



Albino Farelerde Paraben Toksisitesine Karşı *Urtica Dioica* L. (Urticaceae) Özütünün Koruyucu Rolünün Araştırılması

Baran SEVEN¹, Kültiğin ÇAVUŞOĞLU¹, Kürşad YAPAR², Betül TAŞLI¹, Emine YALÇIN^{1*}

¹Giresun Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Giresun-Türkiye

²Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Bölümü, Giresun-Türkiye

Received: 18.04.2016; Accepted: 24.05.2016

Özet. Bu çalışmada parabenin (hidroksibenzoik asit (HBA)) albino farelerde bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. HBA'nın toksik etkisine karşı ısırgan otu özütü koruyucu madde olarak seçilmiş ve tüm uygulama gruplarına iki doz halinde uygulanmıştır. Bu kapsamda bir grupta 6 albino fare (*Mus musculus*, 12-14 haftalık, 25-30 g) olmak üzere 6 uygulama grubu oluşturulmuştur. Çalışma süresince I. gruba pellet yem ve çeşme suyu, II. gruba 125 mg/kg.ca dozunda ısırgan otu özütü, III. gruba 250 mg/kg.ca dozunda ısırgan otu özütü, IV. Gruba 150 mg/kg.ca dozunda HBA, V. gruba 150 mg/kg.ca dozunda HBA + 125 mg/kg.ca dozunda ısırgan otu özütü, VI. gruba 150 mg/kg.ca dozunda HBA + 250 mg/kg.ca dozunda ısırgan otu özütü verilmiştir. Uygulama süresi sonunda farelerin kan örnekleri alınarak serum örnekleri elde edilmiştir. Serum örneklerinde Alanintransaminaz (ALT), Aspartattransaminaz (AST), kan üre azotu (BUN) ve kreatinin parametreleri incelenmiştir. Ayrıca her uygulama grubuna ait karaciğer ve böbrek dokuları izole edilmiş ve GSH, MDA analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda HBA uygulanan gruplarda serum ALT, AST, BUN ve kreatinin plazma seviyelerinde önemli değişimler gözlenmiştir. Bu değişimler HBA'nın hücreler üzerindeki muhtemel toksik etkileri ile açıklanabilir. Benzer şekilde HBA uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla MDA seviyelerinde artış gözlenirken, GSH seviyelerinde azalmanın olduğu tespit edilmiştir. HBA ile birlikte ısırgan otu özütü uygulanan gruplarda test edilen parametrelerde yeniden düzelmeye olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar ısırgan otu özütünün HBA toksisitesine karşı koruyucu etkisini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Paraben, ısırgan otu özütü, ALT, AST

Protective Effect of *Urtica Dioica* L. (Urticaceae) Extract on Paraben Toxicity In Albino Mice

Abstract. In this study effects of paraben (hydroxybenzoic acid (HBA)) on some biochemical parameters in albino mice were investigated. Nettle extract selected as protective agent against the toxic effects of HBA and the Nettle extract applied to all treatment groups in two dosage. In this scope, mice were divided into six groups, each containing 6 mice (*Mus musculus*, 12–14 week, 25–30 g). In experimental period, group I treated with tap water, group II treated with 125 mg/kg.bw nettle extract, group III treated with 250 mg/kg.bw nettle extract, group IV treated with 150 mg/kg.bw HBA, group V treated with 125 mg/kg.bw nettle extract+ 150 mg/kg.bw HBA, group VI treated with 250 mg/kg.bw nettle extract+ 150 mg/kg.bw HBA. At the end of the experiment, blood samples were collected and then the serum samples were obtained. Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), Blood urea nitrogen (BUN) and creatinine parameters were investigated in serum samples. Liver and kidney tissues were isolated and then MDA, GSH analysis were performed. As a result of the study, important alterations were observed in ALT, AST, BUN and creatinine levels of HBA treated group. These changes can be explained by potential toxic effects of HBA on cells. MDA levels of HBA treated group were increased and GSH levels were decreased. Some ameliorations were observed in all tested parameters in nettle extract and HBA treated groups compared to HBA treated group. These results demonstrate the protective effect of nettle extract against the toxicity of HBA.

Keyword: Paraben, Nettle extract, AST, ALT

* Corresponding author. Email address: emine.yalcin@giresun.edu.tr

1. GİRİŞ

Ksenobiyotiklerin biyolojik sistemde oluşturdukları olumsuz etkiler ve zarar verme kapasitelerine toksisite denilmektedir. Kozmetik ürünlerin ve içeriğindeki bileşenlerin toksisitesinde maruziyet süresi, temas yüzey alanı, lokalizasyon, uygulama süresi oldukça önemlidir. Bazı çalışmalarda kozmetiklerde kullanılan 400'den fazla toksik maddelerin kanda ve yağ dokuda tespit edildiği rapor edilmiştir. İlaç ve kozmetik sektöründe sıkça kullanılan toksik kimyasallardan biride parabendir (hidroksibenzoik asit-HBA) [1-2]. Şampuan, saç kremi, nemlendirici krem, tonik, deodorant, parfüm, tıraş jeli, bronzlaşma kremi, makyaj malzemeleri, güneş koruyucusu ve diş macununda kullanılan HBA bakteriyosidal ve fungusidal özelliğe sahiptir [3]. Geniş antimikrobiyal etki spektrumuna sahip olmaları ve kozmetiklerdeki geniş pH aralığı içinde stabil kalabilmeleri gibi nedenlerden dolayı HBA etkili koruyucu bileşen olarak tanımlanmaktadır [4]. Uzun alkil zincirine sahip HBA'ların yüksek sitotoksikite sergilediği, alkil zincir uzunluğu arttıkça antimikrobiyal aktivitenin de arttığı da belirtilmektedir [5]. Parabenler karaciğer ve bağırsakta esterazlar tarafından 4-hidroksibenzoikaside metabolize edilmekte ve oluşan bu metabolit sülfat, glukuronid ya da glisinle konjuge edilerek idrarla dışarı atılmaktadır [6-7]. Parabenler östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenik etki göstermekte, dokulara yerleşerek östrojen seviyesinde artışa neden olmaktadır [8]. Ayrıca parabenin invitro ortamda insan meme kanser hücrelerinin büyümesini tetiklediği belirlenmiştir. Propil ve butil HBA'lara erken çocukluk döneminde maruziyet sonrasında erkeklerde fertilitite üzerine olumsuz etkileri görüldüğü bilinmektedir [9-10]. Metil ve propil HBA'ların mitokondri fonksiyonlarının kuvvetli inhibitörleri olmaları nedeniyle erkek infertilitesinde etkili olduğu rapor edilmektedir [11]. Farelerde gebelik ve emzirme döneminde yüksek dozlarda butil paraben maruziyetinin (100 mg/kg dozda subkutan uygulama) yeni nesilde sperm sayısı ve motilitesinde azalmaya neden olduğu rapor edilmektedir [12]. Çeşitli genotoksik çalışmalarda parabenlerin genel olarak mutajenik olmadıkları belirtilse de etil ve metilparabenlerin hamster over hücrelerinde kromozomal anomalilerini arttırdığı saptanmıştır [9].

Isırgan otu (*Urtica dioica*), Urticaceae familyasına ait ılıman bölgelerde yetişen yabani bir ottur. Isırgan otunun toprak üstü kısımlarında histamin, serotonin, asetilkolin, formik asit ve lökotrienler (LTB₄, LTC₄, LTD₄), flavonoidler (rutin, izoquercetin, astragalin vs.), silisilik asit, uçucu yağ (en çok ketonlar) ve potasyum iyonları başta olmak üzere pek çok bileşen bulunmaktadır [13]. Isırgan otunun pek çok rahatsızlıklara karşı gösterdiği koruyucu ve faydalı özellik bu bileşenlerle açıklanabilir.

Bu çalışmada ilaç ve kozmetik ürünlerin bileşiminde yaygın olarak kullanılan HBA'nın Swiss albino farelerde muhtemel toksik etkisine karşı ısırgan otu özütünün koruyucu etkisi araştırılmıştır. Toksik etkinin belirlenmesi amacıyla kimyasallara karşı hassas olan dokulardan karaciğer ve böbrek dokuları [14] hedef doku olarak belirlenmiş ve bu dokulara ait parametreler incelenmiştir. Bu kapsamda biyokimyasal parametrelerden aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), kan üre azotu (BUN), kreatinin, glutatyon (GSH), malondialdehit düzeyleri (MDA) incelenmiştir.

2. MATERIALS and METHODS

Hayvanların Temini

Çalışmada 36 adet erkek Mus musculus var. albinos kullanılmıştır (12-14 haftalık, 25-30 g c.a.). Sağlıklı fareler Giresun Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir. Fareler 26 cmx15cmx 50cm veya paslanmaz çelik kafeslerde, 22±3°C de, %55±5 bağıl nem içeren laboratuvar şartlarında ve deney boyunca 12 saat ışık / karanlık döngüsü altında tutulmuştur. Hayvanlara çalışmaya başlamadan 1 hafta önce standart pellet diyet yem (Samsun Gıda Sanayi, Samsun, Türkiye) ve ad libitum su verilerek ortam şartlarına adaptasyonu sağlanmıştır. Bu çalışmada, farelere uygulanan yöntem ve teknikler Dünya Sağlık Örgütü (Cenevre, İsviçre) ve Giresun Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından belirlenen esaslara göre yürütülmüştür (58380337/370-171).

Deney Protokolü

On (10) haftalık uygulama periyodu süresince, kontrol grubundaki fareler çeşme suyu, uygulama grubundaki fareler ise 150 mg/kg c.a dozunda paraben ile ısırgan otunun 125 ve 250 mg/kg c.a dozlarıyla muamele edilmişlerdir. Gruplar ve grup oluşturma prensibi Tablo 1'de verilmiştir. Uygulama periyodundan bir hafta önce hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenerek ortama adaptasyonları sağlanmıştır

Tablo 1. Deney grupları Oluşturma Prensibi.

Grup	Fare sayısı	Uygulama
Grup I	6	Kontrol
Grup II	6	125 mg/kg c.a ısırgan otu özütü
Grup III	6	250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü
Grup IV	6	150 mg/kg c.a HBA
Grup V	6	150 mg / kg c.a. HBA 125mg/kg c.a ısırgan otu özütü
Grup VI	6	150 mg / kg c.a. HBA 250 mg/kg c.a ısırgan otu özütü

Grup V ve VI için, ısırgan otu özütü uygulamasına HBA maruziyetinden 7 gün önce başlanmış ve paraben uygulamasından sonra ise 10 hafta süresince paraben ile birlikte devam edilmiştir. Tüm gruptaki fareler 10 haftalık uygulama periyodunun sonunda sakrifiye edilmiştir.

Serum Analizi

Serum izolasyonu için, tam kan örnekleri hafif eter anestezi altında farelerden intrakardiyak olarak alınmış, Vacutainer tüplere (BD Vacutainer Systems, San Jose, CA, ABD) alınan kan örnekleri +4 °C'de 10 dakika 1200 g santrifüje edilmiş ve analiz süresine kadar -20oC'de saklanmıştır. AST (Teco DiagnosticsA559-150), ALT (Teco DiagnosticsA524-150) enzim aktiviteleri ile BUN (Teco

DiagnosticsB549-150) ve kreatinin (Teco DiagnosticsC513-480) düzeyleri Teco Diagnostics kitleri ile kullanılarak ölçülmüştür.

MDA Tayini

MDA tayini kontrol ve uygulama grubu farelerinin karaciğer ve böbrek dokularında gerçekleştirilmiştir. Farelerden alınan doku örnekleri soğuk % 0,9'uk sodyum klorür çözeltisiyle yıkanmış ve kurutma kağıdı ile kurutulmuştur. Daha sonra dokular homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0.15 M'lık KCl çözeltisi içinde 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası homojenize doku örnekleri 7000 rpm' de 5 dakika 4oC' de santrifüjlenmiş, elde edilen süpernatantlarda MDA analizi gerçekleştirilmiştir. MDA analizi Yoshiko ve arkadaşları [15] tarafından belirtilen yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir. Tiyobarbutirik asit ile MDA 90-95oC'e reaksiyona girerek pembe renkli bileşik oluşturmaktadır. Bu prensipten yola çıkarak 0.4 ml doku süpernatantları, 1.5 ml tiyobarbitürik asit ile karıştırılmıştır ve oluşan renkli kompleksin absorbanı 532 nm'de spektrofotometre (Mapada UV-Vis 6100) ile tespit edilmiştir. Elde edilen absorban değerleri dilüsyon katsayısı ile çarpılmış ve nanomol/g biriminde MDA miktarı belirlenmiştir.

GSH Tayini

GSH tayini kontrol ve uygulama grubu farelerinin karaciğer ve böbrek dokularında gerçekleştirilmiştir. Farelerden alınan doku örnekleri soğuk % 0,9'uk sodyum klorür çözeltisiyle yıkanmış ve kurutma kağıdı ile kurutulmuştur. Daha sonra dokular homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 0.15 M'lık KCl çözeltisi içinde 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası homojenize doku örnekleri 7000 rpm' de 5 dakika 4oC' de santrifüjlenmiş, elde edilen süpernatantlarda GSH analizi gerçekleştirilmiştir. GSH analizi Beutler ve arkadaşlarının [16] önerdiği yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Dokudan elde edilen süpernatantlar TCA ile % 10 v/v olacak şekilde muamele edilip santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantların üzerine disodyum hidrojen fosfat çözeltisi ile ditiyobisnitrobenzoik asit içeren Elman ayracı eklenmiş ve 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak okunmuştur. Sonuçlar mmol GSH/ g doku olarak ifade edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 2013) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm SD değerleri olarak verilmiş ve P değeri 0.05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

HBA uygulamasının Swiss albino farelerde seçilen bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri Tablo 2’ de verilmiştir. Tablodaki veriler incelendiğinde Grup I, Grup II ve Grup III’e ait serum AST, ALT, BUN ve kreatinin değerlerinin birbirine paralellik gösterdiği belirlenmiş, bu sonuç ısırgan otu özütü uygulamasının bu parametreler üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerinin sadece HBA uygulanan Grup IV’te belirgin şekilde arttığı ve bu artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Grup IV’te AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla sırayla 1.94, 2.98, 2.11 ve 1.68 kat arttığı belirlenmiş ve bu artışla ALT düzeyinin HBA toksisitesine karşı daha hassas olduğu gözlenmiştir.

Tablo 2. Paraben’in bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi.

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	BUN (mg/L)	Kreatinin (mg/L)
Grup I	114.17±2.97 ^d	36.67±5.16 ^d	111.33±14.91 ^d	4.83±0.36 ^d
Grup II	115.00±7.32 ^d	35.33±6.19 ^d	108.83±12.56 ^d	4.92±0.22 ^d
Grup III	114.67±7.06 ^d	36.50±5.79 ^d	108.50±13.58 ^d	4.93±0.28 ^d
Grup IV	221.83±8.54 ^a	109.50±10.62 ^a	235.00±13.19 ^a	8.13±1.05 ^a
Grup V	196.00±8.37 ^b	89.83±7.81 ^b	200.00±17.80 ^b	6.14±0.54 ^b
Grup VI	182.50±15.18 ^c	75.50±6.25 ^c	168.50±10.82 ^c	6.00±1.36 ^c
Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edilmiş (n = 6), aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).				

HBA ve ısırgan otu özütünün birlikte uygulandığı Grup V ve Grup VI’ ya ait AST, ALT, BUN ve kreatinin değerlerinin sadece HBA uygulanan Grup VI değerlerine kıyasla kontrol grubu değerlerine daha yakın olduğu belirlenmiştir. HBA uygulaması ALT değerinin kontrol grubuna kıyasla 2.98 kat artmasına neden olurken HBA+ısırgan otu özütü (250 mg/kg) uygulaması bu artışı 2.05 kata geriletmiştir. Bu sonuç ile ısırgan otunun 250 mg/kg dozunda HBA toksisitesini %31.2 oranında azalttığı belirlenmiştir. Buna rağmen Grup V ve Grup VI’ ya ait düzeylerin kontrol grubuna kıyasla hala yüksek olduğu belirlenmiş, bu sonucun bu gruplara HBA uygulanmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Tablo 3. HBA’nın MDA ve GSH düzeylerine etkisi.

Gruplar	Karaciğer MDA (nmol/g)	Böbrek MDA (nmol/g)	Karaciğer GSH (mg/g)	Böbrek GSH(mg/g)
Grup I	0.45±0.06 ^d	0.55±0.08 ^d	0.33±0.04 ^a	0.52±0.03 ^a
Grup II	0.46±0.12 ^d	0.53±0.09 ^d	0.32±0.03 ^a	0.51±0.04 ^a
Grup III	0.46±0.9 ^d	0.53±0.15 ^d	0.32±0.04 ^a	0.52±0.04 ^a
Grup IV	1.23±0.97 ^a	1.59±0.11 ^a	0.12±0.01 ^d	0.22±0.03 ^d
Grup V	1.07±0.13 ^b	1.27±0.17 ^b	0.30±0.04 ^c	0.30±0.03 ^c
Grup VI	0.78±0.11 ^c	0.90±0.09 ^c	0.23±0.03 ^b	0.35±0.12 ^b
* Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edilmiş (n = 6), aynı sütün içerisinde farklı harfler ile belirtilen ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).				

Parabenin karaciğer ve böbrek MDA ve GSH düzeylerine etkileri Tablo 3' te verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek MDA ve en düşük GSH düzeyleri Grup IV' de, en düşük MDA ve en yüksek GSH ise kontrol ve ısırgan otu özütünün iki farklı dozuyla muamele edilen Grup II ve Grup III' de tespit edilmiştir.

HBA uygulanan farelerde karaciğer MDA değerinin kontrol grubuna kıyasla 2.73 kat, böbrek MDA değerinin ise 2.89 kat arttığı belirlenmiştir. HBA uygulanan farelerde karaciğer GSH değerinin kontrol grubuna kıyasla 2.75 kat, böbrek GSH düzeyinin ise 2.36 kat azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar böbrek dokusunun HBA toksisitesine karşı daha hassas olduğunu göstermektedir.

HBA ile birlikte ısırgan otu özütü uygulaması Grup V ve Grup VI' da karaciğer ve böbrek MDA ve GSH düzeylerinde Grup IV' e göre bir düzelmeye neden olmuş, bu düzelmelerin özellikle Grup VI' da daha belirgin olduğu ve istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

HBA ve ısırgan otu özütünün birlikte uygulandığı Grup V ve Grup VI' ya ait MDA ve GSH değerlerinin sadece HBA uygulanan Grup VI değerlerine kıyasla kontrol grubu değerlerine daha yakın olduğu belirlenmiştir. HBA uygulaması karaciğer MDA değerinin, kontrol grubuna kıyasla 2.73 kat artmasına neden olurken HBA+ısırgan otu özütü (250 mg/kg) uygulaması bu artışı 1.73 kata geriletmiştir. Bu sonuç ile ısırgan otunun 250 mg/kg dozunda karaciğer MDA düzeyi açısından HBA toksisitesini %36.6 oranında azalttığı belirlenmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

HBA' lar; kozmetik ürünlerde, ilaçlarda ve gıdalarda antimikrobiyal amaçlı kullanılan koruyuculardır. Ucuz olmaları ve düşük toksisiteye sahip olmaları nedeniyle tercih edilmektedirler. Yapılan bu çalışmada HBA' nın albino farelerde meydana getirdiği biyokimyasal etkiler ile bu etkilere karşı ısırgan otu özütünün koruyucu rolü araştırılmıştır. Bu amaçla biyokimyasal parametreleri değerlendirmek için ALT, AST, BUN, kreatinin, MDA ve GSH parametreleri kullanılmıştır. Bu çalışmada 150 mg/kg HBA uygulamasının Swiss albino farelerinin serum AST, ALT, BUN ve kreatinin seviyeleri ile karaciğer ve böbrek dokularının MDA-GSH düzeylerinde farklı derecede değişimlere neden olduğu belirlenmiştir. HBA uygulaması AST, ALT, BUN, kreatinin ve MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre önemli bir artışa neden olurken, GSH seviyelerinde ise önemli bir azalmaya neden olmuştur. HBA uygulaması sonucu ALT ve AST düzeylerinde gözlenen artış karaciğer hasarına işaret etmektedir ve bu hasar sonucu karaciğer enzimleri seruma geçmekte ve serum düzeylerinde artışa neden olmaktadır. Literatürde HBA ve esterlerinin endokrin sistem üzerine etkileri detaylı bir şekilde araştırılmış; tiroid hormon düzeyleri ve etkilerindeki değişimlere sebep olduğu, erkek infertilitesinde, östrojenik aktiviteleri ile meme kanserinin tetiklenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir [17-19]. Bununla birlikte HBA ve esterlerinin hücreler ve dokular üzerine sitotoksitesi üzerine çalışmalar da literatürde mevcuttur. Asnani ve arkadaşları kırmızı kan hücrelerine HBA maruziyeti sonrasında hücrelerde şişme ve hemoliz

durumlarını rapor etmişlerdir [20]. Verma ve arkadaşları HBA maruziyeti sonucu farelerde kan dokuda protein ve karbohidrat içeriğinde azalma, kolesterol içeriğinde ise artış olduğunu rapor etmişlerdir [21]. HBA ve esterlerinin serbest radikal oluşumu ile lipid peroksidasyonuna, mitokondriyal membran permeabilitesinde değişime neden olduğu da rapor edilmektedir [22,23]. Literatürde belirtilen HBA'nın bu etkileri oksidatif hasara, karaciğer ve böbrek dokularında anormalliklere ve bu dokulara özgü parametrelerde belirgin değişimlere sebep olmaktadır. Bu çalışmada HBA uygulaması sonucu AST, ALT, BUN, kreatinin ve MDA seviyelerinde gözlenen artış oksidatif hasar ile açıklanabilir. HBA uygulaması sonrasında karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinin azalması ise oksidatif hasar sonucu GSH sentezindeki azalma ya da okside GSH'ın düzeyinin artması ile açıklanabilir. GSH üzerine pek çok toksik ajanların etkilerinin incelendiği çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir [24,25].

Çalışmamızda 150 mg/kg HBA'nın karaciğer ve böbrek dokusu üzerine toksik etkisine karşı ısırgan otu özütünün koruyucu etkisi de incelenmiştir. HBA uygulaması ile birlikte verilen ısırgan otu özütünün test edilen parametrelerde iyileşme sağladığı belirlenmiştir. Isırgan otu flavonoid (izokuersetin, rutin), histamin, serotonin, formik asit, silica, tannin, askorbik asit, glukokinon, karotenoid, kalsiyum ve lignin gibi fenolik bileşikler içermektedir [26]. Özellikle karotenoid, askorbik asit ve flavonoidler ısırgan otunun antioksidan özelliğinden sorumludur. Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek lipid peroksidasyonunu ve DNA yapısında oluşabilecek hasarları engellemektedir. Ayrıca antioksidanlar metal iyonlarını bağlayarak ve GSH düzeyini de arttırarak serbest radikallerin oluşumunu ve etkilerini de azaltmaktadır. Bu çalışmada HBA toksisitesine karşı ısırgan otu özütünün toksik etkileri azalttığı belirlenmiştir. Bu koruyucu etki ısırgan otu özütündeki aktif bileşenlerin antioksidan aktiviteleri ile açıklanabilir. Literatürde de Isırgan otu özütünün koruyucu rolü ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Gülçin ve arkadaşları (2004) ısırgan otu özütünün linoleik asit peroksidasyonuna karşı alfa tokoferole kıyasla daha yüksek antioksidant etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir [27]. Nadia (2015) 100 mg/kg gentamisin uygulanan tavşanlarda koruyucu olarak tek doz verilen 100 mg/kg ısırgan otu özütünün kreatinin, BUN, MDA ve GSH düzeyleri üzerine koruyucu etkisi olduğunu rapor etmiş ve bu etkiyi güçlü antioksidan aktivite ile açıklamıştır [28]. Golalipour ve arkadaşları diyabetik ratlarda kan glukoz düzeyi ve semifer tüpleri üzerine 100 mg/ kg ısırgan otu özütünün iyileştirici rolü olduğunu rapor etmişlerdir [29]. Toldy ve arkadaşları (2005) 30 mg/kg dozunda ısırgan otu özütü uygulamasının, egzersiz sonucu sıçan beyin dokularında oluşan Reaktif oksijen türlerini azalttığını belirtmişlerdir [30].

Sonuç olarak, bu çalışmada HBA'nın Swiss albino farelere ait karaciğer ve böbrek dokuları üzerine olumsuz etkilere neden olduğu belirlenmiştir. Vücuda dışardan alınan kimyasalların toksisitesi farklı koruyucu bileşenler kullanılarak azaltılabilmektedir. Bu çalışmada ısırgan otu özütünün HBA toksisitesine karşı koruyucu etkisi incelenmiş ve HBA uygulaması ile değişen parametrelerinin ısırgan otu özütü uygulaması ile normal düzeylere yaklaştığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ısırgan otu özütünün koruyucu olabileceğini destekler niteliktedir. Isırgan otu özütü

gibi doğal ürünlerin klinik amaçlı kullanılması için daha geniş kapsamlı ve daha uzun süreli deneysel ve klinik çalışmalar yapılmalıdır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi FEN-BAP-C-250414-11 kodlu proje tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Bigsby, R., Chapin, R.E., Daston, G.P., 1999. Evaluating the effects of endocrine disruptors on endocrine function during development. *Environ Health Pers.* 107: 613-8.
2. Balcı, A., Erkekoglu, P., Kocer-Gümüşel, B., 2014. Endokrin bozucu kimyasallar ve obezite arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi I: Ftalatlar ve Bisfenol A, Türkiye Klinikleri J Pharm Sci. 3 (1):1-16.
3. Akingbemi, B.T., Sottas, C.M., Koulova, A.I., Klinefelter, G.R., Hardy, M.P., 2004. Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *Endocrinology.* 145: 592-603.
4. Lee, M.M., 2007. Endocrine disruptors. A Current Review of Pediatric Endocrinology. 109-18.
5. Nakagawa, Y., Moldeus, P., 1998. Mechanism of p-hydroxybenzoate Ester-induced Mitochondrial Dysfunction and Cytotoxicity in Isolated Rat Hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* 55: 1907-1914.
6. Tsukamoto, H., Terada, S., 1962. Metabolic fate of p-hydroxy benzoic acid and its derivatives in rabbit. *Chem Pharm Bull.* 10: 86-90.
7. Tsukamoto, H., Terada, S., 1964. Metabolism of drugs. XLVII. Metabolic fate of p-hydroxy benzoic acids and its derivatives in rabbit (4). *Chem Pharm Bull.* 12: 765-769.
8. Mazzafera, P., Baumann, T.W., Shimizu, M.M., 2009. Decaf and the steepchase towards decaffito the coffee from caffeine-free Arabica plants. *Tropical Plant Biol.* 2: 63-76.
9. Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben and Benzylparaben as used in cosmetic products. *Int J Toxicol.* 2008, 27(1):1-82.
10. Catelain, F., Castelain, M., 2012. Parabens: a real hazard or a scare story. *Eur J Dermatol.* 22: 723-7.

11. Crinnion, W.J., 2010. Toxic effects of the easily avoidable phthalates and parabens. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*. 15: 190-6.
12. Kang, K.S., Che, J.H., Ryu, D.Y., Kim, T.W., Li, G.X., Lee, Y.S., 2002. Decreased sperm number and Motile activity on the F1 offspring maternally exposed to butyl p-hydroxybenzoic acid (butyl paraben). *The Journal of veterinary medicals science / the japanese society of the veterinary science*. 64:227-35.
13. Dodds, E., Lawson, W., 1936. Synthetic, oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*. 137:996.
14. Kanter, R., Monshouwer, M., Meijer, D.K., Groothuis, G.M., 2002. Precision-cut organ slices as a tool to study toxicity and metabolism of xenobiotics with special reference to non-hepatic tissues. *Curr Drug Metab*. 3(1):39-59.
15. Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T., Mori, M., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gyn*. 135:372-376.
16. Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 61: 882-888.
17. Darbre, P.D., Harvey, P.W., 2008. Paraben esters: review of recent studies on endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure and discussion of potential human health risks. *J Appl Toxicol*. 28: 561-578.
18. Stock-illustration-structural-chemical-formulas-of-parabens.
19. Kashiwagi, K., Furuno, N., Kitamura, S., 2009. Disruption of thyroid hormone function by environmental pollutants. *J Health Sci*. 55: 147-160.
20. Asnani, V., Verma, R. J., 2006. *Acta Pol Pharm Drug Res*. 63:117.
21. Verma, R.J., Asnani, V., 2007. Ginger extract ameliorates paraben induced biochemical changes in liver and kidney of mice. *Acta Pol Pharm Drug Res*. 64: 217-220.
22. Nishizawa, C., Takeshita, K., Ueda, J., Nakanishi, I., Suzuki, K. T., Ozawa, T., 2006. *Free Radic Res*. 40: 233.
23. Nakagawa, Y., Moore, G., 1999. Role of mitochondrial membrane permeability transition in p-hydroxybenzoate ester-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol*. 58: 811-6.
24. Güreş, H. Özgünes, R. Neal, D. R. Spitz, N. Ercal, Antioxidant effects of N-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. *Toxicol*. 1998, 128: 181-189 .

25. Zhou, Z.Y., Sugawara, K., Mawatari, K., Matsukawa, T., Lü, Z. W., Devadas, M., Kato, S., 2001. Reactive oxygen species uncouple external horizontal cells in the carp retina glutathione couples them again. *Neurosci.* 102: 959-967.
26. www.alternatifterapi.com/icerik/isirgan-otu
27. Gulçin, I., Küfrevioğlu, O.I., Oktay, M., Büyükokuroğlu, M.E., 2004. Antioxidant antimicrobial antiulcer and analgesic activities of nettle. *J Ethnopharmacol.* 90: 205-215.
28. Nadia, A.S., 2015. Effect of nettle (*Urtica dioica*) extract on gentamicin induced nephrotoxicity in male rabbits. *Asian Pac J Trop Biomed.* 5:756–760.
29. Golalipour, M.J., Khorrami, V., 2011. Protective effect of *Urtica dioica* L. (Urticaceae) on morphometric and morphologic alterations of seminiferous tubules in STZ diabetic rats. *Iran J Basic Med Sci.* 14(5): 472–47.
30. Toldy, A., Stadler, K., Sasvari, M., Jakus, J., Jung, K.J., Chung, H.Y., Berkes, I., Nyakas, C., Radak, Z., 2005. The effect of exercise and *U. dioica* supplementation on oxidative stress markers in the rat brain. *Brain Res. Bull.* 65: 487-493.