



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.  
2010; 24 (3): 167 - 172  
http://www.fusabil.org

### Isırgan Otu (*Urtica dioica L.*) Tohumu Ekstresinin Hepatoprotektif ve Antioksidatif Etkileri\*

Azize ŞENER<sup>1</sup>  
Ayşegül GÜMÜŞ<sup>1</sup>  
Bahar GÖKER<sup>1</sup>  
Serap ARBAK<sup>2</sup>  
Derya ÖZSAVCI<sup>1</sup>  
Ertuğrul YURTSEVER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
İstanbul, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Acıbadem Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Histoloji ve Embriyoloji  
Anabilim Dalı  
İstanbul, TÜRKİYE

Geliş Tarihi : 03.07.2010  
Kabul Tarihi : 21.10.2010

#### Yazışma Adresi Correspondence

Azize ŞENER  
Marmara Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
İstanbul-TÜRKİYE

azizesener@hotmail.com

**Amaç:** Bu çalışmada; ısırgan otu tohumunun etanol ekstresinin sıçanlardaki karbon tetraklorür (CCl<sub>4</sub>) nedenli hepatotoksisite üzerine etkisi ve antioksidatif etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada Wistar albino türü dişi sıçanlar kullanıldı. Kontrol grubu, CCl<sub>4</sub> grubu, ekstre grubu ve ekstre+CCl<sub>4</sub> grubu olmak üzere 4 grup oluşturuldu. Isırgan tohumlarından etanol ekstraksiyonu ile hazırlanan ekstre, deney hayvanlarına 14 gün süresince intraperitoneal (i.p.) uygulandı. Plazma karaciğer hasarının göstergesi olarak biyokimyasal parametrelerden alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerine bakıldı. Karaciğer ve plazma lipid peroksit seviyeleri (LPO) ile karaciğer glutatyon (GSH) düzeyleri ölçüldü ve histolojik çalışmalar yapıldı.

**Bulgular:** CCl<sub>4</sub> grubunun plazma ALT, AST ve LPO düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görüldü. Ekstre+CCl<sub>4</sub> grubunun sadece CCl<sub>4</sub> verilen gruba oranla LPO, ALT ve AST düzeyleri anlamlı olarak azaldı. Ekstre uygulanması CCl<sub>4</sub> kaynaklı karaciğer LPO düzeylerindeki artışı kontrol grubuna ve CCl<sub>4</sub> grubuna göre azaltırken, plazma LPO değerleri kontrol grubu düzeylerinde kaldı. Sadece ekstre verilen sıçanların karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubuna göre %21 arttı. Ekstre+CCl<sub>4</sub> verilen grubun GSH düzeyleri ise CCl<sub>4</sub> grubuna göre değişiklik göstermedi. Biyokimyasal testlerin sonuçları histopatolojik incelemelerle de doğrulandı. Sadece ekstre uygulanan grupta normale yakın karaciğer yapısı gözlenirken, CCl<sub>4</sub> uygulaması hepatositlerde ileri derecede harabiyete neden oldu. Ekstre+CCl<sub>4</sub> grubunda ise CCl<sub>4</sub>'e bağlı karaciğer harabiyetinin azaldığı gözlemlendi.

**Sonuç:** Isırgan otu tohumu etanol ekstresinin CCl<sub>4</sub>'e bağlı olarak artan karaciğer enzimlerinin düzeylerini ve karaciğer lipid peroksidasyonu düzeylerini azalttığı görülmüştür. Ekstre CCl<sub>4</sub>'ün hepatotoksik etkisini azaltarak hepatoprotektif etki göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Isırgan otu, antioksidan, hepatoprotektif etki, lipid peroksidasyonu.

#### The Hepatoprotective and Antioxidative Effects of *Urtica dioica L.* Seed Extract

**Objective:** In this study, it has been investigated whether there are antioxidative and hepatoprotective effects of ethanol extract of *Urtica dioica L.* seeds on CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in rats.

**Materials and Methods:** In our study, Wistar albino type rats were used. Four groups have been formed as control group, CCl<sub>4</sub> group, extract group and extract+CCl<sub>4</sub> group. The extract prepared by ethanol extraction of *Urtica dioica* was administered i.p. for 14 days. Out of biochemical parameters, ALT and AST levels were measured. Liver and plasma lipid peroxide (LPO) and glutathione (GSH) levels were measured and also histological studies were performed.

**Results:** A significant increase has been detected in plasma ALT, AST and LPO levels of CCl<sub>4</sub> group compared to the control group. LPO, ALT and AST levels of extract+CCl<sub>4</sub> group significantly decreased. The extract administration decreased the elevation in CCl<sub>4</sub> induced liver LPO levels compared to the control and CCl<sub>4</sub> groups whereas LPO levels remained at control group levels. Only the liver GSH levels of extract administered rats increased by %21 compared to the control group. GSH levels of extract+CCl<sub>4</sub> group did not change compared to the CCl<sub>4</sub> group. The results of the biochemical tests were confirmed with the histopathological analysis. The liver structure has been observed close to normal only in the extract administered group but CCl<sub>4</sub> administration caused severe damage in the hepatocytes. It has been observed that CCl<sub>4</sub> induced liver damage has decreased in the extract+CCl<sub>4</sub> group.

**Conclusion:** The extract has been shown to have hepatoprotective effect by decreasing the hepatotoxic effect of CCl<sub>4</sub>.

**Key Words:** *Urtica dioica L.*, antioxidant, hepatoprotective effect, lipid peroxidation.

#### Giriş

Günümüzde, birçok biyolojik hasarın ortaya çıkmasında serbest radikallerin önemli rolü olduğu düşünülmektedir (1, 2). Serbest radikaller organizmada normal metabolik yolların gerçekleşmesi esnasında oluşabildiği gibi, çeşitli ekzojen etkenlerin etkisi ile de oluşabilmektedir. Bu ekzojen etkenlerden birisi de karbon tetraklorürdür (CCl<sub>4</sub>). CCl<sub>4</sub>

\* VII Ulusal Tromboz, Hemostaz ve Anjiyoloji Kongresi, Adana, 2007.

uygulanmasından en fazla etkilenen organ, karaciğerdir (3-5). Serbest radikaller, birçok mekanizma ile oluşmasına rağmen, bu bileşikler inaktif hale getirebilecek doğal savunma kaynakları vardır (6, 7). Antioksidanlar, oksidasyonu başlangıç veya gelişme basamağında ya da her iki basamakta önleyen veya geciktiren maddelerdir (8). Serbest radikallerin ve metabolitlerinin blokerleri olarak fonksiyon göstermektedirler (9). Hücreleri oksidatif strese karşı koruyan önemli bir antioksidan molekül olan indirgenmiş glutatyonun (GSH) hücre içi düzeyinin azalması oksidatif stres için duyarlı bir indikatördür (8, 9).

Bitkisel kaynaklardan elde edilen antioksidanların genellikle tokoferoller, flavonoidler, karotenler, alkaloidler, klorofiller, proteinler, polifonksiyonlu organik asitler ve fenolik asit gibi fenolik bileşikler yapılarında olduğu görülmüştür (10, 11). Isırgan otu, diyet ile vücuda alınması gerekli besin maddeleri içeriğiyle iyi bir antioksidan zenginliğe sahiptir (12, 13). Bu antioksidanların en önemlileri olarak  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini), askorbat (C vitamini), flavonoidler (kemferol, kuersetin, rutin), karotenoidler ( $\beta$ -karoten, ksantofil, retinoik asit, retinol), K vitamini, kateşinler ve tanenler ile fenolik bileşiklerden kafeik asit, kumarik asit ve ferulik asit gösterilebilir (12, 14-16). Isırgan otunun içeriğinde bulunan ve organizmada önemli derecede biyolojik rolü olan selenyum, semimetalik bir elementtir. E vitamini ile birlikte sinerjetik etki göstermekte ve çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu onunla birlikte önlemektedir (2, 12, 17, 18). Isırgan otu yaprağının  $CCl_4$  kaynaklı karaciğer hasarını önlemekte etkili bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (19).

Antioksidanların diğer önemli bir doğal kaynağı da bitki tohumlarıdır (18). Bu nedenle; bu çalışmada, halk arasında sıklıkla kullanılan ve antioksidan vitamin ve mineraller açısından zengin olan ısırgan otunun, tohumunun karbon tetraklorür kaynaklı hepatotoksisteye ve lipid peroksidasyonuna etkisi araştırılmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvar'ından temin edilen 200-220g ağırlığında erişkin 28 adet Wistar albino türü dişi sıçan kullanıldı. Çalışma için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı. Deney süresince, % 24 ham protein, % 0.88 kalsiyum, ortalama % 0.44 fosfor, % 3.7 ham selüloz, % 5.7 ham kül, % 0.2 tuz ve % 10 nem içeriğine sahip 2600 Kg/Cal metabolik enerjili, 16mm çapında pellet tipi bazal yem ile beslendiler. Su ihtiyaçları, musluk suyu ile günlük olarak karşılandı.

**Bitkisel Materyalin Hazırlanması:** Afyon yöresinden toplanmış 1 kg ısırgan tohumu toz haline getirildikten sonra 2 litre etil alkolle (mutlak alkol) 15 dakika ayırma hunisinde karıştırılarak 24 saat beklemeye bırakıldı. Daha sonra ayırma hunisinden alınan karışım santrifüj edilerek süpernatant kısmı alındı. Çökelti kısmı atıldı. Evaporatörde etil alkol uçuruldu ve geri kalan kısım serum fizyolojik ile sulandırıldı (1g/ml). Ekstrenin protein

içeriği Bradford yöntemine (20) göre tayin edildi. Ekstrenin protein miktarı  $600 \pm 70$   $\mu$ g/ml olarak belirlendi.

Sıçanlara 14 gün süresince her gün 1g/kg ekstre intraperitoneal (i.p.) olarak enjekte edildi.

Gruplar aşağıdaki şekilde oluşturuldu:

Grup 1: Kontrol grubu (n:7)

Grup 2:  $CCl_4$  uygulanan grup (n:7)

Grup 3: Isırgan otu tohumu ekstresi (n:7)

Grup 4: Isırgan otu tohumu ekstresi +  $CCl_4$  (n:7)

Hazırlanan ekstre 3. ve 4. grup sıçanlara 14 gün süresince her gün 1g/kg i.p. olarak enjekte edildi. Grup 1 ve grup 2'de yer alan sıçanlara ise aynı süre boyunca i.p. olarak serum fizyolojik uygulandı. Sürenin bitiminde, 16-18 saat süre ile aç bırakıldıktan sonra 2. ve 4. grup sıçanlara tek doz (1ml/kg) karbon tetraklorürün zeytinyağındaki (Sigma) % 20'lik çözeltisi, 1. ve 3. grup sıçanlara ise aynı hacimde zeytinyağı i.p. olarak 15. gün uygulandı. Daha sonra kalplerinden alınan kan örnekleri santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı.

**Örneklerin Alınması ve Hazırlanması:**  $CCl_4$  uygulanmasından iki saat sonra, ketamin ile anesteziye alınan sıçanların kalplerinden alınan kanlar heparinli tüplere konuldu; eter verilerek öldürülen sıçanların karaciğerleri hızla çıkartıldı, temizlendi ve % 0.9'luk soğuk NaCl çözeltisi ile yıkandı. Filtre kağıdı ile kurutularak, kullanıncaya kadar derin dondurucuda ( $-20^\circ C$ ) saklandı. Karaciğerin bir kısmı histolojik çalışmalar için %10 formaldehit solüsyonu içerisinde saklandı. Alınan kanlar santrifüj edildi, plazmaları ayrıldı ve bekletilmeksizin alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktiviteleri otoanalizörde (Hitachi 717 Boehringer Mannheim) ölçüldü. Karaciğer dokuları kullanılacağı zaman homojenizatör ile 0.15 M'lık KCl çözeltisi içinde homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası doku örneklerinde lipid peroksidasyonu (LPO) ve GSH düzeyleri tayin edildi.

**LPO Düzeyleri Tayini:** Karaciğer doku LPO düzeyleri tiyobarbiturik asit testi ile ölçüldü (21). Plazma LPO düzeyleri de aynı prensibe dayanan Buege ve Aust'un (22) metoduna göre ölçüldü. TBA testi, lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden malondialdehitin (MDA) TBA ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renkli kompleksin, 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır. Karaciğer doku ve plazma LPO düzeyleri sırasıyla nmol MDA/g doku ve nmol MDA/ml olarak ifade edildi.

**GSH Düzeylerinin Tayini:** Karaciğer doku glutatyon düzeyleri Ellman'ın (23) metoduna göre ölçüldü. Metot, sülfidril gruplarının 5,5-ditiyo-bis-2-nitro benzoik asit (DTNB) ile reaksiyonu sonucu oluşturduğu renkli ürünün spektrofotometrik olarak 412 nm'de ölçülmesi amacıyla dayanır. Sonuçlar  $\mu$ mol GSH/g doku olarak ifade edildi.

**Histolojik çalışmalar:** Tüm gruplardan alınan karaciğer doku örnekleri % 10'luk nötral formalin solüsyonu ile 18 saat fiske edildi. Yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek suyu alındı, toluen ile şeffaflaştırıldı, 60 °C'lik etüvdeki parafinde 1 gece bekletildikten sonra bloklandı. Bu bloklardan 5µm kalınlığında kesitler alınarak, genel morfolojik değerlendirme yapabilmek için hematoksil-eosin (H-E) boyası yapıldı. Boyalı kesitler Olympus BH2 fotomikroskop ile incelenerek fotoğraflandı.

**İstatistiksel Analiz:** Bu çalışmada istatistik analizler için SPSS 11 (Statistical Program for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Sonuçlar aritmetik ortalamaya 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

CCl<sub>4</sub> uygulanan (grup 2) sıçanlarının plazma AST ve ALT değerleri grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. Isırgan otu tohumu ekstresi uygulanan sıçanların (grup 3) her iki grubunda da AST değerleri kontrol grubu değerlerine yakındır. Buna karşın sadece ekstre uygulanan sıçanların plazma ALT düzeyleri kontrol grubundan daha düşük gözlenmiştir. CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba göre ekstre uygulanan gruplar karşılaştırıldığında grup 3 ve grup 4'ün plazma ALT ve AST değerlerinin anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Grupların plazma ALT ve AST düzeyleri

GRUPLAR	AST (U/L)	ALT (U/L)
Kontrol grubu (1.grup)	155.71±55.66	54.57±8.52
CCl <sub>4</sub> grubu (2.grup)	462.28±229.35***	92.42±24.54*
Ekstre grubu (3.grup)	172.28±16.78 <sup>b</sup>	27.14±10.57 <sup>a</sup>
Ekstre+CCl <sub>4</sub> (4.grup)	251.42±54.36 <sup>b</sup>	26.71±12.82 <sup>a</sup>

Kontrol grubuna göre karşılaştırma: \*\*\*  $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$   
CCl<sub>4</sub> grubuna göre karşılaştırma: <sup>a</sup> $p < 0.001$ , <sup>b</sup> $p < 0.05$

Karaciğer doku lipid peroksidasyon düzeyleri araştırıldığında, CCl<sub>4</sub> uygulanan grubun karaciğer doku MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Grup 3'ün karaciğer doku MDA düzeyleri kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p < 0.05$ ). Ekstre+CCl<sub>4</sub> uygulanan sıçanların karaciğer doku MDA düzeyleri sadece CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p < 0.001$ ).

Kontrol grubuna göre grup 2, ve grup 4'ün plazma MDA değerlerinde anlamlı artışlar gözlenirken ( $p < 0.001$ ), CCl<sub>4</sub> grubuna göre ekstre+CCl<sub>4</sub> grubu plazma MDA değerlerinde %16.2'lik azalma istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.

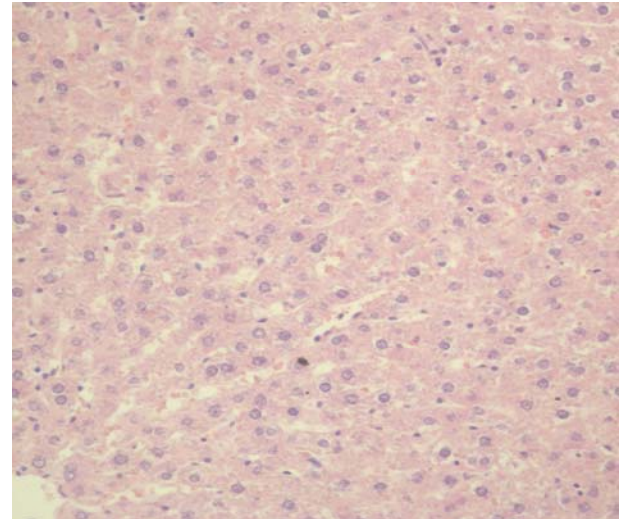
Grupların GSH düzeyleri; kontrol grubuna göre kıyaslandığında, ekstre verilen (grup 3) sıçanların karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubuna göre % 21'lik artış gösterirken bu artış istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. CCl<sub>4</sub> ve ekstre+CCl<sub>4</sub> verilen sıçanların GSH düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük kalmıştır ( $p < 0.001$ ) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Grupların karaciğer doku GSH ve LPO düzeyleri ile plazma LPO düzeyleri.

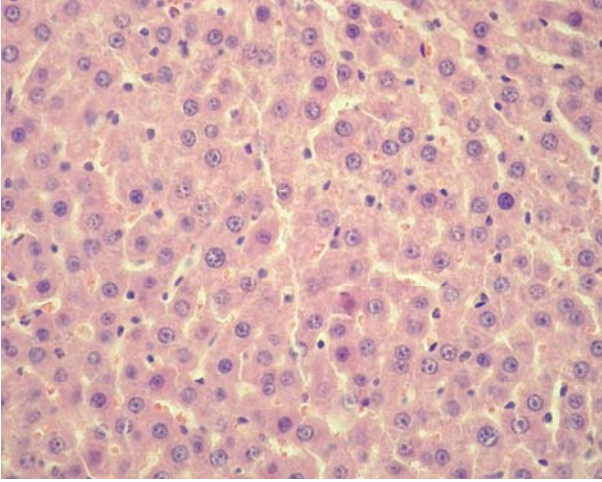
GRUPLAR	Karaciğer MDA (nmol/g doku)	Plazma MDA (nmol/ml)	GSH (µmol/g doku)
Kontrol grubu (1.grup)	336.15±55.57	4.32±0.76	6.51±0.66
CCl <sub>4</sub> grubu (2.grup)	414.22±17.71 <sup>*</sup>	7.52±1.14 <sup>***</sup>	3.50±0.91 <sup>***</sup>
Ekstre grubu (3.grup)	269.50±27.11 <sup>a</sup>	4.6±1.12 <sup>a</sup>	7.9±0.98 <sup>a</sup>
Ekstre+CCl <sub>4</sub> (4.grup)	361.87±24.98 <sup>a</sup>	6.3±0.73 <sup>*</sup>	3.9±0.70 <sup>***</sup>

Kontrol grubuna göre karşılaştırma: \*\*\* $p < 0.001$ , \* $p < 0.05$   
CCl<sub>4</sub> grubuna göre karşılaştırma: <sup>a</sup> $p < 0.001$

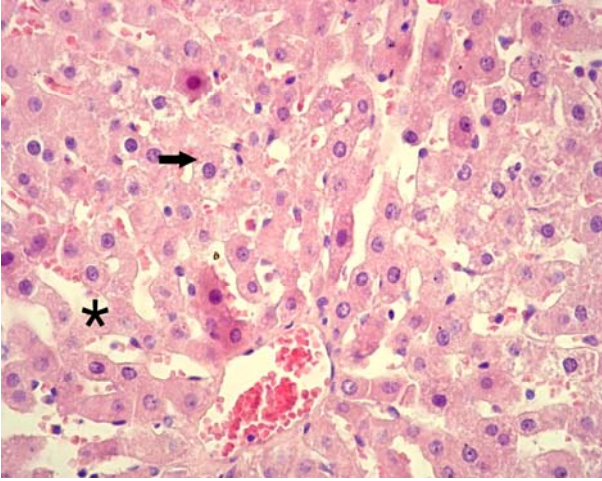
Grupların histolojik bulguları değerlendirildiğinde; kontrol grubu ve ekstre grubu karaciğer kesitlerinde normal karaciğer parankima yapısı izlenmiştir (Şekil 1 ve 2). CCl<sub>4</sub> grubuna ait karaciğer dokusunda; hepatosit sitoplazmasında ileri derecede vakuolleşme beraberliğinde belirgin harabiyet görülmüştür. Genişlemiş olan sinüzoid duvarında Kupffer hücrelerinde irileşme ve şişme izlenmektedir (Şekil 3). Vazokonjesyon ve portal alanlarda belirgin olan lökosit infiltrasyonu bu grupta karaciğer parenkimal harabiyetini yansıtan diğer bulgular arasındadır. Tedavi grubuna ait karaciğer kesitlerinde hepatositlerde hafif derecede vakuoler dejenerasyon harabiyet izlenmiştir. Sinüzoidlerdeki genişleme ve vazokonjesyonun oldukça az olduğu bu grupta lökosit infiltrasyonu minimal seviyede olup, karaciğer hasarının genel olarak azaldığı görülmüştür (Şekil 4).



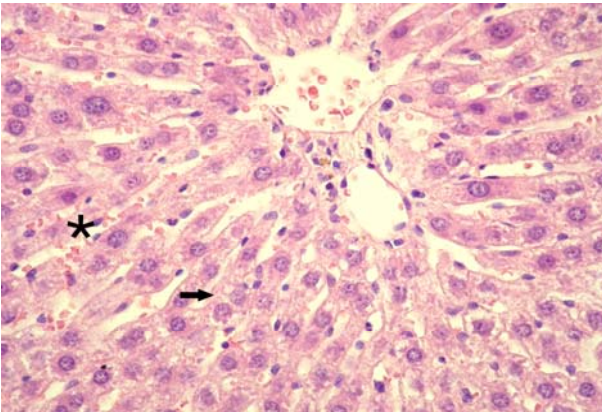
**Şekil 1.** Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunun görünümü. Normal KC morfolojisi izlenmekteX100.



**Şekil 2.** Ekstre verilen gruba ait karaciğer dokusunun görünümü. Normale yakın karaciğer yapısı izlenmekteX200.



**Şekil 3.** CCl<sub>4</sub> uygulanan gruba ait karaciğer kesitlerinde, hepatositlerde ileri derecede dejenerasyon (→), genişlemiş sinuzoid duvarında iri Kupffer hücreleri ve vazokonjesyon (\*) izlenmekteX200



**Şekil 4.** CCl<sub>4</sub> ve ekstre grubuna ait bir kesit. Hepatositlerde hafif derecede vakuoler dejenerasyon (→), sinuzoidlerde hafif derecede vazokonjesyon (\*) izlenmekte X200.

## Tartışma

Çalışmamızda karaciğer hasarı oluşturmak için CCl<sub>4</sub> kullanıldı. CCl<sub>4</sub> deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan bir ksenobiyotiktir. CCl<sub>4</sub> metabolize edilirken öncelikle stabil olmayan başlangıç metaboliti triklorometil (CCl<sub>3</sub>) ve daha sonra sekonder olarak konjuge dien, lipid hidroperoksit ve malondialdehit gibi radikaller oluşur. Oluşan bu serbest radikaller hücre membranlarındaki fosfolipidlerde bulunan yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak hücre harabiyetine yol açarlar (24). Çalışmamızda CCl<sub>4</sub> uyguladığımız sıçanların karaciğer hücrelerindeki hasarı belirlemek amacıyla plazma ALT ve AST enzim düzeyleri incelendi. ALT ve AST enzim düzeyleri hepatosit nekrozunun hassas testleridir. Hasar görmüş hepatositlerden seruma salınırlar ve yüksek düzeyleri hepatosellüler hasarı gösterir (19). CCl<sub>4</sub> grubunda yer alan sıçanların plazma ALT ve AST düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Bu sonuç, diğer araştırmacıların sonuçları ile paralellik göstermektedir (19, 25, 26). Ayrıca CCl<sub>4</sub> uygulanan gruptaki sıçanlarda karaciğer hasarı histolojik bulgularla da desteklendi. CCl<sub>4</sub> kaynaklı karaciğer hasarında meydana gelen oksidatif stres artışı önemlidir ve karaciğer fibrozu ve siroz gelişimine katkıda bulunabilir (27). CCl<sub>4</sub> uygulanmasına bağlı olarak karaciğer lipid peroksit düzeylerinde gözlemediğimiz artışlar, karbon tetraklorürün karaciğerde lipid peroksidasyonuna neden olduğunu doğrulayan araştırma sonuçları ile de uygunluk göstermektedir (19). Bunun yanı sıra, yine plazma lipid peroksit düzeylerinde görülen artış, karaciğer harabiyeti sonucu oluşan lipid peroksidasyonunun plazmaya yansıdığını göstermektedir ki bu bulgularımız bu konuda yapılan diğer çalışmalarını desteklemektedir (28, 29).

Çalışmamızda, ısırgan tohumu ekstresinin karbon tetraklorür uygulanmasından önce 14 gün enjeksiyonu, sıçanlarda karaciğer hasarı nedeniyle yükselen plazma ALT ve AST enzim aktivitelerinde azalma sağlamıştır. Hücre içi antioksidan kapasitedeki değişiklikleri gözlemlemek amacıyla karaciğer doku GSH düzeyleri de araştırıldı. Ekstre uygulanması GSH düzeylerinde CCl<sub>4</sub> grubuna göre anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Buna karşılık hazırlamış olduğumuz ısırgan tohumu etanol ekstresi CCl<sub>4</sub> uygulanmasına bağlı olarak artan karaciğer lipid peroksidasyonunu azaltıcı etki göstermiştir. Bu nedenle tek başına ekstre uygulandığında GSH düzeyinde artış görülmesine rağmen ekstre+CCl<sub>4</sub> grubunda GSH düzeyinin düşük olmasının nedeni mevcut GSH'ın lipid peroksidasyonuna karşı kullanılması olabilir. Ekstre+CCl<sub>4</sub> grubunun LPO değerlerinin CCl<sub>4</sub> grubuna göre düşük olması muhtemelen ısırgan otunun antioksidan etkisiyle oksidatif stresi azaltmasının bir sonucudur. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular daha önce yapılan ve CCl<sub>4</sub> hasarında ısırgan otu yaprağının etkisini inceleyen çalışma ile de uyumludur. İki ay süre ile yemlerine ısırgan otu yaprağı karıştırılarak beslenen ve CCl<sub>4</sub> uygulanan sıçanların karaciğer ve plazma lipid peroksit düzeylerinin ısırgan otu yedirilmeyen CCl<sub>4</sub> grubuna göre düşük olduğu gösterilmiştir (19). Bir diğer çalışmada *Urtica dioica*

yapraklarından elde edilen ekstrenin iskemi-reperfüzyon hasarını önleyici etki gösterdiği ve bu etkisinin içeriğindeki antioksidan moleküllerden kaynaklandığı bildirilmiştir (30). Meme kanseri oluşturulmuş ratlarda da ısırgan otunun total antioksidan kapasiteyi artırarak koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (31). Bu in vivo çalışmalar yanında in vitro çalışmalarla da ısırgan otunun antioksidan etkisi olduğu gösterilmiştir. Matsingou ve ark. (32) fosfolipidlerin ve linoleik asidin demir katalizli oksidasyonunun ısırgan otu ile engellenebileceğini gözlemlerken, bir başka in vitro çalışmada ise ısırgan otunun su ekstresinin linoleik asit peroksidasyonunu doza bağımlı olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (33).

Çalışmamızda Ekstre+CCl<sub>4</sub> grubunun plazma LPO düzeylerinde de CCl<sub>4</sub> grubuna göre bir miktar azalma olmasına karşın bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu durum ekstrenin lipid peroksidasyonunu önleyici etkisinin plazmaya geç yansımından kaynaklanmış olabilir.

CCl<sub>4</sub> uygulanması sonucu oluşan karaciğer hasarının histolojik incelenmesinde görülen hepatositlerdeki ileri

derecede dejenerasyon sinozoidlerde genişleme ve vazokonjesyon ısırgan tohumu ekstresi uygulanmasıyla önemli derecede engellenmiştir. Bu bulgularda diğer bulgularımızla uyumludur. Isırgan otu tohumu ekstresinin CCl<sub>4</sub> uygulanan ratlarda karaciğer hasarı nedeniyle yükselen plazma ALT ve AST düzeyleri ve karaciğer lipid peroksidasyonu üzerinde sağladığı azalma histolojik bulgularımızla birbirini desteklemektedir. Isırgan otu CCl<sub>4</sub> dışında başka nedenlere bağlı olarak gelişen karaciğer hasarını da engellemektedir. Hepatoksisite üzerine yapılan bir çalışmada falloidin'in (bir tür mantar toksini) neden olduğu hafif derecedeki hepatotoksisiteyi *Urtica dioica* tohumu eterik yağının erken dönemlerinden itibaren önleyebileceği gösterilmiştir (34).

Sonuç olarak, ısırgan otu tohumu etanol ekstresinin yaprakları gibi (19), karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda, karaciğer hasarını önleyici, lipid peroksidasyonunu inhibe edici özellikte olduğu ve içeriğinde bulunan vitaminler ve minerallerden kaynaklanabilecek antioksidan etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

## Kaynaklar

- Halliwell B. Oxidants and human disease: Some new concepts. *FASEB J* 1987; 1: 358-364.
- Köşkeroğlu İ.Ş. Oral Mukozada Oluşturulmuş Yumuşak Doku Defektinin İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine E Vitamini ve Selenyumun Etkisinin Deneysel Olarak Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul: İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1998.
- Recknagel RO. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol Rev* 1967; 19: 145-208.
- Edwards MJ, Keller BJ, Kauffman FC. The involvement of Kupffer cells in carbon tetrachloride toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993; 119: 275-279.
- Elsisi AED, Earnest DL, Sipes IG. Vitamin A potentiation of carbon tetrachloride hepatotoxicity: Enhanced lipid peroxidation without enhanced biotransformation. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993; 119: 289-294.
- Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: An overview. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 189-193.
- Kazanç MB. Antioksidan vitaminler. *Sendrom* 1997; 9: 14-23.
- Cook NC, Samman S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutr Biochem* 1996; 7: 66-76.
- Torun M, Yardım S. Serbest radikallerin kalp-damar hastalıkları ile ilişkisi ve savunma mekanizmaları. *FABAD J Pharm Sci* 1993; 18: 173-184.
- Chahardehi AM, Ibrahim D, Sulaiman SF. Antioxidant activity and total phenolic content of some medicinal plants in *Urticaceae* family. *Journal of Applied Biological Sciences* 2009; 3: 25-29.
- Larson R.A. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 1988; 27: 969-978.
- Wetherill H. Isırgan Otu Yaprak ve Tohumlarının Besleyici Özellikleri ve Antitümoral Etkileri. Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1989.
- Akbay H. *Urtica dioica* L. Üzerine Farmakognozik Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1995.
- Seven A, Candan G. *Antioksidan savunma sistemleri. Cerrahpaşa Tıp dergisi* 1996; 27: 41-50.
- Palozza P, Krinsky N. Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro. *Methods Enzymol* 1992; 213: 403-420.
- Tsuchiya M, Scita G, Freisleben HJ, Kagan VE, Packer L. Antioxidant radical-scavenging activity of carotenoids and retinoids compared to  $\alpha$ -Tocopherol. *Methods Enzymol* 1992; 213: 460-472.
- Yurdakök M, Qaglar M, Yurdakök K. Sıçanlarda vitamin E ve selenyumun karbon tetraklorür hepatotoksitesine karşı etkileri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 1985; 18: 10-17.
- Moure A, Cruz JM, Franco D, et al. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem* 2001; 72: 145-171.
- Göker B, Özmen R. Sıçanlarda ısırgan otu (*Urtica dioica* L.) yaprağı ile beslenmenin akut karbon tetraklorür uygulanmasına bağlı gelişen karaciğer hasarı üzerine koruyucu etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 2009; 23: 77-80.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302-310.
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.

24. Recknagel R, Glende EA, Dolak JA, Waller RI. Mechanism of carbontetrachloride toxicity. *Pharmacol Ther* 1989; 43: 139-154.
25. Czaja MJ, Xu J, Alt E. Prevention of carbon tetrachloride induced rat liver injury by soluble tumor necrosis factor receptor. *Gastroenterology* 1995; 108: 1849-1854.
26. Letteron P, Labbe G, Deqott C, Berson A. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 2027-2034.
27. Gassó M, Rubio M, Varela G, *et al.* Effects of S-adenosylmethionine on lipid peroxidation and liver fibrogenesis in carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *J Hepatol* 1996; 25: 200-205.
28. Uzel N. Karbon Tetraklorür Uygulanan Sıçanlarda Lipid Peroksitlerinin Plazma Lesitin-Kolesterol Açıl Transferaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1988.
29. Yamazaki K, Ohyama H, Kurata K, Wakabayashi T. Effects of dietary vitamin E on clinical course and plasma glutamic oxaloacetic transaminase and glutamic pyruvic transaminase activities in hereditary hepatitis of LEC rats. *Lab Anim Sci* 1993; 43: 61-67.
30. Cetinus E, Kilinc M, Inanc F, Belge-Kurutas E, 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.
31. Tello S, Halifeoğlu İ, Bozkurt M, Bulmuş Ö. Meme kanseri oluşturulmuş ratlarda ısırgan otunun total antioksidan durumu üzerine etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 2008; 22: 179-183.
32. Matsingou TC, Kapsokefalou M, Safiloglou A. Aqueous infusions of mediterranean herbs exhibits antioxidant activity towards iron-promoted oxidation of phospholipids, linoleic acid, and deoxyribose. *Free Radic Res* 2001; V35: 596-605.
33. Gülçin İ, Küfrevioğlu Öİ, Oktay M, Büyükokuroğlu ME. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J Ethnopharmacol* 2004; 90: 205-215.
34. Özbek H, Tuncer İ, Dülger H ve ark. E Vitamini, N-asetil sistein, penisilin-G ve *Urtica dioica* L.'nin phalloidin toksisitesi üzerine etkileri. *Van Tıp Dergisi* 2005; 12: 16-21.