



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PARASETAMOL İLE İNDÜKLENMİŞ HEPATOTOKSİSİTEYE KARŞI
RESVERATROL VE AVOKADO YAĞININ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Erdi Onur GÖKKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAĞLIK ve BİYOMEDİKAL BİLİMLER (DİSİPLİNLERARASI) ANABİLİM
DALI

Danışman
Dr. Öğretim Üyesi Çiğdem AYDIN ACAR

BURDUR-2021

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PARASETAMOL İLE İNDÜKLENMİŞ HEPATOTOKSİSİTEYE KARŞI
RESVERATROL VE AVOKADO YAĞININ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Erdi Onur GÖKKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAĞLIK ve BİYOMEDİKAL BİLİMLER (DİSİPLİNLERARASI) ANABİLİM
DALI

Danışman
Dr. Öğretim Üyesi Çiğdem AYDIN ACAR

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0616-YL-19 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2021

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince sabrı ve bilgileriyle bu tezi hazırlamamda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam ve danışmanım **Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem AYDIN ACAR**'a, deneysel çalışmalarda ve analizlerde bilgileri, destekleri ve katkılarından dolayı değerli hocam **Dr. Öğr. Üyesi Şükriye Yeşilot** ve **Arş. Gör. Dr. Meltem Özgöçmen**'e, fikirleri ve bilgileriyle destek olan Sağlık ve Biyomedikal (Disiplinlerarası) Bilimler Anabilim Dalı Başkanı **Dr. Öğretim Üyesi Mümin POLAT**'a, deney hayvanlarının bakımı ile deney hayvanlarındaki çalışmalarım ve uygulamalarım emeği geçen **Prof. Dr. Özlem Özmen** ve **Vet. Hek. Simge Garlı**'ya, desteklerinden dolayı bölüm arkadaşlarım **A.T.T. Ali SERT** ve **A.T.T. Aysel HANTRAK ŞİMŞEK**'e, tez çalışmam süresince beni yalnız bırakmayan ve desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemde büyük emekleri bulunan ve eğitim hayatım boyunca her türlü destekleriyle yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
TÜRKÇE ÖZET	ix
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Karaciğer	3
2.1.1. Karaciğer Anatomisi ve Histolojisi	3
2.1.2. Karaciğer Fonksiyonu	6
2.1.2.1. Metabolik Fonksiyonu	7
2.1.2.2. Sekretuar Fonksiyonu	7
2.1.2.3. Protein Sentezi	8
2.1.2.4. Detoksifikasyon ve İnaktivasyon	8
2.1.2.5. Karaciğerin Diğer Önemli Fonksiyonları	8
2.1.3. İlacın İndüklediği Karaciğer Hasarı	8
2.1.3.1. İlacın İndüklediği Karaciğer Hasarında Risk Faktörleri	10
2.1.3.2. İlacın İndüklediği Karaciğer Hasarında Patofizyoloji ve Mekanizma	11
2.1.3.3. Karaciğer Hasarında Morfolojik Değişiklikler	13
2.2. Parasetamol	14
2.2.1. Parasetamol'ün Tarihçesi	14
2.2.2. Parasetamol'ün Yapısı ve Özellikleri	14
2.2.3. Parasetamol'ün Etki Mekanizması	15
2.2.4. Parasetamol'ün Metabolizması	15
2.2.5. Parasetamol'ün Yan Etkileri	16
2.2.6. Parasetamol Toksisitesi	16
2.3. Resveratrol	19
2.4. Avokado Yağı	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Gereç	22
3.1.1. Deney Hayvanları	22
3.1.2. Etik Kurul Onayı	22
3.1.2. Kullanılan İlaç ve Kimyasallar	22
3.2. Yöntem	22
3.2.1. Deney Planı	22
3.2.2. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	23
3.2.3. Doku Takip Çalışmaları	24
3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar	26

3.2.5. Comet Yöntemi	27
3.2.5.1. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması	27
3.2.5.2. Lamların Hazırlanması	28
3.2.5.3. Deneyin Yapılışı	28
3.2.5.4. Görüntü Analizi	29
3.2.6. İstatiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
4.1. Histolojik Bulgular	31
4.2. Biyokimyasal Bulgular	35
4.2.1. Karaciğer Dokusunda TOS, TAS ve OSI Düzeyleri	35
4.3. DNA Hasarı	38
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	56

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Karaciğer anatomisi	3
Şekil 2.2. Karaciğer histolojisi	4
Şekil 2.3. Zamana bağlı plazma parasetamol düzeyi ve karaciğer hasarı	10
Şekil 2.4. Parasetamol'ün yapısı	15
Şekil 4.1. Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer dokusu örnekleri	34
Şekil 4.2. Gruplararası karaciğer TOS düzeyleri	36
Şekil 4.3. Gruplararası karaciğer TAS düzeyleri	36
Şekil 4.4. Gruplararası karaciğer OSI düzeyleri	37
Şekil 4.5. Comet yöntemi ile DNA hasarının değerlendirilmesi	39



TABLÖLAR

Tablo 3.1. Deney planı	23
Tablo 4.1. Karaciğer dokularının histolojik skorlaması	32
Tablo 4.2. Deney gruplarına ait TOS, TAS ve OSI parametre analizi	35
Tablo 4.3. Deney gruplarına comet skoru analizi	37



SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AKY	Akut Karaciğer Yetmezliği
ALT	Alanin aminotransferaz
APAP	N-asetil P-aminefenol
AST	Aspartat aminotransferaz
AVO	Avokado Yağı
CAT	Katalaz
COX	Siklooksijenaz
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
G	Gram
İİKH	İlacın İndüklediği Karaciğer Hasarı
KCl	Potasyum Klorür
Kg	Kilogram
L	Litre
LDL	Lipoprotein
LMA	Düşük Erime Noktalı Agaroz
Mg	Miligram
ml	Mililitre
MMS	Merkezi Sinir Sistemi
NAPQI	N-asetil pbenzoquinoneimine
Nm	Nanometre
Nma	Normal Erime Noktalı Agaroz
NSAI	Non Steroid Anti İnflamatuar
PH	Power of Hidrojen
RES	Resveratrol
Uv	Ultraviyole

ÖZET

Parasetamol ile İndüklenmiş Hepatotoksisiteye Karşı Resveratrol ve Avokado Yağının Etkisinin Araştırılması

Asetaminofen ve N-asetil P-aminofenol (APAP) olarak da bilinen parasetamol aynı zamanda Para-aminofenol türevidir. Klinikte yaygın olarak analjezik ve antipiretik amaçlı kullanılan ajanlardan bir tanesidir. Önerilen terapötik dozlarda parasetamol alımı genellikle iyi tolere edilirken aşırı dozda alınması toksisiteye neden olmaktadır. Yapmış olduğumuz bu çalışmada Resveratrol ve Avokado Yağı'nın Parasetamol ile indüklenmiş ratlarda oluşan karaciğer hasarına yönelik koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda ağırlıkları 400 ile 550 gram arasında değişen Wistar Albino cinsi toplam 30 adet erkek sıçan kullanılarak 5 ayrı grup (1. Grup; Kontrol, 2. Grup; Parasetamol, 3. Grup; Parasetamol + Resveratrol (RES), 4. Grup; Parasetamol + Avokado Yağı (AVO), 5. Grup; Parasetamol + Resveratrol + Avokado Yağı) oluşturuldu. Parasetamol 600 mg/kg dozunda 4. gün tek doz intraperitonel injeksiyon ile uygulandı. Resveratrol 10 mg/kg ve Avodako yağı 200 mg/kg dozunda oral gavaj ile 5 gün süreyle sıçanlara uygulandı. Parasetamol uygulamasını takiben 24. saatte hayvanlar sakrifiye edildi. Çalışmamızda alınan karaciğer doku örnekleri homojenize edilerek, TAS ve TOS aktiviteleri spektrofotometrik olarak tayin edildi. Deney sonunda sıçanların Karaciğer dokularında hematoksilin-eozin (H-E) boyaması yapılarak ışık mikroskopunda karaciğer hasarı değerlendirildi. Ayrıca, Comet Assay yöntemi ile de kanda DNA hasarının değerlendirilmesi yapıldı. Sonuçlar, parasetamol grubunda TOS düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığını gösterdi. Parasetamol grubu ile RES, AVO ve RES + AVO grupları karşılaştırıldığında TOS düzeyinin anlamlı olarak düştüğü görüldü. Ayrıca, RES ve RES + AVO gruplarında TAS düzeylerinin parasetamol grubuna göre anlamlı olarak arttığı bulundu. Parasetamol grubunda histopatolojik incelemede nekrotik alanların varlığı belirlendi. RES ve RES + AVO ile ön uygulamanın oksidatif stres parametrelerini, DNA hasarını ve parasetamolün neden olduğu nekrozu tersine çevirdiği belirlendi. Bu çalışma ile, resveratrol ve avokado yağının birlikte kullanımının, antioksidan özelliklerinden dolayı parasetamole bağlı hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkiler sağlayabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Parasetamol, Resveratrol, Avokado Yağı, Hepatotoksisite

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Resveratrol and Avocado Oil Against Paracetamol Induced Liver Damage

Paracetamol, also known as Acetaminophen and N-acetyl P-aminophenol (APAP), is also a derivative of Para-aminophenol. It is one of the agents commonly used in the clinic for analgesic and antipyretic purposes. Paracetamol intake at recommended therapeutic doses is generally well tolerated, while overdose causes toxicity. In this study, we aimed to investigate the protective effects of Resveratrol and Avocado Oil on liver damage induced by Paracetamol in rats. In our study, 5 groups (1. Group; Control, 2. Group; Paracetamol, 3. Group; Paracetamol + Resveratrol (RES), 4. Group; Paracetamol + Avocado Oil (AVO), 5th Group; Paracetamol + Resveratrol + Avocado Oil) was formed. Paracetamol was administered with a single dose of intraperitoneal injection at a dose of 600 mg / kg on the 4th day. Resveratrol 10 mg / kg and Avocado oil 200 mg / kg were administered to rats by oral gavage for 5 days. Animals were sacrificed at 24th hour following paracetamol administration. The liver tissue samples taken in our study were homogenized and TAS and TOS activities were determined spectrophotometrically. At the end of the experiment, liver damage was evaluated under light microscope by performing hematoxylin-eosin (H-E) staining on liver tissues of rats. In addition, the evaluation of DNA damage in blood was performed using the Comet Assay method. The results showed that TOS levels increased significantly in the paracetamol group compared to the control group. When the paracetamol group and RES, AVO and RES + AVO groups were compared, it was seen that the TOS level was significantly decreased. In addition, it was found that TAS levels in RES and RES + AVO groups increased significantly compared to the paracetamol group. The presence of necrotic areas was detected in the histopathological examination in the paracetamol group. It was determined that pre-treatment with RES and RES + AVO reversed oxidative stress parameters, DNA damage and necrosis caused by paracetamol. In this study, it has been shown that the combined use of resveratrol and avocado oil can provide protective effects against paracetamol-induced hepatotoxicity due to its antioxidant properties.

Keywords: Paracetamol, Resveratrol, Avocado Oil, Hepatotoxicity

1. GİRİŞ

Günümüzde parasetamol kolay ulaşılabilen ve sıklıkla kullanılan analjezik (ağrı kesici) ve antipiretik (ateř dūřürücü) ajanlardan biridir. Artan ilaĉ kullanımı ile birlikte her geĉen gün ilaca bağlı karaciğer toksisitesi vakalarında önemli artış olduğu saptanmıştır. Ayrıca, ilaĉ zehirlenmelerinde akut karaciğer yetmezliği (AKY) sıklıkla görülen bir semptom olarak karşımıza çıkmaktadır (Scherlock ve Dooley, 1997). AKY; bilindik herhangi bir karaciğer hastalığı olmayan bireylerde akut bařlangıĉlı yüksek bilirubin değer, hepatik ensefalopati ve koagülopati ile karakterize yüksek hastalık ve ölüm riski ile seyirli klinik bir tablodur (Fabrega ve ark., 2013).

Parasetamol bilhassa son 50 yıldır sıklıkla antipiretik ve analjezik amaçla kullanılan bir ilaĉ olup antiinflamatuvar etkisi yok denecek kadar azdır (Lewis ve Paloucek, 1991). Yan etki bakımından da oldukĉa güvenli olması ise bu ilacın kullanılabilirliğini artırmaktadır (Hawkins ve Golding, 1995). Ancak, bu ilacın kolay temin edilebilirliği, bilinçsiz kullanılmasına sebep olmakta ve aşırı doz alımı birden ĉok istenmeyen yan etkileri meydana ĉıkarmaktadır. Oral alımdan sonra parasetamol gastrointestinal yoldan hızlı bir şekilde ve neredeyse tamamen absorbe edilir (Saccomano ve Deluca, 2008). Önerilen tedavi edici dozlarda parasetamol kullanımı genellikle iyi tolere edilirken aşırı dozda alınması toksisiteye neden olmaktadır.

Resveratrol (3,5,4-trihydroxystilbene) başlıca üzüm kabuğu olmak üzere yerbıştığı, ahududu, dut, erik ve kimi bitkilerde bulunabilmektedir. Polifenolik bir bileşik olan resveratrol, diyetsel kaynaklardan üzümde, yerbıştığında, bazı bitkilerde ve şarapta bolca bulunmakla beraber antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu; kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Kurşvietiene ve ark., 2016). Resveratrolün özellikle patojenlerin bitkileri ĉürütmesi, hasarlanma veya ultraviyole (UV) ışığa maruz kalma sonucunda bitkiler tarafından üretilen bir fitoalleksin olduğu bilinir. Bu maddenin aynı zamanda insanlarda da koruyucu olduğuna inanılır. Genellikle renkli üzümlerde bulunan resveratrolün antioksidan etkinliği sayesinde, kapiller damarların

tıkanmasını ve kapiller damarlarda trombosit birikmesini engellediği bilimsel deneyler ile açıklanmıştır (Karabulut, 2008). Resveratrol aynı zamanda hücre ömrünü uzatan ilk moleküldür. Resveratrol'un sirtuin (SIRT2, insan SIRT1 homologu) aktivasyonu ile kalori kısıtlamasına cevap olarak mantarlarda hücre ömür süresini uzattığı yapılan çalışmalarda görülmüştür. Ayrıca, insan ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda da resveratrol'ün sirtuinleri aktive ettiği gösterilmiştir. Resveratrol etkisi ile ilgili yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu kanser üzerine yoğunlaşmış olup bu bileşiğin, kanser gelişiminin pek çok aşamasında durdurucu ve engelleyici özelliği olduğu saptanmıştır (Keskin ve ark., 2009; Yuluğ ve ark. 2013; Tunali-Akbay ve ark., 2010).

Avokadonun kendine özgü tadı ve aroması nedeniyle yağı da büyük önem taşımaktadır. Çalışmamıza konu olan avokado yağı, tek zincirli doymamış oleik asit içeriyor olması, aterosklerotik kalp hastalıklarına neden olan kandaki düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL) kolesterol seviyesini azaltması bakımından insan sağlığının korunmasında önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca, avokado yağının diğer besinlerden daha yüksek yoğunlukta antioksidan özelliği, A, B, E vitaminleri ve yüksek çözülebilir lif içeriği ile kalp sağlığına karşı koruyucu etkisi olduğu da bildirilmiştir. Avokado yağının gıda endüstrisinde değerlendirilmesinin yanısıra içeriği nedeniyle kozmetik endüstrisinde de kullanıldığı görülmektedir.

1.1. Amaç

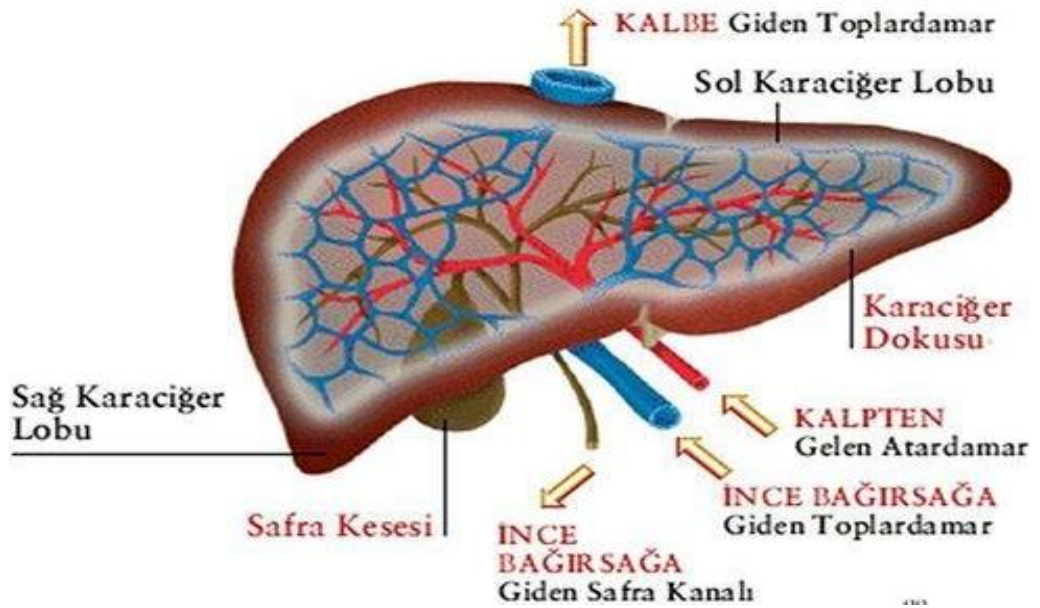
Yapmış olduğumuz bu çalışmada, oleik asit bakımından zengin, antioksidan özelliklere sahip ve sağlıklı yağ deposu olarak bilinen avokado yağı ile güçlü bir antioksidan olan Resveratrol'ün tek başına ve birlikte, yüksek doz parasetamolün oluşturduğu karaciğer hasarı üzerindeki etkilerinin araştırılması, karaciğer toksisitesini azaltmak veya ortadan kaldırmak suretiyle tedavinin kesilmesinin önlenmesi ve dokuların toksik etkiden kurtarılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1. Karaciğer Anatomisi ve Histolojisi

Karaciğer insan vücudunun en büyük bezi olmakla beraber en büyük organımızdır. Karaciğerin başlıca görevi, kimyasalları ve ilaçları metabolize ve detoksifiye etmektir. Aynı zamanda, glukozun sentezlenmesinde, depolanmasında ve protein sentezinde de görev almaktadır. Anatomik olarak sağ yedi ve on birinci interkostal aralıkta bulunmaktadır. Yaklaşık 1500 gr ağırlığında olup yetişkinde vücut ağırlığının 1/40'ı kadarını oluşturmaktadır. Karaciğer abdomenin sağ üst bölümünde, diyaframın hemen altında ve mide, sağ böbrek ve bağırsakların üstüne yerleşmiş vaziyettedir. Diyafram vasıtasıyla plevra, akciğer, perikard ve kalpten ayrılmaktadır.

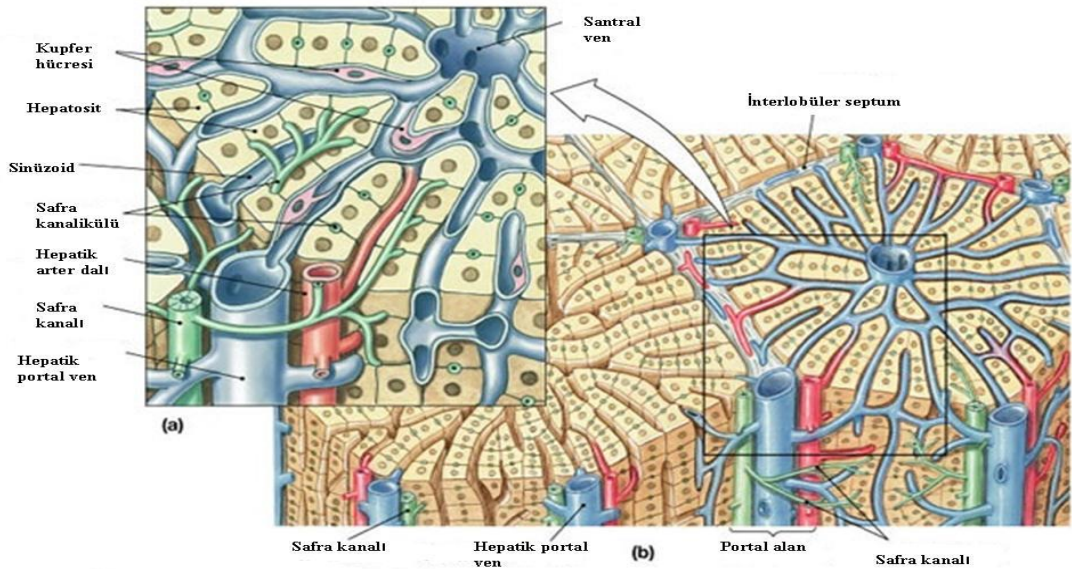


Şekil 2.1. Karaciğer anatomisi (Bektur, 2012)

Şekil 2.1'de görüldüğü gibi karaciğerin dolaşımı hepatik arter ve portal ven olmak üzere iki önemli damardan oluşmaktadır. Karaciğere taşınan kanın %70-80'i portal venden (gastrointestinal sistemdeki besin maddelerinden zengin venöz kanı

karaciğere taşır) ve %20-30'u hepatik arterden (merkezi dolaşımdaki oksijenden zengin kanı karaciğere taşır) karşılanmaktadır (Kan ve Madoff, 2008; (Abdel-Wahhab ve ark., 1999). Karaciğer, kalp debisinin yaklaşık %25'ini alıyor olmasından dolayı 1500 ml/dk kanla sulanmaktadır. Karaciğer, metabolitlerin işlenmesi, toksik maddelerin nötr hale getirilmesi ve atılması açısından önemli bir rol üstlenir. Bu nötralizasyon ve atılım safra ile gerçekleştirilmektedir.

İnsan vücudundaki en büyük bez olan karaciğer dört lobdan oluşmaktadır. Karaciğer kollajen ve elastik lif içeren bir kapsül ile (Glisson kapsülü) çevrelenmiş olup, periton ile kaplıdır. Glisson kapsülü hilumda kalınlaşan ince bir bağ dokusu kapsülüdür. Hilumda, organa portal ven ve hepatik arter girmekte, organdan sağ ve sol hepatik kanallar ve lenfatikler çıkmaktadır. Bu damarlar ve kanallar, klasik karaciğer lopçukları arasında sonlandıkları (ya da köken aldıkları) portal alanlara dek bağ dokusu ile çevrilmiştir. Bu noktadan itibaren karaciğer lopçuklarındaki hepatositlere ve sinüzoidal endotel hücrelerine destek sağlayan ince bir retiküler lif ağı oluşturmaktadır (Junqueira ve ark., 2006). Karaciğer histolojisi şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Karaciğer histolojisi (Bektur, 2012)

Karaciğerde beş tip hücre bulunmaktadır. Bunlar hepatositler, endotel hücreleri, kupffer hücreleri, stellat hücreleri ve safra kanalı epitelyum hücreleridir. Sinüzoidlerin iç yüzeyini endotel hücreleri ve kupffer hücreleri kaplar (Garner ve Hiatt, 2001). Karaciğerin temel yapı elemanı hepatosit ya da karaciğer hücresidir. Bu epitelyal hücreler birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde gruplaşmış olup karaciğer kütesinin üçte ikisini oluşturur. Işık mikroskobu kesitlerinde, karaciğer lobülü olarak isimlendirilen yapısal birimler görülebilmektedir. Karaciğer lobülü 0,7 x 2 mm boyutlarında olan ve çevresinde portal aralıklar (portal boşluk) ile ortasında santral ya da sentrolobüler ven bulunan poligonal bir doku kitlesinden oluşmuştur. Hepatik arterin ve portal venin dalları, bir safra kanalı beraberliğinde, hegzagonal karaciğer lobülünü çevreleyen portal alanda yer alan klasik portal triadı oluşturur. Karaciğer lobülü içindeki hepatositler ışımsal olarak dizilmiş ve bir duvarın tuğlalarına benzer biçimde şekillenmiştir. Bu hücre plakları lobülün periferinden merkezine doğru yönelmiş vaziyettedir. Labirent şeklinde ve sünger benzeri bir yapı oluşturacak biçimde serbestçe anastomozlaşırlar. Bu plaklar arasındaki boşlukta karaciğer sinüzoidleri adı verilen kapillerler bulunmaktadır. Sinüzoidal kapillerler sadece kesintili bir pencerele endotel tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş damarlar olarak isimlendirilmiştir. Pencerelelerin çapı yaklaşık 100 nanometre (nm) olup pencerele kümeler halinde gruplara ayrılırlar. Endotel hücrelerinin altında da boşluklar bulunur ve bu boşluklar damarların yüksek düzeyde geçirgen olmasını sağlar.

Endotel hücrelerinin altında bulunan Disse Aralığı adı verilen boşluk endotel hücreleriyle hepatositleri birbirinden ayırmakla görevlidir. Endotelin pencerele ve kesintili yapısı kanın şekilli elemanlarının değil, plazma sıvısının kolayca Disse Aralığı'na geçmesine ya da ters yönde hareketine olanak vererek sinüzoid lümeniyle karaciğer hücreleri arasında molekül (makromoleküller de dahil) alışverişini kolaylıkla sağlamakta görev alır. Bu geçiş yalnızca lipoproteinler, albumin, fibrinojen gibi çok sayıda büyük molekülün hepatositler tarafından kana verilmesiyle değil, ayrıca bu makromoleküllerin büyük bit kısmının hepatositlerce alınıp çözülmesi sebebiyle de fizyolojik bir önem arz etmektedir (Junqueira ve ark., 2006; Kierszenbaum, 2006; Ovalle ve ark., 2009).

Stellat hücreleri (yıldızsı hücreler, ito hücreleri), karaciğer sinüzoidlerinin yakın konumunda, Disse Aralığı'nda yer alan karaciğer hücresidir. Bu hücreler, mezenşimal kaynaklı olup, yağ içerirler ve Vitamin A'nın metabolizması ve depolanmasında görev alır. Patolojik durumlarda, karaciğer yıldızsı hücreleri kollajen üreten hücrelere dönüşürler. Karaciğer yıldızsı hücreleri Tip I Kollajen sentezi ve salınımına ek olarak, Laminin'i, proteoglikanları ve büyüme faktörlerini salgılamakta görevlidir. Kollajen birikimi ve hücre dışı matriks bileşenleri sirozun tipik bir özelliği olan ilerleyici karaciğer fibrozisinde artış göstererek belirti verirler. Kupffer hücreleri tarafından üretilen sitokinler, karaciğer ito hücreleri tarafından yapılan kollajen sentezini uyarmaktadır. Fibrotik süreç ilerledikçe, karaciğerin yıldızsı hücreleri sinüzoidlerin lümenini sıkarak daraltan ve damar direncini arttıran miyofibroblastlara dönüşmektedir. Sirozda, portal venöz kanın akışına karşı karaciğer sinüzoidlerinde oluşan direnç artışı portal hipertansiyona neden olarak karşımıza çıkar (Kierszenbaum, 2006).

Değişime uğramış fagositik hücrelerden köken alan Kupffer Hücreleri ise monositlerden köken almaktadır. Kupffer hücreleri endotel hücrelerinin lümene bakan kısmında yer almaktadır. Temel işlevleri yaşlanmış alyuvarların metabolize edilmesi, hemoglobininin sindirilmesi, immünolojik proteinlerin salgılanması ve kalın bağırsaktan portal dolaşıma geçen bakterilerin yok edilmesidir. Karaciğerdeki mevcut hücrelerin %15'ini Kupffer hücreleri oluşturmaktadır (Junqueira ve ark., 2006).

2.1.2. Karaciğerin Fonksiyonları

Karaciğerin kanlanmasına ve genel dolaşım içerisinde yerleştiği stratejik konuma bakıldığında vücut için ne kadar önemli fonksiyonlara sahip olduğu anlaşılmaktadır. Özefagusun abdominal parçasından itibaren, mide, duodenum, jejunum, ileum, kalın bağırsak, dalak ve pankreasın tüm venöz kanı kalbe dönmeden önce işlenmek üzere karaciğerden geçmektedir. Bu özelliği karaciğeri, her türlü metabolik faaliyetlerin ana merkezi konumuna taşımaktadır (Karaöz, 2002).

2.1.2.1. Metabolik Fonksiyonları

Karaciğerin karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında önemli görevleri bulunmaktadır. Kanda glukozun normal sınırlar içerisinde tutulması en önemli görevlerinden bir tanesidir. Glikojenin depo edilmesi ve glikojenoliz, glukoneogenez, glukozun pentoz fosfat yolunda yıkımı, galaktoz ve fruktozun glukozla dönüştürülmesi, glukozun diğer monosakkaritlere ve yağa dönüştürülmesi gibi görevleri de bulunur (Karaöz, 2002; Guyton ve Hall, 1996). Diğer vücut fonksiyonları için enerji sağlayacak yağ asitlerinin sentezi ve oksidasyonu, lipoprotein, fosfolipid, keton cisimleri ve kolesterol sentezi, yağ asitlerinden trigliserid oluşumu, safra asitleri ve tuzlarının oluşturulması karaciğerde gerçekleşmektedir. Karaciğerin, protein metabolizmasıyla ilgili olarak aminoasitlerin deaminasyonu, üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, endojen aminoasitlerin, albumin, protrombin, fibrinojen, lipoproteinler gibi plazma proteinlerinin sentezi, vücuttaki metabolik olaylar için önemli aminoasitlerin birbirine dönüşümleri gibi işlevleri bulunur (Karaöz, 2002).

2.1.2.2. Sekretuar Fonksiyonu

Safranın üretilmesi karaciğerin temel fonksiyonlarından biridir. Bu sayede özellikle hemoglobinin yıkım ürünü olan bilirubin ve karaciğer hücrelerinde sentezlenen kolesterol gibi yıkım ürünlerinin kandan uzaklaştırılmasında önemli rol oynar (Ganong, 2002). Karaciğer, safranın gastrointestinal sisteme aktarılmasını sağlayarak sindirim sistemi içinde de rol almaktadır (Karaöz, 2002).

2.1.2.3. Protein Sentezi

Karaciğer hücresi, yapısal proteinlerin sentezine ek olarak, albumin, fibrinojen, protrombin ve lipoproteinler vb. çeşitli plazma proteinlerini de sentezlemektedir. Bu proteinlerin üretimi granüllü endoplazmik retikuluma (GER) bağlı poliribozomlarda gerçekleşmektedir. Hepatositler proteinleri sekonder granüller halinde sitoplazmasında depolamaz ve devamlı olarak dolaşıma katar. Karaciğer tarafından salgılanan proteinin yaklaşık %5'i Kupffer hücreleri, %95'i hepatositlerde sentezlenir (Doğan, 2014).

2.1.2.4. Detoksifikasyon ve İnaktivasyon

Çeşitli ilaçlar ve maddeler, oksidasyon, metilasyon ve konjugasyon yoluyla metabolize edilebilmektedir. Metabolizmaya katılan enzimler başlıca GER'in yapısında bulunmaktadır. Glukuronik asidi bilirubine bağlayıcı bir enzim olan glukuronil transferaz, steroidler, barbitüratlar, antihistaminikler ve antikonvülzanlar gibi çok sayıda ilacın da konjugasyonunda görev alır (Doğan, 2014).

2.1.2.5. Karaciğerin Diğer Önemli Fonksiyonları

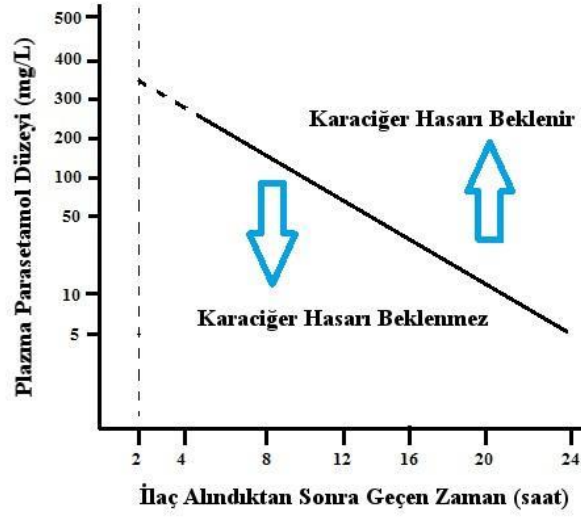
Karaciğerde A, D ve B12 (kobalamin) vitaminleri depo edilir. Hepatik sinüs ve venlerdeki kan ile birlikte karaciğerin kan volumü (450 ml) yaklaşık olarak vücudun toplam kan hacminin yüzde 10'u kadarını oluşturmaktadır. Sağ kulakçıkta basınç yükseldiği zaman karaciğerde de basınç artmakta ve buna bağlı olarak karaciğerin genişlemesi sonucunda 500-1000 ml ekstra kan hepatic venler ve sinüslerde depo edilebilmektedir (Doğan, 2014).

2.1.3. İlaç İndüklü Karaciğer Hasarı

Karaciğer hasarının en önemli nedenlerinden bir tanesi ilaç kullanımınıdır. Literatürde 900'den fazla ilaç, toksin ve bitkinin karaciğer hasarı yaptığı meydana çıkarılmıştır. İlaçlar fulminan karaciğer yetmezliğinin % 20-40 oranında nedenlerden

biri olup ilacın indüklediği karaciğer hasarı (İİKH), ilacın kesilmesi için en önemli kontrendikasyondur (Grierson, 2000). Kullanılan ilacın erken kesilmesi karaciğer hasarlanmasını azaltıp sağlam haline geri döndürülmesini bile sağlayabilir. İlacın indüklediği karaciğer hasarı asemptomatik karaciğer enzim yüksekliğinden, fulminan karaciğer yetmezliğine kadar değişen klinik tablolarla karşımıza çıkabilmektedir (Batt ve Ferrari, 1995). Yapılan çalışmalar, AKY vakalarının %58'inin ilaçlara bağlı olduğunu ve parasetamolün %46'lık bir oran ile bu ilaçlar arasında yüksek bir değere sahip olduğunu göstermiştir (Lee ve Seremba, 2009). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yılda yaklaşık 2000 akut karaciğer yetmezliği vakası bildirilmekte olup, bunun %50'si kadarının İİKH nedeniyle gerçekleştiği saptanmıştır. Bunların da %39'u parasetamol, %13'ü diğer ilaçlara bağlı gelişmiştir. Sarılık nedeniyle hastaneye yatan hastaların %2-5'inde, akut hepatit nedeniyle hastaneye yatanların ise %10 kadarında etyolojik nedenin ilaç kullanımına bağlı olduğu bildirilmiştir (Bass, 2003). Son birkaç yıl içinde Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) bromfenac (NSAİİ), troglitazone (antidiyabetik), pemolin (dikkat eksikliği, narkolepsi) isimli ilaçları hepatotoksisite yapmaları nedeniyle satışa yasaklamıştır. Propiltiourasilin ise kullanımı belirgin ölçüde kısıtlanmıştır (Watkins ve Seeff, 2006).

Son yıllarda hızla artış gösteren AKY'nin en yaygın sebebi parasetamoldür (Mazer ve Perrone, 2008). Özellikle, parasetamolün evlerde sıklıkla kullanılması ve reçetesiz olarak kolaylıkla parasetamol içerikli ilaçlara erişilebilmesi gibi sebeplerden dolayı, parasetamolün aşırı doz alımında karaciğer hasarı oluşturduğu ve hatta ölümlerle sonuçlanabildiği bilinmektedir. Şekil 2.3'de de görüldüğü gibi bir seferde 10-15 gr parasetamol alımı sonrası karaciğer toksisitesi şekillenebilmekte, 20-25 gr ve üzerindeki dozlarda ise ölümcül olabilmektedir (Brunton, 2009).



Şekil 2.3. Zamana bağlı plazma parasetamol düzeyi ve karaciğer hasarı (Brunton, 2009)

Aşırı doz parasetamol alınımıyla birlikte antioksidan savunma sistemi baskılanmakta, GPx ve katalaz (CAT) enzim aktivitesi azalmaktadır. Bunun yanı sıra GSH/okside glutatyon (GSSG) oranındaki azalma ile antioksidan kapasitede de azalmaya neden olmaktadır (Jaeschke ve ark, 2011). NAPQI, vücutta depo haldeki GSH ile zararsız hale getirilmeye çalışılırken, depo GSH tükenmeye başlar ve serbest haldeki toksik NAPQI, eritrositlerde ve hepatositlerdeki makromoleküllere demirle bağlanarak sentrilobuler hepatik hasara, methemoglobinemi ve eritrositlerde harabiyete neden olmaktadır. Karaciğer GSH depolarının %70'den fazlasının kullanılmasıyla hepatik toksikasyon şekillenebilmektedir (Bessems ve Vermeulen, 2001).

2.1.3.1. İlacın İndüklediği Karaciğer Hasarında Risk Faktörleri

A. Etnik köken: İspanyollarda ve siyahlarda izoniazidin daha toksik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

B. Yaş: Hepatik ilaç reaksiyonları çocuklarda nadir görülmektedir (Sgro ve ark., 2002).

C. Cinsiyet: Dişi cinsiyet daha yatkındır.

D. Alkol alımı: Alkol kullanımı hepatoprotektif olduğu bilinen glutatyon düzeyinde düşmeye, ilaç metabolizmasında değişikliğe neden olarak toksisitede artışa neden olduğu saptanmıştır (Lee, 2003a).

E. Karaciğer hastalığı: Genel anlamda kronik karaciğer hastalığı olan hastalar, ilaç toksisitesine daha yatkın olacak diye bir kural yoktur yoktur. Toplam sitokrom P450 sayısının azalmasına rağmen aktivitesi iyi olabilmektedir. Karaciğer hastalığına özgün doz ayarlaması yapılarak ilaçlar kullanılabilir (Dienstag, 2003). Hepatit B veya C virüsü ile koenfekte olan HIV'li hastalarda antiretroviral tedavi hepatotoksisite açısından artmış risk faktörü anlamına gelmektedir. Benzer şekilde sirozu olan hastalar ilaç nedeniyle dekompanze olma riski taşımaktadır (Lee, 2003).

F. Genetik faktörler: Sitokrom P450 enzim sistemindeki genetik farklılıklar idiosenkratik ilaç reaksiyonlarına neden olmaktadır.

G. Diğer eşlik eden durumlar: AIDS'li hastalar, malnütrisyon, diyet yapanlar, düşük glutatyon rezervleri nedeniyle hepatotoksisiteye yatkın olmaktadır.

H. İlaç formülasyonu: Uzun etkili ilaçların, kısa etkili ilaçlardan daha fazla hepatotoksisite yaptığı gözlemlenmiştir (Lee, 2003b).

2.1.3.2. İlacın İndüklediği Karaciğer Hasarında Patofizyoloji ve Mekanizma

A. Patofizyolojik mekanizmalar: İlaç hepatotoksisitesiyle ilgili patofizyolojik mekanizmalar halen araştırılmakta olup aşağıda bazı mekanizmalara yer verilmiştir.

a. Hepatositlerin parçalanması: İlacın hepatositlerde intrasellüler proteinlere kovalent bağla bağlanması hücre içi ATP miktarında azalmaya bu da aktin fibrillerinde parçalanmaya neden olmaktadır. Parçalanmış aktin fibrilleri hepatosit yüzeyinde birikip blep oluşmasına ve hepatosit membranında parçalanmasına neden olduğu saptanmıştır (Sgro ve ark., 2002).

b. Transport proteinlerinde bozulma: İlaç; safra kanaliküler membranındaki transport proteinlerini etkileyerek safra akışını durdurabilmektedir. Villöz yapının kaybı ve çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein 3 gibi transport pompasının kaybı, bilirubin ekskresyonuna engel olarak kolestaza neden olabilir.

c. Sitolitik T hücresi aktivasyonu: İlacın P450 enzimine kovalent bağla bağlanması enzimin immünojen özellik kazanmasına, T hücrelerinin aktifleşmesine ve sitokin salınımına yol açarak çok yönlü immün yanıtı neden olmaktadır.

d. Hepatositlerde apoptozis oluşumu: Fas reseptörü (FasR, CD95, Apo-1 ve TNFRSF6) tarafından apoptozisin indüklenmesi programlanmış hücre ölümüne neden olmaktadır.

e. Mitokondriyal bozulma: İlaç, nikotinamid adenin dinükleotid ve flavin adenin dinükleotid sentezini engeller ve beta oksidasyon önleyerek ATP sentezini durdurmaktadır (Sgro ve ark., 2002).

f. Safra kanalı hasarı: Toksik metabolitlerin safraya salınımı safra kanalı epitelinde hasarlanmaya neden olmaktadır (Lee, 2003a).

B. İlaç toksisite mekanizmaları: Klasik olarak ilaç reaksiyonları iki büyük gruba ayrılmış olup bu ilaçlar karaciğeri doğrudan veya immün değişikliğe neden olarak etkilemektedir (Dienstag, 2003).

a. Tahmin edilebilir (intrensek) ilaç reaksiyonları: Bu gruba giren ilaçların toksik etkileri geri döndürülebilir ve doza bağımlı olarak değişim gösterir. Hasar ilacın kendisine veya metabolitine bağlı olarak gelişmektedir. Parasetamol ve karbontetraklorür bu grubun klasik ilaçları arasındadır (Lee, 2003b).

b. İdiosenkratik ilaç reaksiyonları: Bu gruba giren ilaç reaksiyonları iki şekilde karşımıza çıkmaktadır. Bunlar; Hipersensitivite-immünoallerjik ve metabolik idiosenkratik faktörlerdir. (Ishak, 1998; Bolton ve Bowen, 1986). Hipersensitivite reaksiyonları tipik olarak ateş, eozinofili, döküntü ile karakterize olup 1-4 haftalık latent periyod sonrasında gelişim gösterir. Buna klasik örnek fenitoidir (Utrecht, 2008). Metabolik-idiosenkratik tip uygulanan ilacın metaboliti nedeniyle gelişmektedir. İntrensek hepatotoksitenin aksine yanıt oranı değişken olmakla birlikte bir hafta ile bir yıl arasında ortaya çıkmaktadır. İzoniazid toksisitesi bu gruba dahildir (Andrade ve ark., 2005).

2.1.3.3. Karaciğer Hasarında Morfolojik Değişiklikler

Toksik maddeler temel olarak hepatositleri, sinuzoidal hücreleri, Kupffer hücrelerini, safra duktuslarını ve vasküler sistemi etkileyerek karaciğerde çeşitli morfolojik değişikliklerin meydana gelmesine sebep olmaktadır.

Hepatoselüler Hasar

Hepatoselüler hasar olarak temelde sitotoksik hasar yapan ilaçlar arasında parasetamol, NSAİİ, antidepresanlar, sülfonamidler, izoniyazid, ketokanazol, halotan, antidiabetik ajanlar, ekstazi, psikotropik ve nörotropik ilaçlar, kokain, CCl₄ yer almaktadır (Zimmerman ve Ishak, 2000; Broulac-Sage ve Balabaud, 2004; Narci ve ark., 2006; Brunt ve Clouston, 2004).

Vasküler Hasar

Toksik maddeler vasküler sistemin her alanında, hepatic arter, portal ven, sinuzoidler ve santral ven düzeyinde hasar yapabilmektedir. Venookluzif hastalık, sinuzoidal dilatasyon, peliozis, hepatoportal skleroz, hepatic arterde intimal hiperplazi gibi çeşitli lezyonlarla da oluşabilmektedir (Zimmerman ve Ishak, 2000; Broulac-Sage ve Balabaud, 2004; Goodman ve Ihsak, 2006). Oral kontraseptifler, östrojen, tamoksifen, danazol, antineoplastik ilaçlar, alkol, thoratrast vasküler sistemde hasar yapabilen başlıca ilaçlar arasında sayılabilir.

Safra Yolları Hasarı

Amoksisilin / kalvulonik asit, fenotiazinler, karbamazepin, trisiklik antidepresanlar gibi bazı ilaçlar akut kolestaza neden olurken fenotiyazinler, tetrasiklin, makrolidler kronik kolestaza neden olabilir (Zimmerman ve Ishak, 2000; Broulac-Sage ve Balabaud, 2004; Goodman ve Ihsak, 2006).

Sinuzoidal Hücre Hasarı

Toksik ajanlar sinuzoidal hücreler ile Kupffer hücrelerini etkileyerek hasara yol açmaktadır. Bu tip hasara örnek olarak granümatöz reaksiyonlar gösterilebilir.

Fenilbutazon granulomatöz hepatite neden olan ilaçlardan bir tanesidir (Zimmerman ve Ishak, 2000; Broulac-Sage ve Balabaud, 2004).

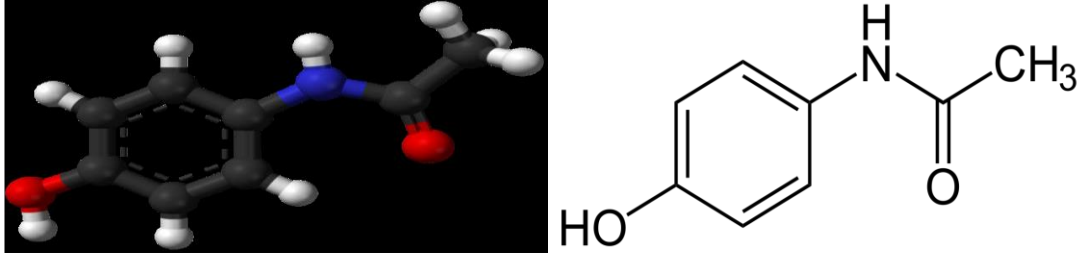
2.2. Parasetamol

2.2.1. Parasetamol'ün Tarihçesi

İlk çağlarda ve orta çağda ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak başta söğüt ve kına ağacının kabukları olmak üzere çeşitli bitkilerden faydalanılmıştır. (Scherlock ve Dooley, 1997; Davidson ve Eastham 1996; Oliver, 2004). 19. Yüzyılda (yy.) kına ağacının zor bulunur hale gelmesi insanları yeni ilaç arayışına sokmuş ve 1878 yılında Harmon Northrop Morse tarafından parasetamol sentezlenme çalışmaları başlatılmıştır (Alfio ve ark., 2006). 1887 yılında geliştirilen fenasetinden daha toksik olduğu tahmin edilen parasetamol uzun süre klinikte uygulanamamıştır. Parasetamolun asetinilid gibi kontrendikasyonlarının bulunmadığı Brodie ve Axelrod'un 1948 yılında yapmış olduğu çalışmalarda ortaya konulmuştur (Brodie ve Axelrod 1948). İlk kez 1955 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 'Tylenol' adıyla satışa sunulan parasetamol İngiltere'de 'Panadol' ticari adı ile 1956 yılında satışa sunulmuştur. Yan etkilerinin dar olması bakımından analjezikler arasında önemli bir yer edinmiştir.

2.2.2. Parasetamol'ün Yapısı ve Özellikleri

Parasetamol; Asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol olarak da bilinen analjezik ve antipiretik etkiye sahip bir ajandır. Şekil 2.4.'de gösterildiği gibi HO-HN-O-CH₃ şeklinde formülize edilmiştir. Molekül formülünün C₈H₉NO₂ olması bakımından asetaminofen olarak adlandırılmıştır. Sistematik adı N-(4-hydroxyphenyl) acetamide olarak bilinir. Moleküler ağırlığı 151,2 g/mol olup suda az çözünen sentetik yapıya sahip bir bileşik olma özelliğini taşımaktadır. Zayıf bir asit olmasından dolayı fizyolojik pH'da (power of hydrogen) aniyonize şekilde bulunmaktadır (Slattery ve Levy, 1979). Acımsı bir tadı olan parasetamolün kokusu yoktur ve beyaz kristal toz bir yapıya sahiptir (Verschuere, 1996).



Şekil 2.4. Parasetamol'ün yapısı (Turgut, 2016)

2.2.3. Parasetamol'ün Etki Mekanizması

Parasetamol'ün kimyasal yapısının asetilsalisilik aside benzemesinden dolayı siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ettiği ve prostaglandin üretimini baskıladığı düşüncesi savunulurdu (Clissold, 1986). Parasetamol'ün antitrombolitik etkisi olmamasına rağmen asetilsalisilik asit, tromboksanların üretiminde görevli olan siklooksijenazı inhibe ettiği için kanın pıhtılaşmasını azaltmaktadır. İnflamasyona sebep olan prostaglandin sentezini etkilememesi bakımından NSAI (Non-Steroid Anti-Inflamatuar) olarak düşünülmemektedir (Bertolini ve ark., 2006; Kayaalp, 2005). Parasetamol'ün etki mekanizması tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, yapılan çalışmalarda merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde santral COX inhibisyonu ve serotoninerjik sistemle İndirekt etkileşim yoluyla tesir ettiği görülmüştür (Clissold, 1986). 2002 yılında yapılan bir çalışmada parasetamol tarafından selektif olarak inhibe edildiği bilinen COX-1 ve COX-2'den farklı bir COX enzim varyantı bildirilmiş ve COX-3 olarak formülize edilmiştir (Swierkosz ve ark., 2002).

2.2.4. Parasetamol'ün Metabolizması

Parasetamol başlıca karaciğer olmak ile birlikte böbrekler ve bağırsakta metabolize edilir. APAP metabolizmasındaki üç temel mekanizma glukuronid konjugasyonu, sitokrom CYP450'ye bağlı mikrozomal oksidasyon ve sülfat konjugasyonu olmaktadır (Yapar ve ark., 2007). Parasetamol terapötik dozlarda uygulandığında, %80-85'i glukuronid - sülfat konjugasyonu ile, %10'u CYP450 enzim sistemi aracılığıyla metabolize edilmektedir. %5'i ise bozulmadan idrarla atılarak uzaklaştırılır (Benson ve ark., 2005; Gelotte ve ark., 2007). CYP450 parasetamol metabolizmasında işlev gören en önemli enzim olmakla birlikte toksik

dozlarda CYP2E1 ve CYP1A2, terapötik dozlarda ise CYP3A4 enzimleri görev yapmaktadır (Bessems ve Vermeulen, 2001).

2.2.5. Parasetamol'ün Yan Etkileri

Parasetamol tedavi edici dozlarda genellikle iyi tolere edilebilmekle birlikte nadiren alerjik cilt reaksiyonları (kızarıklık, ürtiker), hipoglisemi, alerjik ilaç ateşi, hematolojik yetmezlik ve böbrek yetmezliği gibi yan etkiler görülebilmektedir (Graham ve ark., 2005). Yüksek dozlarda oryantasyon bozukluğu, baş dönmesi ve huzursuzluğa yol açsa da hepatik nekroz yüksek dozlardaki en ciddi yan etkisidir (Katzung, 2007). Karaciğer hastalığı, malnütrisyon ve kronik alkol kullanımı parasetamolün hepatotoksik etkisi artırmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda parasetamol kullanımıyla astım, gastrointestinal problemler ve renal hastalıklar arasında ilişki olduğu görülmüştür (Kayaalp, 2005). Parasetamol'ün asit-baz dengesi üzerine, kardiyovasküler sistem ve solunum sistemine belirgin bir yan etkisi saptanmamıştır.

2.2.6. Parasetamol Toksisitesi

Parasetamol'ün erişkinlerdeki tedavi dozu oral 500-1000 mg olmakla birlikte lüzum halinde 4-6 saat aralıklarla alınabilir. Günlük maksimum doz 4 g olarak kabul edilmektedir. Bir defada 150mg/kg'dan yüksek dozlar toksik doz olarak kabul edilirken 300mg/kg üzerindeki tek seferlik dozlar ölümcül doz olarak belirlenmiştir (Swierkosz ve ark., 2002; Potter ve Hinson, 1987). Tedavi dozlarında glukuronid ve sulfat konjugatları şeklinde karaciğerde inaktive olan parasetamolün yaklaşık %8 oranında toksik ara metabolitleri de oluşmaktadır. CYP450 enzim sistemi ile oksidasyona uğrayan parasetamolün toksisiteye neden olan metaboliti *N-asetil-pbenzoquinoneimine* (NAPQI) olarak bilinir. Biyolojik yarı ömrü kısa olan NAPQI glutatyona bağlanarak detoksifiye edilmektedir. Terapötik dozların aşımı NAPQI miktarını da artırır ve glutatyonun NAPQI bağlama kapasitesini aşmasıyla serbest haldeki NAPQI karaciğerde moleküllerle kovalent bağ yapıp hepatik nekroza kadar

giden karaciğer hasarına neden olmaktadır (James ve ark., 2003). Bu hasarın karaciğer hücrelerinde hücre içi dengenin bozulmasıyla ortaya çıktığı düşünülür (Boobis ve ark., 1990). Histolojik olarak hepatik nekrozun en fazla P450-MFO (karma fonksiyonlu oksidaz sistemi) aktivitesinin görüldüğü sentrilobüler bölgede olduğu görülmüştür (Hung ve Nelson, 2000). Hücre içi dengenin bozulmasıyla hücre içerisinde biriken Ca^{+2} hücre ölümüne sebep olan katabolik enzimlerin sayısının artmasına neden olmaktadır. Apoptozis, nitrik oksit, reaktif oksijen türleri ve lipid peroksidasyonunun da karaciğerde toksisiteye neden olduğu bilinmektedir (Donnelly ve ark., 1994).

Sistemik döngünün ve emilimin yapıldığı, yabancı maddelerin elemine edildiği ve metabolizmanın merkezi denilebilecek özelliğe sahip organımız karaciğerdir. İlaça bağlı hepatotoksisite, tüm dünyada sağlık alanında gittikçe artan ciddi sağlık sorunu haline gelmeye başlamıştır. ABD’de yapılan bazı çalışmalar, yüksek doz ilaca bağlı hepatotoksisiteyi de içeren karaciğer yetmezliğinin %50’den daha fazla olduğunu saptanmıştır. Geçmişte, ilaca bağlı hepatotoksisite ile ilişkili olarak meydana gelen hastalık ve ölümlerden dolayı birçok ilaç piyasadan kaldırılmıştır (Russmann ve ark., 2009; Mayhew, 2009; Eren ve ark., 2004). Karaciğer hasarına sebep olan maddeler hepatotoksin olarak adlandırılmaktadır. Hepatotoksinler “intrinsik” ve “idiosentratik” olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır. İntrinsik hepatotoksinler doza bağlı tarzda etki gösterir ve bu yolla meydana gelen hepatotoksisite intrinsik hepatotoksisite olarak adlandırılır. Doza bağlı olmayan tarzda etki gösteren hepatotoksinler idiosentratiklerdir. Karaciğer yetmezliğine büyük oranda neden olan hepatotoksisite intrinsiktir ve buna en güzel örnek olarak asetaminofen (APAP ya da parasetamol) verilebilir. İdiosentratik hepatotoksinlere maruz kalan hasta sayısı 1/10000 olarak tespit edilmiştir. 1000’den fazla ilaç ve bitkisel ürünler ise idiosentratik hepatotoksiktir ve akut karaciğer yetmezliğinin %10’undan fazlasını oluşturmaktadır (Russmann ve ark., 2009; Castell ve ark., 1997).

Parasetamol 1960’larda aspirinden daha az toksik, analjezik, antipiretik ajan olarak artan sıklıkla kullanılmıştır. ABD’de parasetamol toksik ilaç alımlarının en

yaygın ikinci nedeni arasında yer almaktadır. Parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarında önemli bir iş yükü oluşturmak ile beraber yüksek doz parasetamol alımına bağlı hepatotoksisite dünya çapında önemli bir sorun haline gelmektedir (Geeta ve ark., 2002). Parasetamol ABD’de en yaygın kullanılan ağrı kesici olup (Amerikalıların %36’sı ayda en az bir defa parasetamol kullanıcısıdır.) yüksek doz alımında ölümcül karaciğer hasarına yol açmaktadır (Larson ve ark., 2005).

Parasetamole bağlı oluşan akut karaciğer yetmezliği vakaları, 1998’de %28 iken 2003’de %51 olarak tespit edilmiştir. Bu hastalar baskın şekilde kadın cinsiyete (%74) ve beyaz ırka mensup olarak görülmüştür. Vakaların büyük kısmında alımlar kasıtlı olarak oluşurken, %8-26 vaka yanlış ilaç alımına bağlı gelişmiştir. Yanlışlıkla aşırı doz parasetamol alan hastalar çoğunlukla yaşlı hastalar olmakla birlikte, daha sıklıkla kombinasyon halindeki ilaçları kullanıcısı olmaktadır. Ayrıca bu hastalarda semptomların başlangıcından sonra sağlık kurumuna başvuruncaya kadar uzun süre uzamaktadır. Çoğunun özellikle mevcut ağrıları için bu ilaçları kullandıkları yapılan çalışmalarla raporlanmıştır. Bu hastaların kasıtlı şekilde aşırı doz alan hastalara göre, daha fazla oranda ciddi hepatik ensefalopatiye sahip oldukları görülmektedir. Yanlışlıkla aşırı doz alan hastalardan %63’ü narkotik parasetamol içeriği bulunan kombine ilaç kullanıcısı olduğu saptanmıştır (Larson ve ark., 2005).

Amerikan Zehirlenme Kontrol Merkezi tarafından 2003 yılında 127.000’den fazla toksik parasetamol maruziyeti tespit edilmiştir. Bu maruziyetlerden 65.000 vaka tıbbi kurumda tedavi alanları oluşturmakta olup bu vakaların 16.500’üne ise NAC tedavisi uygulanmıştır. Analjezik bir ajanın primer sorumlu olduğu düşünülen, aşırı doza bağlı 214 ölüm vakasından 62’sinde parasetamol tek bir ajan olarak kayıtlara geçmiştir (Adam ve ark., 2005).

2.3. Resveratrol

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), dünyada hem ilaç sanayinde hemde sofralarda tatlandırıcı olarak kullanılmakta olan 20.000'e yakın bitki çeşidinin var olduğunu rapor etmiştir. Bunların tamamına yakını içeriğinde uçucu yağ asidi barındırmaktadır. Bitki türlerindeki bu uçucu yağlar, mayaların ve bakterilerin gelişimlerini önleyerek yiyeceklerin doğallığını korumaya yardımcı olmaktadır. Dünyada pekçok ülkede eskilerden bu yana bitki özütleri alternatif tıpta sıklıkla kullanılmıştır. Türkiye'de de eski çağlardan bu yana devalı olup olmadığı bilinmeden deneme yanılma yöntemiyle yararlı görülen, birçok bitki türü çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Eski dönemlere ait reçetelerde bitki adlarına rastlanması, ilkel çağlarda da bitkilerin önemli yere sahip olduğunun bir kanıtıdır. Şimdiye kadar, ticari amaçla üretilen 500'e yakın bitki varlığından söz edilmektedir. Ülkümüzde ilaç-kimya sanayine kayıtlı 140 bitki çeşidi bulunmaktadır. Fakat, ilaç sanayisinde bitkilerin keşiflerinden ziyade, insanlar arasında alternatif tıpta hastaları tedavi etmek için faydalanılan bitkilerin sayısının çok daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (Yiğit ve Benli, 2005; Çenet ve Toroğlu, 2006).

Doğada en önemli antioksidanlar fenolik maddelerdir. Bunlar, polifenolik bileşenler olup, bitkilerin tüm bölümünde bulunmaktadır. Bitkisel kökenli fenolik antioksidanlardan en çok bilinenleri flavonoidler, tokoferoller, sinamik asit türevleri, kumarinler ve fenolik asitlerden oluşur. Antioksidanların besinlerde bulunan ve kolay oksitlenen molekülleri oksidasyondan koruduğu bilinir (Javonovic ve ark., 1984; Shahidi ve Nacz 1995; Moure ve ark., 2001).

Son yıllarda, tıp ve eczacılık alanında yaşlanmayı geciktirici özelliğe sahip oluşu, yüksek düzeyde antioksidan barındırışı ve polifenol yapıya sahip oluşu bakımından Resveratrol oldukça ilgi görmüştür (Baxter, 2008). Resveratrol (trans-resveratrol; trans-3,5,4-trihidroksi-stilben), molekül yapısı bakımından bir metilen köprüsü ile birleşmiş 2 aromatik halkadan oluşan, stilben ailesinden bir bileşiktir. Resveratrol natürel bir stilbendir ve nonflanoid olarak en çok bulunan biyolojik aktif fenoldür. Resveratrol, stilben sentaz enzimi aracılığıyla sentezlenir (Mazza, 1995).

Patojenlere maruz kalma, ultraviyole radyasyona maruziyet, mevsim değişiklikleri, ozon, ağır metaller, abiyotik stres faktörleri ve hava kirliliği, resveratrol sentezini artıran durumların başında gelmektedir (Ather ve ark., 2007).

Resveratrol, 1940'lı yılların başında ilk kez akçöplme bitkisinden (*Veratrum grandiflorum*) izole edilmiştir. İlerleyen yıllarda ise Japonya'da yerel olarak Kojokon (*Polygonum cuspidatum*) olarak isimlendirilen bitki kökünden izole edilerek, deri hastalıkları ve mantar tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı görülmüştür (Chachay ve ark., 2011). Yapılan araştırmalar sonucunda, resveratrolün üzümün kabuk ve dış kısmında yoğun olarak bulunduğu görülmüş olup; bitkiler tarafından stres, UV ışınları ve mantarlara karşı koruyucu mekanizma sırasında üretildiği kanaatine varılmıştır (Aggrawal ve Shishodia, 2005).

Resveratrol'ün, üzüm dışında, dut, erik, limon, kiraz, yer fıstığı, fındık gibi birçok meyve türüyle birlikte, çerezlerde ve okaliptüs, zambak, ladin, yaban mersini ve akasya vb. bitkilerde dâhil olmak üzere 72 çeşit bitki türünde yoğun miktarda bulunduğu görülmüştür (Dong, 2003). Resveratrol'ün kökeni Hindistan'da Ayurvedaya dayanmakta olup, alternatif tıpta ve geleneksel Çin tıbbında da kullanıldığı bilinmektedir (Aggrawal ve Shishodia, 2005). Bunun yanısıra, kırmızı şarap tüketiminin çok fazla olduğu güney Fransa'da yaşayan insanlarda koroner kalp hastalıklarına bağlı ölümlere diğer bölgelere göre daha az rastlanmasının kırmızı şarabın içeriğinde bol miktarda resveratrol barındırıyor olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yaşanan gelişmeler sonucunda, 'Fransız Paradoksu' ismiyle anılan bu durum Resveratrol'ün yağların emilimini azalttığı, kanın pıhtılaşmasını engellediği ve damarların elastikiyetini artırarak genişlemesine yardımcı olduğu belirtmektedir (Gu ve ark., 2000; Hung ve Nelson, 2000).

2.4. Avokado Yağı

Avokado 50'ye yakın ülkede yetiştirilmekle birlikte dünya genelinde üretilmekte olan 60 çeşit tropikal üründen bir tanesidir (Ploetz, 1994). Avokadonun yetiştirilme alanı ve dünyadaki üretimi birçok meyve çeşitinin çok aşağılarında olmasına rağmen, yüksek gıda değerine ve özgün bir tada sahip olması sebebiyle dünyaki tüketici pazarlarında diğer besinlere nazaran yüksek fiyatlarla alıcı bulabilen besin türü olma özelliğine sahiptir. Dünya'da en çok avokado üretimi yapılan ülkeler sırasıyla Meksika, Brezilya, ABD, İspanya ve İsrail olarak sıralanmaktadır (Van Zyl ve Feraira, 1995). Ülkemiz ise 524 tonluk üretim ile çok düşük bir avokado üretimine sahip konumdadır. Avokado yarı tropikal iklim bitkisi olmasına karşın, subtropik iklim meyvelerinin yetiştirilebildiği bölgelerde de güvenle yetiştirilebilir. Avokado yetiştiriciliğini kısıtlayan en önemli faktör düşük sıcaklıklardır. Türkiye'de avokado yetiştirilebilen iller Antalya, Mersin, Muğla ve Adana ile sınırlanmıştır. Türkiye'de avokado bitkisinin ticari amaçlı yetiştiriciliğini yaygınlaştırmak için 1970'li senelerin ilk çeyreğinde FAO (Food and Agriculture Organization) aracılığıyla çeşitli avokado fideleri ithal edilmiştir.

Avokadonun kendine özgü tadı ve aromasının oluşundan dolayı yağı da büyük önem taşımaktadır. Avokado yağının tek zincirli doymamış oleik asit içeriyor olması, aterosklerotik koroner hastalıklara neden olan kanda düşük yoğunlukta bulunan lipoprotein (LDL) kolesterol seviyesini azaltması bakımından insan sağlığı üzerindeki önemini artırmaktadır. Bunun dışında, diğer besinlere göre daha yüksek yoğunlukta antioksidan; A, B, E vitaminleri ve yüksek çözülebilir lif içeriyor olması bakımından kalp sağlığına koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir. Avokadonun içerdiği yağ nedeniyle gıda endüstrisi dışında kozmetik ürünlerin hazırlanmasında da yaygın bir şekilde kullanıldığı görülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan deney hayvanları, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve aynı yerde deneysel uygulamalar gerçekleştirildi. Bu çalışmada ağırlıkları 400-550 gram arasında değişen Wistar Albino cinsi toplam 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart ışık (12 saat aydınlık/12 saat karanlık), ısı (25°C), yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) ile toplam 4 gün süreyle beslendi ve deney toplam 5 günde tamamlandı.

3.1.2. Etik Kurul Onayı

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18.09.2019 tarih ve 540 karar no'lu onayı alındıktan sonra deneylere başlandı.

3.1.3. Kullanılan İlaç ve Kimyasallar

Parasetamol

Resveratrol

Avokado Yağı

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney Planı

Çalışmamızda her bir grupta 6 adet Wistar Albino (400-550 g) cinsi erkek sıçan olmak üzere 5 grup oluşturuldu. Gruplar;

Grup 1: Kontrol (K),

Grup 2: Parasetamol (P) (600 mg/kg, intraperitoneal injeksiyon),

Grup 3: Parasetamol+Resveratrol (RES) (600mg/kg/tez doz +10 mg/kg/gün, oral)

Grup 4: Parasetamol+Avokado yağı (AVO) (600mg/kg/tez doz 200 mg/kg/gün, oral)

Grup 5: Parasetamol+Resveratrol+Avokado yağı (600mg/kg/tez doz+10 mg/kg/gün, oral+200 mg/kg/gün, oral)

Sıçanlara, parasetamol uygulaması tez doz intraperitoneal olarak uygulandı. Resveratrol ve Avokado yağı uygulamaları 5 gün süreyle gavaj yoluyla uygulandı. Deneyin 4. gününde yapılan parasetamol uygulamasını takiben 24 saat sonra, yani deneyin beşinci günü, hayvanlar gruplar halinde i.m. olarak uygulanan %10' luk ketamin HCl (Ketalar; Alfamin) ve %2' lik ksilazin (Alfazin) anestezisi altında cerrahi eksanguinasyon ile sakrifiye edildi. Deney planı tablo 3.1'de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Deney Planı

Deney Grubu	Hayvan Sayısı	Doz	Süre
Kontrol	6	-	5 gün
Parasetamol	6	600 mg/kg i.p Parasetamol (tek doz)	4.gün
Parasetamol+Resveratrol	6	600 mg/kg Parasetamol (tek doz) + 10 mg/kg Resveratrol	5 gün
Parasetamol+Avokado Yağı	6	600mg/kg Parasetamol (tek doz) + 200 mg/kg Avokado Yağı	5 gün
Parasetamol+Resveratrol+ Avokado Yağı	6	600 mg/kg Parasetamol (tek doz)+ 10 mg/kg Resveratrol+ 200 mg/kg Avokado Yağı	5 gün

3.2.2. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Deneyin 5.günü ratlardan anestezisi altında kesim öncesi intrakardiyak yöntemle alınan kan örnekleri Comet Testi için K3EDTA'lı tüplere toplandı. Daha sonra ratlar servikal dislokasyon yöntemiyle ötenazi edilerek nekropsileri yapıldı. Karın bölgesi açılarak karaciğer örnekleri alındı. TAS ve TOS analizleri için doku numuneleri %0,9'luk salin solüsyonunda yıkandıktan sonra temiz kaplara alınarak analizin

yapılacağı tarihe kadar -80 °C’de saklandı. Histolojik incelemeler için karaciğer doku örnekleri %10’luk nötral formaldehit çözeltisi içinde tespit edilip, rutin doku takip yöntemlerinden sonra parafine bloklandı. Histolojik incelemeler için Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama yöntemi kullanıldı.

3.2.3. Doku Takip Çalışmaları

En az 24 saat %10 nötral formalin solüsyonu içerisinde fiksasyonu sağlanan doku örnekleri, bir gece akan suda yıkama işlemine tâbi tutulduktan sonra sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

a. Suyun dokulardan uzaklaştırılması (Dehidratasyon)

Dokular dereceli alkollerde sırasıyla belirtilen sürelerde bekletildi.

<u>Alkol derecesi</u>	<u>Süre</u>
%50	1 saat bekletildi.
%70	1 saat bekletildi.
%80	1 saat bekletildi.
%90	1 saat bekletildi.
%96	1 saat bekletildi.
%100	1 saat bekletildi.
%100	1 saat bekletildi.
%100	1 saat bekletildi.

b. Şeffaflandırma

Ksilolde 3-10 dk (Her 3 dk da bir kontrol edilerek işlem sonlandırıldı).

c. Parafin Emdirme

Sıvı parafin (60 °C etüvde) 30 dk bekletildi.

Katı parafin (oda sıcaklığında) 1 gece bekletildi.

d. Gömme

Sert parafin, içerisine gömülen dokularla bloklar halinde hazırlandı.

e. Kesit alma

Hazırlanan parafin bloklardan kızaklı mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.

Histokimyasal değerlendirme için preparatlara Hematoksilen-Eozin ile rutin boyama yapıldı. Uygulanan boyama protokolü sırasıyla aşağıda belirtilmiştir.

<u>Yapılan işlem</u>	<u>Süre</u>
1. Deparafinizasyon	
A. 60°C etüv	45 dk bekletildi.
B. Ksilol I	20 dk bekletildi.
C. Ksilol II	20 dk bekletildi.
2. Alkol serisi	
A) %96	10 dk bekletildi.
B) %90	10 dk bekletildi.
C) %80	10 dk bekletildi.
D) %70	10 dk bekletildi.
3. Distile Su	5 dk bekletildi.
4. Hematoksilen	2 dk bekletildi.
5. eşme suyu	5 dk bekletildi, sonra 2-3 tur akan suda yıkandı.
6. Asit alkol	3-4 sn
7. eşme suyu	5 dk bekletildi, sonra 2-3 tur akan suda yıkandı.
8. Eozin	2 dk bekletildi.
9. eşme suyu	5 dk sonra 2-3 tur akan suda yıkandı.
10. %70- %80- %90 alkol serisinden sırasıyla batır çıkar yaparak geçirildi.	
11. Ksilol	1 gece bekletildi.
12. Kapatma (Entellan)	

Boyanan örnekler Olympus BX50 tipi binoküler mikroskopta incelendi ve fotoğrafları çekilerek değerlendirildi.

3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar

-80 °C'de saklanan herbir gruba ait karaciğer dokuları oda sıcaklığına getirildikten sonra ayrı ayrı tartılarak 50mM fosfat tamponu (pH 7.4) ile 10 kat dilüe edildi. Janke&Kunkel Ultraturrax T-25 (Almanya) marka doku parçalayıcı ile ve daha sonra UW-2070 Bandeun Electronic (Almanya) marka sonikatör ile muamele edilerek homojenizasyon tamamlandı. Doku örnekleri soğutmalı santrifüj ile 10.000 devir/dk, 10 dk. santrifüj edildi ve süpernatanı alınarak ependorf tüplere aktarıldı.

Elde edilen süpernatanlarda, mikroprotein düzeyleri Beckman Coulter AU 5800 (ABD) otoanalizörü kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Rel Assay Diagnostic Assay kitleri ve MultiskanGO (ThermoFisher Sci., Waltham, Massachusetts, USA) mikrolaka okuyucu kullanılarak spektrofotometrik yöntemle TAS ve TOS parametreleri çalışıldı. Sonuçlar mikroprotein düzeyine bölünerek hesaplandı.

Total Antioksidan Status (TAS)

TAS kiti ile toplam antioksidan durumu ölçüldü (Erel, 2004). Yöntem, renkli 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikalini, örnekte bulunan antioksidanlar tarafından renksiz indirgenmiş form oluşmasına dayanır. Renkteki bu değişim 660 nm'de absorbanda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Metot, E vitamini analogu Trolox ile kalibre edildi ve veriler mmol Trolox eq./L olarak ifade edilmiştir.

Total Oksidan Status (TOS)

TOS kiti ile toplam oksidan durum ölçüldü (Erel, 2005). Yöntemin ana ilkesi örnekteki oksidanların, şelatöre bağlı ferrik demir iyonlarını ferroz demir iyonlarına okside etmesidir. Asidik ortamda bu ferrik iyonlar, kromojen ile renkli kompleks oluşturdu. Spektrofotometrik olarak renk yoğunluğu, 530 nm dalga boyunda ölçüldü. Deney, hidrojen peroksit (H₂O₂) ile kalibre edildi ve sonuçlar µmol H₂O₂ eq./L olarak ifade edilmiştir.

Oksidatif Stres İndeks (OSİ)

Oksidatif stres derecesinin bir indikatör parametresi olan Oksidatif Stres İndeksi; Total Oksidan Seviye (TOS – Birimi $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv. / L}$) / Total Antioksidan Seviye (TAS – Birimi $\mu\text{mol Trolox equivalent/L}$) şeklinde bölünerek (OSİ - Birimi AU) hesaplandı.

3.2.5. Comet Yöntemi

3.2.5.1. Kullanılan Solüsyonların Hazırlanması

Lizis Solüsyonu (500 ml stok solüsyon)

2,5 M NaCl

100 mM EDTA

10 mM Trizma base

Tartılıp distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

100 ml çalışma solüsyonu:

% 1 Triton X-100 1ml

% 10 DMSO 10 ml

Alkali Elektroforez Tamponu (300 mM NaOH/1mM EDTA)

500 ml elektroforez tamponu:

300 mM NaOH

1 mM Na₂ EDTA karıştırıldı. Distile su ile hacim 500 ml'ye tamamlandı (pH

> 13)

Nötralizasyon Tamponu

100 ml Nötralizasyon tamponu:

400 mM Tris HCL'in distile su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı (pH 7,4).

STOK PBS (1 litre):

Na₂HPO₄

KCl

KH₂PO₄

NaCl

Tris HCl

Stok PBS için uygun oranlarda karıştırılıp hacmi distile su ile 1 litreye tamamlandı.

NMA

% 1,5 NMA (75 mg NMA, 5 ml 10X PBS içinde)

LMA

% 0,75 LMA (37,5 mg LMA, 5ml 10X PBS içinde)

3.2.5.2. Lamların Hazırlanması

Lamlar sıcak zeminde ısıtıldı ve sıcak kalması sağlandı. 50 mg (0,05 gr) normal erime noktasına sahip agaroz (NMA) + 5 ml 1/10 dilüe edilmiş PBS de eritildi. Kabarcık kalmayınca kadar kaynatıldı ve 60 °C suda bekletildi. NMA'dan her bir lama 100 µl dökülerek lama froti şeklinde yayıldı ve donması için soğuk yüzeyde bekletildi.

3.2.5.3. Deneyin Yapılışı

Comet analiz çalışması için, 0,5 ml histopaque 1077 + 0,5 ml tam kan yavaş yavaş ilave edildi. 2100 rpm'de 30 dk oda sıcaklığında santrifuj edildi. santürfuj sonrasında tüpte oluşan iki tabaka arasındaki bulanık kısımdan 500 µl çekildi ve 1/10

dilüe PBS (fosfat tamponu) ilave edilerek 1600 rpm 10 dk tekrar santürlüj edildi. Her seferinde süpernatant atıldı, pelet alındı. Hücreler çok yoğun ise 1/10 PBS ile yeniden sulandırıldı. Daha sonra, 40 mg (0,04 gr) LMA + 4 ml 1/10 dilüe PBS de eritildi, kaynatıldı, 37 °C su içine alındı. Hücrelerden 10 µl alındı ependorf içine yerleştirildi ve üzerine 90 µl low melting agar (LMA) eklendi. Bu hazırlanan karışımdan 80 µl alınarak daha önceden normal melting agarla (NMA) kaplanmış lamlara yerleştirildi ve üzeri lamelle kapatılarak 15 dakika +4 °C de bekletildi. 15 dakikanın sonunda lameller atılıp, lizis solüsyonuna konulup 60 dakika +4 °C de bekletildi. 60 dakikanın bitiminde, lamalar soğuk elektroforez tamponu ile dolu olan tanka yerleştirildi. Lamalar elektroforezin içine akım yönünde yerleştirilmiştir. Lamalar soğuk elektroforez tamponu içinde karanlık ortamda +4 °C de 30 dk bekletilmiştir. Bu işlemden sonra, 300 mA-25 V da 25 dk elektroforez tankında yürütme işlemi yapıldı. İşlem sonrası elektroforezden lamalar çıkarıldı, kağıt havlu üzerine alındı ve nötralizasyon tamponundan her lama 5'er ml dökülerek nötralizasyonu için beklendi. Daha sonra, hücreleri içeren agaroz jeller yıkanmadan oda sıcaklığında bir saat kurumaya bırakıldı. Hazırlanan lamalar 60 µl Etidyum bromür ile boyanarak okuma işlemi için hazırlandı. Okuma işlemi karanlık ortamda floresan ışık altında yapıldı. Her numune çift olarak değerlendirildi.

3.2.5.4. Görüntü Analizi

Numune başına 100 adet hücre floresan mikroskobu altında (Olympus BX 50, Japan) değerlendirildi. 40X'de skorlama yapıldı. (Etidyum bromür için floresan mikroskop, 488 nm dalga boyuna getirildi. Değerlendirilen her slayt kodlandı.

DNA kırıkları 5 kategoride değerlendirildi:

0= Hasarlanmamış hücreler,

1= En az hasarlanmış hücre,

2= Orta hasarlanmış hücre,

3= Maksimumda az hasarlanmış hücre,

4= Maksimum kuyruk uzunluğuna sahip olan hücreler ve maksimum hasara uğramış hücreler.

Her numunedeki hasarlanma derecesi 0-4 arası skorlandı ve böylece her numune için comet skoru elde edildi.

3.2.6. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 ve Install 3.0 yazılımları kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Histolojik analizde yarı kalitatif değerlendirme için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. İkili grup karşılaştırmaları için parametrik olmayan Mann-Whitney testi kullanıldı. Comet testi, TAS ve TOS analizlerinde gruplar arasında karşılaştırma için tek yönlü ANOVA (post hoc Tukey testi) kullanıldı. 0.05'in altındaki p değerleri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Histolojik Bulgular

Kontrol grubu ile deney grubuna ait karaciğer doku kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler Refaiy ve arkadaşlarının (2011) yapmış oldukları derecelendirmeye göre değerlendirildi. Gruplar arasında gözlenen değişikliklerin 'p' değerleri Tablo 4.1'de verildi.

Koyu renkte boyananlar anlamlı ($p<0.05$), diğerleri anlamlı olmayan ($p>0.05$ olan) gruplardır.

I. Grup: Kontrol,

II. Grup: Paresetamol,

III. Grup: Paresetamol + Resveratrol,

IV. Grup: Paresetamol + Avokado,

V. Grup: Paresetamol + Resveratrol + Avokado

Tablo 4.1. Karaciğer Dokularının Histolojik Skorlaması (Mann Whitney U Testine Göre P Değerleri)

GRUPLAR	Hepatositler de Granüler ve Vakuoler Dejenerasyon	Hepatositlerde Piknotik ve Hiper Kromatik Çekirdekler	Portal Alanda ve Parankimde Mononükleer Hücre İnfiltrasyonları	Hemorajik Alanlar	Sinüzoidal Dilatasyon	Vasküler Konjesyon	Makro-Mikro Veziküller Yağlanma
I	-	-	-	-	-	-	+
II	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
III	++	++	++	+++	+	+	++
IV	++	++	+++	+++	++	++	++
V	+	+	+	++	+	+	++
I-II	P=0.002	P=0.001	P=0.002	P=0.002	P=0.002	P=0.002	P=0.007
I-III	P=0.006	P=0.002	P=0.005	P=0.002	P=0.002	P=0.002	P=0.007
I-IV	P=0.004	P=0.002	P=0.003	P=0.001	P=0.003	P=0.002	P=0.007
I-V	P=0.006	P=0.002	P=0.005	P=0.002	P=0.006	P=0.002	P=0.003
II-III	P=0.014	P=0.014	P=0.005	P=0.847	P=0.027	P=0.02	P=1
II-IV	P=0.014	P=0.005	P=0.461	P=0.523	P=0.841	P=0.04	P=1
II-V	P=0.014	P=0.005	P=0.005	P=0.032	P=0.027	P=0.02	P=0.093
III-IV	P=0.221	P=0.784	P=0.042	P=0.461	P=0.005	P=0.002	P=1
III-V	P=0.014	P=0.014	P=0.005	P=0.039	P=1	P=0.65	P=0.093
IV-V	P=0.221	P=1	P=0.042	P=0.027	P=0.027	P=0.02	P=0.093

Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirilmesi skorlandı:

- (negatif skor): Hiçbir yapısal değişikliğin olmaması,

+ (1 pozitif skor): Hafif derecede,

++ (2 pozitif skor): Orta derecede,

+++ (3 pozitif skor): Ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir.

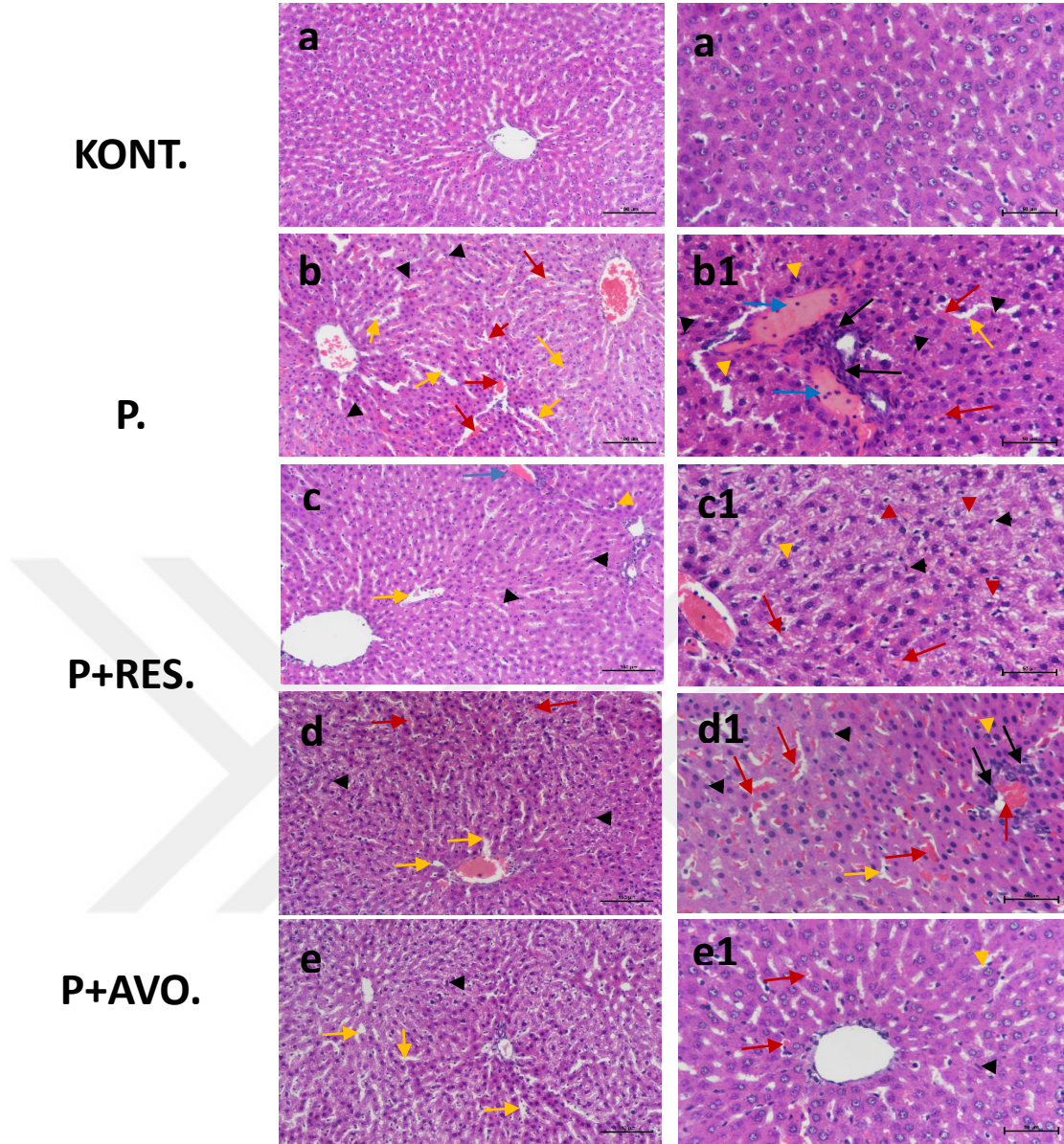
Kontrol grubu ratlarının (Grup I), karaciğer doku kesitlerinin histolojik incelenmesinde, normal histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmadı.

Parasetamol verilen deney grubu ratlarının (Grup II), karaciğer dokuları incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla; hepatositlerde granüler ve vakuoler dejenerasyonlar, piknotik çekirdekler, portal alanda ve parankimde mononükleer hücre infiltrasyonları, hemorajik alanlar, sinüzoidal dilatasyonlar, vasküler konjesyonlar, makro ve mikro veziküler yağlanmalar gözlemlendi ($p<0,05$).

Parasetamol ile Resveratrol verilen grupta ise (Grup III) Parasetamol verilen gruba (Grup II) kıyasla histopatolojik bulgularda iyileşme gözlemlendi.

Parasetamol ile Avokado verilen grupta ise (Grup IV) Parasetamol verilen gruba (Grup II) kıyasla histopatolojik bulgularda iyileşme gözlemlendi fakat bu iyileşme Resveratrol verilen (grup III) gruba kıyasla daha az oranda idi.

Parasetamol, Resveratrol ve Avokado birlikte verilen grupta ise (Grup V) Parasetamol verilen gruba (Grup II) kıyasla histopatolojik bulgularda iyileşme gözlemlendi ve bu iyileşme grup III ve grup IV' e kıyasla daha fazla oranda idi.



Şekil 4.1. Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer dokusu örnekleri. **a-a1:** Kontrol (Kont, grup I) grubuna ait örneklerde, herhangi bir histopatolojiye rastlanmamıştır. **b-b1:** Parasetamol (P, grup II) verilen gruba ait örneklerde, hepatositlerde granüler ve vakuoler dejenerasyonlar (sarı ok başı), piknotik çekirdekler (siyah ok başı), portal alanda ve parankimde mononükleer hücre infiltrasyonları (siyah ok), hemorajik alanlar (kırmızı ok), sinüzoidal dilatasyonlar (sarı ok), vasküler konjesyonlar (mavi ok), vakuollerde yağlanmalar (kırmızı ok başı) gözlenmiştir. **c-c1:** Parasetamol ile Resveratrol (P+RES, grup III) verilen gruba ait örneklerde, grup II' ye kıyasla bulgularda azalma gözlenmiştir. **d-d1:** Parasetamol ile Avokado (P+Avo, grup IV) verilen gruba ait örneklerde, grup II' ye kıyasla bulgularda azalma gözlenmiştir fakat bu azalma grup II' deki kadar fazla değildir. **e-e1:** Parasetamol, Resveratrol ve Avokado birlikte (P+Res+Avo, grup V) verilen gruba ait örneklerde, grup II' ye kıyasla bulgularda azalma gözlenmiştir, grup III ve grup IV ile kıyaslandığında en fazla iyileşme bu grupta gözlenmiştir (a-b-c-d-e; x20, a1-b1-c1-d1-e1; x40, H-E).

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. Karaciğer dokusunda TOS, TAS ve OSI düzeyleri

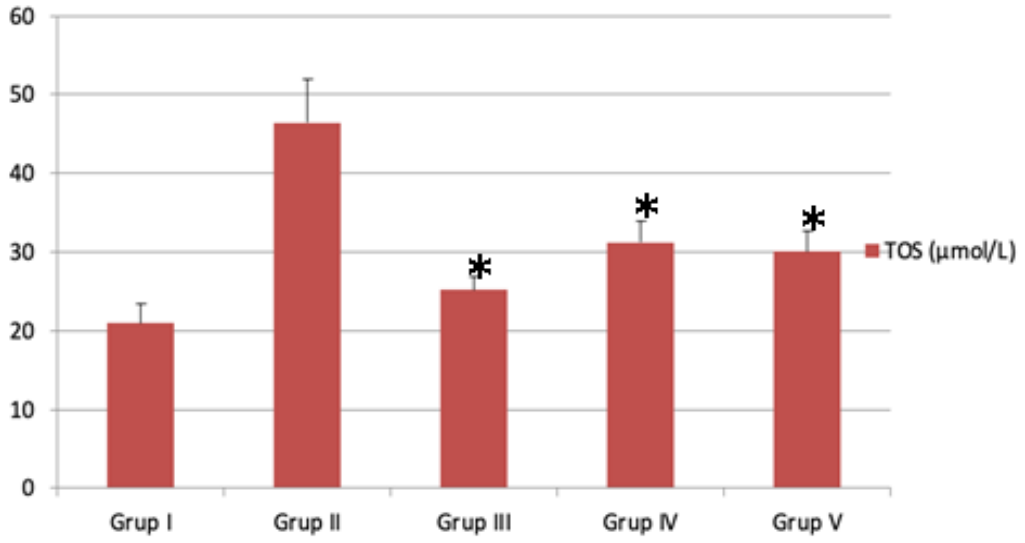
Deney gruplarına ait karaciğer dokusu TAS, TOS ve OSI analiz sonuçları Tablo 4.2’de verildi.

Tablo 4.2. Deney gruplarına ait TOS, TAS ve OSI parametrelerinin analizi.

Örneklem	TOS ($\mu\text{mol/L}$)		TAS (mmol/L)		OSI (AU)	
	Ortalama $\pm\text{SD}$	P	Ortalama $\pm\text{SD}$	P	Ortalama $\pm\text{SD}$	P
Grup I	20,92 \pm 2,55	**p=0.000	1,22 \pm 0,12		17,26 \pm 2,87	**p=0.000
Grup II	46,46 \pm 5,47	*p=0.000	1,08 \pm 0,09		42,88 \pm 4,16	*p=0.000
Grup III	25,18 \pm 1,62	**p=0.000	1,27 \pm 0,09	**p=0.031	19,88 \pm 2,10	**p=0.000
Grup IV	31,19 \pm 2,75	**p=0.000	1,24 \pm 0,04		25,17 \pm 3,02	**p=0.000
Grup V	30,02 \pm 2,65	**p=0.000	1,28 \pm 0,10	**p=0.011	23,31 \pm 1,02	**p=0.000

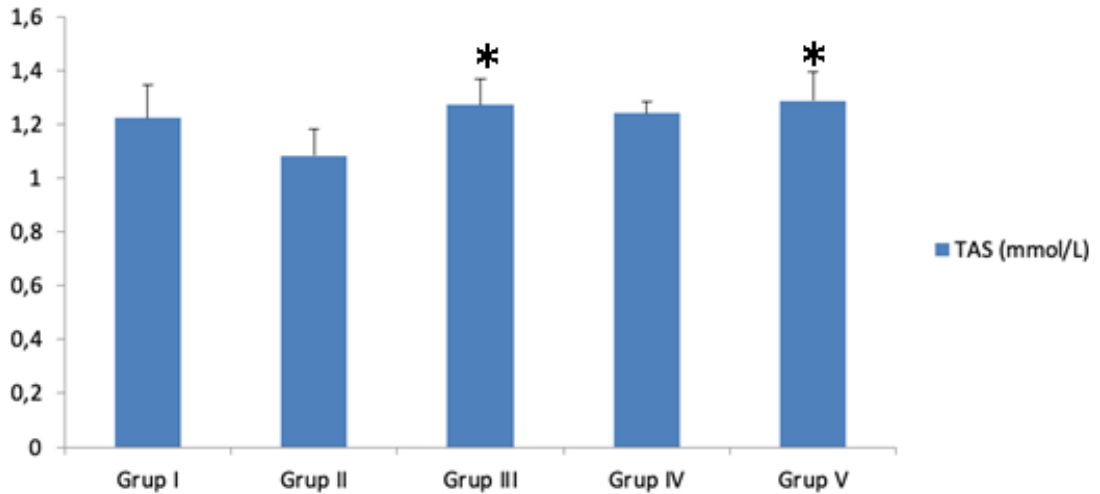
Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Gruplar arasındaki karşılaştırmada one way ANOVA (post hoc Tukey testi) kullanıldı. *p: Kontrol grubuna, **p: Parasetamol grubuna göre kıyaslama. Group I: kontrol, Group II: Parasetamol, Group III: P+Resveratrol, Group IV: P+Avakado, GroupV: P+Res+Av.

TOS ($\mu\text{mol/L}$)



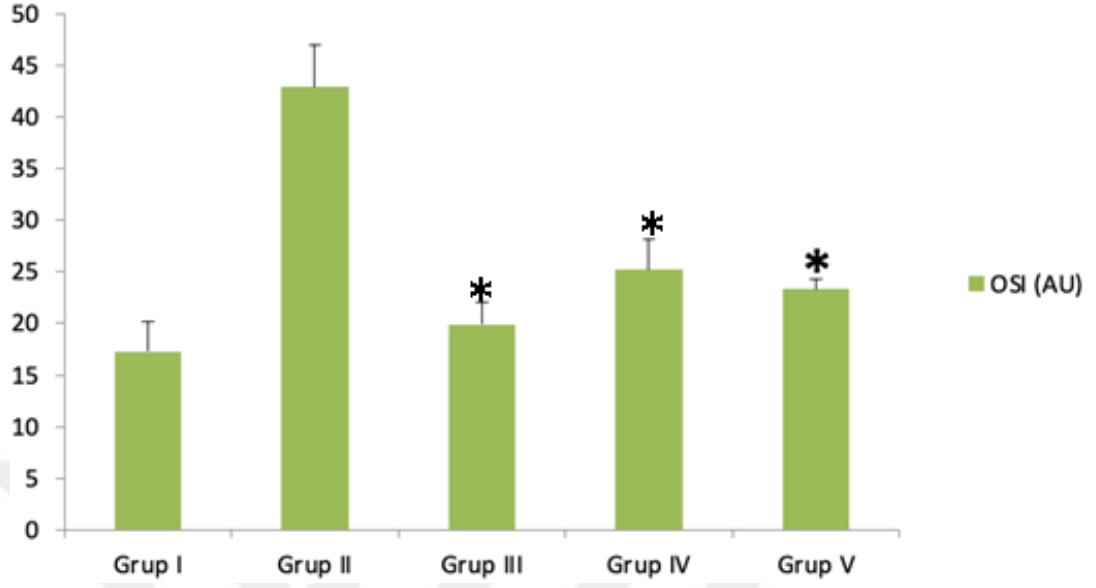
Şekil 4.2. Gruplararası karaciğer TOS düzeyleri. Grup I: Kontrol, Grup II: Parasetamol, Grup III: P+RES, Grup IV: P+AVO, Grup V: P+RES+AVO. Kontrol grubuna kıyasla parasetamol grubunda TOS seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,000$). Parasetamol grubunu P+RES, P+AVO ve P+RES+AVO grupları ile kıyasladığımızda TOS seviyesinin anlamlı olarak düştüğü görülmüştür ($p=0,000$, bütün gruplarda).

TAS (mmol/L)



Şekil 4.3. Gruplararası karaciğer TAS düzeyleri. Grup I: Kontrol, Grup II: Parasetamol, Grup III: P+RES, Grup IV: P+AVO, Grup V: P+RES+AVO. TAS seviyelerinin ise parasetamol grubuna kıyasla P+RES ve P+RES+AVO gruplarında anlamlı olarak arttığı görülmüştür (sırasıyla, $p=0,031$ ve $p=0,011$).

OSI (AU)



Şekil 4.4. Gruplararası karaciğer OSI düzeyleri. Grup I: Kontrol, Grup II: Parasetamol, Grup III: P+RES, Grup IV: P+AVO, Grup V: P+RES+AVO. Kontrol grubuna kıyasla parasetamol grubunda OSI seviyesi anlamlı olarak artmıştır ($p=0,000$). Parasetamol grubunu P+RES, P+AVO ve P+RES+AVO grupları ile kıyasladığımızda OSI seviyesinin anlamlı olarak düştüğü görülmüştür ($p=0,000$, bütün gruplarda).

4.3. DNA Hasarı

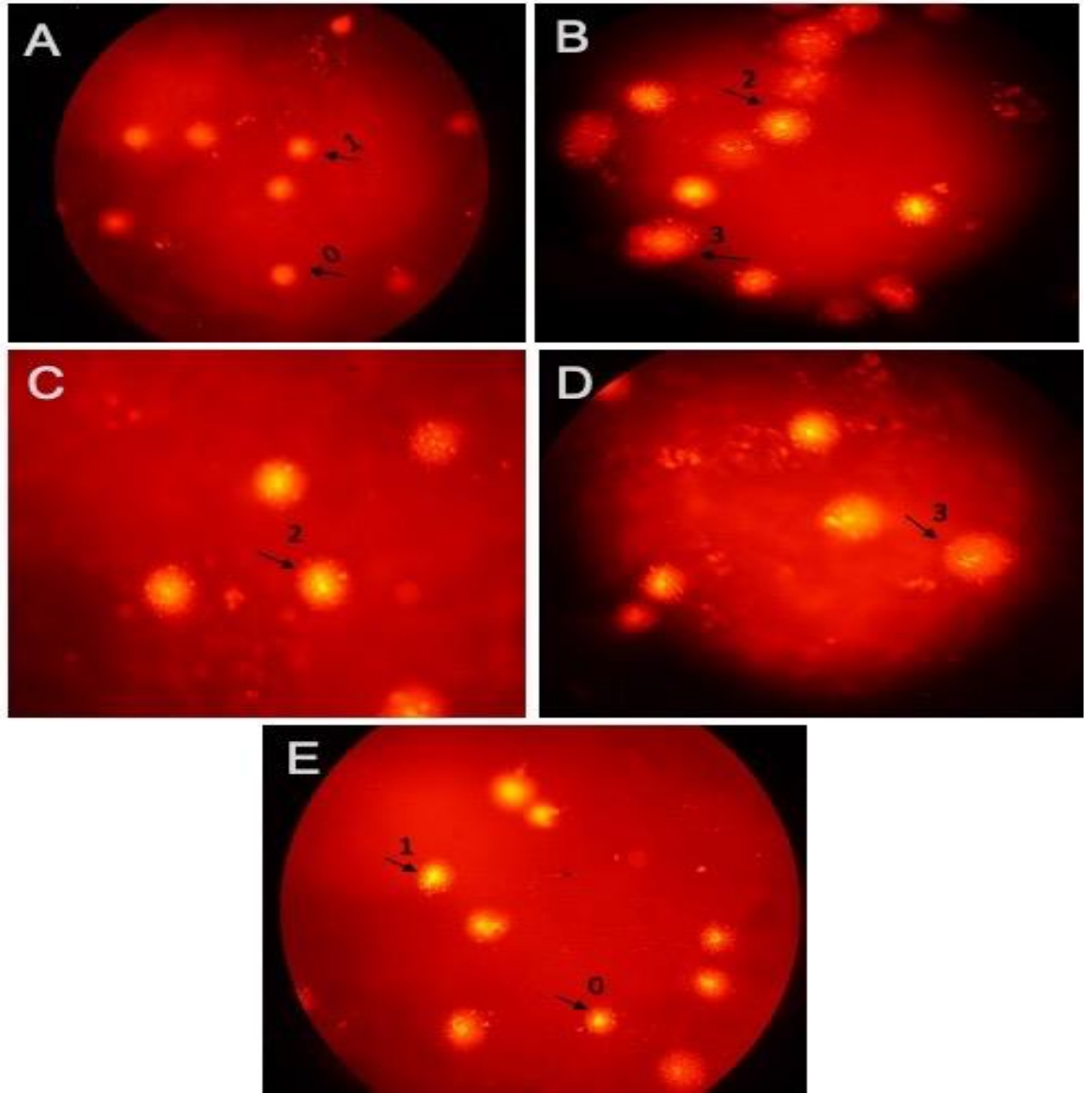
Gruplarda DNA hasarının değerlendirilmesi comet yöntemi ile gerçekleştirildi. Comet skoru analiz değerleri için gruplar arasında fark anlamlı olarak bulundu ($p=0.000$). Gruplara ait istatistiksel hesaplamalar Tablo 4.3’de sunuldu.

Tablo 4.3. Gruplara ait comet skoru analizi.

Gruplar	Comet Skoru Birim Değeri	
	Ortalama \pm SD	P değeri
K	127,00 \pm 68,61	
P	279,33 \pm 43,67	* $p=0.000$
P+RES	177,66 \pm 30,57	** $p=0.008$
P+RES+AVO	145,83 \pm 34,68	** $p=0.001$
P+AVO	256,33 \pm 48,51	** $p=0.914$

Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Gruplar arasındaki karşılaştırmada one way ANOVA (post hoc Tukey testi) kullanıldı. * p : Kontrol grubuna göre kıyaslama. ** p : P grubuna göre kıyaslama. K: kontrol, P: Parasetamol, RES: Resveratrol, AVO: Avakado

Kontrol grubuna göre kıyaslandığında, P grubunda comet skoru anlamlı olarak arttı ($p=0.000$). P grubuna göre kıyaslamada P+RES grubunun ve P+RES+AVO grubunun comet skoru anlamlı olarak azaldı (sırasıyla, $p=0.008$, $p=0.001$). P+AVO grubunun comet skoru P grubuna göre azaldı fakat fark anlamlı olarak bulunmadı ($p=0.914$).



Şekil 4.5. Comet yöntemi ile DNA hasarının değerlendirilmesi. (A) Kontrol grubu (Grup I), (B) Parasetamol (Grup II) (C) P + RES (Grup III), (D) P + AVO (Grup IV) (E) P + RES + AVO (Grup V). Hasar derecesine göre hücreler, hasarsız (göçmemiş) ve ciddi şekilde hasar görmüş (DNA göçü) olmak üzere beş kategoriye (0, 1, 2, 3, 4) sınıflandırıldı.

5. TARTIŞMA

İnsan bedeninin en önemli hayati fonksiyonlarını yürüten karaciğer, metabolizmadaki fonksiyonları nedeniyle aşırı doz alımına bağlı ilaç zehirlenmelerinde direkt etkiye uğrayan bir organdır. İlaç toksisitesi ile gelişen karaciğer hastalıkları, akut, kronik, fulminan hepatit, siroz ve tümör gibi çok farklı klinik tablolarla karşımıza çıkabilmektedir. İlaç kullanımına bağlı meydana gelen bu hastalıkların nedeninin hepatotoksisite devamında oluşan immün reaksiyonlar olduğu düşünülür. Hepatotoksisitenin patofizyolojisinin belirlenmesi ve etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ölüm riskini önemli ölçüde azaltmak bakımından önem arz etmektedir (Holt ve Ju, 2006). İlaç indüklemesi neticesinde ani gelişen karaciğer harabiyetinin %39'undan parasetamol sorumluyken %13'lük kısmının da başka ilaçlar neticesinde oluştuğu belirtilmektedir (Hinson ve ark, 2010).

Yapmış olduğumuz çalışmada parasetamol ile oluşturulmuş akut hepatotoksisite de güçlü bir antioksidan olan Resveratrol'un ve antioksidan özelliklere sahip aynı zamanda da sağlıklı yağ deposu olarak bilinen Avokado Yağı'nın birlikte kullanımı ve tek başlarına kullanımı ile yüksek doz parasetamolün oluşturduğu karaciğer hasarı üzerindeki etkileri araştırıldı. Parasetamol analjezik ve antipiretik bir ajan olarak klinikte en yaygın kullanılan ilaçların başında yer almaktadır. Ancak yüksek dozlarda kullanıldığında parasetamolün insanlarda ve deneysel hayvan modellerinde karaciğer hasarına neden olduğu yapılan deneyler sonucunda ortaya konulmuştur (Karakuş ve ark., 2013; Uzkeser ve ark., 2012).

İngiltere'de 7000 anne ile birlikte yapılan bir çalışmada annelerin %84'ünün çocuklarına doğumdan sonraki ilk 6 ayda parasetamol verdiği görülmüştür (Hawkins ve Golding, 1995). Yetişkin bireylerin haricinde bebeklerde de parasetamol kullanımı dikkat çekmektedir. Parasetamolün kolay erişilebilir bir ilaç olması, bu denli yaygın, geniş bir kitlede ve yüksek doz kullanılması yüksek bir hepatotoksisite riski oluşturmaktadır.

Parasetamol toksisitesi sağlık kuruluşlarının, özellikle de acil servislerin önemli bir iş yükünü oluşturmakta olup, yüksek dozda parasetamol alımına bağlı

hepatotoksisite dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmektedir (Gyاملani ve Parikh, 2002).

Resveratrol, sağlık alanında son yıllarda oldukça ilgi gören, yaşlanma karşıtı özelliği tespit edilmiş güçlü bir antioksidan ve polifenol bileşik olma özelliğine sahiptir (Baxter, 2008). Resveratrol (trans-resveratrol; trans-3,5,4-trihidroksi-stilben), molekül yapısı bakımından bir metilen köprüsü ile birleşmiş 2 aromatik halkadan oluşan, stilben ailesinden bir bileşiktir (Mazza, 1995). Çalışmamızda etkinliğini araştırdığımız bir diğer ürün olan avokado yağı ise kendine özgü tadı, aroması ve faydaları bakımından halk arasında sıklıkla kullanılmaktadır. Avokado yağının tek zincirli doymamış oleik asit içeriyor olması, atherosklerotik kalp hastalıklarına neden olan kandaki düşük yoğunluktaki lipoprotein (LDL) kolesterol seviyesini azaltması bakımından onun insan sağlığı üzerindeki önemini artırmaktadır. Ayrıca, diğer besinlerden daha yüksek yoğunlukta antioksidan; A, B, E vitaminleri ve yüksek çözülebilir lif içeriği ile kalp sağlığına koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir. Tüm bu bilgiler ışığında bizde yapmış olduğumuz bu çalışmada, toplum sağlığında yaygın bir yeri olan parasetamol kaynaklı akut karaciğer toksisitesinde Resveratrol ve Avokado Yağı'nın koruyucu olabileceğini düşündüğümüz etkilerini araştırmayı amaçladık.

Parasetamol primer olarak karaciğerde metabolize edilmektedir. Tedavi edici dozlarda kullanılan parasetamol; majör metabolitleri olan, toksik olmayan ve idrarda atılabilen, glukuronik asit-sülfat konjugatları olarak elimine edilir. Parasetamolün yalnız küçük bir bölümü (%5 den azı) CYP P450 enzim sistemi (CYP2E1 ve CYP1A2 izoenzimleri) tarafından oksidatif yolla toksik etkiler oluşturan oldukça reaktif bir ürün olan NAPQI metabolitine çevrilir. Normal koşullarda bu toksik reaktif metabolit redükte GSH tarafından detoksifiye edilir. Ancak parasetamolün yüksek dozlarda alınması konjugasyon yolunun doyuma ulaşmasına ve buna bağlı olarak da oksidatif strese karşı en önemli hücresel savunma moleküllerinden biri olan GSH' da azalma ve toksik reaktif metabolitlerin oluşumunda artışa ve dokunun zarar görmesine neden olur (Corcoran ve ark., 1980). Anlatılan bu işleyiş parasetamol ile oluşturulan karaciğer toksisitesi için ana neden olarak kabul görmektedir (Bessem ve Vermeulen, 2001).

Genellikle yüksek doz parasetamol alımının 72-96 saat sonrasında fulminan hepatik toksisitesi oluşur. Bunun sonucu olarak karaciğer transaminazlarında önemli ölçüde artış gözlenir. Nekroz ve membran hasarı transaminazların dolaşıma sızmasına neden olur. Bu sebepten karaciğer hasarı oluşması durumunda enzimlerin seviyelerindeki yükselme kaçınılmazdır. Enzim seviyelerindeki bu artış hücre zarının fonksiyonel bütünlüğünün bozulduğuna dair bir göstergedir (Drotman ve Lawhorn, 1978).

Parasetamolün yüksek doz alımına bağlı gelişen oksidatif stresin gerçekleşmesine aracılık eden NAPQI'nın, GSH düzeylerinde düşüşe ve bu düşüşe bağlı olarak lipit peroksidasyonunda artmaya neden olduğu bilinmektedir (Bernuau ve ark., 1986). Şöyle ki, normal şartlar altında NAPQI GSH'a bağlanır ve GSH tarafından etkisiz hale getirilir. Toksikite durumunda ise GSH depolarını tüketen NAPQI GSH'a bağlanamayarak serbest kalır ve kovalent bağıyla hücredeki proteinlere bağlanır. Böylece sentrobüler hepatik nekroz oluşumunun yanı sıra GSH düzeylerinin azalması lipit peroksidasyonunun artmasına neden olur. Literatür araştırmalarında parasetamole bağlı hepatotoksisitenin patofizyolojisinde karaciğer dokusundaki GSH depolarının tükenmesinin rolünü gösteren birçok makale bulunmaktadır.

Parasetamol toksisitesine bağlı oluşan karaciğer nekrozu sadece enzimatik değişikliklere değil, karaciğer histopatolojisinde de değişikliklere neden olmaktadır. Parasetamol yüksek doz alımı ile sentrolobüler nekroz gelişmektedir (Mitchell ve ark., 1973). Parasetamol ile indüklenen karaciğer toksisitesi ve ilgili konjesyonun patogenezi çok önceki çalışmalarda karakterize edilmiştir (Mitchell ve ark., 1973). Şimdiye kadar yapılan araştırmalarda asetaminofenin hepatositlerde yaygın vasküler dejeneratif değişikliklere yol açtığı ve sentrilobüler nekroz oluşturduğu görülmüştür. Kuvandik G. ve arkadaşları ratlarda parasetamol ile oluşturdukları hepatotoksisite modelinde sentrilobüler hepatik nekroz ve orta düzeyde sinüzoidal konjesyon saptadıkları gibi toksisite oluşturulan grupta sentral ven etrafında sinüzoidal daralma ve ayrıca sitoplazmik farklılaşmaların diğer gruplara göre oldukça fazla olduğunu göstermişlerdir (Kuvandik ve ark., 2008).

Parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturulmuş başka bir çalışmada Moringa Oleifera isimli bir maddenin antioksidan ve hepatoprotektif etkileri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada parasetamol ile zehirlenme oluşturulan gruptaki ratlardan alınan karaciğer kesitlerinde yapılan histopatolojik incelemede; masif nötrofil, sinuzoidal dilatasyon, sentrolobüler hepatosit dejenerasyonu ve lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir (Fakurazi ve ark., 2008).

Ko ve arkadaşlarının parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarına karşı Silene Aprica isimli antioksidan bir maddenin koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında alınan karaciğer kesitlerindeki histopatolojik incelemede parasetamol toksisitesi oluşturulan grupta diffüz nekroz alanları, sinusoidal konjezyon ve lenfosit infiltrasyonu gösterilmiştir (Ko ve ark., 2002).

Bizim çalışmamızda da parasetamol ile yapılan deneysel çalışma sonuçlarını destekler şekilde 600 mg/kg dozunda 4. gün tek doz intraperitoneal yolla uygulanan parasetamol ile toksisite oluşturulan deney grubunun karaciğer dokuları incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla; hepatositlerde granüler ve vakuoler dejenerasyonlar, piknotik çekirdekler, portal alanda ve parankimde mononükleer hücre infiltrasyonları, hemorajik alanlar, sinüzoidal dilatasyonlar, vasküler konjesyonlar, makro ve mikro veziküler yağlanmalar gözlenmiştir. Bu sonuçlar, Ahmad ve ark. (2019) ve Akgün ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmaların sonuçları ile de uyumludur. Tek başına resveratrol ve tek başına avokado ile ön uygulama yapılan gruplarda parasetamol grubuna göre karaciğer hasarının azaldığı görülmüştür. Ancak resveratrol tek başına bu gelişmeyi daha iyi bir düzeyde sağlarken avokado yağı bu anlamda yeterli olarak bulunmamıştır. Bu sonuçlar, yüksek doz parasetamolün oluşturduğu karaciğer doku hasarına karşı resveratrolün koruyucu etkilerini gösteren Elbe ve ark. (2017) yapmış olduğu çalışmanın sonuçları ile uyumlu olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda, çalışmamızda resveratrol ve avokado yağının birlikte uygulandığı grupta diğer gruplara kıyasla en iyi düzeyde koruyucu etkiler belirlenmiştir.

Canlı dokularda sürekli olarak kontrollü bir şekilde serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar üretilmektedir. Oksidatif stres, serbest radikal oluşumunun artması ve antioksidan savunmasının azalması ile oksidan / antioksidan dengesinin oksidan lehine geçmesiyle meydana gelir. Uzaklaştırılmayan oksidanlar, hücre membranda yer alan lipidlerin ve hücrenin çeşitli fonksiyonel ve yapısal proteinlerinin parçalanmasına sebep olur. Oksidatif stresin artması ve dolayısıyla antioksidan savunma sisteminin zayıflaması da parasetamol bağı karaciğer hasarında önemlidir. Bu nedenle, bu çalışmada antioksidan parametre olarak TAS ve oksidatif parametre olarak TOS araştırılmıştır. Bu çalışmada antioksidan aktivite gösteren TAS düzeyi parasetamol grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken, oksidatif aktiviteyi gösteren TOS düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek çıkmış, bu da oksidatif hasarın parasetamol indüklü hepatotoksiteden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, oksidatif hasarın mekanizmasını tam olarak anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Son yıllarda, *in vivo* hayvan modellerinde parasetamol kaynaklı hepatotoksitenin önlenmesi ve tedavisi için doğal ürünlerin kullanımı çok popüler hale gelmiştir (Ahmad ve ark., 2019; Rašković ve ark., 2017; Galal ve ark., 2010; Çalışkan ve ark., 2016). Bu ürünler arasında bulunan resveratrolün güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiştir. Resveratrol (3,5,4'-trihidroksi-trans-stilben), çeşitli bitki türleri ve kırmızı şarapta bulunan bir polifenol fitoaleksindir. Klinik öncesi çalışmalar, resveratrolün kardiyovasküler hastalık, diyabet, kanser ve nörodejeneratif hastalıklar dahil bir dizi hastalık modelinde koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir (Baur ve Sinclair, 2006; Juhasz ve ark., 2010). Çalışmalar arasındaki tutarsızlık ve çelişkili bilgilere rağmen, klinik çalışmalarda da bazı faydalı etkiler gözlemlenmiştir (Novelle ve ark., 2015). Resveratrol'ün etki mekanizmaları oldukça karmaşıktır. Bunların arasında, antioksidan özellikleri, resveratrolün sağlığın iyileştirilmesine önemli ölçüde katkıda bulunmasıdır (Xia ve ark. 2017). Resveratrol'ün ROS'a ve inflamatuvar sitokinlerin neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu bir etki sağladığı ve hepatik lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Dalaklıoğlu ve ark., 2013). Diğer çalışmalarda, Resveratrol'ün farklı karaciğer yaralanmalarında

faydalı tesirleri olduğu görülmüştür (Elbe ve ark., 2018; Chan ve ark., 2011; Tunali-Akbay ve ark., 2010; Lee ve ark., 2010).

Çalışmamızda Parasetamol uygulanan grupta hepatotoksisiteye bağlı olarak TAS düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü, Resveratrol, Avokado yağı ve Resveratrol + Avokado yağı uygulamasının ise bu düşüş düzeylerini kontrol grubuna yakın bir düzeye yükselttiği görülmüştür ($p < 0.05$). Ancak bu gruplar arasında en az etki avokadonun tek başına uygulandığı grupta görüldü. Bu sonuç, resveratrol ve avokado yağı kombinasyonunun parasetamol kaynaklı hepatotoksisitede koruyucu özelliklere sahip olduğunu desteklemektedir. Parasetamol uygulanan grupta hepatotoksisiteye bağlı olarak TOS düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı ve Resveratrol, Avokado yağı ve Resveratrol + Avokado yağı uygulamasının bu artışları istatistiksel olarak kontrol grubuna yakın bir düzeye düşürdüğü görüldü ($p < 0.05$). TOS analizlerinde, tek başına avokadonun etkinliği diğer gruplara göre daha düşüktü. Daha önce yapılan çalışmalar, kontrole göre parasetamol doz aşımında TOS ve OSI'nin arttığını ve TAS'ın azaldığını göstermektedir. Bu çalışmalarda kullanılan antioksidan maddelerin parasetamolün neden olduğu oksidatif stresi azalttığı da tespit edilmiştir (Ahmad ve ark., 2019; Gündüz ve ark., 2015; Khodeary ve Morsy, 2019; Hussain ve ark., 2019)

Bu çalışmada, DNA hasarının belirlenmesi için kullanılmış olduğumuz comet yönteminin analiz sonuçları sıçanlara yüksek doz parasetamol uygulamasının, kontrol grubuna kıyasla kan lenfositlerinde DNA hasarı ve apoptozun göstergesi olan kuyruk uzunluğunu arttırdığını göstermiştir. Bu sonuçlar, parasetamolün genotoksisitesini bildiren önceki çalışmalarla uyumludur (Engy ve ark. 2015; Dybing ve ark. 1984; Oshida ve ark., 2008). Ancak bizim çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmalarda karaciğer dokusunda DNA hasarı değerlendirilmiştir. Parasetamol uygulamasından önce Resveratrol ve Avokado yağı ile tek başına ve kombine olan uygulamalar DNA hasarını azalttı. Bu etkinin serbest radikallerin azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Avokado yağının tek başına DNA hasarından korunmada yeteri kadar etkili olmadığı belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz çalışmada, ratlarda parasetamol ile oluşturulan karaciğer hasarında, antioksidan özellikleri olduğu bilinen Resveratrol ve Avokado Yağı'nın toksisiteye karşı koruyucu etkilerinin araştırılması amacıyla deneysel hayvan modeli oluşturulmuş ve karaciğer dokularında histopatolojik bulgular, TAS ve TOS seviyeleri ve DNA hasarı açısından değerlendirmeler yapılmıştır.

Özetle, bu çalışma, resveratrol ve avokado yağının birlikte ön uygulamasının, parasetamole bağlı karaciğer hasarına karşı önemli ölçüde koruduğunu göstermektedir. Antioksidan sistemin bozulması ve artan ROS seviyeleri, karaciğerde toksik hasar oluşumunu etkiler. Burada ana koruyucu etki, hem resveratrol hem de avokado yağı ile birlikte süperoksitlerin doğrudan uzaklaştırılmasına ve zayıflatılmış ROS oluşumuna bağlı gibi görünmektedir. Ancak, bu etki mekanizmasının aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Sonuç olarak, elde ettiğimiz bulgular ışığında resveratrol ve / veya resveratrol + avokado yağının, karaciğer hasarına karşı güvenli ve etkili bir alternatif koruyucu ajan olarak kullanılabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abdel Wahhab A, Nada A, Arbid M (1999).** Ochratoxicosis: Prevention of developmental toxicity by L-m methionine in rats m. *Journal of applied toxicology, J. Appl. Toxicol.*, **19**, 7- 12.
- Adam K R, Norvell J, Eldridge D L (2005).** Updates on Acetaminophen Toxicity 39. *Med Clin N Am.*, **89**, 1145-1159.
- Aebi H (1984).** Catalase in vitro. *Enzymol.* **105**, 121-126.
- Ahmad MM, Rezk NA, Fawzy A, Sabry M, 2019.** Protective effects of curcumin and silymarin against paracetamol induced hepatotoxicity in adult male albino rats. *Gene.* 712: 143966.
- Akgun E, Boyacioglu M, Kum S, 2020.** The Potential Protective Role of Folic Acid against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats. *Experimental Animals.* <https://doi.org/10.1538/expanim.20-0075>
- Alfio B, Anna F, Alessandra O, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S (2006).** Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews* 2006, **12**, 250-275.
- Andrade RJ, Lucena MI, Fernandez MC (2005).** Drug induced liver injury: an analysis of 461 incidences submitted to the Spanish registry over a 10-year period. *Gastroenterology.*, **129**, 512-521.
- Bass NM (2003).** Drug-Induced Liver Disease. In: Friedman S, McQuaid K, Grendell, eds. *Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology.* 2nd ed. New York, NY: McGraw-Hill Professional., **10**, 664-79.
- Bausinger J, Speit G (2016).** The impact of lymphocyte isolation on induced DNA damage in human blood samples measured by the comet assay, *Mutagenesis.* **31 (2016)**, 567–572.
- Batt AM, Ferrari L (1995).** Manifestations of chemically induced liver damage. *Clin Chem.*, **41**, 1882-1887.
- Baur JA, Sinclair DA, 2006.** Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov.* 5(6):493-506.
- Baxter RA (2008).** Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation. *J Cosmet Dermatol.*, **7**, 2-7.
- Bektur N (2012).** Silymarin'in Asetaminofen (Parasetamol) Kaynaklı Karaciğer ve Böbrek Toksisitesi Üzerine İyileştirici Etkisi. **1**, 4.
- Benson GD, Koff RS, Tolman KG (2005).** The therapeutic use of acetaminophen in patients with liver disease, *Am J Ther.* **12**, 133-141.

Bernuau J, Rueff B, Benhamou JP (1986). Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Semin Liver Dis.*, **6**, 97-106.

Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S (2006). Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Rev.*, **12**, 250-275.

Bessems JG, Vermeulen NP (2001). Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. *Crit Rev Toxicol.*, **31**, 55-138.

Bolton JS, Bowen JC (1986). Biliary sclerosis associated with hepatic artery infusion of floxuridine. *Surgery*, **99**, 119-122.

Boobis AR, Seddon CE, Nasser-Sina P, Davies DS (1990). Evidence for a direct role of intracellular calcium in paracetamol toxicity. *Biochem Pharmacol.*, **39**, 1277-1281.

Brodie BB, Axelrod J (1948). The fate of acetanilide in man. *J Pharma Exp Therapeutics.*, **94**, 29-38

Broulac-Sage P, Balabaud C (2004). Toxic and drug induced disorders of the liver. In Odze R, Goldblum J, Crawford J eds. *Surgical Pathology of the GI tract, Liver, Biliary tract and Pancreas.* Philadelphia: Saunders, **1**, 833-61.

Brunt E, Clouston A (2004). Advanced liver pathology: Current controversies/advances. *Pathology International*, **54**, 287-302.

Brunton LL (2009). Goodman & Gilman tedavinin farmakolojik temeli. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2009, Bölüm IV, **27**, 671-716.

Chachay VS, Kirkpatrick CM, Hickman IJ, Ferguson M, Prins JB, Martin JH (2011). Resveratrol--pills to replace a healthy diet? *Br J Clin Pharmacol.*, **72(1)**, 27-38.

Chan CC, Cheng LY, Lin CL, Huang YH, Lin HC, Lee FY, 2011. The protective role of natural phytoalexin resveratrol on inflammation, fibrosis and regeneration in cholestatic liver injury. *Mol Nutr Food Res.* **55 (12):1841-1849.**

Chen CY, Wang YF, Huang WR, Huang YT (2003). Nickel induces oxidative stress and genotoxicity in human lymphocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2003; **189(3)**, 153-159.

Clissold SP (1986). Paracetamol and phenacetin. *Drugs*, **4**, 46-47.

Collins AR (2014). Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1840**,794-800.

Corcoran GB, Mitchell JR, Vaishnav YN, Horning EC (1980). Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine. *Molecular pharmacology*, **18**, 536-542.

Çalışkan D, Koca T, Doğuç DK, Özgöçmen M, Akçam M, 2016. The protective effect of pomegranate juice in paracetamol-induced acute hepatotoxicity in rats. *Turk Pediatri Ars.* 51(2):72-8.

Dalaklioglu S, Genc GE, Aksoy NH, Akcıt F, Gumuslu S, 2013. Resveratrol ameliorates methotrexate-induced hepatotoxicity in rats via inhibition of lipid peroxidation. *Hum Exp Toxicol.* 32(6):662–671.

Davidson DG, Eastham WN (1996). Acute liver necrosis following overdose of paracetamol. *British Med J.*, **2**, 497-499.

Dienstag JL, Isselbacher KJ (2003). Toxic and Drug-Induced Hepatitis. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York, NY: McGraw-Hill Professional, 296.

Doğan N (2014). Ratlarda Parasetomele Bağlı Akut Karaciğer Toksisitesinde Capparıs Ovatanın Koruyucu Etkisi, 3-5.

Donnelly PJ, Walker RM, Racz WJ (1994). Inhibition of mitochondrial respiration in vivo is an early event in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Arch Toxicol*, **68**, 110-118.

Drotman RB, Lawhorn GT (1978). Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug Chem Toxicol*, **1**, 163-171.

Dybing E, Holme JA, Gordon WP, Söderlund EJ, Dahlin DC, Nelson SD, 1984. Genotoxicity studies with paracetamol. *Mutat Res.* 138(1):21-32.

El Morsy EM, Kamel R (2015). Protective effect of artichoke leaf extract against paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Pharm Biol.* 53(2):167-73.

Elbe H, Gul M, Cetin A, Taslidere E, Ozyalin F, Turkoz Y, Otlu A, 2018. Resveratrol reduces light and electron microscopic changes in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats: Role of iNOS expression. *Ultrastructural Pathology.* 42 (1): 39-48.

Erel O (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 38(12):1103-1111.

Erel O (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 37(4):277-285.

Eren M, Saltik Nİ, Koçak N (2004). “İlacı bağılı hepatotoksisite,” Çocuk Sağılığı ve Hastalıkları Dergisi, **47**, 222–227.

Fabrega E, Mieses MA, Teran A, Moraleja I, Casafont F, Crespo J, Pons-Romero F (2013). Etiologies and outcomes of acute liver failure in a spanish community. International Journal of Hepatology, 1-5.

Fakurazi S, Hairuszah I, Nanthini U (2008). Moringa oleifera Lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, **46**, 2611-2615.

Galal RM, Zaki HF, Seif El-Nasr MM, Agha AM, 2012. Potential protective effect of honey against paracetamol-induced hepatotoxicity. Arch Iran Med. 15(11):674-80.

Ganong WF (2002). Karaciğer ve safra sistemi, In: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği. (eds) Ganong Tibbi Fizyoloji, Nobel Tip Kitabevleri.

Garner LP, Hiatt JL (2001). Color Textbook of Histology. Philadelphia: WB. Saunders Company, 420-412.

Gelotte CK, Auiler JF, Lynch JM, Temple AR, Slattery JT (2007). Disposition of acetaminophen at 4, 6, and 8 g/day for 3 days in healthy young adults, Clin Pharmacol Ther, **81**, 840-848.

Goodman Z, Ihsak K (2006). Medical diseases of the liver. In Silverberg’s Principles and practice of Surgical Pathology and Cytopathology. 4th ed. Elsevier: Churchill Livingstone, 1475–1500.

Grierson R, Green R, Sitar DS, Tenenbein M (2000). Gastric Lavage for Liquid Poisons. Annals of Emergency Medicine, **35**, 435–439.

Graham GG, Scott KF, Day RO (2005). Tolerability of paracetamol. An International J Med Toxicol Drug Exp., 28, 227-240.

Gu X, Chu Q, Dwyer M, Zeece M (2000). Analysis of resveratrol in wine by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A*, **881**, 471-481.

Guyton AC, Hall JE (1996). Textbook of medical physiology. The liver as an organ. 9. edition, Philadelphia: WB Saunders company, 883-886.

Gündüz E, Dursun R, Zengin Y, İçer M, Durgun HM, Kamcı A, Kaplan İ, Alabalık U, Gürbüz, H and Güloğlu C, 2015. Lycium barbarum extract provides effective protection against paracetamol-induced acute hepatotoxicity in rats. Int J Clin Exp Med. 8(5): 7898–7905.

Gyاملani GG, Parikh CR (2002). Acetaminophen toxicity: suicidal vs. accidental. *Critical care*, **6**, 155-159.

Hawkins N, Golding J (1995). A survey of the administration of drugs to young infants. The Alspac Survey Team. Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood. *British Journal of Clinical Pharmacology*, **40**, 79-82.

Hinson JA, Roberts DW, James LP (2010). Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handb Exp Pharmacol*, **196**, 369-405.

Holt MP, Ju C (2006). Mechanisms of drug-induced liver injury. *The AAPS Journal*, **8(1)**, 48-54 p.

Hung O, Nelson LS (2000). Acetaminophen. Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski. Emergency Medicine A Comprehensive Study Guide. 4 th Edition, int. Ed. ABD. Mc Graw Hill, 1125-1136.

Hussain Z, Khan JA, Arshad A, Asif P, Rashid H, Arshad MI, 2019. Protective effects of *Cinnamomum zeylanicum* L. (Darchini) in acetaminophen-induced oxidative stress, hepatotoxicity and nephrotoxicity in mouse model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 109: 2285-2292

Ishak KG (1998). Drug-induced liver injury pathology. In: clinical and pathological correlations in liver disease. American Association for the Study of Liver Disease Post Graduate Course., 236.

Jaeschke H, Kon K, Kim JS, , Lemasters JJ (2011). Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. *Hepatology*, **40**, 1170–79.

James LP, Letzig LG (2009). Simpson PM, et al. Pharmacokinetics of acetaminophen protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. *Drug Metab Dispos.* (Epub ahead of print)

James LP, Mayeux PR, Hinson JA (2003). Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug*

Juhász B, Varga B, Gesztelyi R, Kemeny-Beke A, Zsuga J, Tosaki A, 2010. Resveratrol: a multifunctional cytoprotective molecule. *Curr Pharm Biotechnol*. 11(8):810-8.

Junqueira L C, Carneiro J (2006). Temel Histoloji, (Çev.: Aytekin, Y., Solakoğlu, S.,) **10**. Baskıdan çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.

Kan Z, Madoff D (2008). Liver Anatomy: Microcirculation of the Liver. **2**, 79-80

Karabulut AB (2008). Resveratrol ve Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*, **28**, 166-169.

Karaöz E (2002). Sindirim Sistemi Histolojisi, In: Karaöz E. (ed) Özel Histoloji, SDÜ Basımevi, Isparta.

Karakuş E, Halici Z, Albayrak A, Polat B, Bayir Y, Kiki I, Cadirci E, Topcu A, Aksak S (2013). Agomelatine: an antidepressant with new potent hepatoprotective effects on paracetamol-induced liver damage in rats. *Human & experimental toxicology*, **32**, 846-857.

Katzung BG (2007). Basic and Clinical Pharmacology, McGraw Hill Companies Inc.

Kayaalp O (2005). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd Şti.

Keskin N, Noyan T, Kunter B (2009). Resveratrol ile Üzümden Gelen Sağlık. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*, **29(5)**, 1273-1279.

Khodeary M and Morsy SA, 2019. Potential Protective Role of Sitagliptin (Januvia) Against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Adult Albino Rats. *Mansoura J Forens Med Clin Toxicol.* **27(1)**: 27-47.

Kierszenbaum A L (2006). Histoloji ve hücre biyolojisi, (Çev.: Demir R.), Palme yayıncılık, Ankara, 459-467.

Ko YJ, Hsieh WT, Wu YW, Lin WC (2002). Ameliorative effect of *Silene aprica* on liver injuries induced by carbon tetrachloride and acetaminophen. *The American journal of Chinese medicine*, **30**, 235-243.

Kuršvietienė L, Stanevičienė I, Mongirdienė A, Bernatoniene J (2016). Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicina*, **52(3)**, 148-55.

Kuvandik G, Duru M, Nacar A, Yonden Z, Helvacı R, Koc A, Kozlu T, Kaya H, Sogut S (2008). Effects of erdosteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicologic pathology*, **36**, 714-719.

Larson A M, Polson J, Fontana RJ (2008). et. al. Acetaminophen-Induced 38. Acute Liver Failure. *Hepatology.*, **54**, 78-96.

Lee ES, Shin MO, Yoon S, Moon JO, 2010. Resveratrol inhibits dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Arch Pharm Res.* **33(6)**:925-32.

Lee WM (2001). Impact of drug induced liver toxicity on hepatology and practice of medicine. US Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research., 155-164.

Lee WM (2003a). Acute liver failure in the United States. *Semin Liver Dis.*, **23**, 217-226.

Lee WM (2003b). Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med.*, **349**, 474-485.

Lee WM, Seremba E (2009). Drug-induced liver disease. In (Ed. Yamada T). 5th ed. Blackwell Publishing, Oxford, *Textbook of Gastroenterology*, 2167-2184.

Lewis RK, Paloucek FP (1991). Assessment and treatment of acetaminophen overdose. *Clinical Pharmacy*, **10**, 765-774.

Mayhew MS (2009). “Drug-Induced Liver Injury,” *American College of Nurse Practitioners*, **5**, 685–686.

Mazza G (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, **35**, 341-371.

Mazer M, Perrone J (2008). Acetaminophen-Induced Nephrotoxicity: 17. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Journal Of Medical Toxicology*, **4**, 2-5.

Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB (1973). Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **187**, 185-194.

Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Gillette JR, Brodie BB (1973). Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **187**, 211-217.

Narci C. Teoh Geoffrey C. Farrell (2006). Liver Disease Caused by Drugs In; Feldman ed; Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease, **8**, 1807–1843.

Novelle MG, Wahl D, Diéguez C, Bernier M, de Cabo R, 2015. Resveratrol supplementation: Where are we now and where should we go? *Ageing Res Rev.* 21:1-15.

Oliver L (2004). Acetaminophen McGraw-Hill a comprehensive study guide. *Emergency Medicine*, **171**, 1088-1094.

Oshida K, Iwanaga E, Miyamoto-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. *J Toxicol Sci.* 33(5):515-24.

Ovalle W K, Nahirney P C (2009). Netter temel histoloji, (Çev: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.), Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.

Peterson FJ, Knodell RG, Lindemann NJ, Steele NM (1983). Prevention of acetaminophen and cocaine hepatotoxicity in mice by cimetidine treatment. *Gastroenterology*, **85**, 122-139.

Ploetz RC (1994). Introduction . Page 1 *In:Compendium of tropical fruit diseases.* Ploetz, R.C., ZENTMYER, G.A., Nishijima W.T., Rohrbach, K. G & Ohr, H.D (Eds) APS Pres.St Paul, Minnesota

Potter DW, Hinson JA (1987). Mechanisms of Acetaminophen Oxidation to N-Acetyl-P benzoquinone Imine by Horseradish Peroxidase and Cytochrome P-450. *J Biol Chem*, **262**, 966–973.

Rašković A, Gigov S, Čapo I, Paut Kusturica M, Milijašević B, Kojić-Damjanov S, Martić N, 2017. Antioxidative and Protective Actions of Apigenin in a Paracetamol-Induced Hepatotoxicity Rat Model. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 42(5):849-856.

Refaiy A, Muhammad E, ElGanainy EO (2011). Semiquantitative smoothelin expression in detection of muscle invasion in transurethral resection and cystectomy specimens in cases of urinary bladder carcinoma., **17(1)** 6-10.

Russmann S, Ulick AG (2009). Grattagliano I. “Current concepts of mechanisms in drug-induced hepatotoxicity,” *Curr Med Chem.*, **16**, 2041–3053.

Saccomano S, Deluca DA (2008). Too toxic. *Nursing Management*, **39**, 32-33.

Scherlock S, Dooley J (1997). *Disease of the Liver and Biliary System*, 10th ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 103-117.

Sgro C, Clinard F, Ouazir K, Chanay H, Allard C, Guilleminet C (2006). et al. Incidence of drug-induced hepatic injuries: a French population-based study. *Hepatology.*, **36**, 451-455.

Slattery JT, Levy G (1979). Pharmacokinetic model of acetaminophen elimination. *Am J Hospital Pharmacy*, **36**, 440-441.

Swierkosz TA, Jordan L, McBride M, McGough K, Devlin J, Botting RM (2002). Actions of paracetamol on cyclooxygenases in tissue and cell homogenates of mouse and rabbit. *Med Sci Monit*, **8**, 496-503.

Tunali-Akbay T, Shirlirli O, Ercan F, Sener G (2010). Resveratrol protects against methotrexate-induced hepatic injury in rats. *J Pharm Pharm Sci.*, **13(2)**, 303-310.

Turgut A (2016). Karaciğer Karsinoma Hücrelerinde Oluşturulan Parasetamol Toksikitesi Üzerine Resveratrol’ün İn Vitro Etkilerinin Araştırılması 37 s.

Utrecht J (2008). Idiosyncratic drug reactions: past, present, and future. *Chem Res Toxicol.*, **21**, 84-92.

Uzkeser M KE, Albayrak A, Kiki I, Bayir Y, Cadirci E (2012). Protective effect of panax ginseng against n-acetyl-p-aminophenol-induced hepatotoxicity in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **6(36)**, 2634-2642.

Van Zyl JA, Ferreika SG (1995). An overview of the avocado industry in South Africa. *South African Avocado Grower’s Association Yearbook*, **18**, 23-30.

Verschueren K (1996). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. Van Nostrand Reinhold Co., **139**, 376.

Watkins PB, Seeff LB (2006). Drug-induced liver injury: summary of a single topic clinical research conference. Hepatology., **43**, 618-631.

Xia N, Daiber A, Förstermann U, Li H, 2017. Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system. Br J Pharmacol. 174(12):1633-1646.

Yapar K, Kart A, Karapehlivan M, Atakisi O, Tunca R, Erginsoy S, Cital M (2007). Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice, Exp Toxicol Pathol., **59**, 121-128.

Yuluğ E, Türedi S, Alver A, Türedi S, Kahraman C (2013). Effects of resveratrol on methotrexate-induced testicular damage in rats. Scientific World Journal.

Zimmerman HJ, Ishak KG (2002). Hepatic injury due to drugs and toxins. In: MacSween RNM, Burt A, Portman Beds. Pathology of the liver. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, **14**, 622–709.

Zimmerman HJ, Maddrey WC (1995). Acetaminophen (paracetamol) hepatotoxicity with regular intake of alcohol: analysis of instances of therapeutic misadventure. Hepatology, **22**, 767-773.

Zimmerman HJ, Maddrey WC (2000). Toxic and drug-induced hepatitis, Diseases of the liver, 7th ed. Philadelphia: JB Lippincott. 30. Zimmerman HJ. Drug-induced liver disease. Clin Liver Dis., **4**, 73-96.