

**T.C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARELERDE PARASETAMOL İLE İNDÜKLENEN AKUT KARACİĞER  
HASARI ÜZERİNE NARİN (*PUNICA GRANATUM L.*) ETKİLERİ**

**MEHMET ALİ ERFİDAN**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**DOÇ. DR. TURAN CİVELEK**

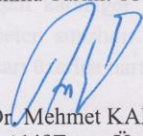
Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Tarafından  
14.SAĞ.BİL.23 Proje Numarası ile Desteklenmiştir.

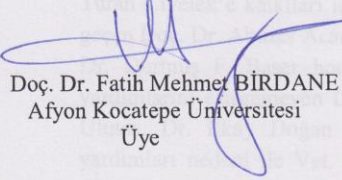
**Tez No: 2016-001  
2016 / Afyonkarahisar**

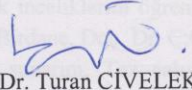
**KABUL ve ONAY**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı  
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
**Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

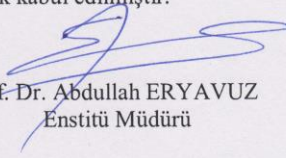
Tez Savunma Tarihi: 18.01.2016

  
Prof. Dr. Mehmet KARACA  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Jüri Başkanı

  
Doç. Dr. Fatih Mehmet BİRDANE  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

  
Doç. Dr. Turan CİVELEK  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Mehmet Ali ERFİDAN'ın  
"Farelerde parasetamol ile indüklenen akut karaciğer hasarı üzerine narın (*Punica granatum*  
*L.*) etkileri" başlıklı tezi 21.01/2016 günü saat 11:00'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve  
Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Genel tıpta ağrı kesici ve ateş düşürücü ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Parasetamol ise bu ilaçlar içerisinde en sık kullanılanlardan biridir. Sağlık açısından bakıldığında, bilinçsiz bir şekilde ve doz rejimine uyulmaksızın kullanılan bu ilacın karaciğer hasarına yol açma ihtimali yüksektir ve göz ardı edilemez. Yüksek dozda alınan parasetamole bağlı gelişen karaciğer harabiyetinde, tedavide farklı ilaçlar kullanılsa da, başarı şansı nispeten sınırlıdır. Sunulan araştırmada, parasetamolün neden olduğu akut karaciğer hasarı üzerine narın etkileri araştırıldı.

Tez çalışmamın ve eğitim sürecimin her aşamasında deneyimlerinden faydalandığım, fikirleriyle bana her zaman yol gösteren danışman hocam Doç. Dr. Turan Civelek'e katkıları için minnettarım. Meslek inceliklerini öğrenmemde emeği geçen Doç. Dr. Abuzer Acar, Doç. Dr. F.Mehmet Birdane, Doç. Dr. C.Çağrı Cıngı ve Dr. Durmuş F. Başer hocalarıma şükranlarımı sunarım. Tez çalışma sürecinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Alper Sevimli, Dr. Musa Korkmaz, Dr. Elmas Ulutaş, Dr. İlkay Doğan hocalarıma da ayrıca teşekkür ediyorum. Yanı sıra, yardımları nedeni ile Vet. Hek. Engin Göksel, Emre Kaya, Yasin Kaba, İbrahim Gültekin'e de müteşekkirim.

Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aziz babam ve kıymetli anneme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Kabul Onay	
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Şekiller	v
Çizelgeler	vi
Resimler	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Parasetamol	3
1.1.1. Parasetamolün Tarihçesi	3
1.1.2. Parasetamolün Yapısı ve Özellikleri	3
1.1.3. Parasetamolün Etki Mekanizması	4
1.1.4. Parasetamolün Metabolizması	5
1.1.5. Parasetamolün Yan Etkileri	7
1.2. Parasetamol Toksisitesi	7
1.2.1. Klinik Bulgular	10
1.2.2. Tedavi	11
1.2.2.1. Gastrointestinal Dekontaminasyon	12
1.2.2.2. Aktif Kömür	12
1.2.2.3. N-Asetil Sistein	13
1.3. Serbest Radikaller	13
1.3.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi	14
1.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi	14
1.3.3. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkisi	15
1.4. Antioksidan Sistemler	15
1.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	16
1.4.1.1. Süperoksit Dismutaz	16
1.4.1.2. Katalaz	16
1.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz	17
1.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	17
1.4.2.1. Glutasyon	17
1.4.2.2. Diğerleri	17
1.5. Nar	18
1.5.1. Nar Meyvesinin İçeriği	18
1.5.2. Narın Terapötik Etkileri	19
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>22</b>
2.1. Bitki Materyali	22
2.2. Ekstrelerin Hazırlanması	22
2.3. Test Numunelerinin Hazırlanması	23
2.4. Hayvan Materyali	23

2.5. Hayvan Deneyleleri	23
2.6. Örnekleme ve Analizler	25
2.6.1. Biyokimya Ölçümleri	25
2.6.2. Hematoloji Ölçümleri	26
2.6.3. Antioksidan Ölçümler	26
2.6.4. Patolojik Muayene	26
2.6.5. İstatistiksel Analizler	27
<b>3. BULGULAR</b>	<b>28</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>43</b>
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>50</b>
<b>ÖZET</b>	<b>52</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>54</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>56</b>

**ŞEKİLLER**

	Sayfa
<b>Şekil 1.1.</b> Parasetamolün moleküler yapısı	4
<b>Şekil 1.2.</b> Parasetamolün metabolizması	6
<b>Şekil 1.3.</b> Plazma parasetamol düzeyinin zamana bağlı değişimi ile karaciğer hasarı arası ilişkisi	8

## ÇİZELGELER

	sayfa
<b>Çizelge 2.1.</b> Deneme ve kontrol grupları	25
<b>Çizelge 3.1.</b> Biyokimya analiz sonuçları (Grup 1)	30
<b>Çizelge 3.2.</b> Biyokimya analiz sonuçları (Grup 2)	30
<b>Çizelge 3.3.</b> Kontrol grupları biyokimya analiz sonuçları (Grup1.1./Grup 2.1.)	30
<b>Çizelge 3.4.</b> Hematoloji analiz sonuçları (Grup 1)	33
<b>Çizelge 3.5.</b> Hematoloji analiz sonuçları (Grup 2)	33
<b>Çizelge 3.6.</b> Kontrol grupları hematoloji analiz sonuçları (Grup1.1./Grup 2.1.)	33
<b>Çizelge 3.7.</b> Antioksidan aktivite analiz sonuçları (Grup 1)	35
<b>Çizelge 3.8.</b> Antioksidan aktivite analiz sonuçları (Grup 2)	35
<b>Çizelge 3.9.</b> Kontrol grupları antioksidan aktivite analiz sonuçları (Grup 1.1./Grup2.1.)	35
<b>Çizelge 3.10.</b> MDA analiz sonuçları (Grup 1)	36
<b>Çizelge 3.11.</b> MDA analiz sonuçları (Grup 2)	36
<b>Çizelge 3.12.</b> Kontrol grupları MDA analiz sonuçları (Grup1.1./Grup 2.1.)	36
<b>Çizelge 3.13.</b> Histopatoloji analiz sonuçları (Grup 1)	38
<b>Çizelge 3.14.</b> Histopatoloji analiz sonuçları (Grup 2)	38
<b>Çizelge 3.15.</b> Kontrol grupları histopatoloji analiz sonuçları (Grup1.1./Grup 2.1.)	38

**RESİMLER**

	sayfa
<b>Resim 3.1.</b> Grup 1.1. karaciğer dokusu normal histopatolojik bulgu	39
<b>Resim 3.2.</b> Grup 1.2. karaciğer dokusu normal histopatolojik bulgu	39
<b>Resim 3.3.</b> Grup 1.3. karaciğer dokusu periasiner orta şiddette nekroz	40
<b>Resim 3.4.</b> Grup 1.4. karaciğer dokusu periasiner orta şiddette nekroz	40
<b>Resim 3.5.</b> Grup 2.1 karaciğer dokusu periasiner şiddetli nekroz	41
<b>Resim 3.6.</b> Grup 2.2. karaciğer dokusu periasiner şiddetli nekroz	41
<b>Resim 3.7.</b> Grup 2.3. karaciğer dokusu normal histopatolojik bulgu	42
<b>Resim 3.8.</b> Grup 2.4. karaciğer dokusu periasiner şiddetli nekroz	42



**SİMGELER VE KISALTMALAR**

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AIF	Apoptoz İndükleyici Faktör
ALB	Albumin
ALP	Alkale Fosfataz
ALT	Alanin Amino Transferaz
AoA	Antioksidan Aktivite
AST	Aspartat Amino Transferaz
CHOL	Total Kolesterol
CMC	Karboksimetil Selüloz
COX	Siklooksijenaz
CYP450	Sitokrom p450
DNA	Deoksiribonükleik asit
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GRAN	Granülosit
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
HB	Hemoglobin
HCT	Hematokrit
JNK	c-Jun N-terminal kinaz
LENF	Lenfosit
MDA	Malondialdehit
MON	Monosit
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NAPQI	N-asetil-P-benzokinonimin
NAS	N-asetilsistein
PLT	Platelet
RBC	Eritrosit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TG	Trigliserid
TP	Total Protein
WBC	Lökosit

## 1. GİRİŞ

Parasetamol (Asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol, N-(4-hidroksifenil) asetamid, APAP) yaygın olarak kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Parasetamolün, ucuz ve kolay ulaşılabilir olması nedeniyle kullanımı yaygındır. Beşeri hekimlikte, klinik dozlarda, kullanımı güvenlidir. Ancak yapılan araştırmalarda, yüksek dozda alınan parasetamolün ölümcül tablolara yol açabileceği de bildirilmektedir (Guggenheimer ve Moore, 2011). Yüksek dozlarda alınan parasetamol başlıca hepatik ve renal hasara neden olur (James ve ark., 2003; Larson, 2007; Waring ve ark., 2010; Ozkaya ve ark., 2010). Bu ilaca bağlı gözlenen yan etkilerin büyük çoğunluğunu parasetamol toksisitesi oluşturmaktadır (Bronstein ve ark., 2007). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) gözlenen akut karaciğer yetmezliği vakalarının en yaygın sebebi parasetamol toksisitesi olarak rapor edilmiştir (Bernal ve ark., 1998; Geeta ve ark., 2002). Ülkemizde, acil servis müracaatlarının %59,6'sının ilaç zehirlenmesine bağlı olduğu, bunların %43'ünün ise alınan ağrı kesici ilaçlar nedeniyle olduğu ortaya konmuştur (Akkose ve ark., 2005).

Parasetamol, karaciğerde metabolize edilir. Terapötik doz aralığında kullanıldığında glukuronik asit-sülfatla birleşerek vücuttan atılır. Parasetamol'ün bir bölümü (%5) ise karaciğer sitokrom p450 (CYP450) enzim sistemi ile N-acetyl-P-benzoquinoneimine (NAPQI) metabolitine çevrilir. Bu metabolit glutasyon (GSH) ile birleşerek detoksifiye edilir ve vücuttan uzaklaştırılır. Yüksek dozda alınan parasetamol, NAPQI birikimine neden olur (Jollow ve ark., 1973). Karaciğer hasarına neden olan başlıca metabolit NAPQI'dir. Parasetamol yüksek doz alındığında, hücre içi GSH'ın azalmasına ve antioksidan savunma mekanizmalarının baskılanmasına yol açar. GSH'ın azalması ve NAPQI'nın detoksifiye edilememesine bağlı olarak hepatik toksisite oluşur (Yapar ve ark., 2007).

Parasetamolün yüksek dozda alınmasına bağlı gerçekleŐen toksik olaylarda başlıca antidot olarak N-asetilsistein (NAS) kullanılmaktadır. Yapılan alıŐmalarda NAS'ın hepatotoksisiteyi önlediği ve koruyucu etkisi kanıtlanmıŐtır (Mitchell ve ark., 1973; Rumack ve ark., 1981). Fakat NAS'ın verilmesi durumunda dahi hepatotoksisite geliŐebilmektedir (Doyon ve Schwartz, 2009). Yanı sıra; ağaç minelerinden elde edilen *Lantadine A*, Karahindiba (*Taraxacum officinale*), *Clitoria ternatea*, *Clausena dentata*, *Phyllanthus acidus*, *Telfairia occidentalis* bitikerinin de parasetamole bağlı karaciğer hasarına karşı koruyucu olduğu rapor edilmiştir (Nwanna ve Oboh, 2007; Rajesh ve ark., 2009; Nithianantham ve ark., 2011; Jain ve Singhai, 2011; Colle ve ark., 2012; Grace-Lynn ve ark., 2012).

Nar (*Punica granatum L.*) bilinen en eski meyvelerden biridir. ‘‘Eczane bitki’’ olarak anılmaktadır (Yılmaz ve Usta 2010). Nardan elde edilmiŐ fenolik bileşiklerin (Lerman ve ark., 2005) ve Vitamin C (Sönmez ve ark., 2005)'nin antioksidan ve radikal süpürücü aktivitesi iyi bilinmektedir. Narın çeşitli kısımlarından elde edilmiŐ biyoaktif bazı maddelerin; hipolipidemik, antioksidan, antibakteriyel, antiviral, antidiyabetik, antineoplastik, antidiyaretik, antihelmintik, damar ve sindirim sistemi koruyucu etkileri belirlenmiştir (Syed ve ark., 2007; Borochoy-Neori ve ark., 2009; Chandra ve ark., 2010, Miguel ve ark., 2010; Wang ve ark., 2010; Başer ve Civelek, 2014).

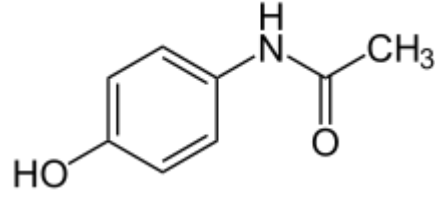
## **1.1. Parasetamol**

### **1.1.1. Parasetamolün Tarihçesi**

Harmon Northop Morse, parasetamolü ilk kez 1877 yılında p-nitrofenolü asetik asitle redüksiyonu sonucu sentezlemiştir. Ancak parasetamol klinik olarak ilk kez 1893 yılında kullanılmıştır. Parasetamol ‘Tylenol’ adıyla 1955 yılında ABD’de ve ‘Panadol’ adıyla 1956 yılında İngiltere’de piyasaya sürülmüştür. Güvenli bir analjezik ve antipiretik olarak hızla kullanılmaya başlanmıştır (Brodie ve Axelrod, 1948). Parasetamol, Türkiye’de de, terapötik doz aralığında güvenle kullanılabilen bir ilaç olarak kabul edilmektedir. Birçok ülkede reçeteli ve reçetesiz satılmakta ve yaygın olarak kullanılmaktadır (Boyland ve Chasseaud, 1969; Kittisupamangkol, 2009).

### **1.1.2. Parasetamolün Yapısı ve özellikleri**

Parasetamol fenasetinin aktif bir metabolitidir. Güçlü bir analjezik ve antipiretik etkiye sahiptir. Sentetik non-opioid olan p-aminofenol türevi bir ilaçtır. Parasetamolün kimyasal adı N-(4-hidroksifenil) asetamidtir. Moleküler formülü ise  $C_8H_9NO_2$ ’ dir (Şekil 1.1). Moleküler ağırlığı 151.17 g/mol, erime noktası 169 °C, yoğunluğu 1.263 gr/cm<sup>3</sup>, sudaki çözünürlüğü 1.4 gr/100 ml (20 °C)’ dir (Lee, 2004; Madenoğlu ve Bozoğluer, 2009; Akçam ve Çalışkan, 2014).



**Şekil 1.1.** Parasetamolün moleküler yapısı (Madenoğlu ve Bozoğluer, 2009).

Parasetamol aspirine eşit derecede analjezik ve antipiretik etki gösterir. Pediatride aspirine alternatif olarak kullanılmaktadır. Fakat anti-inflamatuar etkinliği aspirin kadar güçlü değildir. Parasetamol inflamasyona bağlı endikasyonlarda kullanılmaz. Ancak nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlarla birlikte kullanımında analjezik etkinliği artar (Lauterburg ve ark., 1983; Hinson, 1983; Potter ve Hinson, 1987; Dworkin, 2000; Dökmenci, 2000; Kayaalp, 2005; Ranganathan ve ark., 2006). Periferik dokularda zayıf bir siklooksijenaz (COX) inhibitörüdür. Parasetamolün antitrombotik etkisi zayıftır ve kanama zamanını değiştirmez (Kayaalp ve Melli, 2000).

Parasetamol zehirlenmeleri doz aşımından kaynaklanmaktadır. Yetişkin insanlarda günlük 4 gr üzerinde parasetamol alımı hepatotoksisite riski oluşturur (Alfio ve ark., 2006). Oral kullanımında farelerde 400-900 mg/kg, sıçan ve tavşanlarda 2000 mg/kg, köpeklerde 500 mg/kg, kedilerde >50 mg/kg dozlarda ölüme yol açabilmektedir (Kaya ve ark., 2002).

### **1.1.3. Parasetamolün Etki Mekanizması**

Parasetamolün, analjezik ve anti-inflamatuar etki mekanizmasında, merkezi sinir sistemi (MSS) içerisinde santral COX inhibisyonu ile etkili olduğu bildirilmektedir

(Clissold, 1986). Bununla birlikte serotoninerjik sistemle indirekt etkileşim yoluyla da etki ettiği sanılmaktadır (Carlsson ve ark., 2002).

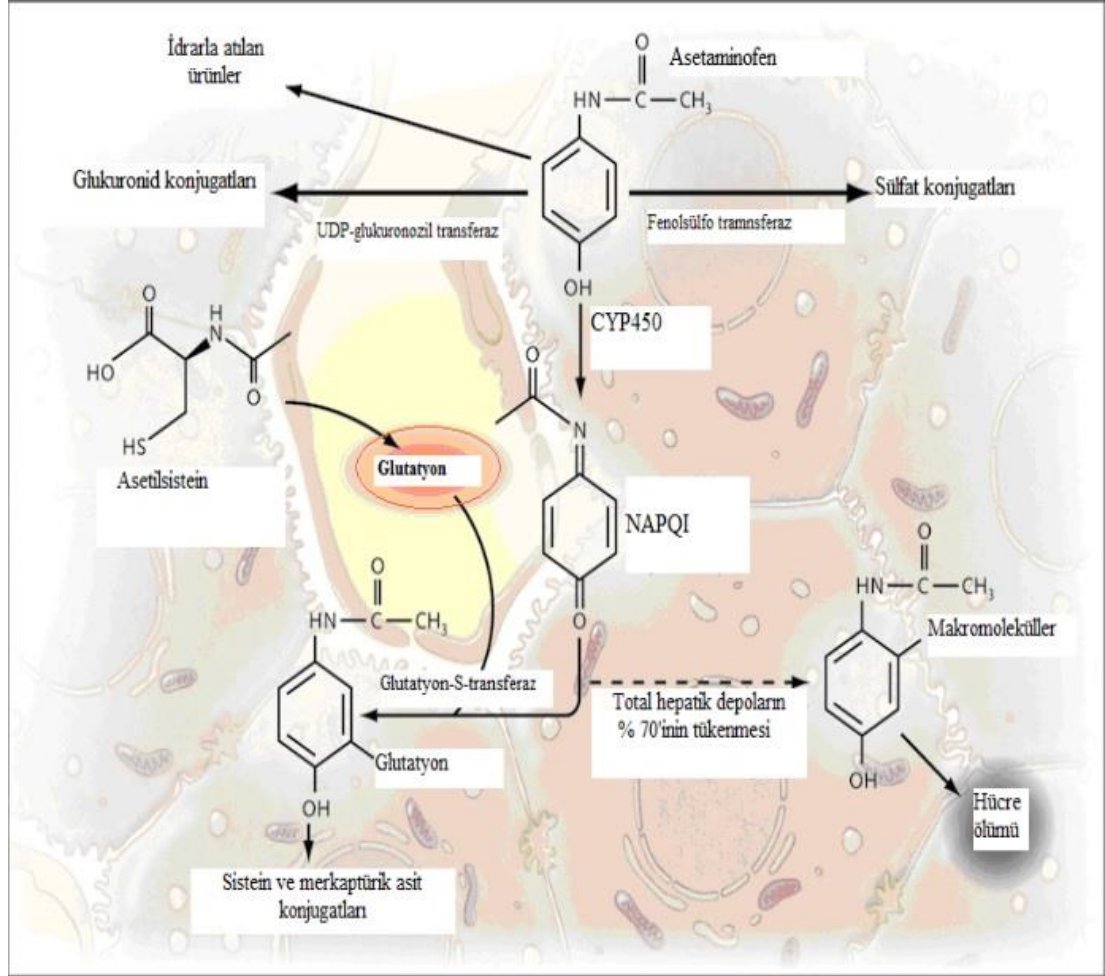
Parasetamol COX inhibitörleriyle farmakolojik olarak ortak özellikler göstermektedir. Periferik inflamasyonlara karşı reaksiyon göstermemesi anti-inflamatuar özelliğinin zayıf olduğunu göstermektedir (Boutaud ve ark., 2002; Swierkosz ve ark., 2002). Bu nedenle tipik COX inhibisyonundan farklı bir etki mekanizmasına sahip olduğu düşünülmektedir (İlkaya ve ark., 2013).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda MSS'de COX-3 diye adlandırılan enzim varyantı tespit edilmiştir. Parasetamolün COX-1 ve COX-2 den farklı olarak COX-3 enzimini de bloke ettiği düşünülmektedir (Swierkosz ve ark., 2002). Bu mekanizma üzerine birçok araştırmacı hemfikirdir (Botting, 2000; Warner ve Mitchell, 2004). Parasetamolün COX enzim inhibisyonu yaptığı şüphesizdir. Ancak bu etki mekanizması tam olarak açıklanamamış ve çalışmalar halen devam etmektedir (İlkaya ve ark., 2013).

#### **1.1.4. Parasetamolün Metabolizması**

Parasetamol oral alımından itibaren gastrointestinal yoldan hızla absorbe edilir. Pik kan konsantrasyon düzeyine en geç 2 saatte ulaşır (Shahroor ve ark., 2000). Parasetamolün emilimi açlık, tokluk ve antikolinergik ilaçlara bağlı değişebilmektedir. Emilim süresi 4. saate kadar uzayabilir. Plazma proteinlerine %25 oranında bağlanırken, birçok vücut sıvısında yaygın dağılım gösterir. Oral biyoyararlanımı %60-89 oranındadır (Alfio ve ark., 2006).

Parasetamol plazma konsantrasyonunda analjezik etki gücü 10 mcg/ml düzeyindedir. Plazma konsantrasyonunda antipiretik etkisi ise 18 mcg/ml düzeyindedir. Belirgin toksisite 150 mg/kg tek doz alımında ortaya çıkmaktadır. Erişkin insanlarda günlük en yüksek doz 4 gr kabul edilmektedir (Alfio ve ark., 2006; Kayaalp ve Melli, 2000).



Şekil 1.2. Parasetamolün Metabolizması (Özçelik ve Uslu, 2012).

Parasetamol primer olarak karaciğerde metabolize edilir. Terapötik doz aralığında kullanıldığında %85-90 oranında glukronik asit ve sülfirik asitle konjuge olarak böbreklerden atılır. Çok az bir oranda (%5) değişmeden idrardan atılmaktadır. %5-10 oranındaki bir miktar parasetamol hepatic CYP450 enzim sistemi yoluyla metabolize edilir. Toksik metabolit olan NAPQI'ya dönüşür (Dargan ve Jones, 2003). Karaciğer hasarı oluşturan bu toksik metabolit GSH tarafından

inaktif metabolitlere indirgenerek toksik etki göstermeden safra yoluyla atılır (Corcoran ve ark., 1980; Bessems ve Vermeulen, 2001). Yüksek dozda alınan parasetamole bağı NAPQI fazla miktarda açığa çıkar ve GSH'ı tüketir ve karaciğer hasarı oluşur (Hinson ve ark., 2004). Parasetamole bağı karaciğer hasarının bu etki mekanizmasından kaynaklı olduğu düşünölmektedir (Bessems ve Vermeulen, 2001).

### **1.1.5. Parasetamolün Yan Etkileri**

Terapötik doz aralığında kullanılan parasetamol iyi tolere edilir. Alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, döküntü), ilaç ateşi ve cilt alerjisine bağı mukozal lezyonlar nadir de olsa görölmektedir (Insel, 1990). İlaç alımı sonrası hematolojik bozukluklar, hipoglisemi ve böbrek yetmezliğine neden olabilir (Graham ve ark., 2005). Parasetamolün yüksek doz alımında en ciddi yan etkisi, ölümlle sonuçlanabilen hepatik nekrozdur (Insel, 1990).

Parasetamolün kardiyovasküler sistem, solunum sistemi ve asit-baz dengesi üzerine herhangi bir yan etkisi yoktur. Mide mukozası üzerine herhangi olumsuz etkisi yoktur ve kanamaya neden olmaz. Protrombin sentezine etkisi zayıftır (Küçük ve Yavuz, 2009).

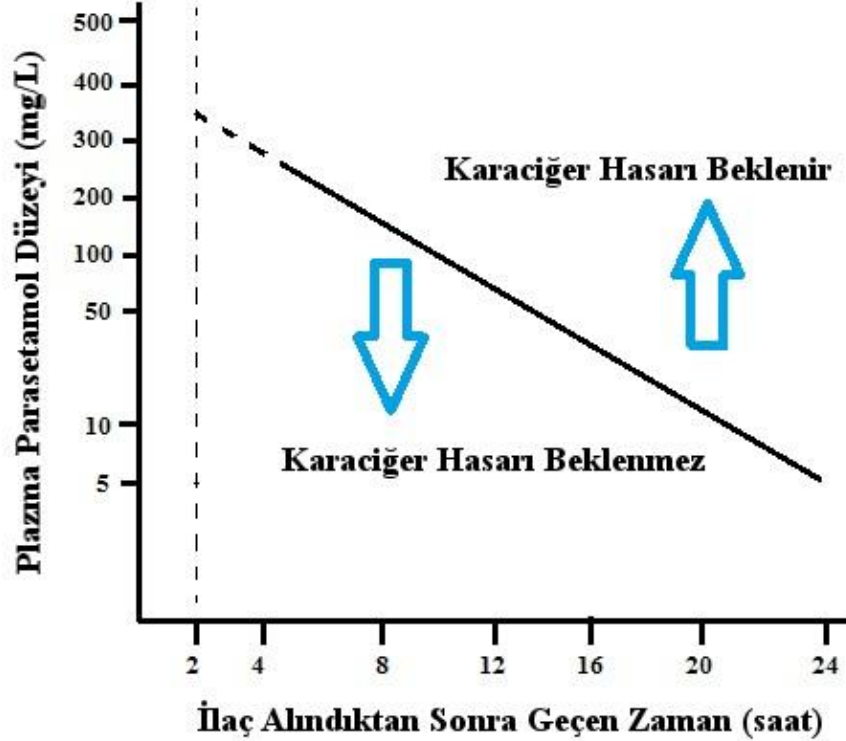
### **1.2. Parasetamol Toksisitesi**

Parasetamol aspirinden daha az toksik etkiye sahip analjezik ve antipiretik bir ajandır. 1960' lardan itibaren sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. ABD' de toksik



dozda alınan en yaygın ilaçlardandır (Geeta ve ark., 2002). Parasetamole bağlı akut karaciğer yetersizliği son yıllarda hızla artış göstermiştir. Bu hastalıkta en büyük etkenin parasetamol olduğu rapor edilmiştir (Mazer ve Perrone, 2008).

Parasetamolün terapötik dozu erişkinlerde 500-1000mg olup, oral yoldan verilmektedir. 4-6 saat arayla tekrarlanabilir. Günlük alınabilecek en yüksek doz erişkinlerde 4 gr kabul edilir. Çocuklarda ise her 4-6 saatte bir 10-15 mg/kg dozunda verilebilir. Tek dozda 150 mg/kg ve üzeri alınan parasetamol toksik kabul edilmektedir. Ölümcül etkisi tek seferde 300 mg/kg doz alımında ortaya çıkmaktadır (Lauterburg ve ark., 1983; Dökmenci, 2000; Ranganathan ve ark., 2006). Parasetamol, kan konsantrasyonu ilaç alımını takiben ilk 4 saat sonunda 300 mg/L veya 15 saat sonunda 45 mg/L olup ciddi karaciğer hasarı oluşturmaktadır (Şekil 1.3) (Brunton, 2009).



Şekil 1.3. Plazma parasetamol düzeyinin zamana bağlı değişimi ile karaciğer hasarı ilişkisi (Brunton, 2009).

Terapötik dozda alınan parasetamol güvenlidir. Ancak yüksek dozda alındığında hepatik nekroza neden olur. Oksidatif stres, kalsiyum dengesizliği, NAPQI'nın hücresel proteinler ve hepatositlerin lipid tabakalarına kovalan bağlanması hepatotoksisite oluşumuna neden olmaktadır. Oksidatif stres, parasetamol hepatotoksisitesinin oluşumunda en önemli mekanizmalardandır. NAPQI metabolitinin artışı reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini artırır. Bu aktivasyon sonucu Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve süperoksit açığa çıkar. Yüksek dozda alınan parasetamolün antioksidan savunma sistemini etkilediği gözlenmiştir (James ve ark., 2003). Glutasyon peroksidaz ( $GP_x$ ) ve katalaz enzim aktivitesini azaltmaktadır. Ayrıca GSH/okside glutasyon (GSSG)'da azalma antioksidan kapasite kaybına neden olur. Çünkü GSH, en bol hücre içi serbest tiyol'dür. NAPQI metabolitinin oksidatif kapasitesi sonucu oluşan tiyol oksidasyonunun, hepatotoksisitenin temel nedeni olduğu düşünülmektedir. NAPQI karaciğer hücrelerinde bulunan proteinlerin sülfidril grubuna kovalan bağlanması hücre fonksiyonlarında hasar oluşturur ve hücre ölümünü gerçekleştirir (James ve ark., 2003; Jaeschke ve ark., 2011).

Parasetamolün oluşturduğu karaciğer toksisitesinde oksidatif stresle birlikte lipid peroksidasyonu aynı anda oluşabilmektedir. Parasetamolün CYP450 enzim sistemi ile metabolizasyonu sonucu NAPQI ve süperoksit açığa çıkar. Süperoksit artışına bağlı  $H_2O_2$  düzeyinde artış gerçekleşir.  $H_2O_2$  konsantrasyonunun yükselmesi hidroksil radikalının ( $OH\bullet$ ) artışına ve buna bağlı lipid peroksidasyonunun başlamasına neden olur (James ve ark., 2003).

Nitrik oksit ve süperoksitin etkileşimi sonucu peroksinitrit açığa çıkar. Parasetamolün oluşturduğu karaciğer toksisitesinde peroksinitrit, GSH ve  $GP_x$

tarafından yeterli düzeyde detoksifiye edilemez. Açığa çıkan peroksinitritler proteinleri nitratlayarak lipid peroksidasyonuna sebep olmaktadır (Sumioka ve ark., 2004; Jongen ve ark., 2006). Mitokondrideki peroksinitrit aktive olarak, mitokondride bulunan c-jun-N-terminal kinaz (JNK)'ı uyararak sitozole geçişi sağlar. Oluşan JNK aktivasyonu oksidatif stresi ve peroksinitrit miktarını hızla artırır. Mitokondriyal geçirgenliğin indüksiyonu meydana gelir. Sonuç olarak mitokondriyal faktörler olan Sitokrom c, Endonükleaz G, apoptoz indükleyici faktör (AIF) salgılanır (Şekil 1.4) (Jaeschke ve ark., 2011).

Yüksek miktarda alınan parasetamolün etkilediği bir diğer organ böbreklerdir. Açığa çıkan NAPQI tübüler nekroza yol açar. Oluşan nekroza bağlı renal disfonksiyon görülebilmektedir (Mazer ve Perrone, 2008).

### **1.2.1. Klinik Bulgular**

Parasetamol toksisitesinde klinik bulgular ilaç alım süresine göre 4 aşamada değerlendirilir. Bu aşamalar; faz 1 (ilk 24 saat), faz 2 (24-72 saat), faz 3 (72-96 saat) ve faz 4 olup, semptom farklılıkları gösterir (Hung ve Nelson, 2000).

Faz 1'de klinik bulgular non-spesifiktir. Özellikle çocuklarda bu evreye sık rastlanır. İştahsızlık, bulantı, kusma, halsizlik sık görülen semptomlardır. Karaciğer transaminazlarında hafif dereceli yükselmeler oluşabilir (Hung ve Nelson, 2000).

Faz 2’de ilk safhada görülen semptomlar çok nadir veya hiç görülmez. Karaciğer büyümesi ve belirgin ağrı dikkati çeker. Bu safhada laboratuvar bulguları belirleyici olabilir. Aspartat Amino Transferaz (AST), Alanin Amino Transferaz (ALT) değerlerinde artış gözlenir. Protrombin süresinde uzama, bilirubin seviyesinde yükselme meydana gelir (Hung ve Nelson, 2000).

Faz 3 karaciğer fonksiyon bozukluğunun en belirgin olduğu evredir. Faz 1’de görülen klinik semptomlar bu evrede de ortaya çıkabilir. ALT ve AST belirgin şekilde yükselir. Serum bilirubin konsantrasyonu artar. Protrombin süresi uzar. Hepatik ve renal yetmezlik bu evrede görülebilmektedir (Hung ve Nelson, 2000). Karaciğer biyopsisinde nekroz odakları gözlenebilir. Böbrek fonksiyonlarında bozulmaya bağlı proteinüri ve hematüri görülmektedir (Hung ve Nelson, 2000; Küçük ve Yavuz, 2009; Bozoğlu ve Madenoğlu, 2009).

Faz 4’de ise karaciğer hasarının düzeldiği veya ölümlü sonuçlanan evredir. İyileşen hastalarda karaciğer fonksiyonu 3 ay içinde fizyolojik sınırlara dönmektedir (Black, 1980; Laskin ve ark., 1995; Salgia ve Kosnik, 1999). Parasetamolle bağlı oluşan karaciğer toksisitesinde kronik karaciğer fonksiyon bozukluğu meydana gelmez (Hung ve Nelson, 2000).

### **1.2.2. Tedavi**

Genel intoksikasyon tedavi prosedürü öncelikli uygulanır. Yaşamsal destek sağlanır. Solunum ve dolaşım fonksiyonları desteklenir. Parasetamol toksisitesinde, spesifik olarak, gastrointestinal dekontaminasyon, aktif kömür ve antidonal NAS tedavi yöntemleri uygulanmaktadır (Hung ve Nelson, 2000)

### **1.2.2.1. Gastrointestinal Dekontaminasyon**

İntoksikasyon ile karşılaşıldığında gastrointestinal dekontaminasyon tedavisi önerilmemektedir. Parasetamol toksisitesinde emilimi azalttığı için uygulansa da, tavsiye edilmez. İntoksikasyondan bir saat sonra verilen ipeka şurubunun etkinliğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (Bond ve ark., 1993). Fakat kusma etkisi oluşturduğu için oral asetilsistein ile verilmesi kontrendikedir. İntoksikasyon vakalarında gastrointestinal dekontaminasyon uygulamasının yararlı olduğunu gösteren çalışma bulunmamaktadır. Parasetamol toksisitesinde kullanımı tavsiye edilmemektedir (Kozer ve Koren, 2001).

### **1.2.2.2. Aktif Kömür**

Aktif kömür parasetamolü adsorbe eder ve gastrointestinal absorpsiyonu engeller. Aktif kömür uygulaması ilk 4 saat içerisinde yapılırsa, parasetamol emilimini azalttığı bildirilmiştir (Hung ve Nelson, 2000; Cripersen ve ark., 2002). Yapılan çalışmalarda, parasetamol toksisitesinde aktif kömürün ilk 30 dk ile 2 saat içerisinde uygulaması ile etkili tedavi sağlanır. Aktif kömür NAS ile birlikte verildiğinde ise NAS'ın emilimini azaltır. Aktif kömürün hastalara NAS tedavisinden 1 ile 2 saat önce uygulanması önerilmektedir (Hung ve Nelson, 2000).

### 1.2.2.3. N-Asetil Sistein (NAS)

Parasetamol toksisitesinde en sık kullanılan tedavi yöntemi NAS uygulamasıdır. Parasetamol toksisitesinde NAS, ilaç alımından kısa süre sonra verildiğinde karaciğer hasarını önemli ölçüde engeller (Kozer ve Koren, 2001). NAS tedavisinin etkili olması için; dozu, zamanı ve verilme yolu oldukça önemlidir. Yapılan deneylerde NAS'ın doz artışına bağlı etkinliği saptanmıştır. Yüksek doz alınan parasetamol ile alınan parasetamole eşit dozda verilen NAS'ın hepatotoksisiteyi %100 önlediği bildirilmiştir (Hung ve Nelson, 2000).

### 1.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller yapılarında eşleşmemiş bir veya daha fazla elektronu bulunduran atom veya moleküllerdir. Radikallerin çoğu diğer moleküllerden bir elektron alarak veya moleküllere bir elektron vererek etkisini gösterirler (Çakatay ve Kayalı, 2006). Başka bir molekülden elektron alma ihtiyaçları serbest radikalleri oldukça reaktifleştirir (Murray ve ark., 2000).

Biyolojik serbest radikaller, hücrelerdeki başka moleküller ile etkileşime girerek oksidatif hasar oluştururlar. Oksidatif stres; oksidan üretimindeki artış ile antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliği sonucu oluşan doku hasarı oluşumuna denir. Oksidatif stres temel hücre bileşenleri olan lipid, protein ve nükleik asitlerde hasara yol açmaktadır (Rahman, 2007)

### **1.3.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkisi**

Lipidler serbest radikallere karşı hassas olup en fazla etkilenen biyomoleküllerdir. Serbest radikaller, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu ile membran lipid yapısını değiştirir. Hücre yapısı ve fonksiyonlarında değişikliğe neden olur. Bu olaya lipid peroksidasyonu denir (Aktaş ve Eskiocak, 2013). Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu şeklinde devam eder. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünler hasarın incelenmesinde önemli rol oynar. Bu oluşan ürünler malondialdehit (MDA), etan ve pentandır (del Rio ve ark., 2005).

MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Oluşan MDA miktarı lipid peroksidasyonunun yaygınlık düzeyi ile ilişkilidir. MDA'nın hücre içi iyon dengesinin bozulmasına, deoksiribonükleik asit (DNA) sarmalında kırılmalara ve enzim aktivitesinde değişikliğe neden olduğu saptanmıştır (del Rio ve ark., 2005; Halliwell ve Gutteridge, 2007).

### **1.3.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi**

Serbest radikaller proteinlerin fonksiyonlarını değiştirerek inaktivite edebilirler. Sülfür içeren amino asitler olan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmunglobulin G ve albümin gibi proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur (Özdemir ve ark., 2006; Hsu ve ark., 2006; Yapar ve ark., 2007).

### 1.3.3. Serbest Radikallerin DNA' ya Etkisi

DNA hücre membranı ile histon proteinleri tarafından korunur. Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek mutasyonlara ve hücre ölümlerine neden olurlar. Hidroksil radikalının DNA'nın tüm bileşenleri ile reaksiyona girerek hasar oluşturduğu bildirilmiştir (Valko ve ark., 2006).

### 1.4. Antioksidan Sistemler

Serbest radikallerin oluşturduğu hasara karşı vücutta antioksidan savunma sistemi geliştirilmiştir. Bu savunma sistemi serbest radikal tutuculardan ve antioksidan enzimlerden meydana gelmektedir. Antioksidanlar 4 ayrı şekilde etki gösterirler. Bunlar;

- 1- Serbest oksijen radikallerini enzimler aracılığıyla daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek toplayıcı etki gösterirler.
- 2- Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen aktararak etkisiz hale dönüştürler ve baskılayıcı etki gösterirler.
- 3- Serbest oksijen radikallerinin zincirleme devam eden tepkimelerinde belirli yerlerinden zinciri kırıp etki gösterirler.
- 4- Serbest oksijen radikallerinin hedef moleküllerde oluşturduğu hasarı onarım etkisi gösterirler (Yalçın, 1998; Fusco ve ark., 2007).

Antioksidanlar enzimatik antioksidanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılır.



### **1.4.1. Enzimatik Antioksidanlar**

Başlıca bu enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve GPx' den oluşmaktadır (Fusco ve ark., 2007).

#### **1.4.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)**

SOD, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimatik antioksidandır. SOD ile katalizlenen tepkime sonucu oluşan  $H_2O_2$  birikimi katalaz enzimi tarafından önlenmektedir. SOD hücre savunmasında önemli rol oynar. Serbest radikallerin yıkıcı etkisinin önlenmesinde yaşamsal etkiye sahiptir (McCord ve Fridovich, 1970).

#### **1.4.1.2. Katalaz**

Katalaz enzimi  $H_2O_2$ 'nin suya dönüşümünü katalizler.  $H_2O_2$  konsantrasyonunun artış göstermesi ortamda katalaz enziminin belirgin yükselmesine neden olur.  $H_2O_2$  konsantrasyonunun düşüklüğünde ise  $H_2O_2$ 'yi substrat olarak kullanan diğer antioksidanlar ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlar (Valko ve ark., 2006).

### **1.4.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GP<sub>x</sub>)**

Katalitik aktivite özelliğini yapısında bulundurduğu selenyum elementi ile kazanmıştır. Karaciğerde bol miktarda bulunur. GP<sub>x</sub>, GSH' ın GSSG'ye çevrildiği reaksiyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi ortamdan detoksifiye etmektedir (Comhair ve Erzurum, 2005).

## **1.4.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar**

### **1.4.2.1. Glutatyon (GSH)**

Hücre içi tiyol grubundan olup antioksidanların en önemlisidir. Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Hücrelerde GSH ve GSSG şeklinde bulunur. En önemli görevi hücreleri oksidatif strese karşı korumaktır. Serbest radikallerin detoksifikasyonunda, sisteinin taşınması ve depolanmasında, prostaglandin metabolizmasının düzenlenmesinde ve sinyal iletiminde rol oynar (Havare ve Canbolat, 2011).

### **1.4.2.2. Diğerleri**

Oksidatif hasarı azaltan başlıca diğer maddeler ise; C vitamini, A vitamini, E vitamini, selenyum, ürik asit, L-karnitin, albümin, sistein, bilirubin, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, melatonin, mannitol ve lipoik asittir (Valko ve ark., 2006).

## 1.5. Nar

Nar (*Punica granatum*), kınagiller (*Lythraceae*) familyasından tropik ve subtropik iklim bitkisine sahip meyvedir. İsmi ortaçağ yıllarında çekirdekli meyve anlamında kullanılan “*Pomini granatum*” dan almıştır. Pome (meyve) ve granatum (çekirdekli) isimlerinden türetilmiştir (Jurenka, 2008; Yılmaz ve Usta, 2010).

Nar, binlerce yıldır tanınan en eski meyvelerden biridir. İspanya'nın güneyindeki Granada şehri ismini bu meyveden almıştır. Antalya'nın ilçesi Side anlamca nar demektir. Narın birçok dini inanışta ismi geçmektedir. Yahudi inancında doğruluğu ve Hristiyan inancında dirilişi simgeler (Çalışkan ve Akçam, 2014). Kuran-ı Kerim'de ise zikredilen meyvelerdendir (Enam ve Rahman sureleri).

Narın anavatanının, kaynaklarda, İran ve Hindistan çevresi olduğu öngörülmektedir. Birçok ülkede yetiştiriciliği yapılmaktadır. Akdeniz iklim kuşağındaki ülkeler dışında; Ortadoğu ülkeleri, Asya ülkeleri ve Güney Amerika'nın bir kısmı nar üretimi için uygun iklim bölgeleridir (Bakır ve Kelle, 2015). Dünyada Hindistan, İran ve Çin'den sonra en fazla nar üretimi yapan ülke Türkiye'dir (Muradoğlu ve ark., 2006).

### 1.5.1. Nar Meyvesinin İçeriği

Nar meyvesi üç kısımdan oluşur. Bunlar; tohum (%3), su (%30) ve kabuktur. Narın bu kısımlarından yapılan çalışmalarda farmakolojik etki mekanizması ve terapötik etkinliği saptanmıştır (Yılmaz ve Usta, 2010). Nar çeşitli fenolik asit ve flavonoid polifenoller açısından çok zengindir. Flavonoidler (antosiyantinler, kateşinler ve diğer

kompleks flavoidler) ve taninler (punikalın, punisik asid, punikalajın, gallik asit, elajik asit) içermektedir (Afaq ve ark., 2005; Başer ve Civelek, 2014). Nar çekirdeği ise potasyum, magnezyum, mangan, çinko ve doymamış yağ asitlerinden punisik asit bakımından oldukça zengindir. Nar çekirdeği yağında punisik asit (%80) yüksek miktarda bulunmaktadır. Nar çiçeklerinde ise maslinik asit, ursolik asit ve asiatic asit bulunur. Nar suyu temel antioksidan polifenolik bileşikler bakımından çok zengindir. İçerisinde gallik asit, elajik asit, protokateşik asit, klorojenik asit, kaffeik asit ve ferulik asit ihtiva eder (Yılmaz ve Usta, 2010). Yapılan bir çalışmada nar suyunun yeşil çaydan iki kat daha fazla fenolik bileşik içerdiği saptanmıştır (Gil ve ark., 2000).

### **1.5.2. Narın Terapötik Etkileri**

Nar ayurveda tıbbında ‘eczane bitki’ olarak anılır. Antik çağlardan beri farklı hastalıklara karşı; aft, diyare, ülser, parazitoz tedavide ve kuvvet verici olarak kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda araştırmacılar narın; antioksidan, antineoplastik ve antiinflamatuvar özelliklerine yoğunlaşmıştır (Yılmaz ve Usta, 2010). Bitkinin çeşitli ekstre ve içeriğindeki maddelerden yapılan çalışmalarda hipolipidemik, antioksidan, antiviral, antineoplastik, antibakteriyel, antihelmintik, antidiyabetik, antidiyaretik ve immunmodülatör etkileri tespit edilmiştir. (Syed ve ark., 2007, Brochov-Neori ve ark., 2009, Wang ve ark., 2010, Miguel ve ark., 2010). Kalp-damar hastalıkları, astım, bronşit, ülser, AIDS, deri lezyonları, ultraviyole ışınlarla bağlı gelişen cilt kanseri, hipertansiyon, infertilite, prostat, kolon ve meme kanserine karşı koruyucu ve/veya tedavi edici etkisi araştırılmaktadır (Jurenka, 2008, Yılmaz ve Usta, 2010). Hepatoprotektif etkinliği gösterilmiştir (Başer ve Civelek, 2014).

Nar yüksek oranda antioksidan aktiviteye sahip bitkidir. Nar suyu ekstresinden yapılan çalışmada, antioksidan olarak kullanılan kırmızı şarap ve yeşil çaydan 2-3 kat daha fazla antioksidan etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Gil ve ark., 2000; Aviram ve ark., 2000). Ayrıca üzüm, portakal, greyfurt suyundan 6-8 kat daha fazla antioksidan etkiye sahiptir (Tzulker ve ark., 2007). Diğer bir çalışmada ise nar özünün elma özünden daha fazla antioksidan etkisi olduğu ortaya konmuştur (Guo ve ark., 2008).

Nar suyunun antioksidan aktivitesi, içerisinde bulunan polifenoller, ellagitaninler ve antosiyaninlerden kaynaklıdır (Gil ve ark., 2000). Antosiyaninler, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunda ve serbest radikallerin detoksifikasyonunda görev alır (Noda ve ark., 2002). Yapılan in-vitro çalışmalarda narın lipid peroksidasyonun önlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Tzulker ve ark., 2007). Nar suyunda bulunan flavonoidler düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı koruyucu etkisi yapar (Wang ve ark., 2004).

Nar kabuğu fenolik bileşikler bakımından zengindir (Seeram ve ark., 2006, Saad ve ark., 2012). Nar kabuğunun antimikrobiyal etkisi ise oldukça güçlüdür. Dahham ve ark (2010) yaptıkları çalışmada, nar kabuğu ekstraktının *Staphylococcus aureus* ve *Aspergillus niger*'e karşı etkili olduğu belirtilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, nar kabuk ekstraktının, kan glikoz ve lipid peroksidaz değerlerini önemli ölçüde düşürdüğü saptanmıştır (Parmar ve Kar, 2008).

Nar çekirdek yağının, obez hiperlipidemik ratlarda yapılan çalışmada, TAG miktarını düşürdüğü ortaya konmuştur (Arao ve ark., 2004). Nar yağ emilimini azaltır ve TG düzeyini önemli ölçüde düşürür (Zou ve ark., 2004).

Nar potansiyel bir antikarsinojendir. Narın farklı kısımlarında bulunan fenolik bileşiklerin tümörün vücuda yayılmasının gecikmesindeki rolü ortaya konmuştur (Lansky ve ark., 2005). Narın akciğer ve prostat kanserinde antiproliferatif, apoptozisi indükleyici ve antioksidan etkisi ortaya konmuştur (Malik ve ark., 2005; Lansky ve ark., 2005). Ayrıca, sıçanlar üzerinde oluşturulan cilt kanseri modelinde tümör oluşumunu engellediği bildirilmiştir (Afaq ve ark., 2009).

Sunulan çalışmada, farelerde parasetamol ile indüklenen akut karaciğer hasarında “liyofilize nar suyu ekstresi” nin karaciğer üzerine etkileri ve karaciğer koruyucu etkinliği araştırılmıştır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Bitki Materyali

Bitki materyalini Türkiye Akdeniz bölgesinden elde edilen nar oluşturdu. Nar ekstralarının hazırlanmasında; mevsiminde yetişmiş, taze nar meyvesi kullanıldı. Nar suyu ekstresi, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognози Anabilim Dalı tarafından hazırlandı.

### 2.2. Ekstrelerin Hazırlanması

Taze tam nar meyvelerinden ekspresyon tekniğı ile elde edilen ekstre -80 °C'de donduruldu. Daha sonra liyofilizatörde kurutuldu ve toz haline getirildi. Elde edilen bu madde "liyofilize nar suyu ekstresi" dir. Ekstre deney farelerine üç farklı dozda; **Doz 1:** 0.5 ml %0.5'lik karboksimetil selüloz (CMC) içerisinde 100 mg/kg, **Doz 2:** 0.5 ml %0.5'lik karboksimetil selüloz (CMC) içerisinde 200 mg/kg, **Doz 3:** 0.5 ml %0.5'lik karboksimetil selüloz (CMC) içerisinde 400 mg/kg olarak uygulandı.

### 2.3. Test Numunelerinin Hazırlanması

Kullanılan test numuneleri, deneylere başlamadan önce %0.5'lik CMC çözeltisinde çözdürülmüştür. Numuneler deney farelerine özel mide gavajı ile per os yolla verilmiştir.

## 2.4 . Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini; erkek ve canlı ağırlıkları 30-40 gr arasında değişen, non-patojen Swiss Albino cinsi 80 deney faresi oluşturdu. Deney fareleri, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvar'ından temin edildi. Aklimatizasyon sürecinde, her bir ana grup fare konvansiyonel kafeste birlikte yer aldı. Deneme aşamasında ise, her kafeste bir fare olmak üzere, standart deney hayvanı bakım koşullarında barındırıldı. Çalışma sürecinde farelerin su ve yem ulaşmaları serbest bırakıldı. Gözlem amaçlı günde üç kez sağlık değişiklikleri gözlemlendi.

## 2.5. Hayvan Deneyleri

Yapılan çalışma, bir ana kontrol (Grup 1) ve bir deneme (Grup 2) toplam iki ana grup üzerinde yürütüldü. Grup 1 ve Grup 2 dört alt gruptan oluşmuştur. Her bir alt grupta n=10 fare yer aldı.

Deneme grubu farelere parasetamol ve liyofilize nar suyu ekstresi eş zamanlı verildi. Her iki grupta yer alan hayvanlar, deneme başlangıcından 12 saat sonra, deney hayvanları etiğine uygun olarak uyutuldu.

Ana kontrol grubu (Grup 1); biri pozitif kontrol (0.5 ml. %0.5' lik CMC/tek doz) ve diğerleri üç farklı dozda [Doz 1; 100 mg/kg/tek doz, Doz 2; 200 mg/kg/tek doz, Doz 3; 400 mg/kg/tek doz] liyofilize nar suyu ekstresi verilen gruplar olmak üzere toplam dört gruptan oluşturulmuştur.



Deneme grubunda (Grup 2); parasetamol ile karaciğer hasarı, Avlin ve ark (2009) tarafından tanımlanan model çerçevesinde oluşturuldu. Grup 2.2, 2.3 ve 2.4'de yer alan farelere, model oluşumu ile birlikte eş zamanlı tek doz nar ekstresi, üç farklı dozda mide gavajı ile verildi.

Grup 1.1 ve Grup 2.1 pozitif kontrol grupları olup, grup içi karşılaştırma için oluşturulmuştur. Grup 1.1'de yer alan farelere nar ekstresi yerine 0.5 ml/tek doz %0.5' lik CMC, Grup 2.1'de yer alan farelere ise 500 mg/kg/tek doz parasetamol mide gavajı ile verildi.

**Çizelge 2.1.** Deneme ve Kontrol grupları

Deneme ve Kontrol Grupları	Grup Denek Sayısı (n)	Toplam Denek Sayısı (n)
<b>Grup 1 (Yan Etki Grubu)</b>		
Grup1.1. 0.5 ml. %0.5'lik CMC= Pozitif Kontrol		
Grup 1.2. Tek Doz 100mg/kg LNE	10	40
Grup 1.2. Tek Doz 200mg/kg LNE		
Grup 1.2. Tek Doz 400mg/kg LNE		
<b>Grup 2 (Deneme Grubu)</b>		
Grup 2.1 Tek Doz 500mg/kg PAR= Pozitif Kontrol		
Grup 2.2 Tek Doz 500mg/kg PAR+Tek Doz 100mg/kg LNE	10	40
Grup 2.2 Tek Doz 500mg/kg PAR+Tek Doz 200mg/kg LNE		
Grup 2.2 Tek Doz 500mg/kg PAR+Tek Doz 400mg/kg LNE		
<b>LNE:</b> Liyofilize nar suyu ekstresi, <b>PAR:</b> Parasetamol, <b>CMC:</b> Karboksimetilselüloz		

## 2.5 . Örnekleme ve Analizler

Tüm gruplarda ötenazi öncesi anestezi altında düz biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı. Çıkarılan serum örnekleri ölçüm zamanına kadar -20°C'de saklandı. Eş zamanlı olarak EDTA'lı tüplere, tam kan sayımı için kan örnekleri toplandı.

### **2.6.1. Biyokimya Ölçümleri**

Elde edilen serum örneklerinde; ALT, AST, Alkalen Fosfotaz (ALP), Albumin (ALB), Total Protein (TP), Total Kolesterol (CHOL) ve Trigiserid (TG) değerleri COBAS C111 model tam otomatik biyokimya analizörü ile ölçüldü.

### **2.6.2. Hematoloji Ölçümleri**

Elde edilen kan örnekleri, antikoagulanlı tüplere alındı. Mindray marka BC 2800 model tam otomatik kan sayım cihazı ile, örnekler bekletilmeksizin, ölçüm gerçekleştirildi.

### **2.6.3. Antioksidan Ölçümler**

Antioksidan aktivite (AoA) ölçüldü. MDA düzeyi karaciğer doku örneğinde değerlendirildi.

### **2.6.4. Patolojik Muayene**

Her bir gruptaki (Grup 1 ve Grup 2) farelerin sedasyonu, ksilazin (5 mg/kg) + ketamin (100 mg/kg) anestezisi altında, uygulandı. Sedatif durumdaki farelerden, kan örnekleri toplandı. Servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi gerçekleştirildi. Prosedür sonrası farelerin karaciğer dokusu çıkarılmıştır. Alınan karaciğer dokusu

örneği histopatolojik muayene için %10'luk Ca-Formol solüsyonu içerisinde patoloji laboratuvarına sevk edildi.

%10'luk Ca-Formaldehit içerisinde 2 gün süreyle tespit edilen karaciğer doku örnekleri otoeknikon cihazına (Leica TP1020) kondu ve 12 saat süre ile takipleri yapıldı. Örnekler 56-58 °C'de eriyen parafin ile bloklandı ve bu parafin bloklar -10 °C'de buzdolabında donduruldu. Parafin bloklar, otomatik mikrotomda, 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındıktan sonra hematoksilen eosin ile boyandı. Boyanmış olan kesitler, Nikon marka ışık mikroskopunda incelendi.

Preparatların incelemesinde karaciğerde hafif dejenerasyon ve nekroz varlığı +1 şiddetinde, orta şiddette dejenerasyon ve nekroz varlığı +2, şiddetli dejenerasyon ve nekroz varlığı ise +3 olarak skorlandı.

### **2.6.5. İstatistiksel Analizler**

Yapılan istatistiksel analizlerde; her bir grubun (Grup 1 ve Grup 2) karşılaştırmasında ANOVA (Analysis of Variance) yöntemi uygulandı. Kontrol gruplarının (Grup 1.1 ve Grup 2.1) karşılaştırılmasında ise T-Test (Independent Samples T-Test) yönteminden yararlanıldı. Histopatolojik analizde ise, bütün grup karşılaştırmalarında, Ki-kare (Pearson Chi-Square) testi kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS 13.0 for Windows programı ile gerçekleştirildi.

### 3. BULGULAR

Araştırma verileri Çizelge 3.1- 3.15’de verilmiştir. ALB değerinde, Grup 1.1.’e göre Grup 1.2.’deki azalma istatistiki açıdan önemli bulundu (Çizelge 3.1). Benzer olarak, kontrol grupları karşılaştırılmasında (Grup 1.1. ve Grup 2.1.) Grup 2.1.’de ALB düzeyinde, istatistiksel açıdan önemli bir yükselme tespit edildi ( $p<0,05$ ). Grup 2’de ise, gerçekleştirilen grup içi analizde fark belirlenmedi (Çizelge 3.1., 3.2., 3.3.).

TG değerinde, Grup 1’de, gerçekleştirilen grup içi karşılaştırmada, kontrol grubuna göre, Grup 1.4.’deki fark istatistiki açıdan önemli bulundu. Grup 2’de ise kontrol grubuna göre, Grup 2.3.’deki azalmanın istatistiki açıdan önemli olduğu belirlendi. Kontrol grupları karşılaştırılmasında da, benzer olarak, Grup 2.1.’deki artış istatistiksel açıdan önemliydi ( $p<0,05$ ) (Çizelge 3.1., 3.2., 3.3.).

AST değerinde, Grup 1’de istatistiksel fark tespit edilmedi. Grup 2’de ise kontrol grubuna göre Grup 2.3.’deki azalma, istatistiksel açıdan anlamlı bulundu. Kontrol grupları karşılaştırılmasında ise Grup 2.1.’deki önemli bir artış tespit edildi ( $p=0.037$ ) (Çizelge 3.1., 3.2., 3.3.).

ALT değerinde, Grup 1’de gerçekleştirilen grup içi karşılaştırmada, istatistiksel fark tespit edilmedi. Grup 2’de ise tüm alt gruplardaki düşüş, kontrol grubuna göre, istatistiksel açıdan anlamlıydı. Kontrol grupları karşılaştırılmasında ise, Grup 2.1.’deki artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ) (Çizelge 3.1., 3.2., 3.3.).

TP değeri açısından, Grup 2’de gerçekleştirilen grup içi analizde, kontrol grubuna göre, Grup 2.2. ve Grup 2.3.’deki dşşşlerin istatistiki önemli olduğu tespit edildi. Kontrol grupları karşılaştırılmasında, Grup 2.1.’deki artış istatistiksel olarak önemliydi ( $p < 0,05$ ). Grup 1 karşılaştırılmasında ise istatistiki fark gözlenmedi (izelge 3.1., 3.2., 3.3.).

CHOL ve ALP değerlerinde, her iki grubun grup içi ve kontrol grupları (Grup 1.1. ve Grup 2.1.) karşılaştırılmasında, istatistiksel açıdan önemli bir fark tespit edilmedi (izelge 3.1., 3.2., 3.3.).

**Çizelge 3.1. Biyokimya analiz sonuçları (Grup 1).**

Gruplar	AST	ALT	ALP	TP	ALB	CHOL	TG
Grup 1.1	211,95±66,08	56,12±16,17	67,88±15,95	4,49±0,12	2,87±0,11 <sup>a</sup>	119,24±3,85	97,57±12,10 <sup>b</sup>
Grup 1.2	265,85±60,22	218,59±163,92	40,06±7,77	4,28±0,10	2,61±0,06 <sup>b</sup>	110,42±6,73	139,82±11,37 <sup>ab</sup>
Grup 1.3	223,95±46,98	117,23±38,71	55,62±4,57	4,49±0,07	2,97±0,05 <sup>a</sup>	105,76±3,77	106,69±18,42 <sup>b</sup>
Grup 1.4	304,22±74,33	82,56±31,59	69,72±8,15	4,25±0,10	2,90±0,05 <sup>a</sup>	103,29±4,39	166,31±21,93 <sup>a</sup>
p	0,72	0,568	0,156	0,196	0,014*	0,119	0,023*

\*p&lt;0,05

**Çizelge 3.2. Biyokimya analiz sonuçları (Grup 2).**

Gruplar	AST	ALT	ALP	TP	ALB	CHOL	TG
Grup 2.1	1363,10±564,97 <sup>b</sup>	1255,10±658,01 <sup>a</sup>	90,65±8,30	5,21±0,21 <sup>a</sup>	3,32±0,12	118,13±9,24	180,33±15,99 <sup>a</sup>
Grup 2.2	520,17±113,76 <sup>ab</sup>	95,42±16,32 <sup>b</sup>	71,57±4,78	4,45±0,13 <sup>b</sup>	3,15±0,11	104,40±5,91	143,14±16,11 <sup>ab</sup>
Grup 2.3	171,16±18,68 <sup>b</sup>	59,54±5,52 <sup>b</sup>	65,44±4,14	4,63±0,13 <sup>b</sup>	3,07±0,06	104,38±6,98	101,40±17,51 <sup>b</sup>
Grup 2.4	494,36±102,91 <sup>ab</sup>	231,74±67,37 <sup>b</sup>	72,21±15,22	4,90±0,11 <sup>ab</sup>	3,35±0,07	99,58±3,73	171,09±28,42 <sup>a</sup>
p	0,047*	0,016*	0,174	0,017*	0,161	0,31	0,033*

\*p&lt;0,05

**Çizelge 3.3. Kontrol grupları biyokimya analiz sonuçları (Grup1.1 ve Grup 2.1).**

Gruplar	AST	ALT	ALP	TP	ALB	CHOL	TG
Grup 1.1	211,95±66,08	56,12±16,17	67,88±15,95	4,49±0,12	2,87±0,11	119,24±3,85	97,57±12,10
Grup 2.1	1363,10±565,97	1255,10±658,01	90,65±8,30	5,21±0,21	3,32±0,12	118,13±9,24	180,33±15,99
p	0,037*	0,014*	0,242	0,01*	0,019*	0,91	0,001*

\*p&lt;0,05

Kontrol grupları karşılaştırılmasında, WBC değerinde, Grup 2.1.'de, istatistiksel açıdan önemli bir fark tespit edildi ( $p<0,05$ ). Grup 1 ve Grup 2'nin grup içi karşılaştırmalarında ise fark belirlenmedi (Çizelge 3.4., 3.5., 3.6.).

RBC değerinde, Grup 2.3. ve Grup 2.4.'deki düşüş istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ). Grup 1 ve kontrol grupları karşılaştırılmasında ise istatistiksel açıdan önemli bir fark gözlenmedi (Çizelge 3.4., 3.5., 3.6.).

Grup 2 karşılaştırılmasında HB düzeyinde, kontrol grubuna göre, Grup 2.3.'deki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Benzer olarak, kontrol grupları karşılaştırılmasında Grup 2.1.'deki artışın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ). Grup 1 karşılaştırılmasında ise istatistiksel fark tespit edilmedi (Çizelge 3.4., 3.5., 3.6.).

HCT değerinde, Grup 1 ve kontrol grupları karşılaştırılmasında istatistiksel fark tespit edilmedi. Grup 2 karşılaştırılmasında ise, kontrol grubuna göre tüm alt gruptaki düşüş istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,05$ ) (Çizelge 3.4., 3.5., 3.6.).

LENF değerinde, Grup 1 karşılaştırılmasında, Grup 1.3.'deki artış, istatistiksel olarak anlamlıydı. Grup 2'de ise, Grup 2.4.'deki yükselme ve Grup 2.3.'deki düşüş istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,05$ ). Kontrol grupları karşılaştırılmasında (Grup 1.1. ve Grup 2.1.) istatistiksel fark gözlenmemesine rağmen, Grup 2.1.'de numerik bir yükselme tespit edildi (Çizelge 3.4., 3.5., 3.6.)

MON değerinde, Grup 2 karşılaştırılmasında, istatistiksel fark tespit edilmedi. Grup 1 karşılaştırılmasında ise, kontrol grubuna göre, tüm alt gruptaki artış istatistiksel olarak önemli bulundu. Benzer olarak, kontrol grubu karşılaştırılmasında



da, istatistiksel açıdan önem arz eden bir fark belirlendi ( $p<0,05$ ) (Çizelge 3.4., 3.5., 3.6.).

PLT değerinde, Grup 1, Grup 2 ve kontrol grupları karşılaştırmalarında istatistiksel fark belirlenmedi.

GRAN değerinde, Grup 1 ve Grup 2 grup içi karşılaştırmalarında istatistiksel fark tespit edilmedi. Kontrol gruplarının karşılaştırmasında ise Grup 2.1.'deki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,005$ ) (Çizelge 3.4., 3.5., 3.6.).

Çizelge 3.4. Hematoloji analiz sonuçları (Grup 1)

Gruplar	WBC	RBC	HB	HCT	PLT	LENF	GRAN	MON
Grup 1.1	4,10±0,77	9,29±0,40	12,00±0,62	37,64±1,78	843,30±153,05	2,32±0,38 <sup>b</sup>	1,70±0,37	0,17±0,04 <sup>b</sup>
Grup 1.2	6,83±1,18	9,06±0,18	12,79±0,20	37,27±0,59	549,70±94,42	3,77±0,63 <sup>ab</sup>	2,75±0,57	0,31±0,04 <sup>a</sup>
Grup 1.3	7,68±0,90	9,17±0,10	13,19±0,17	38,30±0,55	913,90±94,79	4,14±0,49 <sup>a</sup>	3,50±0,47	0,35±0,04 <sup>a</sup>
Grup 1.4	6,08±0,78	9,29±0,22	13,19±0,32	38,05±0,90	611,00±107,05	2,70±0,43 <sup>ab</sup>	3,11±0,63	0,30±0,04 <sup>a</sup>
P	0,059	0,904	0,102	0,911	0,088	0,045*	0,108	0,038*

\*p&lt;0,05

Çizelge 3.5. Hematoloji analiz sonuçları (Grup 2)

Gruplar	WBC	RBC	HB	HCT	PLT	LENF	GRAN	MON
Grup 2.1	7,39±1,00	10,11±0,31 <sup>a</sup>	14,42±0,48 <sup>a</sup>	41,11±1,20 <sup>a</sup>	660,80±127,92	3,05±0,54 <sup>ab</sup>	4,02±0,61	0,32±0,05
Grup 2.2	8,99±1,21	9,59±0,17 <sup>ab</sup>	13,59±0,24 <sup>ab</sup>	38,80±0,70 <sup>ab</sup>	803,40±112,13	2,86±0,43 <sup>b</sup>	5,37±0,91	0,49±0,09
Grup 2.3	6,79±0,84	8,95±0,16 <sup>b</sup>	12,77±0,19 <sup>b</sup>	36,42±0,50 <sup>b</sup>	772,20±129,07	1,76±0,25 <sup>b</sup>	4,68±0,71	0,35±0,06
Grup 2.4	7,37±0,80	9,07±0,17 <sup>b</sup>	13,46±0,33 <sup>ab</sup>	38,00±0,87 <sup>b</sup>	786,40±101,38	4,16±0,43 <sup>ab</sup>	2,90±0,49	0,31±0,05
p	0,437	0,002*	0,013*	0,005*	0,826	0,004*	0,101	0,242

\*p&lt;0,05

Çizelge 3.6. Kontrol grupları hematoloji analiz sonuçları (Grup 1.1 / Grup 2.1)

Gruplar	WBC	RBC	HB	HCT	PLT	LENF	GRAN	MON
Grup 1.1	4,10±0,77	9,29±0,40	12,00±0,62	37,64±1,78	843,30±153,05	2,32±0,38	1,70±0,37	0,17±0,04
Grup 2.1	7,39±1,00	10,11±0,31	14,42±0,48	41,11±1,20	660,80±127,92	3,05±0,54	4,02±0,61	0,32±0,05
p	0,018*	0,124	0,007*	0,124	0,372	0,287	0,005*	0,045*

\*p&lt;0,05

AoA düzeyinde, Grup 1 karşılaştırmasında, kontrol grubuna göre tüm alt gruplarda düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0.001$ ). Kontrol grupları karşılaştırılmasında ise Grup 2.1.'de istatistiksel açıdan anlamlı bir fark belirlendi. Grup 2 karşılaştırmasında, kontrol grubuna göre, tüm alt gruplarda bir artma tespit edilse de, sadece Grup 2.3. ve Grup 2.4'deki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p=0,037$ ) (Çizelge 3.7., 3.8., 3.9.).

MDA açısından yapılan değerlendirmede, Grup 1 ve Grup 2'de istatistiksel fark gözlenmedi. Kontrol grupları karşılaştırılmasında ise, Grup 2.1.'deki artış istatistiki olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ) (Çizelge 3.10., 3.11., 3.12.).

**Çizelge 3.7. Antioksidan aktivite analiz sonuçları (Grup 1)**

Gruplar	Antioksidan Akt.
Grup 1.1	436,41±42,59 <sup>a</sup>
Grup 1.2	121,02±44,60 <sup>b</sup>
Grup 1.3	142,93±53,55 <sup>b</sup>
Grup 1.4	227,97±104,48 <sup>b</sup>
p	0,001*

\*p&lt;0,05

**Çizelge 3.8. Antioksidan aktivite analiz sonuçları (Grup 2)**

Gruplar	Antioksidan Akt.
Grup 2.1	78,89±47,86 <sup>b</sup>
Grup 2.2	276,48±104,89 <sup>ab</sup>
Grup 2.3	352,36±57,94 <sup>a</sup>
Grup 2.4	421,17±76,37 <sup>a</sup>
p	0,037*

\*p&lt;0,05

**Çizelge 3.9. Kontrol grupları antioksidan aktivite analiz sonuçları (Grup 1.1 / Grup 2.1)**

Gruplar	Antioksidan Akt.
Grup 1.1	436,41±42,59
Grup 2.1	78,89±47,86
p	0,000*

\*p&lt;0,05

**Çizelge 3.10. MDA analiz sonuçları (Grup 1)**

Gruplar	MDA
Grup 1.1	1,12±0,14
Grup 1.2	0,78±0,06
Grup 1.3	0,89±0,10
Grup 1.4	0,89±0,15
p	0,246

**Çizelge 3.11. MDA analiz sonuçları (Grup 2)**

Gruplar	MDA
Grup 2.1	0,73±0,06
Grup 2.2	0,55±0,06
Grup 2.3	0,49±0,03
Grup 2.4	0,67±0,11
p	0,106

**Çizelge 3.12. Kontrol grupları MDA analiz sonuçları (Grup 1.1 / Grup 2.1)**

Gruplar	MDA
Grup 1.1	1,12±0,14
Grup 2.1	0,73±0,06
p	0,023*

\*p&lt;0,05

Histopatolojik değerlendirmede; Grup 1.2.'de iki deney faresinde orta Şiddette periasiner nekroz ve dejenerasyon, Grup 1.3.'de beş deney faresinde orta Şiddette periasiner nekroz ve dejenerasyon gözlendi. Grup 1.4.'de iki deney faresinde orta Şiddette ve bir deney faresinde hafif Şiddette periasiner nekroz ve dejenerasyon belirlendi. Grup 2.1.'de dokuz deney faresinde Şiddetli periasiner nekroz ve dejenerasyon, Grup 2.2. ve Grup 2.3.'de yedi deney faresinde Şiddetli periasiner nekroz ve dejenerasyon ve Grup 2.4.'de ise beş deney faresinde Şiddetli periasiner nekroz ve dejenerasyon tespit edildi (Çizelge 3.13., 3.14., 3.15.).

Çizelge 3.13. Histopatoloji analiz sonuçları (Grup 1)

GRUPLAR	DEJENERASYON VE NEKROZ				TOPLAM
	0	+1	+2	+3	
Grup 1.1	9	1	0	0	10
Grup 1.2	8	0	2	0	10
Grup 1.3	5	0	5	0	10
Grup 1.4	7	1	2	0	10
<b>p</b>					0,181

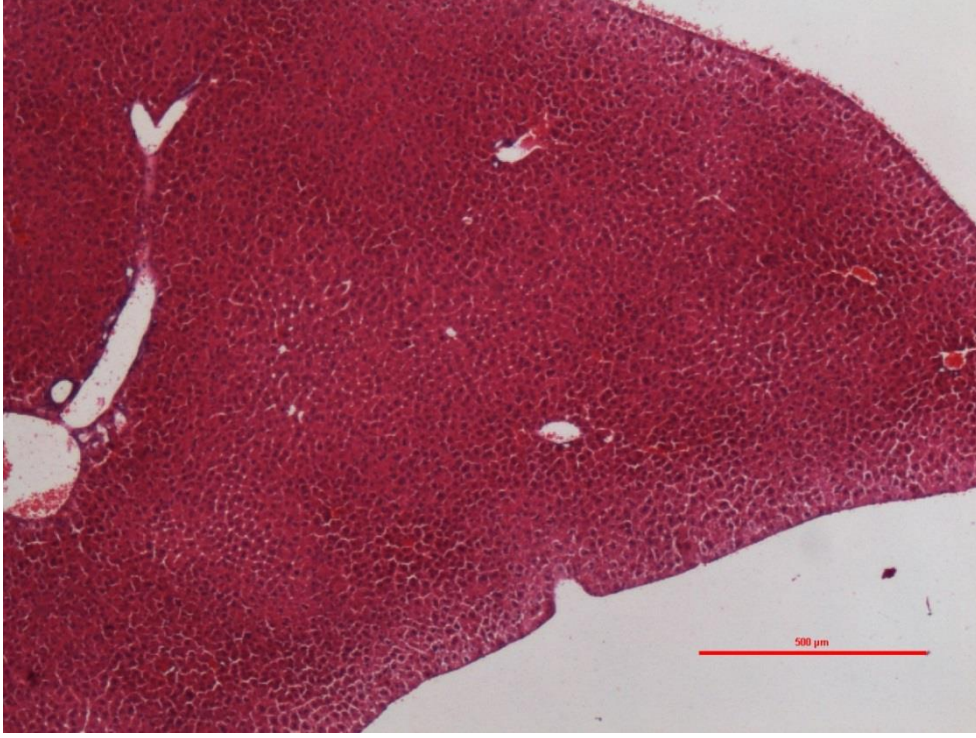
Çizelge 3.14. Histopatoloji analiz sonuçları (Grup 2)

GRUPLAR	DEJENERASYON VE NEKROZ				TOPLAM
	0	+1	+2	+3	
Grup 2.1	1	0	0	9	10
Grup 2.2	3	0	0	7	10
Grup 2.3	3	0	0	7	10
Grup 2.4	5	0	0	5	10
<b>p</b>					0,283

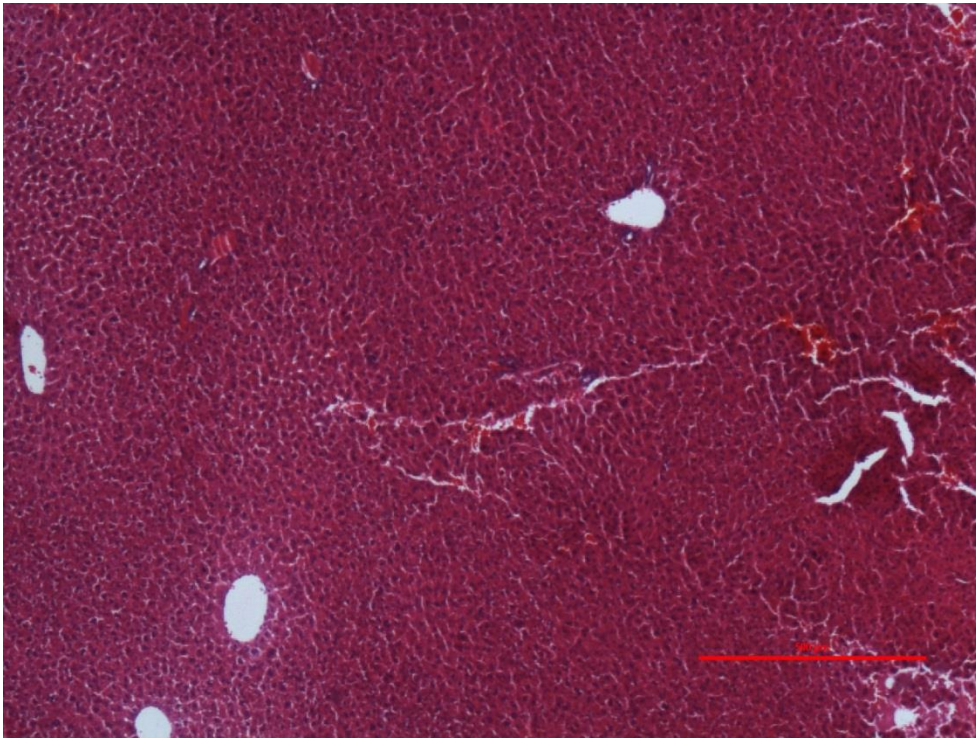
Çizelge 3.15. Kontrol grupları histopatoloji analiz sonuçları (Grup 1.1 / Grup 2.1)

GRUPLAR	DEJENERASYON VE NEKROZ				TOPLAM
	0	+1	+2	+3	
Grup 1.1	9	1	0	0	10
Grup 2.1	1	0	0	9	10
<b>p</b>					0,000*

\*p&lt;0,05

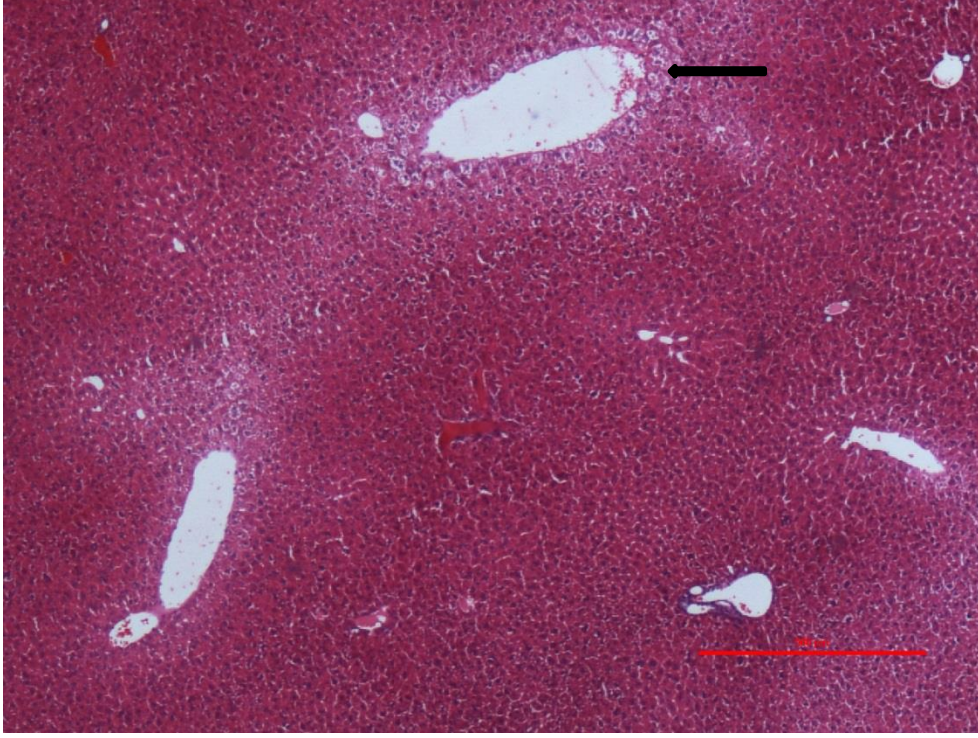


**Resim 3.1.** Grup 1.1. Karaciğer dokusu, normal histopatolojik bulgu (H.E), Bar: 500µm

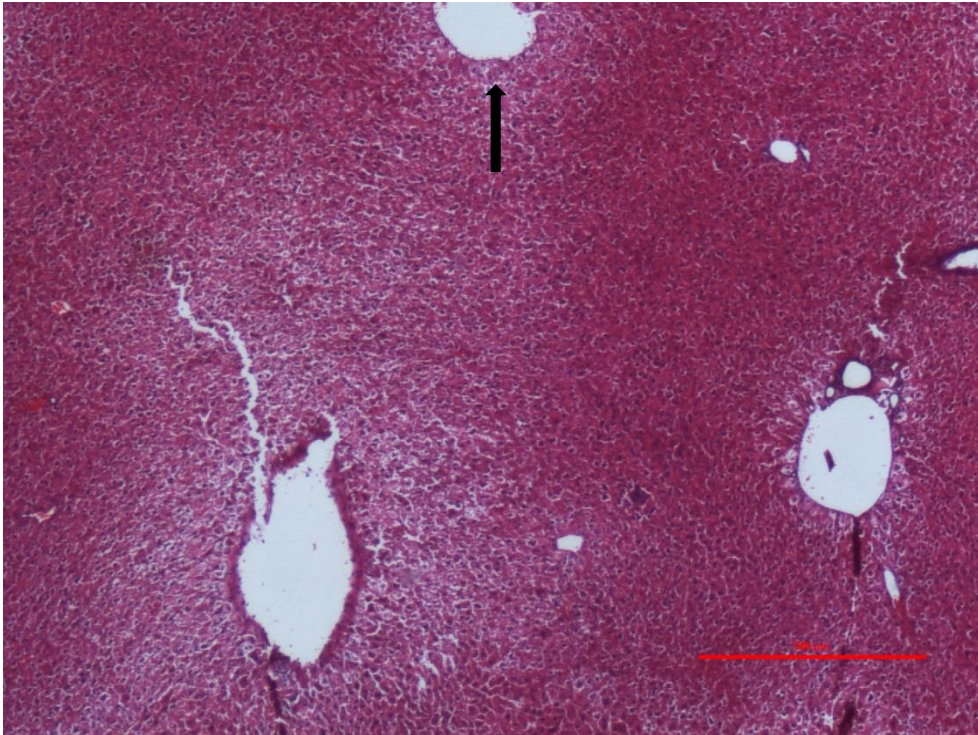


**Resim 3.2.** Grup 1.2. Karaciğer dokusu, normal histopatolojik bulgu (H.E), Bar: 500µm

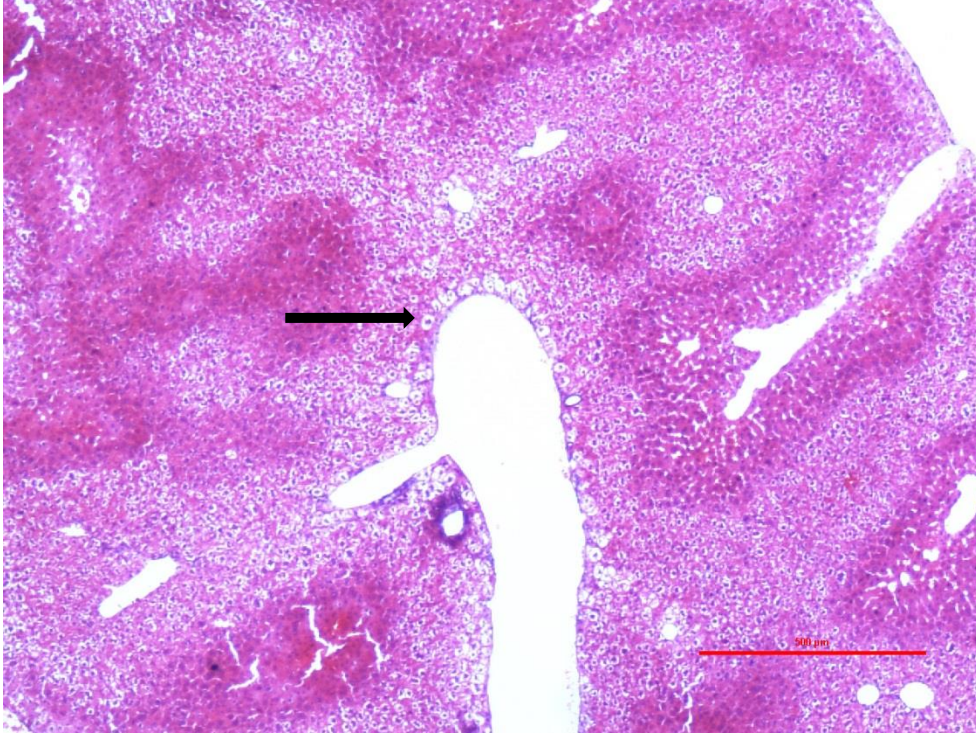




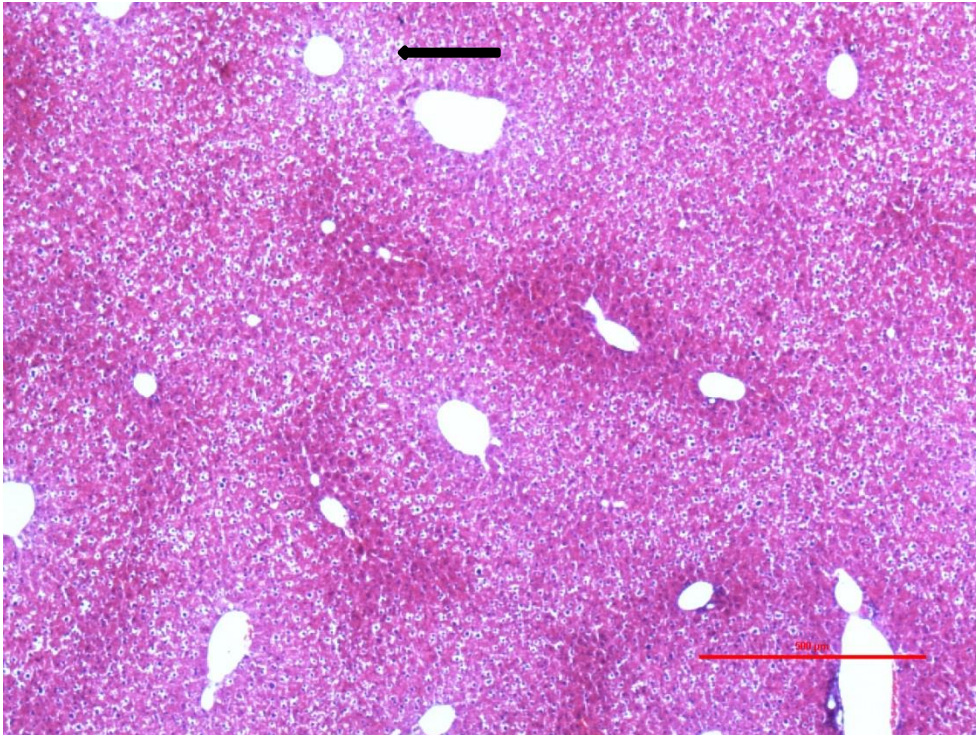
**Resim 3.3.** Grup 1.3. Karaciğer dokusu, periasiner orta şiddetli nekroz (ok) (H.E), Bar: 500 $\mu$ m



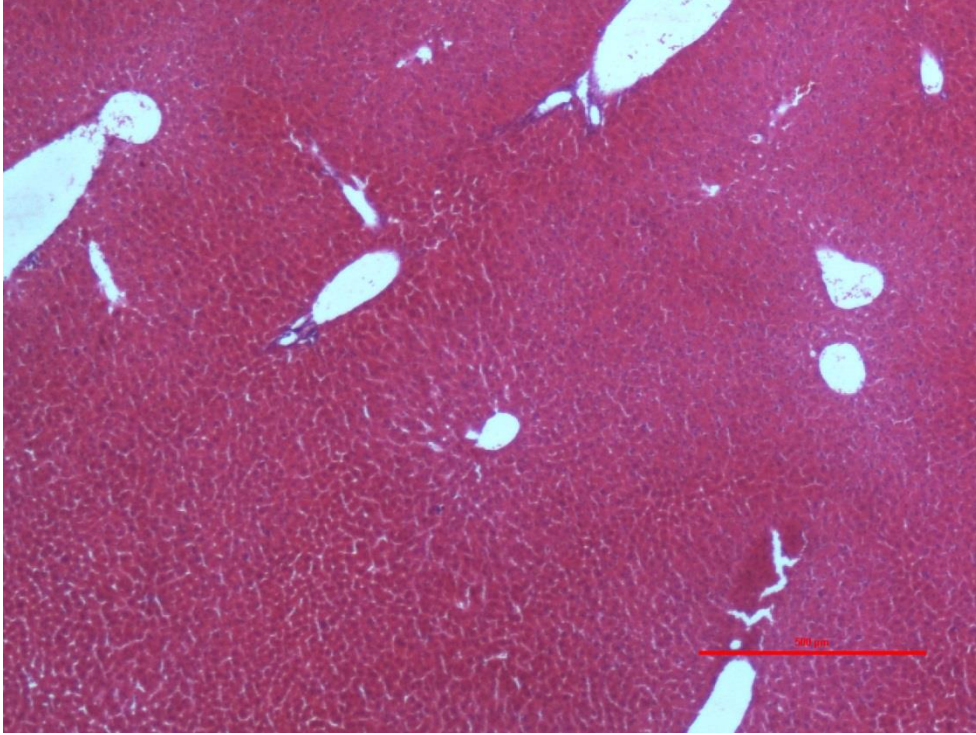
**Resim 3.4.** Grup 1.4. Karaciğer dokusu, periasiner orta şiddetli nekroz (ok) (H.E), Bar: 500 $\mu$ m



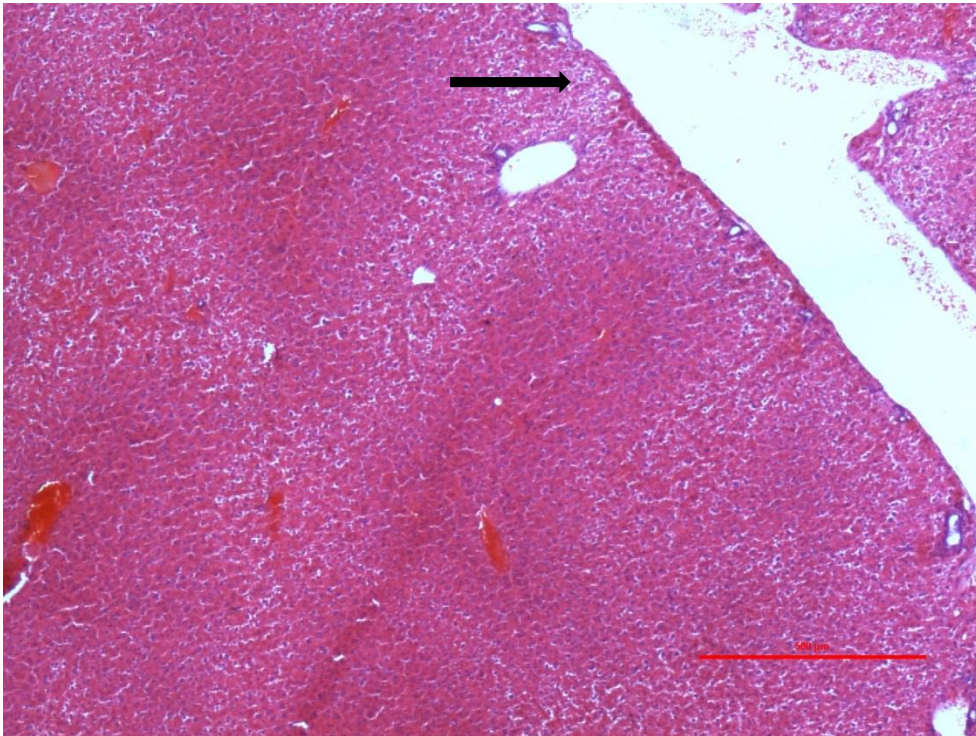
**Resim 3.5.** Grup 2.1. Karaciğer dokusu, periasiner şiddetli nekroz (ok) (H.E), Bar: 500 µm



**Resim 3.6.** Grup 2.2. Karaciğer dokusu, periasiner şiddetli nekroz (ok) (H.E), Bar: 500µm



**Resim 3.7.** Grup 2.3. Karaciğer dokusu, normal histopatolojik bulgu (H.E), Bar: 500µm



**Resim 3.8.** Grup 2.5. Karaciğer dokusu, periasiner şiddetli nekroz (ok) (H.E) Bar: 500µ

#### 4. TARTIŞMA

Parasetamol, özellikle beşeri hekimlikte, sık kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır. Bununla birlikte; yüksek dozda alınan parasetamolün sentrolobüler karaciğer nekrozuna neden olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Melli ve Kayaalp, 2006; Alfio ve ark., 2006; Çalışkan ve Akçam, 2014). Fareler üzerinde yürütülmüş olan bir çalışmada parasetamolün 300 mg/kg ve üzerindeki dozlarda şiddetli akut karaciğer nekrozuna neden olduğu rapor edilmektedir (Doudar ve ark., 1985; Corcoran ve ark., 1985). Yüksek dozda alınan parasetamol, GSH düzeyini düşürerek toksik metabolit olan NAPQI'nın fazla miktarda açığa çıkmasına sebep olur (Hinson ve ark., 2004). Nar ise GSH ve diğer antioksidan parametrelerinin konsantrasyonlarını yükseltir (Kanbur ve ark., 2009). Sunulan çalışmada narın parasetamol tarafından indüklenen karaciğer hasarı üzerine etkileri araştırıldı.

Serum ALT düzeyindeki hızlı yükseliş parasetamolün neden olduğu akut karaciğer hasarının en önemli indikatörüdür (Black, 1980; Şener ve ark., 2005). Serum AST ve ALP düzeyleri ise karaciğer hasarı ve yanı sıra çeşitli diğer organ ve doku hasarlarında da artabilir. Bu nedenle ALT değerindeki yükseliş, karaciğer hasarını değerlendirmede dikkate alınmalıdır (Meyer ve Harvey, 1994; Hajimendipoor ve ark., 2006). Deneysel parasetamol intoksikasyonunda serum ALT, AST ve ALP değerlerinin yükseldiği farklı araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Şener ve ark., 2005; Küpeli ve ark., 2006). Benzer olarak, sunulan çalışmada da, parasetamolün serum AST ve ALT konsantrasyonlarını istatistiksel açıdan önemli düzeyde yükselttiği tespit edildi. Bununla birlikte, serum ALP düzeyinde numerik bir artış belirlendi. Khalil (2002) yapmış olduğu çalışmada, ratlara parasetamol ile birlikte nar kabuk ekstresi vermiş ve ALT ve AST değerlerinde yükselme olmadığını bildirilmişlerdir. Sunulan araştırma raporunda da,

özellikle 200 mg/kg liyofilize nar ekstresi verilen farelerde serum ALT ve AST değerleri kontrol grubu düzeyinde ölçüldü.

ALB plazma proteinlerinin %50'sini oluşturur. Osmotik basıncı kontrol eder (Bern ve ark., 2015). Yapılan bir toksisite çalışmasında nar ekstresi, dişi ratlarda, 60 mg/kg/gün dozunda kullanıldığında, serum ALB konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir oranda artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Patel ve ark., 2008). Başer ve Civelek (2014), yapmış oldukları çalışmada, 50, 100 ve 200 mg/kg/gün nar ekstresi verdikleri tavşanlarda narın serum ALB konsantrasyonu üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada; Grup 1'de, 100 mg/kg dozunda verilen liyofilize nar ekstresinin farelerde serum ALB konsantrasyonunu istatistiksel açıdan önemli düzeyde düşürdüğü tespit edildi. Grup 2'de ise, serum ALB konsantrasyonunda bir değişim tespit edilmedi.

Kanbur ve ark (2009), parasetamolün serum ALB konsantrasyonu üzerine etkisi olmadığını rapor etmektedir. Araştırmamızda da, Grup 2 karşılaştırmasında, serum ALB konsantrasyonunda önem arz eden bir fark belirlenmedi. Hayvanlarda albuminin yarı ömrü uzun olup, ALB konsantrasyonu ancak diffuz hepatopatilerde ve portasistemik şantta azalır (Bern ve ark., 2015). Çalışmamızda parasetamole bağlı akut karaciğer hasarı modeli kullanılmış olup, serum ALB konsantrasyonunda bir azalma belirlenmemiştir. Kontrol gruplarının karşılaştırılmasında ise serum ALB değeri Grup 2.1.'de, Grup 1.1.'e göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek ölçüldü. Elde edilen ALB düzeyleri tüm gruplarda referans aralığındadır (Mazzaccara ve ark., 2008).

Bu araştırmada, serum TP konsantrasyonunda, Grup 1'de istatistiksel bir fark tespit edilmedi. Sonuçlarımızla uyumlu (Vidal ve ark., 2003; Başer ve Civelek, 2014) ve uyumsuz (Patel ve ark., 2008) çalışmalar bulunmaktadır. Grup 2.2. ve Grup 2.3.'de, kontrol grubuna göre, istatistiksel açıdan önem arz eden bir azalma tespit

edildi. Yapılan bir çalışmada, sunulan rapordan farklı olarak, narın model grubunda düşen TP düzeyini yükselttiği bildirilmektedir (Osman ve ark., 2011). Bununla birlikte, Mazzaccara ve ark (2008), farelerin normal serum biyokimya düzeyleri üzerine yapmış oldukları çalışmada erkek farelerde serum TP düzeyini (4.3-6.5 mg/dl) olarak bildirmişlerdir. Grup 2.2. ve Grup 2.3. de, düşüş olsa da, bu değerler fareler için referans aralıktadır. Murali ve ark (2012), parasetamol ile oluşturdukları karaciğer hasarında (1g/kg-7gün) serum TP düzeyinin istatistiksel önemli oranda düştüğünü rapor etmişlerdir. Farklı olarak, sunulan çalışmada ise kontrol gruplarının karşılaştırılmasında, Grup 2.1.'de istatistiksel açıdan önem arz eden bir artış tespit edilmiştir.

Grup 1 ve 2'de, gerçekleştirilen grup içi analiz sonuçları, narın serum CHOL düzeyine herhangi bir etkisinin olmadığını ortaya koydu. Diğer çalışma sonuçları da bulgularımızla paraleldir (Vidal ve ark., 2003; Patel ve ark., 2008; Başer ve Civelek, 2014).

Narın toksisitesi üzerine yapılan farklı araştırmalarda, tam nar meyve ekstresinin serum TG düzeyine etkisi olmadığı bildirilmiştir (Vidal ve ark., 2003; Patel ve ark., 2008; Başer ve Civelek, 2014). Araştırmamızda ise, yapılan çalışmalardan farklı olarak, Grup 1'de, 400 mg/kg dozunda uygulanan nar ekstresinin serum TG konsantrasyonunu istatistiksel açıdan önem arz eden düzeyde yükselttiği tespit edildi. Yüksek yağlı diyet ile beslenen hayvanlara 400 ve 800 mg/kg/gün dozunda nar kabuğu ekstresi verildiğinde TG değerinde istatistiksel olarak önemli oranda bir düşüş saptanmıştır (Lei ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2010; Başer ve Civelek, 2014). Sunulan çalışmada, parasetamol toksisitesine bağlı yükselen TG değerinin, 200 mg/kg dozunda liyofilize nar ekstresi uygulandığında istatistiksel açıdan önemli düzeyde düştüğü tespit edildi. Kanbur ve ark. (2009), yapmış oldukları çalışmada, akut parasetamol toksisitesinin serum TG konsantrasyonu üzerine etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada ise, farklı olarak,

parasetamolün serum TG konsantrasyonunu istatistiksel açıdan önemli oranda yükselttiği tespit edildi.

WBC değeri yönünden gerçekleştirilen grup içi analizde, Grup 1 ve Grup 2’de istatistiksel bir fark tespit edilmedi. Oshida ve ark (2008), parasetamol toksisitesi üzerine yapmış oldukları çalışmada, 150 mg/kg dozuna kadar verilen parasetamolün, WBC değeri üzerine etkisi olmadığını bildirmiştir. Sunulan çalışmada ise, farklı olarak, 500 mg/kg dozunda verilen parasetamolün, WBC düzeyini istatistiki açıdan önemli oranda arttırdığı tespit edildi.

RBC, HB ve HCT değerleri incelendiğinde Grup 1’de istatistiki bir fark gözlenmedi. Grup 2’de ise, özellikle 200 mg/kg dozunda verilen liyofilize nar ekstresinin bahsedilen tüm değerlerde istatistiki açıdan önem arz eden bir düşüşe sebep olduğu tespit edildi. Kontrol gruplarının karşılaştırılmasında, yalnızca HB değerinde istatistiki açıdan önem arz eden bir yükselme belirlendi. Konuyla ilgili benzer çalışma bulunmamaktadır (Web of Sci.).

Araştırmamızda kan LENF düzeyinde, Grup 1.3.’de istatistiksel açıdan önem arz eden bir artış tespit edildi. Benzer araştırmaların sonuçları da, çalışmamızla paralellik göstermektedir (Kubar ve ark., 2013; Başer ve Civelek, 2014). Grup 2’de ise Grup 2.4.’de, Grup 2.3.’e göre, önemli düzeyde bir artış belirlendi. Çalışmamıza benzer bir araştırma bulunmamaktadır (Web of Sci.). Kontrol grupları karşılaştırma sonuçları, LENF düzeylerinde istatistiksel bir fark ortaya koymadı. GRAN değerinde de, Grup 1 ve Grup 2’de istatistiksel fark tespit edilmemiştir. Kontrol gruplarının karşılaştırılmasında ise verilen 500 mg/kg dozundaki parasetamolün GRAN düzeyini istatistiksel açıdan önemli düzeyde artırdığı belirlendi.

Dolaşıma salınan monositler, türlerine göre 1-3 gün sonra vücut boşluklarına geçerek makrofajlara dönüşürler. Monositler ana fonksiyonlarını, makrofajlara dönüştükten sonra, dokularda meydana getirir. Doku makrofajları ölü ve hasara uğramış dokuları uzaklaştırmakla görevlidir. Bazı bakteri, virüs, mantar ve protozoonlara karşı mikrosidal etki gösteriler (Ziegler-Heitbrock, 2014). Sunulan çalışmada, Grup 1’de narın verildiği tüm dozlarda, kan monosit düzeylerini istatistiksel açıdan önem arz eden düzeyde arttırdığı tespit edildi. Benzer olarak, kontrol gruplarının karşılaştırılmasında da parasetamolün de MON düzeylerini artırdığı belirlenmiştir. Artış belirlenmesine karşın tüm değerler referans sınırları arasında ölçüldü (Serfilippi ve ark., 2003)

Serum ve dokulardaki antioksidan düzeyleri üzerine nar suyu ve narın çeşitli kısımlarından elde edilen çeşitli polaritedeki ekstraktlarının etkinliğini ortaya koyan birçok çalışma bulunmakla birlikte, bu çalışmalardan elde edilen veriler tutarlı değildir (Faria ve ark., 2007; Yüce ve Aksakal, 2007; Moneim ve ark., 2012; Ashoush ve ark., 2013; Başer ve Civelek, 2014). Bu araştırmada ise, Grup 1’de, tüm alt gruplarda antioksidan düzeylerinin azaldığı, Grup 2’de ise tüm alt gruplarda istatistiki açıdan önem arz eden düzeyde arttığı tespit edildi.

Narın lipid peroksidasyonu azaltıcı etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Matthaiou ve ark., 2014). MDA ise lipid peroksidasyonunun önemli bir biyolojik göstergesidir. Farklı çalışmalarda narın farklı sürelerde serum MDA konsantrasyonu üzerine etkileri araştırılmış ve iki hafta ve üzeri süre ile kullanılan narın serum MDA düzeylerini istatistiki açıdan önemli düzeyde azalttığı bildirilmiştir (Aviram ve ark., 2000; Rosenblat ve ark., 2006; Guo ve ark., 2008; Shema-didi ve ark., 2012, Matthaiou ve ark., 2014). Matthaiou ve ark (2014) yapmış oldukları çalışmada nar suyunun iki hafta süre ile kullanımında ve Başer ve Civelek (2014) ise tam nar meyve ekstresinin sekiz hafta süre ile kullanımını sonucunda serum MDA konsantrasyonlarında herhangi bir fark olmadığını rapor etmektedir. Çalışmamızda da, bu iki çalışmaya benzer olarak, serum MDA konsantrasyonlarında istatistiksel



açından önem arz eden bir fark tespit edilmedi. Bunun başlıca nedeni çalışmamızda tam nar meyve ekstresinin tek doz kullanımı ve kısa süreli gözlem yapılmış olması olabilir. Çalışmamız 12. saat sonunda nihayetlenmiştir. Ashoush ve ark (2013), CCl<sub>4</sub> ile oluşturdukları karaciğer hasarında 28 gün süre ile kullanılan narın üç farklı ekstresinin karaciğer koruyucu etkinliğini araştırmışlar ve üç ekstrenin de serum MDA konsantrasyonunu düşürdüğünü bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada, Grup 2’de MDA konsantrasyonlarında istatistiki fark tespit edilmedi. Bu durum, çalışmamızda gelişen akut parasetamol toksisitesine bağlı olarak MDA düzeyinin yükselmemiş olması ile ilişkili olabilir. Yanı sıra, bu çalışmada nar ekstresi tek doz kullanılmıştır. Yapılan farklı çalışmalarda, parasetamolün akut karaciğer hasarında serum ve karaciğer MDA düzeylerinde artışa neden olduğu bildirilmektedir (Girish ve ark, 2009; Kanbur ve ark., 2009; Nidhal AK ve Shatha, 2013). Sunulan çalışmada ise, kontrol gruplarının karşılaştırılmasında istatistiki açıdan önemli bir fark tespit edilmedi.

Karaciğer dokusunun histopatolojik değerlendirmesinde, 100 mg/kg dozunda verilen liyofilize nar ekstresinin iki hayvanda orta şiddette periasiner nekroz ve dejenerasyona, 200 mg/kg dozunda verilen liyofilize nar ekstresinin beş hayvanda orta şiddette periasiner nekroz ve dejenerasyona, 400 mg/kg dozunda verilen liyofilize nar ekstresinin ise iki hayvanda orta şiddette ve bir hayvanda ise hafif şiddette periasiner nekroz ve dejenerasyona neden olduğu belirlendi. Bu sonuç; Patel ve ark (2008)’nin yürüttükleri çalışma ile uyumlu değildir.

Bu araştırmada, sadece 500 mg/kg parasetamol verilen grupta dokuz hayvanda şiddetli periasiner nekroz ve dejenerasyona rastlanmıştır, parasetamol ile beraber 100 mg/kg ve 200 mg/kg liyofilize nar ekstresi verilen gruplarda ise yedi hayvanda periasiner nekroz ve dejenerasyon belirlenmiştir, 400 mg/kg dozunda liyofilize nar ekstresi verilen grupta ise yalnızca altı hayvanda periasiner nekroz ve dejenerasyon tespit edilmiştir. Tek başına parasetamol karaciğer dokusunda şiddetli yıkıma yol açarken (Çalışkan ve Akçam, 2014), serum AST, ALT, ALP

konsantrasyonlarında da önemli oranda bir artışa neden olmuştur. Parasetamol ile birlikte liyofilize nar ekstresinin verilmesi, karaciğer hasarını dokuda belli bir düzeyde azaltırken, serum enzim konsantrasyonlarının ise daha belirgin bir düzeyde düşmesine neden olmuştur. Bu sonuçlara göre, ‘aktif’ liyofilize nar ekstresi dozunun 200 mg/kg olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak; araştırma verileri farelerde 200 mg/kg dozunda kullanılan tam meyve liyofilize nar ekstresinin karaciğerde hasara yol açabileceğini ortaya koydu. Ayrıca, tedavi amaçlı parasetamolle birlikte kullanılan 200 mg/kg dozundaki ekstrenin; antioksidan aktiviteyi arttırdığı, karaciğer enzim değerlerinde önemli düzeyde düşüşe neden olduğu ve karaciğer histopatoloji sonuçlarına göre ise bu dozdaki kullanımın önemli oranda iyileşmeye neden olduğu belirlendi.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Grup 1’de; kullanılan nar ekstresi, serum ALB, TG, LENF ve MON konsantrasyonlarında artışa yol açtı. Bununla birlikte, ALB ve TG düzeyleri referans aralıkta ölçüldü. Histopatoloji sonuçları değerlendirildiğinde, kullanılan liyofilize tam meyve nar ekstresinin farelerde, tüm dozlarda değişen derecelerde karaciğer hasarına yol açtığı tespit edildi. AoA değerlendirmesinde ise, 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 400 mg/kg dozunda verilen liyofilize tam meyve nar suyu ekstresinin doz artışına bağlı olarak antioksidan aktivite gösterdiği belirlendi.

Grup 2’de; serum AST, ALT, TP, TG konsantrasyonlarında ve RBC, HB, HCT, LENF kan düzeylerinde önemli derecede azalma gözlemlendi. AoA konsantrasyonunda ise belirgin düzeyde bir artış saptandı. 200 mg/kg dozunda verilen liyofilize tam meyve nar suyu ekstresinin, serum biyokimya ve kan düzeyleri üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Parasetamol ile birlikte verilen liyofilize nar suyu ekstresinin AoA düzeylerinde önemli derecede artışa neden olduğu belirlendi. Grup 2 histopatoloji sonuçları; liyofilize nar suyu ekstresinin, parasetamolün neden olduğu akut karaciğer hasarındaki aktivitesine vurgu yapmaktadır.

Sunulan çalışmada farelerde parasetamol ile indüklenen akut karaciğer hasarı üzerine narın etkileri araştırıldı. Sonuçlar; parasetamolün neden olduğu akut karaciğer hasarında, koruyucu etkinlik açısından 200 mg/kg dozunda liyofilize nar ekstresi kullanımını öne çıkarmaktadır. Bununla birlikte; bu çalışmada yan etki grubunda, tüm dozlarda gözlenen farklı derecelerdeki karaciğer hasarı, narın karaciğer üzerine toksik etkisi olabileceğini gösteren olası bir bulgu olarak değerlendirildi. Bu durum sunulan araştırmanın faydasını sınırlamaktadır. Bu

çerçeve; yürütülecek olan benzer çalışmalarda yeni bir doz (doz-cevap eğrisi) ayarlaması yapılabilir ve bu çerçevede farelere verilen tam meyve nar ekstresi dozları azaltılabilir (Ör; 25-50-100 mg/kg gibi). Aynı zamanda; yapılacak olan yeni çalışmalarda uzun dönem takibe yer verilmesi ve araştırma planında saat bazında gözlemin (12. saat, 24. saat, 48. saat gibi) esas alınması önerilir. Özetle, tam meyve liyofilize nar suyu ekstresinin farelerde karaciğer hasarına yol açabilme potansiyeli olduğu göz ardı edilmemelidir.

## ÖZET

### **Farelerde parasetamol ile indüklenen akut karaciğer hasarı üzerine narın (*Punica granatum L.*) etkileri**

Bu çalışmanın amacı; farelerde parasetamol ile oluşturulan akut karaciğer hasarı modelinde, liyofilize tam meyve nar suyu ekstresinin karaciğer koruyucu etkinliğini ve olası yan etkilerini ortaya koymaktır. Çalışmamızda, canlı ağırlıkları 30-40 gr arasında değişen, non-patojen Swiss Albino ırkı 80 erkek deney faresi kullanıldı. Araştırma, iki ana grup toplam sekiz alt grup üzerinde yürütüldü. Birinci gruptaki (yan etki grubu) farelere farklı dozlarda nar ekstresi verildi. İkinci gruptaki (deneme grubu) farelere ise tek doz parasetamol ile birlikte eş zamanlı farklı dozlarda nar ekstresi uygulandı. Çalışma sonunda uyutulan deney farelerinden kan ve doku örnekleri toplandı.

Biyokimya analiz sonuçları; parasetamol ile birlikte verilen liyofilize ekstrenin, serum AST, ALT, TP ve TG düzeylerinde önemli oranda bir düşüşe neden olduğunu ortaya koydu. Deneme grubunda verilen nar ekstresi, RBC, HB, HCT ve LNF konsantrasyonlarında bir azalmaya yol açtı. Histopatoloji değerlendirme sonuçları; tek başına verilen liyofilize nar suyu ekstresinin farelerde karaciğer hasarına neden olduğunu, parasetamol ile birlikte eş zamanlı verilen liyofilize nar suyu ekstresinin ise, özellikle belirli bir dozda, karaciğer koruyucu etkinliği olabileceğini ortaya koydu. Ölçülen AoA düzeyleri, liyofilize nar suyu ekstresinin antioksidan aktivitesine vurgu yapmaktadır.

Sunulan çalışma sonuçları, parasetamol ile oluşturulan akut karaciğer hasarında, hepatoprotektif aktivite açısından, liyofilize nar suyu ekstresinin etkin dozunun 200 mg/kg olduğunu göstermektedir. Yan etki grubunda elde edilen sonuçlar ise farelerde liyofilize tam meyve nar suyu ekstresinin olası hepatotoksik etkisine vurgu yapmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Hepatotoksisite, Bioaktivite, Antioksidan etki, Hepatoprotektif etkinlik, Asetaminofen

## SUMMARY

### **Effects of pomagranate (*Punica granatum L.*) on paracetamol induced acute hepatic damage in mouses**

The aim of this study is; to present preservative efficiency and potential side effects of lyophilised absolute pomegranate juice extract on acute hepatic damage models which created by paracetamol usage in mouses. In our study, 80 non-pathogen, male Swiss Albino lab rats within 30-40 gr live weight range has been used. The study has performed in 2 main groups and a total of 8 subgroups. Different doses of pomegranate juice extract is given to mouses in first group which is the side effects group. And different doses of pomegranate juice extract is given simultaneously with a dose of paracetamol to mouses in second group which is the testing group. After the study, blood and tissue samples had collected from euthanized rats.

The results of biochemical analyses showed us that; the lyophilised extract which given along with paracetamol, had caused a significant decrease on serum AST, ALT, TP and TG levels. The pomegranate extract which is given to testing group caused a drop on RBC, HB, HCT and LNF concentrations. Results of histopathological evaluations presented that; whilst the lyophilised pomegranate juice caused hepatic damage when used alone; using it simultaneously with paracetamol could have a preservative effect on liver in a specific dose. Measured AoA levels emphasises to anti oxidant activity of lyophilised pomegranate juice extract.

Result of study shows us, the effective dose of lyophilised absolute pomegranate juice extract on paracetamol induced hepatic damage is 200 mg/kg with regards to hepatoprotective activity. And results which gathered from the side effect

group emphasises to possible hepatotoxic effects of lyophilised absolute pomegranate juice extract in mouses.

**Key Words:** Hepatotoxicity, Bioactivity, Antioxidant effects, Hepatoprotective activity, Acetaminophen



## KAYNAKLAR

- AFAQ, F., SALEEM, M., KRUEGER, C.G., REED, J.D., MUKHTAR, H. (2005). Anthocyanin- and hydrolyzable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-kB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *Int J Cancer*, **113**:423-433.
- AFAQ, F., ZAID, M.A., KHAN, N., DREHER, M., MUKHTAR, H. (2009). Protective effect of pomegranate-derived products on UVB-mediated damage in human reconstituted skin. *Exp Dermatol*, **18**:553-61.
- AKÇAM, M., ÇALIŞKAN, D. (2014). Ratlarda parasetamole bağlı akut karaciğer toksisitesinde nar suyunun koruyucu etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- AKKOSE, S., BULUT, M., ARMAĞAN, E., CEBICCI, H., FEDAKAR, R. (2005). Acute poisoning in adults in the years 1996-2001 treated in the uludağ universty hospital, Marmara region, Turkey. *Clin Toxicol (Phila)*, **43**:105-9.
- AKTAŞ, Ö., ESKIOCAK, S. (2013). Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda L-karnitinin lipid peroksidasyonu ve oksidan stres üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniv. Tıp Fakültesi.
- ALFIO, B., ANNA, F., ALESSANDRA, O. (2006). Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, **12**:250-275.
- ANDERSON, B.J. (2008). Paracetamol (Acetaminophenol): mechanism of action. *Pediatric Anesthesia*, **18**:915-921.
- AROA, K., WANG, Y., INOUE, N., HIRATA, J., CHA, J.Y., NAGAO, K., YANAGITA, T. (2004). Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9cis, 11trans, 13cis conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF Rats. *Lipids in Health and Disease*, **3(24)**:1-7.

- ASHOUSH, I.S., EL-BATAWY, O.I., EL-SHOORBAGY, G.A. (2013). Antioxidant activity and hepatoprotective effect of pomagranate peel and whey powdersin rats. *Annals of Agricultural Science*, **58(1):27-32**.
- AVIRAM, M., DORNFELD, L., ROSENBLAT, M., VOLKOVA, N., KAPLAN, M., COLEMAN, R. (2000). Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nutr*, **71:1062-1076**.
- BAKIR, S., KELLE, M. (2015). Sisplatinin sıçan böbrek ve karaciğer dokusu üzerindeki toksik etkisine karşı nar suyu özütünün koruyucu etkinliğinin araştırılması. Doktora Tezi, Dicle Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- BERN, M., SAND, K.M.K., NILSEN, J., SANDLIE, I., ANDERSEN, J.T. (2015). The role of albümin receptors in regulation of albümin homeostasis: Implications for drug delivery. *Journal of Contrelled Release*, **211:144-162**.
- BERNAL, W., JUHA, W., MOHAMED, R. (1998). Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology*, **27:1050-1055**.
- BESSEMS, J.G., VERMEULEN, N.P. (2001). Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Critical Reviews in Toxicology*, **31:55-138**.
- BLACK, M. (1980). Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology*, **78(2):382-392**.
- BOND, G.R., REGUA, R.K., KRENZELOK, E.P., NORMANN, S.A., TENDLER, J.D., MORRIS, C.L., McCOY, D.J., THOMPSON, M.W., McCARTHY, T., ROBLEZ, J., TAYLOR, C., DOLAN, M.A., CURRY, S.C. (1993). Influence of time until emesis on efficacy of decontamination using acetaminophen as a marker in a pediatric population. *Ann Emerg Med*, **22:1403-7**.
- BOROCHOW-NEORİ, H., JUDEINSTEİN, S., TRIPLER, E., HARARI, M., GREENBERG, A., SHOMER, I., HOLLAND, D. (2009). Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomagranate (*Punica granatum L.*) fruit. *J Food Compos Anal*, **22:189-195**.

- BOTTING, R.M. (2000). Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clinical infectious diseases: an official publication of the infectious diseases. Society of America*, **31(5)**:202-210.
- BOUTAUD, O., ARONOFF, D.M., RICHARDSON, J.H., MARNET, L.J., OATES, J.A. (2002). Determinants of the cellular specificity of acetaminophen as an inhibitor of prostaglandin H<sub>2</sub> synthases. *Proc Natl Acad Sci*, **99**:7130-35.
- BOYLAND, E., CHASSEAUD, L.F. (1969). The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, **32**:173-219.
- BRODIE, B.B., AXELROD, J. (1948). The fate of acetanalide in man. *J Pharmacol Exp Ther*, **94**:24-38.
- BRONSTEIN, A.C., SPYKER, D.A., CANTILENA, L.R., GREEN, J., RUMACK, B.H., HEARD, S.E. (2007). 2006 Annual report of the american association of poison control centers national poison data system (NPDS). *Clin Toxicol (Phila)*, **45**:815-917.
- BRUNTON, L.L. (2009). Goodman ve Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. Sy. 693-5.
- CARLSSON, K.H., MONZEL, W., JURNA, I. (2002). Depression by morphine and the non-opioid analgesic agents, metamizol (dipyrone), Iysine acetylsalicylate, and paracetamol, of activity in rat thalamus neurones evoked by electrical stimulation of nociceptive. *Proc Natl Acad Sci*, **99**:7130-35.
- CHANDRA, R., JADHAV, V.T., SHRAMA, J. (2010). Global scenario of pomagranate (*Punica granatum L.*) culture with special reference to India. In: Chandra, R. (Ed.), Pomagranate. *Fruit Veg Cereal Sci. Biotechnol*, **4(2)**:17-18.
- BASER, D.F., CIVELEK, T. (2014). Steatohepatit tavşan modelinde narın (*Punica Granatum L.*) karaciğer koruyucu etkisi. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Univ. Sağlık Bilimleri Enstitüsü .
- CLISSOLD, S.P. (1986). Paracetamol and Phenacetin. *Drugs*, **32**:46-59.
- COLLE, D., ARANTES, L.P., GUBERT, P., da LUZ, D.C., ATHAYDE, M.L., TEIXEIRA ROCHA, J.B., SOARES, F.A. (2012). Antioxidant properties of taraxacum officinale

leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *J Med Food*, **15**:549-56.

COMHAIR, S.A., ERZURUM, S.C. (2005). The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxid Redox Signal*, **7(1-2)**:72-9.

CORCORAN, G.B., MITCHELL, J.R., VAISHNAV, Y.N., HORNING, E.C. (1980). Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinimine. *Molecular Pharmacology*, **18**:536-542.

CORCORAN, G.B., RACZ, W.J., SMITH, C.V., MICHELL, J.R. (1985). Effects of *N*-acetylcysteine on acetaminophen covalent binding and hepatic necrosis in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, **232**:864-72.

CRIPHERSEN, A.B., LEVIN, D., HOEGBERG, L.C.G., ANGELO, H.R., KAMP, J.P. (2002). Activated charcoal alone or after gastric lavage: a simulated paracetamol intoxication. *Br J Clin Pharmacol*, **53**:312-7.

ÇAKATAY, U., KAYALI, R. (2006). Serbest radikal biyokimyasının tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, **37**:162-167.

DAHAM, S.S., ALI, M., TABASSUM, H., KHAN, M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum L.*). *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, **9**:273-281.

DARGAN, P.I., JONES, A.L. (2003). Management of paracetamol poisoning trends. *Pharm Sci*, **24**:154-157.

del RIO, D., STEWART, A.J., PELLEGRINI, N.A. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, **15(4)**:316-28.

DOKMENCİ, İ. (2000). Farmakoloji temel kavramlar. Nobel Kitab Evi, İstanbul.

DOUIDAR, S.M., BOOR, P.J., AHMED, A.E. (1985). Potentiation of the hepatotoxic effect of acetaminophen by prior administration of salicylate. *J Pharmacol Exp Ther*, **233**:242-8.

- DOYON, S., SCHWARTZ, W.K. (2009). Hepatotoxicity despite early administration of intravenous N-acetylcystine for acute acetaminophen overdose. *Acad Emerg Med*, **16**:34-39.
- DWORKIN, P.D. (2000). NMS Pediatri. 3. Baskı. Nobel Kitab Evi, İstanbul.
- FARIA, A., MONTEIRO, R., MATEUS, N., AZEVEDO, I., CALHAU, C. (2007). Effect of pomegranate (*Punica granatum*) juice intake on hepatic oxidative stress. *Eur J Nutr*, **46**:271-278.
- FUSCO, D., COLLOCA, G., Lo MONACO, M.R., CESARI, M. (2007). Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging*, **2(3)**:377-87.
- GEETA, G.G., CHIRAG, R., PARIKH, F. (2002). Acetaminophen toxicity: suicidal vs accidental. *Critical Care*, **20**:155-159.
- GIRISH, C., KONER, B.C., JAYANTHI, S., RAO, K.R., RAJESH, B., PRADHAN, S.C. (2009). Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarin on paracetamol induced liver toxicity in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, **23**:735-745.
- GIL, M.I., TOMAS-BARBERAN, F.A., HESS-PIERCE, B., HOLCROFT, D.M., KADER, A.A. (2000). Antioxidant activity of pomagranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*, **48**:4581-4589.
- GRACE-LYNN, , C., CHEN, Y., LATHA, L.Y., KANWAR, J.R., JOTHY, S.L., VIJAYARATHNA, S., SASIDHARAN, S. (2012). Evaluation of hepatoprotective effects of lantadene a, a pentacyclic triterpenoid of lantana plants against acetaminophen-induced liver damage. *Molecules*, **17**:13937-47.
- GRAHAM, G.G., SCOTT, G.F., DAY, R.O. (2005). Tolerability of paracetamol. *An International Journal of Medical Toxicology and Drug Experience*, **28**:227-240.
- GUGGENHEIMER, J., MOORE, P.A. (2011). The therapeutik applications of and risks associated with acetaminophen use: a review and update. *J Am Dent Assoc*, **142(1)**:38-44.

- GUO, C., WEI, J., YANG, J., XU, J., PANG, W., JIANG, Y. (2008). Pomegranate juice is potentially better than apple juice in improving antioxidant function in elderly subjects. *Nutr Res*, **28**:72-77.
- HAJIMEHDIPOOR, H., SADEGHI, Z., ELMI, S., ELMI, A., GHAZI-KHANSARI, M., AMANZADEH, Y. (2006). Protective effects of *Swertia longifolia* Boiss. and its active compound, swerchirin, on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *J Pharm Pharmacol*, **58**:277-80.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford Univ. Press Inc, pp.55-79.
- HAVARE, P., CANBOLAT, O. (2011). Parasetamol kullanımının rat karaciğer serbest radikal metabolizması ile ilişkisi: N asetilsisteinin etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- HINSON, J.A. (1983). Reactive metabolites of phenacetin and acetaminophen. Environmental Health Perspectives. University of Melbourne, Australia.
- HINSON, J.A., REID, A.B., McCULLOUGH, S.S., JAMES, L.P. (2004). Acetaminophen-induced hepatotoxicity: role of metabolic activation, reactive oxygen/nitrogen species, and mitochondrial permeability transition. *Drug Metabolism Reviews*, **36**:805-822.
- HSU, C.C., LIN, C.C., LIAO, T.S., YIN, M.C. (2006). Protective effect of s-allyl cysteine and s-propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, **44**:393-397.
- HUNG, O., NELSON, L.S. (2000). Acetaminophen. Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski. 4 th ed. Emergency Medicine a Comprehensive Study Guide. McGraw Hill; pp.1125-1136.
- INSEL, P.A. (1990). Analgesic-Antipyretics and Antiinflammatory Against: Drugs Employed in the treatment of rheumatoid arthritis and Gout (8.ed) In:Goodman-Gilman A. Rall T.W. Nies, A.S., Taylor, P. Eds. Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutucis. **26**:656-659.
- İLKAYA, F., YILMAZ, M.Z., KARAKUŞ, O. (2013). Parasetamol ve siklooksijenaz enzim inhibisyonu. *J Exp Clin Med*, **30**:9-14.

- JAESCHKE, H., MCGILL, M.R., WILLIAMS, C.D., RAMACHANDRAN, A. (2011). Current issues with acetaminophen hepatotoxicity-a clinically relevant model to test the efficacy of natural products. *Life Sci*, **87(17-18)**:737-45.
- JAIN, N.K., SINGHAI, A.K. (2011). Protective effects of phyllanthus acidus (L.) skeels leaf extracts on acetaminophen and thioacetamide induced hepatic injuries in wistar rats. *Asian Pac J Trop Med*, **4**:470.
- JAMES, L.P., MAYEUX, P.R., HINSON, J.A. (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos*, **31**:1499-1506.
- JOBGEN, W.S., FRIED, S.K., FU, W.J., MEININGER, C.J. WU, G. (2006). Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *J Nutr Biochem*, **17(9)**:571-88.
- JOLLOW, D.J., MITCHELL, J.R., POTTER, W.Z., DAVIS, D.C., GILLETTE, J.R., BRODIE, B.B. (1973). Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*, **187**:195-202.
- JURENKA, J.S. (2008). Therapeutic applications of pomagranate (*Punica granatum L.*): A review. *Altern Med Rev*, **13**:128-44.
- KANBUR, M., ERASLAN, G., NEYAZ, L., SILICI, S., LIMAN, B.C., ALTINORDULU, Ş., ATASEVER, A. (2009). The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. *Exp Toxc Path*, **61**:123-132.
- KAYA, S., PİRİNÇİ, İ., BİLGİLİ, A. (2002). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. 2. Baskı. Medisan Yayınevi, Ankara.
- KAYAALP, S.O. (2005). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara.
- KAYAALP, S.O., MELLI, M. (2000). Non-steroidal Antiinflamatuvar İlaçlar. Tıbbi Farmakoloji. 9. Baskı. 2.Cilt. Sy. 1039-1042.
- KHALIL, E.A.M. (2004). A hepatoprotective effect of an aqueous extract of pomagranate (*Punica granatum L.*) rind against acetaminophen treated rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, **16**:112-8.

- KITTISUPAMANGKOL, W. (2009). Liver injury from diclofenac or acetaminophen?. *Am J Gastroenterol*, (Epub ahead of print).
- KOZER, E., KOREN, G. (2001). Management of paracetamol overdose: current controversies. *Drug Saf*, 24:503-12.
- KÜÇÜK, E., YAVUZ, Y. (2009). Parasetamol toksisitesi ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda caffeic acid phenethyl esterin tedavi edici etkisi. *Uzmanlık Tezi*, Afyon Kocatepe Üniv. Tıp Fakültesi.
- KÜPELİ, E., ORHAN, D.D., YESİLADA, E. (2006). Effect of *cistus laurifolius L.* leaf extracts and flavanoids on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *J Ethnopharmacol*, **103**:455-60.
- LANSKY, E.P., HARRISON, G., FROOM, P., JIANG, W.G. (2005). Pomegranate (*Punica granatum*) pure chemicals Show possible synergistic inhibition of human PC-3 prostate cancer cell invasion across matrigel. *Invest New Drugs*, **23**:121-2.
- LARSON, A. (2007). Acetaminophen hepatotoxicity. *Clin Liver Dis*, **11**:525-548.
- LASKIN, D.L., GARDNER, C.R., PRICE, V.F., JOLLOW, D.J. (1995). Modulation of macrophage functioning abrogates the acute hepatotoxicity of acetaminophen. *Hepatology*, **21**:1045-1050.
- LAUTERBURG, B.H., CORCORAN, G.B., MITCHELL, J.R. (1983). Mechanism of action of N-acetylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats in vivo, *Journal Clin Invest*, **71**:980-991.
- LEE, W.M. (2004). Acetaminophen and the U.S. Acute liver failure study group: lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology*, **40**:6-9.
- LEI, F., ZHANG, X.N., WANG, W., XING, D.M., XIE, W.D., SU, H., DU, L.J. (2007). Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *Int J Obes (Lond)*, **31(6)**:1023-1029.
- LERMAN, L.O., de NIGRIS, F., WILLIAMS-IGNARRO, S. (2005). Beneficial effects of pomagranate juice on oxidation-sensitive gensand endothelial nitricoxide synthase activity at sites of perturbedshearsstress. *Proc Natl Acad Sci*, **102**:4896-4901.



- MADENOĞLU, H., BOZOĞLUER, H. (2009). Ratlarda oluşturulan parasetamol hepatotoksitesisi üzerine flumazelinin terapötik etkinliğinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Kayseri Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- MALIK, A., AFAQ, F., SARFARAZ, S., ADHAMI, V.M., SYED, D.N., MUKHTAR, H. (2005). Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci*, **102**:14813-8.
- MATTHAIYOU, C.M., GOUTZOURELAS, N., STAGOS, D., SARAFIOGLOU, E., JAMURTAS, A., KOULOCHERI, S.D., HAROUTOUNIAN, S.A., TSATSAKIS, A.M., KOURETAS, D. (2014). Pomegranate juice consumption increases GSH levels and reduces lipid and protein oxidation in human blood. *Food and Chemical Toxicology*, **73**:1-6.
- MAZER, M., PERRONE, J. (2008). Acetaminophen-Induced Nephrotoxicity: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Journal of Medical Toxicology*, **4**:2-5.
- MAZZACCARA, C., LABRUNA, G., CITO, G., SCARFO, M., de FELICE, M., PASTORE, L., SACCHETTI, L. (2008). Age-Related reference intervals of the main biochemical and hematological parameters in C57BL/6J, 129SV/EV and C3H/HeJ Mouse strains. *Plos One*, **3**(11):e3772.
- McCORD, J.M., FRIDOVICH, I. (1970). The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. II. The mechanism of the mediation of cytochrome c reduction by a variety of electron carriers. *The Journal of Biological Chemistry*, **245**:1374-1377.
- MELLI, M., KAYAALP, O. (2006). Parasetamol. In: Kayaalp, O. Ed. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş, pp.849-851.
- MEYER, D.J., HARVEY, J.W. (1994). Hematologic changes associated with serum and hepatic iron alterations in dogs with congenital portosystemic vascular anomalies. *J Vet Intern Med*, **8**:55-6.
- MIGUEL, M.G., NEVES, M.A., ANTUNES, M.D. (2010). Pomagranate (*Punica granatum* L.) a medicinal plant with myriad biological properties – a short review. *J Med Plants Res*, **4**:2836-2847.

- MITCHELL, J.R., JOLLOW, D.J., POTTER, W.Z., GILLETTE, J.R., BRODIE, B.B. (1973). Acetaminophen-induced hepatic necrosis, IV. Protective role of glutathione. *J Pharmacol Exp Ther*, **187**:211-217.
- MONEIM, A.E.A. (2012). Antioxidant activities of punica granatum (pomegranate) peel extract on brain of rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6(2)**:195-199.
- MURADOĞLU, F., BALTA, M.F., OZRENK, B.K. (2006). Pomagranate (*Punica granatum* L.) genetic resources from Hakkari, Turkey. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, **2(6)**:520-525.
- MURRAY, G.D., MAYES, P.A., RODWELL, V.M. (2000). Harper's Biochemistry. McGraw-Hill Press, USA.
- NITHIANANTHAM, K., SHYAMALA, M., CHEN, Y., LATHA, L.Y., JOTHY, S.L., SASIDHARAN, S. (2011). Hepatoprotective potential of clitoria ternatea leaf extract against paracetamol induced damage in mice. *Molecules*, **16**:10134-45.
- NODA, Y., KANEYUK, T., MORI, A., PACKER, L. (2002). Antioxidant activities of pomagranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. *J Agric Food Chem*, **50(1)**:166-71.
- NWANNA, E.E., OBOH, G. (2007). Antioxidant and hepatoprotective properties of polyphenol extracts from telfairia occidentalis (fluted pumpkin) leaves on acetaminophen induced liver damage. *Pak J Biol Sci*, **10**:2682-7.
- OSHIDA, K., IWANAGA, E., MIYAMATO-KURAMITSU, K., MIYAMOTO, Y. (2008). An in vivo comet assay of multiple organs (liver, kidney and bone marrow) in mice treated with methyl methanesulfonate and acetaminophen accompanied by hematology and/or blood chemistry. *The Journal of Toxicological Science*, **33(5)**:515-524.
- OSMAN, M., AHMED, M., MAHFOUZ, S., ELABY, S. (2011). Biochemical studies on the hepatoprotective effects of pomegranate and guava ethanol extracts. *New York Science Journal*, **4(3)**:27-41.
- OZDEMİR, R., PARLAKPINAR, H., POLAT, A., COLAK, C., ERMİS, N., ACET, A. (2006). Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ-123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. *Toxicology*, **219**:142-149.

- OZKAYA, O., GENÇ, G., BEK, K., SULLU, Y. (2010). A case of acetaminophen (paracetamol) causing renal failure without liver damage in a child and review of literature. *Ren Fail*, **32(9)**:1125-1127.
- OZÇELİK, E., USLU, S. (2012). Kitosan ve blueberrinin asetaminofen aracılı karaciğer toksisitesi üzerine etkileri. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- PARMAR, H.S., KAR, A. (2008). Medicinal values of fruit peels from *Citrus sinensis*, *Punica granatum*, and *Musa paradisiaca* with respect to alterations in tissue lipid peroxidation and serum concentration of glucose, insulin, and thyroid hormones. *J Med Food*, **11**:376-381.
- PATEL, C., DADHANIYA, P., HINGORANI, L., SONI, M.G. (2008). Safety assessment of pomegranate fruit extract: Acute and subchronic toxicity studies. *Food and Chemical Toxicology*, **46**:2728-35.
- POTTER, D.W., HINSON, J.A. (1987). Mechanisms of acetaminophen oxidation to N-Acetyl-Pbenzoquinone imine by horseradish P eroxidase and cytochrome P-450. *The Journal of Biological Chemistry*, **262**:966-973.
- RAHMAN, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, **2(2)**:219-236.
- RAJESH, S.V., RAJKAPOOR, B., KUMAR, R.S., RAJU, K.P. (2009). Effect of clausena dentana (WILD) M. ROEM. Against paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *J Pharm Sci*, **22**:90-3.
- RANGANATHAN, S.S., SATHIADAS, M.G., SUMANESANA, S., FERNANDOPULLE, M., LAMABADUSURIYA, S.P., FERNANDOPULLE, B.M.R. (2006). Fulminant hepatic failure paracetamol overuse with therapeutic intent in febrile children. *The Indian Journal of Pediatrics*, **10**:871-875.
- ROSENBLAT, M., HAYEK, T., AVIRAM, M. (2006). Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis*, **187**:363-371.

- RUMACK, B.H., PETERSON, R.C., KOCH, G.G., AMARA, I.A. (1981). Acetaminophen overdose 662 cases with evaluation of oral acetylcysteine treatment. *Arch Intern Med*, **141**:380-85.
- SAAD, H., CHARRIER-EL BOUHTOURY, F., PIZZI, A., RODE, K., CHARRIER, B., AYED, N. (2012). Characterization of pomegranate peels tannin extractives. *Ind Crops Prod*, **40**:239-246.
- SALGIA, A.D., KOSNIK, S.D. (1999). When acetaminophen use becomes toxic. Treating acute accidental and intentional overdose. *Postgraduate Medicine*, **105**:81-84,87,90.
- SEERAM, N.P., HENNING, S.M., ZHANG, Y., SUCHARD, M., LI, Z., HEBER, D. (2006). Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *J Nutr*, **136**:2481-5.
- SENER, G., SEHIRLI, O., CETINEL, S., YEGEN, B.G., GEDIK, N., AYANOĞU-DULGER, N. (2005). Protective effects of MESNA (2-mercaptoethane sulphonate) against acetaminophen-induced hepatorenal oxidative damage in mice. *J Appl Toxicol*, **25**:20-9.
- SERFILIPPI, L.M., PALLMAN, D.R.S., RUSSEL, B., SPAINHOUR, C.B. (2003). Serum clinical chemistry and hematology reference values in outbred stocks of albino mice from there commonly used vendors and two inbred strains of albino mice. *Contemporary Topics*, **42**:3.
- SHAHROOR, S., SHVIL, Y., OHALI, M., GRANOT, E. (2000). Acetaminophen toxicity in children as a “therapeutic misadventure”. *Harefuah*, **138**:654-657.
- SHEMA-DIDI, L., SELA, S., ORE, L., SHAPIRO, G., GERON, R., MOSHE, G. (2012). One year of pomegranate juice intake decreases oxidative stress, inflammation, and incidence of infections in hemodialysis patients: a randomized placebo-controlled trial. *Free Radic Biol Med*, **53(2)**:297-304.
- SÖNMEZ, M., TURK, G., YUCE, A. (2005). The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipidperoxidation testosterone level of meals wistar rats. *Theriogenology*, **63**:2063-2072.

- SUMIOKA, I., MATSURA, T., KAI, M., YAMADA, K. (2004). Potential roles of hepatic heat shock protein 25 and 70 in protection of mice against acetaminophen-induced liver injury. *Life Sci*, **74(20)**:2551-61.
- SWIERKOSZ, T.A., JORDAN, L., McBRIDE, M., McGROUGH, K., DEVLIN, J., BOTTING, R.M. (2002). Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of Mouse and rabbit. *Med Sci Moint*, **8**:496-497.
- SYED, D.N., AFAQ, F., MUKHTAR, H. (2007). Pomagranate derived products for cancer chemoprevention. *Semin. Cancer Biol*, **17**:377-385.
- TZULKER, R., GLAZER, I., BAR-ILAN, I., HOLLAND, D., AVIRAM, M., AMIR, R. (2007). Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *J Agric Food Chem*, **55**:9559-9570.
- VALKO, M., RHODES, C.J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M. (2006). Free radicals metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, **160(1)**:1-40.
- VIDAL, A., FALLARERO, A., PENA, B.R., MEDINA, M.E., GRA, B., RIVERA. F., GUTIERREZ, Y., VUORELA, P.M. (2003). Studies on the toxicity of punica granatum L. (Punicaceae) whole fruit extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, **89**:295-300.
- WANG, R.F., DING, Y., LIU, R.N., XIANG, L., DU, L.J. (2010). Pomagranate: Constituents, bioactivities and pharmacokinetics. In: Chandra, R. (Ed.), Pomegranate. *Fruit Veg Cereal Sci. Biotechnol*, **4(2)**:77-87.
- WANG, R.F., XIE, W.D., ZHANG, Z., XING, D.M., DING, Y., WANG, W. (2004). Bioactive compounds from the seeds of punica granatum (pomegranate). *J Nat Prod*, **67**:2096-8.
- WARING, W.S., JAMIE, H., LEGGETT, G.E. (2010). Delayed onset of acute renal failure after significant paracetamol overdose: a case series. *Hum Exp Toxicol*, **29**:63-68.
- WARNER, T.D., MITCHELL, J.A. (2004). Cyclooxygenase: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *Official Publication of the Federation of American Societies for Exp Biol*, **18**:790-804.

- YALÇIN, A.S. (1998). Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, **11**:342-6.
- YAPAR, K., KART, A., KARAPEHLIVAN, M., ATAKISI, O., TUNCA, R., ERGINSOY, S., CITIL, M. (2007). Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **59**:121-128.
- YILMAZ, B., USTA, Ç. (2010). Nar'ın (*Punica granatum*) terapötik etkileri. *Türk Aile Hek Dergi*, **14(3)**:146-153.
- YUCE, A., AKSAKAL, M. (2007). Ratların karaciğer ve testis dokusundaki antioksidan aktivite üzerine nar suyunun etkisi. *FÜ Sağ Bil Dergi*, **21(6)**:253-256.
- ZHANG, L., GAO, Y., ZHANG, Y., LIU, J., YU, J. (2010). Changes in bioactive compounds and antioxidant activities in pomegranate leaves. *Sci Hortic*, **123**:543-546.
- ZIEGLER-HEITBROCK, L. (2014). Monocyte subsets in man and other species. *Cellular Immunology*, **289**:135-9.
- ZOU, X., YAN, C., SHI, Y., CAO, K., XU, J., WANG, X., CHEN, C., LOU, C., LI, Y., GAO, J., PANG, W., ZHAO, J., ZHAO, F., LI, H., ZHENG, A., SUN, W., LONG, J., SZETO, I.M., ZHAO, Y., DONG, Z., ZHANG, P., WANG, J., LU, W., ZHANG, Y., LIU, J., FENG, Z. (2014). Mitochondrial dysfunction in obesity-associated nonalcoholic fatty liver disease: the protective effects of pomegranate with its active component punicalagin. *Antioxid Redox Signal*, **21(11)**:1557-70.



