3,4 olduğu oksijenli bir ortamda numunenin tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95°C derecede inkübasyonu sonucu oluşun ürünün renginin 532 nm'de ölçölmesidir. Oluşun renkli kompleks, lipid peroksidin sekonder ürünü olan malondialdehit'e (MDA) aittir.

**Total Antioksidan (TAS) Durum Ölçümü:** Randox firmasına ait ticari kiti (Randox Laboratories, Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY) kullanılarak total antioksidan ölçümü yapıldı. Kullanılan metodun prensibine göre; ABTS (2,2'-Azino-di-[3-aehtylbenzthiazolinesulphonate]) peroksidaz (metmyoglobin) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile ABTS<sup>+</sup> radikal katyon oluşturmak için okside olur. Bunun sonucunda oluşun

sabit mavi renk 600 nm'de ölçülür. TAS ölçümü için serum veya heparinli plazma kullanılabilir (25).

**İstatistik Analizleri** Bu çalışmada istatistik analizlerde SPSS 10 (Statistical Program for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Bütün sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde ifade edildi. İstatistiksel analizlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak Tukey-HSD testi ile gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı. Anlamlılık derecesi olarak  $p < 0.05$  kabul edildi.

## Bulgular

Bütün gruplara ait MDA ve total antioksidan kapasitesi (TAS) düzeyleri tablo 1'de verilmiş olup sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata (SE) olarak tarif edilmiştir. Gruplar arasında MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2'nin MDA düzeyleri grup 4'e ve grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir (sırasıyla  $p < 0.01$  ve  $p < 0.05$ ). Grup 1 ve grup 3 karşılaştırıldığında grup 3'ün kontrol değerlerine yakın olduğu görülmektedir. Grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında grup 3'te bir azalma tespit edilmiş ancak istatistiksel anlamlılık göstermemiştir ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 1** Gruplar arası TAS ve plazma MDA düzeyleri. Sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

	KONTROL (Grup 1, n=15)	MNU (Grup 2, n=13)	MNU+ISIRGAN (Grup 3, n=15)	ISIRGAN (Grup 4, n=15)
MDA (nmol/mL)	0.54 $\pm$ 0.04	0.74 $\pm$ 0.08 <sup>***</sup>	0.57 $\pm$ 0.05	0.47 $\pm$ 0.03
TAS(mmol/L)	1.10 $\pm$ 0.15	0.62 $\pm$ 0.16 <sup>#,ψ</sup>	1.06 $\pm$ 0.20	1.23 $\pm$ 0.23

\*  $p < 0.05$ , grup 1 ile karşılaştırıldığında,

\*\*  $p < 0.01$ , grup 4 ile karşılaştırıldığında

#  $p < 0.05$  grup 1 ile karşılaştırıldığında,

ψ  $p < 0.05$ , grup 4 ile karşılaştırıldığında,

Gruplar arası TAS düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2'nin TAS düzeyleri grup 1 ve grup 4'e göre anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir ( $p < 0.05$ ). Grup 3 ile grup 1 karşılaştırıldığında grup 3'ün kontrol değerlerine yakın olduğu görülmüştür. Grup 4 ile grup 1 karşılaştırıldığında grup 4'te artış görülmüş ancak istatistiksel anlamlılık tespit edilememiştir ( $p > 0.05$ ). Grup 3 grup 2 ile karşılaştırıldığında grup 3'te bir artış görülmüş ancak istatistiksel anlamlılık tespit edilememiştir ( $p > 0.05$ ). (Tablo 1)

## Tartışma

Meme kanserli hastaların serum (plazma) MDA düzeylerini kontrole göre yüksek olması (26-28), çeşitli kanser hastalarında oluşan oksidatif stresin mutageneze bağlı olarak kanser oluşumunda önemli rol oynayabileceği fikrini akla getirmiştir (28). Bununla birlikte meme kanserli hastaların plazma MDA düzeylerindeki azalmanın tümör için karakteristik olan yüksek antioksidanlardan kaynaklandığını ileri süren çalışmada bulunmaktadır (29). Çalışmamızda grup 1 (kontrol grubu), grup 2 (MNU uygulanan grup), grup 3 (MNU uygulanan + ısrırgan otu verilen grup) ve grup 4 (ısrırganotu verilen grup) arasında MDA düzeylerindeki değişimler incelendi. Grup 2 MDA düzeylerinin grup 4'e göre anlamlı olarak yüksek olduğunu tespit edildi ( $p < 0.01$ ). Benzer şekilde Grup 2'nin MDA düzeyleri grup 1 ile karşılaştırıldığında grup 2'deki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Grup 3'ün MDA düzeyleri kontrol grubu MDA düzeylerine çok yakın bulundu. Çalışmamızda ayrıca grup 4'ün MDA düzeylerinin kontrol grubundan bile daha düşük olduğu görüldü. Grup 2'ye göre, grup 3'te MDA düzeylerindeki

%33 lük bir azalma ısrırgan otunun etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu önlediği şeklinde yorumlanabilir. Meme kanseri oluşturulan grupta diğer literatürleri destekler şekilde lipid peroksidasyonu artmış bulduk. Bu da proliferen olan hücrelerde artmış lipid peroksidasyonundan veya azalmış antioksidan sistemden (hem enzimatik hem nonenzimatik) kaynaklanmış olabilir. Grup 4 MDA düzeylerinin kontrol grubu değerlerinden daha düşük olması muhtemelen ısrırgan otunun antioksidan etkisiyle oksidatif stresi azaltmasının bir sonucudur.

Bilinen bütün antioksidanları ayrı ayrı ölçmek ve aralarındaki ilişkiyi ortaya koymak zor bir iş olduğundan total antioksidan ölçüm metodu geliştirilmiştir (30). TAS ölçümü insanlarda fizyolojik, çevresel ve beslenme faktörlerinin redoks durumunu değerlendirmeye yardım eder. Bitkisel antioksidan alımı veya antioksidandan zengin yiyeceklerin alımından sonra plazma TAS'deki değişiklikler, besinsel bileşimlerin biyoyararlanımı ve absorpsiyonu hakkında bilgi sağlayabilir. (31).

Ching ve ark. (30), 153 yeni meme kanseri tanısı konulmuş ve tedavi almamış hasta ile 151 kontrolü antioksidan durum açısından yaptıkları çalışmada; yükselmiş total antioksidan durumun, azalmış meme kanseri riski ile ilişkili olduğu bulmuşlardır. Cai ve ark. (32), Çin'deki antioksidan ve fenolik bileşikler bulunan 112 çeşit şifalı bitkinin antikanser ilişkisini araştırmak için yaptıkları incelemede total antioksidan kapasitesi ile total fenolik içerik arasında pozitif ilişki tespit etmişler ve fenolik içeriğin antioksidan etkiyi oluşturan temel yapı olduğunu vurgulamışlardır. Buradan hareketle de, Çin'deki şifalı bitkilerin doğal bileşimlerinin kemopreventif

ajan kaynağı olarak kullanılabilceği ileri sürülmüştür. Swain ve ark. (33), perimenapozal kadınlarda soya-protein alımıyla demir indekslerinin TAS düzeyleri üzerine etkilerini tespit için yaptıkları çalışmada; izoflavondan zengin soya alımının demir emilimini azalttığı ve bunun sonucunda artan TAS düzeylerinin perimenapozal kadınları oksidatif strese karşı koruyabileceğini belirtmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada ısırgan otu ekstraktının total antioksidan aktivitesinin,  $\alpha$ -tokoferol gibi güçlü antioksidandan bile daha fazla olduğu gösterilmiştir (34). Çalışmamızda gruplar arası TAS düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 2 TAS düzeyleri grup 4 ve grup 1'e göre azalmış bulundu (p<0.05). Grup 3'te ise grup 2'ye göre bir artış gözlenmesine rağmen istatistiksel anlamlılık bulunamadı. Grup 3'ün TAS değerleri ise

kontrol grubu TAS değerlerine çok yakın bulundu. Grup 2 MDA düzeyinde belirgin artış tespit edildiğinden bu gruptaki düşük TAS düzeyleri bu duruma paralellik göstermektedir. Grup 4'teki yüksek TAS düzeyleri ise ısırgan otunun antioksidan özellik gösteren birçok bileşiminin (kuersetin, rutin gibi flavanoller) bulunmasından dolayı olabilir. Fenollerin hidroksil grupları güçlü temizleme kapasitelerine sahip olduklarından antioksidan aktiviteyi arttırmaya yardımcı olurlar.

Sonuç olarak, ısırgan otunun yapısındaki kimyasal maddelerin, meme kanserinde, artan MDA düzeyini azalttığı ve TAS düzeyini de yükselterek koruyucu etki gösterdiği düşünülmektedir.

### Kaynaklar

- Ernst E, Cassileth BR. The Prevalence of Complementary/Alternative Medicine in Cancer. *Cancer* 1998;83:777–82
- Shen J, Andersen R, Albert PS, Wenger N, Glaspy J, Cole M, Shekelle P. Use of complementary/alternative therapies by women with advanced-stage breast cancer. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2002, 2:8.
- Ashikaga T, Bosompra K, O'Brien P, Nelson L. Use of complimentary and alternative medicine by breast cancer patients: prevalence, patterns and communication with physicians. *Support Care Cancer*. 2002 Oct;10(7):542-8.
- Molassiotis A, Fernandez-Ortega P, Pud D, Ozden G, Platin N, Hummerston S, Scott JA, Panteli V, Gudmundsdottir G, Selvekerova G, Patiraki E, Kearney N. Complementary and alternative medicine use in colorectal cancer patients in seven European countries. *Complementary Therapies in Medicine* (2005); 13: 251–257).
- Hulka BS, Stark AT. Breast cancer: cause and prevention. *Lancet*. 1995; 346: 883–887.
- Ceylan S, Hamzaoğlu O, Kömürçü S, Beyan C, Yalçın A. Survey of the use of complementary and alternative medicine among Turkish cancer patients. *Complementary Therapies Medicine* 2002; 10: 94-99
- Gozum S, Tezel A, Koc M. Complementary alternative treatments used by patients with cancer in eastern Turkey. *Cancer Nurs*. 2003; 26: 230–236.
- Weber RW. Stinging nettle. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003;90: A6.
- Akbay P, Basaran AA, Undeger U, Basaran N. In vitro immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytother Res*. 2003;17: 34–37.
- Fijalek Z, Soltık K, Lozak A, Kominek A, Ostapczuk P. Determination of some micro- and macroelements in preparations made from peppermint and nettle leaves. *Pharmazie*. 2003; 58: 480–482
- Obertreis B, Giller K, Teucher T, Behnke B, Schmitz H. Anti-inflammatory effect of *Urtica dioica* folia extract in comparison to caffeic malic acid. *Arzneimittelforschung*. 1996; 46: 52–56.
- Obertreis B, Rutkowski T, Teucher T, Behnke B, Schmitz H. Ex-vivo in-vitro inhibition of lipopolysaccharide stimulated tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta secretion in human whole blood by extractum urticae dioicae foliorum. *Arzneimittelforschung*. 1996; 46: 389–394.
- Balzarini J, Neyts J, Schols D, Hosoya M, Van Damme E, Peumans W, De Clercq E. The mannose-specific plant lectins from *Cymbidium hybrid* and *Epipactis helleborine* and the (N-acetylglucosamine)n-specific plant lectin from *Urtica dioica* are potent and selective inhibitors of human immunodeficiency virus and cytomegalovirus replication in vitro. *Antiviral Res*. 1992; 18:191–207.
- Cetinus E, Kilinc M, Inanc F, Kurutas EB, Buzkan N. The role of *urtica dioica* (urticaceae) in the prevention of oxidative stress caused by tourniquet application in rats. *Tohoku J Exp Med*. 2005; 205: 215–221.
- Galelli A, Delcourt M, Wagner MC, Peumans W, Truffa-Bachi P. Selective expansion followed by profound deletion of mature V beta 8,3+ T cells in vivo after exposure to the superantigenic lectin *Urtica dioica* agglutinin. *J Immunol*. 1995; 154: 2600–2611
- Tanakol R.. Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. *Klinik gelişim*. 1998; 11: 347–356.
- Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M, Buyukokuroglu ME. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol*. 2004; 90: 205–215.
- Lichius JJ Renneberg H, Blaschek W, Aumuller G, Muth C. The inhibiting effects of components of stinging nettle roots on experimentally induced prostatic hyperplasia in mice. *Planta Med*. 1999, 65: 666–668.
- Lindemann P, Muller HH, Aumuller G, Konrad L. Antiproliferative effect of a polysaccharide fraction of a 20% methanolic extract of stinging nettle roots upon epithelial cells of the human prostate (LNCaP). *Pharmazie*. 1999; 54: 768–771.
- Ezeome ER, Anarado AN. Use of complementary and alternative medicine by cancer patients at the University of Nigeria Teaching Hospital, Enugu, Nigeria. *BMC Complement Altern Med*. 2007 ;7(1):28

21. Durak I, Biri H, Devrim E, Sözen S, Avci A. Aqueous extract of *Urtica dioica* makes significant inhibition on adenosine deaminase activity in prostate tissue from patients with prostate cancer. *Cancer Biol Ther.* 2004;3(9):855-7.
22. Cohen LA, Zhao Z, Pittman B, Scimeca JA. Effect of intact and isoflavone-depleted soy protein on NMU-induced rat mammary tumorigenesis. *Carcinogenesis.* 2000; 2: 929–935.
23. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978; 90; 37–43.
24. Yagi K. Assay of blood plasma or serum for serum lipid peroxide level and its clinical significance. *Methods in Enzymology.* 1984; 105: 224–241.
25. Miller NJ, Rice-Evans MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science.* 1993; 84: 407–412.
26. Portakal O, Ozkaya O, Erden Inal M, Bozan B, Kosan M, Sayek I. Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. *Clin Biochem.* 2000; 33: 279–284.
27. Khanzode SS, Muddeshwar MG, Khanzode SD, Dakhale GN. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different stages of breast cancer. *Free Radic Res.* 2004; 38: 81–85.
28. Huang YL, Sheu JY, Lin TH. Association between oxidative stress and changes of trace elements in patients with breast cancer. *Clin. Biochem.* 1999; 32: 131–136.
29. Gerber M, Richardson S, Salkeld R, Chappuis P. Antioxidants in female breast cancer patients. *Cancer Invest.* 1991; 9: 421–428.
30. Ching S, Ingram D, Hahnel R, Beilby J, Rossi E. Serum levels of micronutrients, antioxidants and total antioxidant status predict risk of breast cancer in a case control study. *J Nutr.* 2002; 132: 303–306.
31. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29: 1106–1114.
32. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 2004; 74: 2157–84.
33. Swain JH, Alekel DL, Dent SB, Peterson CT, Reddy MB. Iron indexes and total antioxidant status in response to soy protein intake in perimenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 165–171.
34. Musette P, Galelli A, Chabre H, Callard P, Peumans W, Truffa-Bachi P, Kourilsky P, Gachelin G. *Urtica dioica* agglutinin, a V beta 8,3-specific superantigen, prevents the development of the systemic lupus erythematosus-like pathology of MRL lpr/lpr mice. *Eur J Immunol.* 1996; 26: 1707–1711.