



Sıçanlarda Parasetamolle İndüklenen Karaciğer Toksisitesi Üzerine *Berberis Vulgaris* Bitki Ekstresinin Koruyucu Etkileri

Protective Effects of *Berberis Vulgaris* Plant Extract on Paracetamol-induced Liver Toxicity in Rats

Serdar Yiğit¹, Arzu Gezer², Muhammed Yayla³, Erdem Toktay⁴, Pınar Aksu Kılıçle⁵, Seyit Ali Bingöl⁶, Çiğdem Eda Balkan Bozlak⁷

¹ Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Erzurum, Türkiye

³ Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

⁴ Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

⁵ Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars, Türkiye

⁶ Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

⁷ Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

Özet

Amaç: *Berberis vulgaris* (kızamık, karamut, adi kadıntuzluğu) bitki ekstresinin hem antiinflamatuar hem de antioksidan özelliğinin olmasından dolayı birçok hasara karşı koruyucu olduğu bilinmektedir. Parasetamol zehirlenmesi en sık görülen zehirlenmelerden biridir. Çalışmamızda parasetamol toksisitesinin vermiş olduğu zararı *Berberis vulgaris* bitki ekstresinin yararlı olan etkileriyle azaltmayı planladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 42 adet Sprague Dawley cinsi 8 haftalık sıçan kullanıldı. Her grupta 6 dişi hayvan olacak şekilde 7 grup oluşturuldu. Çalışmanın 24. saatinde tüm gruplara anestezi altında laparotomi uygulandı ve karaciğer diseksiyonu yapıldı. Karaciğer histopatolojisini değerlendirmeler için Hematoksilin ve Eozin (H&E) boyama, karaciğer dokusunda glikojen ve bazal membran boyanmalarını göstermek amacıyla PAS boyası yapıldı. Ayrıca TUNEL boyasıyla apoptotik hücreler gösterilerek skorlama yapıldı.

Bulgular: Histopatolojik sonuçlarda parasetamol uyguladığımız grupta, hepatik dejenerasyon ve peritübüler inflamasyon oldukça belirgindi. Bu çalışmada TUNEL boyamasında parasetamol verdiğimiz grupta (Grup 4) pozitif hücre sayısının arttığını gözlemledik. Yaptığımız PAS boyaması sonucunda parasetamolle indüklediğimiz grubun hepatositlerinde glikojen birikimi dikkat çekmekteydi.

Sonuç: Parasetamol toksisitesi olan gruba yüksek doz *Berberis vulgaris* bitki ekstresi verildiğinde apoptotik hücre sayısının ve inflamasyonun azaldığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: *Berberis vulgaris*; karaciğer; parasetamol; TUNEL.

Abstract

Introduction: *Berberis vulgaris* extract is known to be protective against many damages due to its anti-inflammatory and antioxidant properties. Paracetamol toxicity is one of the most common toxicities. In our study, we aimed to reduce the damage caused by paracetamol toxicity with the beneficial effects of *Berberis vulgaris* extract.

Material and Methods: In our study, 42 Sprague Dawley 8-week-old rats were used. 7 groups were formed with 6 female animals in each group. At the 24th hour of the study, all groups underwent laparotomy under anesthesia and liver dissection was performed. Hematoxylin and Eosin (H&E) staining was used to evaluate liver histopathology, and PAS staining was used to show glycogen and basement membrane staining in liver tissue. In addition, scoring was done by showing apoptotic cells with TUNEL stain.

Result: Hepatic degeneration and peritubular inflammation were quite evident in the groups to which we applied paracetamol. In this study, we observed that the number of positive cells increased in the group given paracetamol (Group 4) in TUNEL staining. As a result of the PAS staining we performed, glycogen accumulation in the hepatocytes of the group we induced with paracetamol was remarkable.

Conclusion: It was observed that the number of apoptotic cells and inflammation decreased in the paracetamol toxicity group given high dose *Berberis vulgaris* extract.

Keywords: *Berberis vulgaris*; liver; paracetamol; TUNEL.

Giriş

Parasetamol (PCM) ağrı kesici, ateş düşürücü olarak ve enflamatuar hastalıklarda kullanılmaktadır. Parasetamolün faydalarının yanı

sıra karaciğer hasarı ile ilişkili toksik maddelerden biridir. Normal terapötik dozlarında PCM, tüm yaş grupları için güvenli bir ilaç olduğu için reçetesiz

bir ilaç olarak elde edilebilmektedir. Bununla birlikte, PCM'nin istemli ve istemsiz aşırı dozları karaciğerde akut hasara neden olabilir ve bu da uygun şekilde tedavi edilmezse ölümcül karaciğer nekrozuna neden olabilir. Karaciğer nekrozunu yeterli düzeyde tedavi etme imkanı yoktur (1). Terapötik dozda PCM, karaciğerde sülfasyona ve glukuronik asit konjugasyona (glukuronidasyona) ve bunun %5-10'u hepatik sitokrom P450 (CYP450) sistemi özellikle parasetamolün yıkılmasında görevli olan sitokrom P450E1 (CYP2E1) enzimi tarafından hızla N-asetil-p-benzokinin imine (NAPQI) metabolize olur. Reaktif bir metabolit olan NAPQI, hücre ölümü ile sonuçlanabilecek çeşitli hücresel nükleofillere (RNA, DNA ve proteinler) kovalent bağla bağlanır. CYP2E1 ayrıca karaciğer hasarına neden olabilecek serbest radikallerin sürekli üretimine yol açan NADPH oksidaz aktivitesinde de yer alır. Buna paralel olarak, glutasyon redoks sistemi, oluşan NAPQI'yi glutasyon konjugasyonu yoluyla inaktive eder. Bu da hücresel glutasyon (GSH) ekspresyonunun azalmasına neden olur (2). Parasetamol ile ilgili yapılan çalışmalarında, toksik dozda PCM verildiğinde oluşan NAPQI'nin ilk olarak mitokondriye bağlanarak mitokondriyal solunumu inhibe ettiği bulunmuştur (3). Ayrıca toksik doz PCM'nin hücrede Ca²⁺ birikimine neden olarak hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (4). Şifalı bitkiler çeşitli amaçlarla kullanılabilir. *Berberis vulgaris*'in (kızamık, karamut, adi kadıntuzluğu) antikönlülzan, yatıştırıcı ve idrar söktürücü etkileri vardır. Ayrıca, *Berberis vulgaris* bitki ekstraktında bulunan berberin, ONOO(-) ve NOO(2)(-) radikallerini yok ederek oksidatif hasarın azalmasına katkıda bulunabilecek aktivite gösterir (5). Bu bitkinin özü, insan hepatoma hücrelerini aktive eden protein 1 (AP1)'i inhibe etmede etkilidir. Bununla birlikte, yüksek düzeyde berberin solunum felcine neden olabilir, ancak bu bitkinin yüksek düzeyde tüketiminden ölüm şu ana kadar bildirilmemiştir (6). *Berberis vulgaris* beyindeki ACE enzimini (anjyotensin dönüştürücü enzim) kontrol ederek veya antioksidan özelliği ile Parkinson hastalığının semptomlarını azaltabilir. *Berberis vulgaris* ekstraktı, monoamin oksidaz A'yı (MAO-A) inhibe eder, böylece beyinde antidepresan etkisi olan epinefrin ve dopamin gibi monoaminlerin seviyesini artırır (7). Ayrıca, berberin sıçanlarda etanolün neden olduğu oksidatif stresi ve hafıza düşüşünü iyileştirebilir (8). Berberin anti- İnflamatuvar ve anti-apoptotik ve antioksidan etkileri nedeniyle civa klorürün neden olduğu nörotoksisiteyi hafifletir (9). *Berberis vulgaris* ekstraktında bulunan berberinin özellikle dermatolojik ürünler ve gıda

takviyelerinde kullanıldığı bilinmektedir. Çok yaygın olarak diyabet, hipertansiyon ve yüksek kolesterolde ağız yoluyla kullanıldığı bilinmektedir (10).

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmamızda, 180-200 g ağırlığındaki 8 Haftalık Sprague Dawley türü 42 adet dişi sıçan kullanıldı. Standart yaşam koşulları altında (sıcaklık: 20 ± 2 °C; bağıl nem: %50 ± 10; ve aydınlık/karanlık döngü: 12 saat/12 saat) ve besleme (standart sıçan yemi ve ad libitum musluk suyu) kontrol edilerek homojenlik sağlanmıştır. Her kafes dört sıçan olacak şekilde dizayn edildi. Çalışmamızda deney hayvanları 7 gruba ayrıldı.

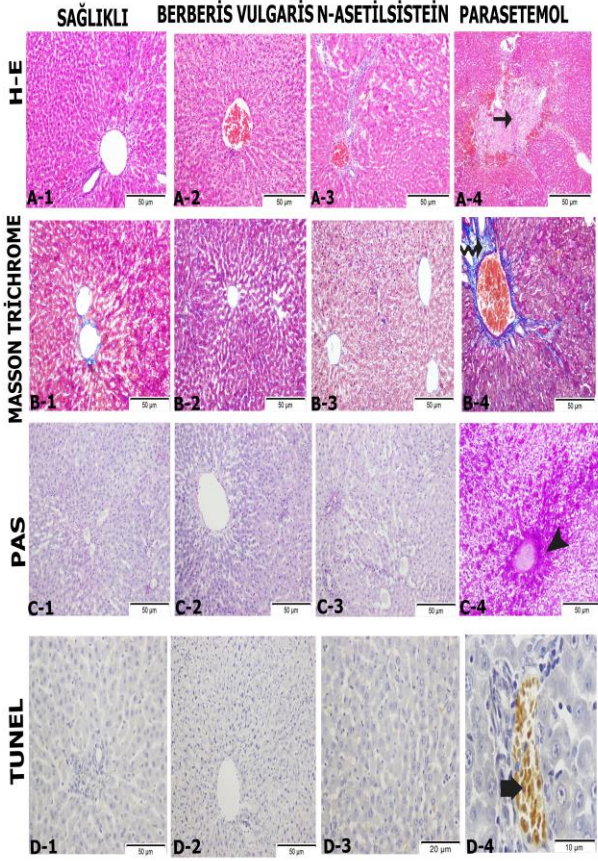
Parasetamol Modeli: Deneyin başlangıcında 2., 6. ve 7. gruplara *Berberis vulgaris* bitkisinin ekstraktı gavaj yoluyla verildi. İlaçların verilmesinden 30 dakika sonra 4.,5.,6. ve 7. gruplara 2 g/kg dozunda parasetamol verildi (11). Grup 5'e N-asetilsistein (140 mg/kg) verilmesinin nedeni parasetamole bağlı hepatotoksistide rutin olarak kullanılmasıdır. Çalışmanın 24. saatinde tüm gruplara anestezi olarak 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin intraperitoneal (ip) olarak verildi. Laparotomi uygulandı ve karaciğer diseksiyonu yapıldı.

Gruplar: Grup-1:Sağlıklı (kontrol), Grup-2:*Berberis vulgaris* bitki ekstresi 400 mg/kg, Grup-3:N-asetilsistein (140 mg/kg), Grup-4: Parasetamol (2 g/kg), Grup-5:N-asetilsistein (140 mg/kg) ve parasetamol (2 g/kg), Grup 6: *Berberis vulgaris* bitki ekstresi 200 mg/kg ve parasetamol (2 g/kg), Grup 7: *Berberis vulgaris* bitki ekstresi 400 mg/kg ve parasetamol (2 g/kg) olarak gruplandırıldı (12). Histolojik incelemeler için ayrılan karaciğer dokuları fikse edildi (72 saat %10'luk formolde). Dokular fikse olduktan sonra akarsuda 1 gece yıkandı. Daha sonra %70'lik alkolden başlanarak %80'lik, %90'lik, %96'lik %100'lik alkol serilerinde 1 saat bekletildi. Ksilende de 1 saat bekletilerek Ksilin + parafin karışımında 60°C'lik etüvde 1 saat, Parafinde 60°C'lik etüvde 2 saat bekletildi. Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Leica RM2125RTS marka mikrotomda 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Karaciğer histopatolojisini değerlendirmeler için Hematoksilin ve Eozin (H&E) boyama yapıldı. Ayrıca Periyodik Asid Shiff (PAS) ve Masson trikrom boyaları ile boyandı. Karaciğer dokusunda glikojen ve bazal membran boyanmalarını göstermek amacıyla PAS boyası yapıldı. Karaciğer bağ doku ve özellikle kolajen lifleri incelemek için Masson trikrom boyası yapıldı. Ayrıca TUNEL boyasıyla apoptotik hücreler gösterilerek skorlama yapıldı.(0:Boyama yok, 1:Düşük derece, 2:Orta

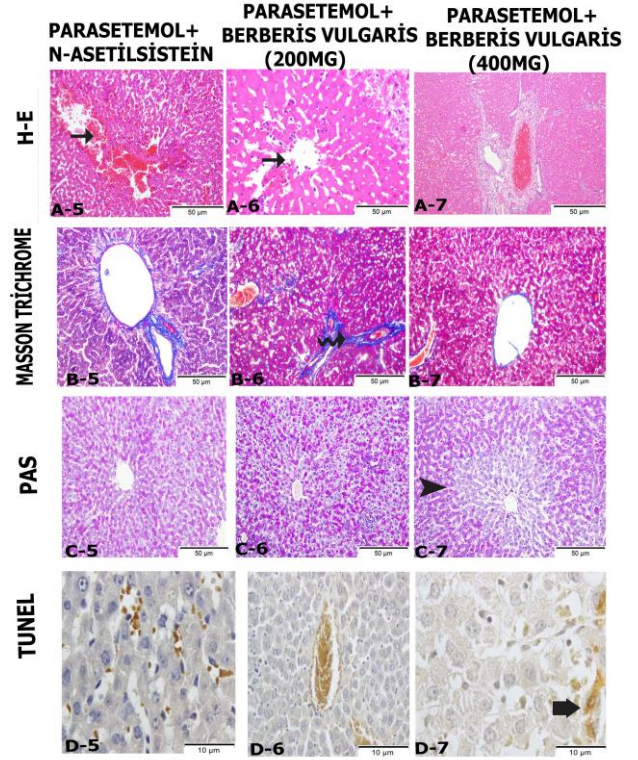
derece 3:Yüksek derece) Olympus BX43 marka ışık mikroskobu kullanılarak fotoğraflar çekildi **“Bitki Ekstraksiyonu”**: Çalışmada kullanılan *Berberis vulgaris* bitkisi Erzurum Şenkaya bölgesinde eylül ayında toplanarak laboratuvara getirildi. Doğrudan güneş ışığı almayan, karanlık ve kuru hava akımının sağlandığı bir ortamda seyrek serilerek kurutuldu. Kurutulmuş örneklerin meyve kısmı öğütücüde öğütüldü. Daha sonra ekstraksiyon çözücüsü olarak etanol kullanılarak cihaz yardımıyla ekstrakte elde edildi (13).

İstatistiksel Analiz: Gruplara TUNEL boyama dereceleri karşılaştırmak için One-way ANOVA (IBM SPSS İstatistik Programı) Tukey testi kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar için p değeri <0,05 olarak kabul edildi.

Etik Onam: Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulunun 2021-123 numaralı karar ile onay alınmıştır.



Resim 1. Hematoksilin eozin boyama: A-1 Sağlıklı grup (A-1), *Berberis vulgaris* yüksek doz grup (A-2), N-asetilsistein (140 mg/kg) ve parasetamol (2 g/kg) grubu (A-3), Parasetamol (2 g/kg) grubu (A-4), ince ok: inflamasyon alanı. Masson Tricrom Boyama: B-1,B-2,B-3,B-4. Kıvrık ok: kolajen. PAS boyama: C-1,C-2,C-3,C-4. PAS boyama, ok başı: PAS pozitif hücre alanı. TUNEL boyama: D-1,D-2,D-3,D-4. Kalın ok pozitif hücre

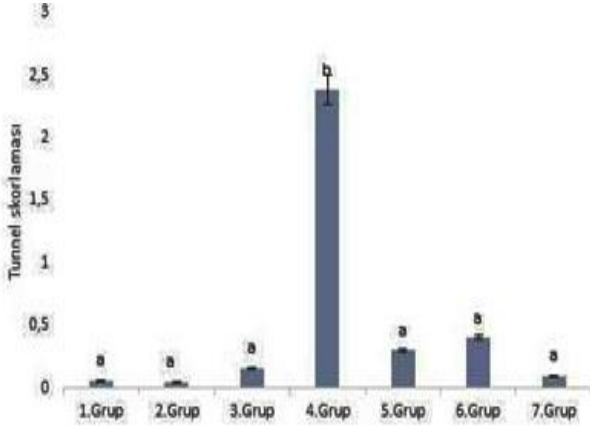


Resim 2. Hematoksilin eozin boyama: Parasetamol (2 g/kg)+ N-asetilsistein (140 mg/kg) grup (A-5), *Berberis vulgaris* 200 mg/kg ve parasetamol (2 g/kg) grubu (A-6) *Berberis vulgaris* 400 mg/kg ve parasetamol (2 g/kg) grubu (A-7)- ok: dejenerasyon, alanları. Masson Tricrom Boyama: B-5, B-6, B-7. Kıvrık ok: kolajen. PAS boyama: C-5,C-6, C-7. PAS boyama, ok başı: PAS pozitif hücre alanı. TUNEL boyama: D-5, D-6, D-7. Kalın ok: pozitif hücre

Bulgular

Grup 1 (sağlıklı), grup 2 (*Berberis vulgaris* bitki ekstresi 400 mg/kg), grup 3 (N-asetilsistein 140 mg/kg), grup 4 (parasetamol 2 g/kg), grup 5 (N-asetilsistein 140 mg/kg ve parasetamol 2 g/kg), grup 6 (*Berberis vulgaris* bitki ekstresi 200 mg/kg ve parasetamol 2 g/kg) ve grup 7 (*Berberis vulgaris* bitki ekstresi 400 mg/kg ve parasetamol 2 g/kg) dokularında yaptığımız histopatolojik incelemede elde ettiğimiz bulgular normal görünümdeydi. Fakat grup 4 (parasetamol 2 g/kg) ve düşük doz *Berberis vulgaris* yani grup 6 (*Berberis vulgaris* bitki ekstresi 200 mg/kg ve parasetamol 2 g/kg) karaciğer dokularında özellikle hepatik dejenerasyon, peritübüler ve inflamasyon alanları dikkat çekiciydi. Yaptığımız PAS boyaması sonucunda parasetamolle indüklediğimiz grubun hepatositlerinde glikojen birikimi görüldü. Ayrıca histopatolojik incelemelerde parasetamol grubunda nekroz alanları görüldü. (Resim 1 ve Resim 2) Çalışmada TUNEL boyamasında parasetamol verdiğimiz grupta pozitif hücre

sayısının arttığını gözlemledik. Sağlıklı grubun, *berberis vulgaris* grubu, N-asetilsistein + parasetamol, *Berberis vulgaris* bitki ekstresi 200 mg/kg ve parasetamol + *Berberis vulgaris* bitki ekstresi 400 mg/kg verdiğimiz grup arasında yapmış olduğumuz istatistiksel analiz sonuçlarına göre anlamlı bir fark görülmedi. ($p>0,05$). Parasetamolle indüklediğimiz grubun tüm gruplarla istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görüldü. ($p<0,05$) (Resim 3).



Resim 3. Gruplar arasında TUNEL skorlaması sonucuna göre yapılan karşılaştırma.(Aynı harfle gösterilen gruplar arasında anlamlı fark yoktu. ($p>0,05$) Farklı harfle gösterilen gruplar arasında anlamlı fark vardır. ($p<0,05$).

Tartışma

Parasetamol uygun dozlarda kullanıldığında güvenlidir, diğer ilaçlarla da uygun dozlarda kullanıldığında yan etkisi nadir görülmektedir. Barbüratlarla birlikte parasetamol kullanılması hepatotoksik etkinin şiddetlenmesine yol açabilmektedir. Doz aşımı durumlarında solgunluk, iştahsızlık, bulantı ve kusma görülen başlıca belirtilerdir. Parasetamol toksisitesinin klinik önemi göz önüne alındığında, hepatoprotektif ajanın değerlendirilmesi için yaygın olarak tercih edilen bir toksisite modelidir (14). Bu toksisite modelini oluştururken doz ayarı oldukça önemlidir. Aşırı doz parasetamol kullanıldığında karaciğer yetmezliği görülebilmektedir (15). Terapötik dozlarda tüketilen PCM'nin %90'ından fazlası, glukuronidasyon işlemi yoluyla, idrarla atılmadan önce karaciğer tarafından inaktif bileşenlere, toksik olmayan sülfata ve glukuronide konjuge edilir (16). NAPQI genellikle glutatyon (GSH) tarafından toksik olmayan bir merkaptat konjugatına indirgenir. GSH, karaciğerdeki metabolizma süreçleri yoluyla üretilen serbest radikalleri temizleyerek antioksidan savunmadan sorumludur (17). Aşırı Parasetamol alımı, metabolik yolların,

özellikle sülfatlama ve glukuronidasyon yollarının doymuş hale gelmesine neden olur. Bu da gereksiz miktarda NAPQI üretmek için CYP450 yolunda daha fazla PCM birikmesine neden olur. NAPQI'nin aşırı üretimi GSH'ın aşırı tükenmesine yol açar. GSH eksikliği de GSH'nin verimli bir şekilde işlev görme yeteneğini etkiler. Sonuç olarak da hücre işlev bozukluğuna ve hücre ölümüne neden olacaktır (18). Yaptığımız çalışmada da parasetamol uyguladığımız gruplarda karaciğer dokularında hücre nekroz alanları görüldü. Ratlarda parasetamol ile toksisite oluşturulan çalışmada incelenen karaciğer dokusunda inflamasyon alanları ve nekrotik hücreler gösterilmiştir. Aynı çalışmada parasetamolle indüklenen grupta sinuzodial dilatasyon, hücre infiltrasyonu gözlemlenmiştir (19). Yapılan çalışmalarda perivenuller inflamasyon hepatik nekroz alanlarını tespit etmişlerdir (20). Yapılan başka bir çalışmada da sağlıklı grubun parasetamolle indüklenen grupta piknotik çekirdek ve dejenerasyon alanların varlığını belirtmişlerdir (21). Yine yapılan başka bir çalışmada parasetamol grubunda nekroz, inflamasyon, infiltrasyon ve dejenerasyon alanları görüldüğü bildirilmiştir (22). Çalışmamızda parasetamolle indüklediğimiz grupta ve düşük doz *Berberis vulgaris* bitki ekstresi verdiğimiz grupta inflamasyon alanları, dejenerasyon alanları ve nekroz dikkat çekmekteydi. Yüksek doz bitki ekstresinin düşük doz bitki ekstresi verdiğimiz grupla karşılaştırdığımızda Yüksek doz bitki ekstresinin parasetamol toksisitesinin verdiği zararı azalttığını görmekteyiz. Karaciğer enerjisinin ana kaynağı glikojendir. Yapılan bir çalışmada parasetamolle indüklenen grupta bazı hepatositlerde diğer gruplara göre glikojen varlığının arttığını göstermişlerdir (23). Bunun birçok nedeni olabilir. Bunlar arasında parasetamolun doğrudan glikojenoliz üzerine doğrudan bir etkisinin olabileceği, hepatik nekroz, azalmış glutatyon seviyeleri, reaktif metabolit oluşumu olabilmektedir (24). Yaptığımız çalışmada parasetamolle indüklediğimiz gruptaki hepatositlerde diğer gruplara göre glikojenin arttığını gördük. Farklı bir çalışmada, *Berberis vulgaris*'in fenolik bileşiklerinden dolayı antiinflamatuvar etkisinin olduğunu göstermişlerdir (25). *Berberis vulgaris*'in karaciğerde karbon tetraklorid (CCl₄) tarafından indüklenen İnflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu azaltabildiğini ve hepatositleri CCl₄'ün neden olduğu karaciğer hasarlarına karşı koruyabildiğini göstermiştir (26). Başka bir çalışmada *Berberis vulgaris*'in toksik olan bazı kimyasallara karşı koruyucu etkisini göstermişlerdir (27). *Berberis*

vulgaris, Berberidaceae familyasına aittir. *Berberis vulgaris* meyvesinin hipoglisemiye neden olabileceği ve hepatositler üzerinde sitoprotektif etkisi olduğunu bildiren çalışma da mevcuttur. Aynı çalışmada *Berberis vulgaris*'in bağırsak iyon salgısını, düz kas kasılmasını ve iltihabı engelleyebileceğini göstermiştir (28). Serbest oksijen türleri hepatik hücreler gibi hücrelerin zarlarına zarar vererek karaciğerdeki AST, ALT, ALP enzimlerin artmasına sebep olmaktadır. Bu enzimlerin artması da karaciğer hasarına neden olmaktadır. Bu nedenle parasetamol verilen grupta da bu enzimlerin arttığını gösteren çalışma mevcuttur (29). *Berberis vulgaris* bitki ekstresinde bulunan berberinin antioksidan özelliğinden dolayı serbest oksijen türlerinin vereceği hasarı azalttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (30). Çalışmamızda parasetamol toksisitesinin karaciğere verdiği zararı *Berberis vulgaris* ekstresinin 400 mg/kg olan grupun azalttığını yaptığımız histopatolojik sonuçlarda gözlemledik.

Çalışma Sınırlamaları: Çalışmamızda *Berberis vulgaris* bitkisi ekstresinde hangi molekülün etkili olduğunu tespit edebileceğimiz laboratuvar koşullarımızın ve ekibimizde bu konuda tecrübeli olan bir araştırmacının olmaması önemli bir sınırlılık olarak değerlendirildi.

Sonuç

Berberis vulgaris bitki ekstrasının hem antiinflamatuar hem de antioksidan özelliğinin olmasından dolayı Parasetamol kaynaklı hepatik toksisiteyi azalttığı görülmektedir. Yaptığımız PAS boyaması sonucunda parasetamolle indüklediğimiz grubun hepatositlerinde glikojen birikimi dikkat çekmekteydi. Parasetamol toksisitesinde *Berberis vulgaris* bitki ekstresinin 400 mg/kg parasetamolün hepatotoksik etkisine karşı kullanımı için daha ileri düzeyde çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Etik Onam: Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulunun 2021-123 numaralı karar ile onay alınmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarların bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Bu çalışma için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Yazar Katkıları: Veri Toplama ve İşleme; SY, MY, ET, PAK, Analiz ve Yorumlama; SY,SAB, AG, Literatür Taraması SY, Yazma; SY, ÇEBB

Teşekkür: Bitki teşhisi için yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi GEA, teşekkür ederiz

Kaynaklar

1. Pholmoo N, Bunchorntavakul CJJoC, Hepatology T. Characteristics and outcomes

of acetaminophen overdose and hepatotoxicity in Thailand. J Clin Transl Hepatol 2019;7(2):132.

2. Mazaleuskaya LL, Sangkuhl K, Thorn CF, FitzGerald GA, Altman RB, Klein TEJP, et al. PharmGKB summary: pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. Pharmacogenet Genomics 2015;25(8):416.
3. El-Azab M. Comparative study on therapeutic potential of caffeic acid and silymarin in paracetamol-induced hepatotoxicity: effect on HO-1, oxidative stress, hepatic inflammation and neutrophils infiltration. Al-Azhar j. pharmacy. sci 2012;45(1):14-29.
4. Nelson SD. Molecular mechanisms of the hepatotoxicity caused by acetaminophen. Seminars in liver disease. Semin Liver Dis 1990;10(4):267-278
5. Kumar S, Kumar D, Prakash O. Evaluation of antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of Hibiscus tiliaceus flowers. EJAFche 2008;7(4):2863-2871.
6. Lin W-C, Lin J-Y. Berberine down-regulates the Th1/Th2 cytokine gene expression ratio in mouse primary splenocytes in the absence or presence of lipopolysaccharide in a preventive manner. Int. Immunopharmacol 2011;11(12):1984-1990.
7. Lee C-H, Chen J-C, Hsiang C-Y, Wu S-L, Wu H-C, Ho T-Y. Berberine suppresses inflammatory agents-induced interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α productions via the inhibition of I κ B degradation in human lung cells. Pharmacol. Res 2007;56(3):193-201.
8. Patil S, Tawari S, Mundhada D, Nadeem S. Protective effect of berberine, an isoquinoline alkaloid ameliorates ethanol-induced oxidative stress and memory dysfunction in rats. Pharmacol. Biochem. Behav 2015;136:13-20.
9. Abdel Moneim AE. The neuroprotective effect of berberine in mercury-induced neurotoxicity in rats. Metab Brain Dis 2015;30(4):935-942.
10. Dulić M, Ciganović P, Vujić L, Zovko Končić M. Antidiabetic and cosmeceutical potential of common barbery (*Berberis vulgaris* L.) root bark extracts obtained by optimization of 'green'ultrasound-assisted extraction. Molecules 2019;24(19):3613.
11. Yayla M, Halici Z, Unal B, Bayir Y, Akpınar E, Gocer F. Protective effect of Et-1 receptor antagonist bosentan on

- paracetamol induced acute liver toxicity in rats. *Eur J Pharmacol* 2014;726:87-95.
12. Javad-Mousavi SA, Hemmati AA, Mehrzadi S, Hosseinzadeh A, Houshmand G, Nooshabadi M et al. Protective effect of *Berberis vulgaris* fruit extract against Paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats. *Biomed Pharmacother* 2016;81:329-336.
 13. Uluman E, Kilicle PA. The investigation of the possible antigenotoxic in vivo effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract on mitomycin-C genotoxicity. *Turkish J. Vet. Anim. Sci* 2020;44(2):382-390.
 14. Jaeschke H, Bajt ML. Intracellular signaling mechanisms of acetaminophen-induced liver cell death. *Toxicol Sci* 2006;89(1):31-41.
 15. Lee WM. Acetaminophen and the US Acute Liver Failure Study Group: lowering the risks of hepatic failure. *Hepatology* 2004;40(1):6-9.
 16. Fong BM-w, Siu TS, Tam S. Persistently increased acetaminophen concentrations in a patient with acute liver failure. *Clin Chem* 2011;57(1):9-11.
 17. Kerksick C, Willoughby DJJotisosn. The antioxidant role of glutathione and N-acetyl-cysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. *J Int Soc Sports Nut* 2005;2(2):38.
 18. Somchit M, Zuraini A, Bustamam AA, Somchit N, Sulaiman M, Noratunlina R. Protective activity of turmeric (*Curcuma longa*) in paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Int J Pharmacol* 2005;1(3):252-256.
 19. Aktaş Ö, Eskioçak S, Özgün GS, Yalçın Ö, Süt N. Asetaminofen ile toksik hepatit oluşturulan ratlarda L-karnitinin etkisi. *Turk Biyokim Derg* 2013;38(4).
 20. Yousef MI, Omar SA, El-Guendi MI, Abdelmegid LA, Toxicology C. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food Chem Toxicol* 2010;48(11):3246-3261.
 21. Kandil EI, Zahran WE, Helmy AS, Ahmed NH. Attenuation of Hepatorenal Toxicity Induced By Paracetamol and Gama Irradiation with Coenzyme Q10 Co-Supplementation in Male Albino Rats. *Egy. J. Pure Appl* 2015;53:35-43.
 22. Murali A, Ashok P, Madhavan V, Discovery D. Hepatoprotective effect of *Hemidesmus indicus* var. *pubescens* leaf extract on paracetamol induced hepatic damage. *Med Chem* 2012;3:103-115.
 23. Nayak N, Sathar SA, Mughal S, Duttagupta S, Mathur M, Chopra P. The nature and significance of liver cell vacuolation following hepatocellular injury-an analysis based on observations on rats rendered tolerant to hepatotoxic damage. *Virchows Arch* 1996;428(6):353-365.
 24. Hinson JA, Mays JB, Cameron AM. Acetaminophen-induced hepatic glycogen depletion and hyperglycemia in mice. *Biochem Pharmacol* 1983;32(13):1979-1988.
 25. Ivanovska N, Philipov S. Study on the anti-inflammatory action of *Berberis vulgaris* root extract, alkaloid fractions and pure alkaloids. *Int J Immunopharmacol* 1996;18(10):553-561.
 26. Hermenean A, Popescu C, Ardelean A, Stan M, Hadaruga N, Mihali C-V, et al. Hepatoprotective effects of *Berberis vulgaris* L. extract/ β cyclodextrin on carbon tetrachloride-induced acute toxicity in mice. *Int J Mol Sci* 2012;13(7):9014-9034.
 27. Li Z, Geng Y-N, Jiang J-D, Kong W-J. Antioxidant and anti-inflammatory activities of berberine in the treatment of diabetes mellitus. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014;2014.
 28. El-Wahab A, Abeer E, Ghareeb DA, Sarhan EE, Abu-Serie MM, El Demellawy MA, et al. In vitro biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. *BMC Complement Altern Med* 2013;13(1):1-12.
 29. Rashid U, Khan MR, Sajid M. Hepatoprotective potential of *Fagonia olivieri* DC. against acetaminophen induced toxicity in rat. *BMC Complement Altern Med* 2016;16(1):1-18.
 30. Thirupurasundari CJ, Padmini R, Devaraj SN. Effect of berberine on the antioxidant status, ultrastructural modifications and protein bound carbohydrates in azoxymethane-induced colon cancer in rats. *Chem Biol Interact* 2009;177(3):190-195.