

KLİNİK ÇALIŞMA / CLINICAL RESEARCH

ASETAMİNOFEN'İN NEDEN OLDUĞU HEPATOTOKSİSİTEDE KARVAKROL'ÜN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE N-ASETİL SİSTEİN İLE KARŞILAŞTIRILMASI

ASSESSMENT OF CARVACROL EFFECTS ON ACETAMINOPHEN RELATED HEPATOTOXICITY AND AND ITS COMPARISON WITH N-ACETYL CYSTEIN

Hüseyin C. TURGUT¹, İ. Aydın ERDEN¹, Seda B. AKINCI¹, Fatma SARICAOĞLU¹, Sevgen ÖNDER², Kamer KILINÇ³, Hüsnü Can BAŞER⁴, Ülkü AYPAR¹

¹Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD

²Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD

³Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD

⁴Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD

¹Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Anesthesiology and Reanimation, Ankara, Turkey

²Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey

³Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Biochemistry, Ankara, Turkey

⁴Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Eskişehir, Turkey

ÖZET

Amaç: Asetaminofen (APAP), terapötik dozlarda yan etkisi az bir analjeziktir. Bununla birlikte hepatotoksisite ile karşılaşabilmektedir. Karvakrolün karaciğer rejenerasyonu, iskemi reperfüzyon hasarı üzerinde yararlı etkileri gösterilmiştir. Bu çalışmada asetaminofene bağlı karaciğer toksisitesinde karvakrolün etkisi araştırılarak, N-asetil sistein (NAS) ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç Yöntem: Çalışmaya 36 adet Wistar Albino rat (6 grup) alınmıştır. Birinci grup APAP (1 g kg⁻¹ oral) + karvakrol (karvakrol (73 mg kg⁻¹) grubu, ikinci grup serum fizyolojik (SF) (1 mL kg⁻¹ % 0,9' luk NaCl intraperitoneal) grubu, üçüncü grup karvakrol (73 mg kg⁻¹) grubu, dördüncü grup APAP + N-asetilsistein (1.2 g kg⁻¹ ip) grubu, beşinci grup APAP (1 g kg⁻¹ oral) grubu, altıncı grup N-asetilsistein (1.2 g kg⁻¹ ip) grubu olarak düzenlendi. Yirmi dördüncü saatin sonunda serum alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST) ve alkalen fosfataz (ALP) düzeyleri ölçülerek histopatolojik değerlendirme yapıldı.

Bulgular: Kontrol grubuna göre; APAP verilen grup, NAS verilen grup ve APAP+NAS verilen grupta anlamlı olarak yüksek inflamasyon tespit edildi. (p<0.05). ALT ve AST düzeyi karvakrol verilen grupta APAP verilen grup ve APAP+NAS verilen gruptakinden anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçları ratlarda asetaminofene bağlı hepatotoksistide karvakrolün yeterli koruyucu etki yapmadığını ve karvakrol ile NAS'ın hepatosit hasarını önlemede birbirine üstünlüğünün olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte karvakrole bağlı aminotransferaz düzeylerindeki anlamlı yükselme bu etkiyi sorgulanabilir hale getirmektedir.

ANAHTAR KELİMELE: Asetaminofen, N-asetil sistein, Karvakrol, Hepatotoksicity

SUMMARY

Objective: Acetaminophen is an analgesics agent with little side effects in range of therapeutic doses while hepatotoxicity is a common consequence of acetaminophen overdose.

There has been beneficial effects of carvacrol on hepatic regeneration and ischemi-reperfusion injury. In this study we have aimed to examine the effects of carvacrol on acetaminophen induced hepatotoxicity and compare it with N-acetyl cysteine (NAS).

Material-Methods: Thirty six Wistar Albino rats have been used for the study (6 groups). In group 1 animals recieved carvacrol of 73 mg kg⁻¹ intraperitoneally after receiving 1gr kg⁻¹ APAP orally. Animals in control group received saline of 1 ml kg⁻¹ orally. In group 3 animals recieved carvacrol of 73 mg kg⁻¹ intraperitoneally. In group 4 animals recieved 1gr kg⁻¹ of APAP orally followed by 1.2 gr kg⁻¹ of NAC intraperitoneally. In group 5 animals received APAP of 1 gr kg⁻¹ orally. In group 6 animals received NAC of 1.2 gr kg⁻¹ intraperitoneally. Alanine amino transferase (ALT), aspartat amino transferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) levels were measured after 24 hours, and histopathological examination was made.

Results: Inflammation in APAP treated group, N-acetyl cysteine treated group and APAP+NAC group was remarkably high (p<0.05). Serum levels of ALT and AST were found to be higher in carvacrol treated group than APAP treated group and APAP+NAC treated group (p<0.05).

Conclusion: Our study indicates that carvacrol can not provide sufficient protective effect, and neither carvacrol nor N-acetyl cysteine is superior to each other in protecting hepatocytes from acetaminophen induced hepatotoxicity. Carvacrol has no destructing effect on hepatic tissue according to histopathological findings, however, this result has been debatable due to the significant increase in carvacrol related aminotransferase levels.

KEY WORDS: Acetaminophen, N-acetyl cysteine, carvacrol, hepatotoxicity

Çıkar çatışması/Conflict of Interest: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir./ Authors do not report any conflict of interest.

Geliş tarihi/Received: 03/08/2013

Kabul tarihi/Accepted: 07/03/2013

Yazışma Adresi (Correspondence):

Dr. Hüseyin Cihad Turgut , Diyarbakır Kadın Doğum Hastanesi, Diyarbakır

E-posta (E-mail): drhuseynturgut@yahoo.com

GİRİŞ

Asetaminofen (parasetamol, N-asetil-p- aminofenol; APAP) çok yaygın olarak kullanılan analjezik ve antipiretik bir ilaçtır (1-3). Asetaminofen terapötik dozlarda aspirin ve ibuprofene benzer analjezik ve antipiretik etkinliği olan güvenli bir ilaç olarak kabul edilmektedir.

Asetaminofenin terapötik dozları güvenli kabul edilmekle birlikte ilacın yüksek dozlarda alınmasıyla ölümcül olabilen sentrilobüler hepatik nekroz görülebilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve İngiltere’de akut karaciğer yetmezliği ile sonuçlanan vakaların yaklaşık %20’sini parasetamol zehirlenmesi oluşturmaktadır (4, 5). Yine ABD’de asetaminofen zehirlenmesinin doğrudan yıllık maliyeti 87 milyon dolar olarak hesaplanmıştır (6).

Kekik suyunun ana bileşeni olan karvakrolün anti-mutajenik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, antianjiyojenik ve antitümör etkinliği bilinmektedir (7). Karvakrolün karaciğerin iskemi-reperfüzyon hasarında antioksidan mekanizmaları yenileyerek koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir (8).

Bu çalışmada ratlarda deneysel olarak parasetamol ile karaciğer toksisitesi oluşturduktan sonra, karvakrolün hepatotoksiste üzerindeki etkisini araştırmayı ve antidot olarak kullanılan NAS ile karşılaştırmayı amaçladık.

METOD

Deney Hayvanları

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Hayvan Etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmamızda Hacettepe Üniversitesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı’ndan temin edilen Wistar albino cinsi sıçanlar (180-200 g) kullanıldı. Hayvanlar deney başlayana kadar ortama alıştırmaları açısından Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarı’nda tutuldu. Hayvanlara $21\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta ve %30-70 bağıl nem oranında, 12 saat karanlık-12 saat aydınlık sikluslar halinde musluk suyu ve standart yem ile bakıldı. Çalışmada APAP toksisitesinde, hem toksisite öncesi hem de toksisite sonrası karvakrolün etkisi incelendi.

Deney Protokolü

Çalışmaya 36 adet Wistar Albino rat alınmıştır. Ratlar randomize olarak her grupta altı hayvan olacak şekilde altı gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki hayvanlara APAP toksisitesini takiben (tek doz 1000 mg kg⁻¹ APAP (Parol tablet Atabay A.Ş. Kadıköy - İSTANBUL) (gavajla verildikten sonra) 1.saatte karvakrol (Osman Gazi Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı’ndan saflaştırılmış ve damıtılmış preparat şeklinde temin edildi) (kontrol grubunda verilen SF ile eş hacimde 73 mg kg⁻¹ intraperi-

toneal) verildi. İkinci grup kontrol grubu olup bu gruptaki hayvanlara 1 ml kg⁻¹ % 0,9’luk NaCl intraperitoneal (ip) tek doz verildi. Üçüncü gruptaki hayvanlara sadece karvakrol (eş hacimde 73 mg kg⁻¹ ip) verildi. Dördüncü gruptaki hayvanlara APAP toksisitesini takiben (tek doz eş hacimde 1000 mg kg⁻¹ APAP gavajla verildikten sonra 1.saatte N-asetilsistein (Asist %10- Hüsnü Arsan Şişli-İstanbul) eş hacimde 1.2 gr kg⁻¹ ip) verildi. Beşinci gruptaki hayvanlara sadece APAP (1000 mg kg⁻¹ tek doz gavajla) verilirken, altıncı gruptaki hayvanlara sadece N-asetilsistein (eş hacimde 1.2 gr kg⁻¹ ip) verildi.

Gruplara ilaçların verilmesinden 24 saat sonra tüm gruplardaki hayvanlara önce ketamin hidroklorid (75 mg kg⁻¹) (Ketalar, Pfizer) ve xylazine hidroklorid (8 mg kg⁻¹) (Alfazyne, Egevet) intraperitoneal yapılarak anestezi ve analjezi sağlandı. Daha sonra masa üzerine tespitleri yapıldı, göğüs duvarı açılarak dokular serbestleştirildi. İntrakardiyak ponksiyonla alınan kan heparinize tüplere dolduruldu. Karaciğer örnekleri hemotoksilen eozin ile boyandıktan sonra patoloji uzmanı tarafından kör olarak değerlendirildi.

Parametreler; inflamasyon (0= inflamasyon yok, 1= hafif düzeyde inflamasyon, 2= ileri düzeyde inflamasyon), sinüzoidal değişiklik (0= değişiklik yok, 1= hafif düzeyde değişiklik, 2= ileri düzeyde değişiklik), hasar (nekroz) (0= nekroz yok, 1= hafif düzeyde nekroz, 2= ileri düzeyde nekroz) olarak skorlandı. Her bir preparat için dört değişik bölge incelenerek her parametre ayrı ayrı değerlendirildi ve dört bölgenin ortalama skoru kaydedildi.

Karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesi için alınan kandan alanin amino transferaz (ALT), aspartat amino transferaz (AST) ve alkalen fosfataz (ALP) ölçümleri yapıldı.

BULGULAR

Histolojik Bulgular

İnflamasyon Derecesi: Kontrol grubundaki (SF) (Grup 2) hayvanlarda 2. derece inflamasyon saptanmadı. Asetaminofen verilen APAP grubunda (Grup 5) ve APAP verildikten sonra N-Asetil sistein (NAS) verilen grupta (Grup 4) kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha fazla inflamasyon tespit edildi (Tablo I). Sadece NAS verilen grupta (Grup 6) kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla inflamasyon tespit edildi (Tablo I).

Sinüzoidal Düzensizlik Derecesi: Ratlardan alınan kesitlerin sinüzoidal düzensizlik açısından yapılan karşılaştırmasında sadece APAP+NAS verilen grupta (Grup 4) kontrol grubuna (Grup 2) göre anlamlı olarak fark saptandı (Tablo I).

Tablo I: Median değerlerine göre gruplar arası inflamasyon, sinüzoidal düzensizlik ve nekroz derecesi karşılaştırılması

	İnf.derecesi median (min-maks)	Sin. Düzens. Median (min-maks)	Nekroz derecesi median (min-maks)
Grup1	1 (0-2)	1 (0-1)	0 (0-2)
Grup2	0.5 (0-1)	0 (0-1)	0.5 (0-1)
Grup3	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-2)
Grup4	1 (1-2)	0 (0-1)	0.5 (0-2)
Grup5	2 (0-3)	1 (0-2)	0 (0-2)
Grup6	1 (1-2)	0.5 (0-1)	0 (0-1)
p	0.31	0.233	0.992

Nekroz Derecesi: Nekroz derecesi açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada anlamlı fark bulunmadı (p=0.794).

Biyokimyasal Analiz

Alanin aminotransferaz (ALT) ve Aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri karvakrol grubunda (Grup 3) sadece APAP verilen grup (Grup 5) ve APAP+NAS (Grup 4) verilen gruptan anlamlı olarak farklı/yüksek bulundu (Tablo II).

TARTIŞMA

Asetaminofenin rat karaciğeri üzerindeki hepatotoksik etkisini, N-asetil sisteinin (NAS) hepatotoksitedeki antidot etkinliğini ve karvakrolün hem normal karaciğer dokusu hem de APAP'a bağlı hepatotoksitedeki etkisini araştırdığımız bu çalışmada APAP verilen grupta kontrol grubuna göre inflamasyonun arttığı gözlenmiştir. Bu bulgu toksisitenin ilk basamağı olan inflamatuvar yanıtın oluştuğunu göstermektedir. Yine çalışmamızda APAP+NAS verilen gruptaki inflamasyonun kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulguya ek olarak sadece NAS verilen grupta da inflamasyon derecesi kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Bu iki sonuç birleştirildiğinde NAS'ın koruyucu

ve/veya tedavi edici etkinliği sorgulanabilir hale gelmektedir.

Her ne kadar literatürde NAS tedavisi ve etkinliği ayrıntılı olarak çalışılmış ve antidot etkinliği gösterilmiş olsa da genel kabuller ile çelişen ve çalışmamızın bulgularını destekleyen yeni çalışmalar da bulunmaktadır. Bunlardan ilki APAP toksisitesi olan ve ilk 8 saat içinde NAS tedavisine başlanarak 21 saat süreyle intravenöz NAS tedavisi alan hastalarda yapılan çalışmadır. Bu çalışmada tedaviye rağmen 77 hastada hepatotoksiste gelişme oranı %5.2 olarak bulunmuştur. NAS tedavisine rağmen yüksek hepatotoksiste oranı bazı hasta gruplarında NAS tedavisinin suboptimal olduğu sonucunu ortaya çıkarmıştır. Bu sonuca bakılarak NAS tedavisinin süresinin ve doz ayarlamasının gözden geçirilmesi gerektiği bildirilmiştir (9). Yang ve ark. (9) farelerde 350 mg kg⁻¹ APAP sonrası 2. saatte 100 mg kg⁻¹ NAS tedavisi uyguladıkları çalışmalarında, APAP uygulaması sonrasındaki 72. saatte kontrol grubuna göre serum transaminaz seviyelerinin, periportal alanda hepatosit vakuolizasyonunun arttığını ve histopatolojik görüntüde karaciğer rejenerasyonunun azaldığını tespit etmişlerdir. Bu etkinin karaciğer rejenerasyonundaki iki önemli faktör - hepatik nükleer faktöre ((NF)-kB) DNA bağlanmasının azalması ve hücre döngüsü proteini siklin D1 ekspres-

Tablo II: Median değerlerine göre gruplararası ALP, ALT ve AST karşılaştırılması

	ALP Median (min-maks)	ALT Median (min-maks)	AST Median (min-maks)
Grup1	77 (27-318)	444 (75-963)	474 (209-2898)
Grup2	61 (52-78)	50 (42-145)	156 (91-237)
Grup3	42 (35-55)	234 (73-297) _{α,β}	989 (298-1287) _{θ,γ,δ}
Grup4	52 (18-59)	72 (53-93)	243 (171-518)
Grup5	51 (39-113)	64 (47-79)	166 (130-278)
Grup6	45 (21-48)	90 (74-327)	273 (213-363)
p	0.142	0.33	0.14

α= grup3 grup4 ile karşılaştırıldığında p= 0.017

β= grup3 grup5 ile karşılaştırıldığında p=0.019

θ= grup3 grup6 ile karşılaştırıldığında p=0.048

γ= grup3 grup4 ile karşılaştırıldığında p=0.017

δ= grup3 grup 5 ile karşılaştırıldığında p=0.019

yonunun azalmasına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak da uzamış NAS tedavisinin APAP'a bağlı karaciğer hasarında karaciğer rejenerasyonunu azalttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızın bulgularını desteklemektedir.

Gruplar arasında inflamasyon açısından yapılan karşılaştırmada karvakrol verilen grupta kontrol grubundakine benzer şekilde 2. derece inflamasyon olan hayvan olmadığı tespit edildi. Birinci derece inflamasyon gelişen hayvanlar olmasına rağmen, ileri düzeyde inflamasyon olmaması karvakrolün -histopatolojik bulgular açısından- nekroza ve karaciğer harabiyetine neden olmadığını düşündürmektedir. Bu sonuç literatürdeki çalışmalarla uyumludur (8, 10, 11).

Çalışmamızda toksisite dozunda uygulanan APAP ile beklenen düzeyde toksisite oluşmamıştır. İlacın verilmiş şekli (12, 13) ve dozu (14, 15) literatür esas alınarak belirlenmesine rağmen toksisite olmaması; genel olarak asetaminofene bağlı hepatotoksisite ile ilgili hayvan modellerinin ve özelde de çalışmamızda kullandığımız modelin kullanılabilirliğinin ve tutarlılığının sorgulanmasını gerektirmektedir.

Çeşitli hayvanlardaki asetaminofen modellerinin tekrarlanabilirliğinin kısıtlı oluşu ve ekstrahepatik toksisitenin olabilmesi bu modellerdeki önemli sorunlardan biridir. Hayvandan hayvana değişen ilaç metabolizması oluşu da verilen dozlardaki asetaminofene yanıtın öngörülebilmesine neden olabilmektedir. Bu tür değişkenliklerin sınırlandırılması için çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Blitzer ve ark. (16) saf ırk olan hayvanları kullanmış fakat bu yaklaşım henüz saf olmayan ırklarla karşılaştırılmamıştır. Ayrıca saf ırktaki hayvanların bile aynı metabolize etme kapasitesine sahip olduğu da gösterilememiştir.

Ekstrahepatik toksisite riski nedeniyle asetaminofen uygulama doz rejimleri giderek daha karmaşık hale gelmektedir. Aşırı yüksek dozlar belirgin hepatik hasar oluşturmadan methemoglobinemi ve pulmoner ödeme bağlı olarak ölüme neden olmaktadır.

Asetaminofene bağlı hepatotoksisite ile ilgili hayvan modellerini araştıran bir başka derlemede (17) domuz, köpek, tavşan, rat ve farelerdeki asetaminofen hepatotoksisitesi modellerinin tekrarlanabilir olmadığı, hasar ile ölüm arasındaki sürenin değişken olduğu, tür ve hayvan yaşı açısından standardizasyonun zor olduğu bildirilmiştir (18, 19). Asetaminofene bağlı akut karaciğer yetmezliği çalışmalarını inceleyen bir diğer derlemede de; yapılan çalışmalarda insanlar ile bazı kemirgenlerin temel koagülasyon faktörlerindeki belirgin konsantrasyon farklılıklarının tespit edilmiş olmasının da önemli bir sorun olduğu bildirilmiştir (20).

Çalışmamızda karvakrolün histopatolojik olarak karaciğere toksik olmadığı fakat literatürdeki bulguların aksine biyokimyasal analizde ise karaciğer enzimlerini yükselttiğini gösterdik. Çalışmamızın bulgusundan farklı olarak Uyanoğlu ve ark. (10) yaptığı çalışmada hepatektomiye takiben artan ALT, AST ve ALP düzeylerinin karvakrol grubunda en hızlı şekilde normale döndüğü ve bunun karaciğer rejenerasyonuna karvakrolün olumlu etkide bulunduğu sonucu için gösterge olduğu bildirilmiştir. Karaciğerde oluşturulan deneysel iskemi reperfüzyon hasarına karvakrolün etkisini araştıran bir diğer çalışmada ise; iskemi reperfüzyona sekonder oluşan ALT, AST ve ALP yüksekliğinin karvakrol ve silmarin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ve sonuç olarak karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında karvakrolün silmarin kadar etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (21).

Çalışmamızda literatürdeki çalışmalardan farklı olarak karvakrolün ALP düzeylerine anlamlı etkisi olmazken, ALT ve AST düzeyini yükselttiği ve bu etkinin APAP etkisinden daha fazla olduğu görülmüştür (Tablo 2). Bu sonuca bakarak karvakrolün karaciğere toksik olduğu söylenebilir. Çalışmamızda kullandığımız karvakrol dozu (73 mg kg^{-1}) ve verilmiş yolu (intraperitoneal) ile hayvan türü literatürdeki çalışmalarla aynı olduğundan (8) bu sonucun karvakrol ile ilgili yapılacak çalışmalar için önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sonuçları literatürdeki karvakrol çalışmalarından farklı olmakla birlikte karvakrolün asetaminofene bağlı hepatotoksistide etkinliği ile ilgili yapılacak yeni çalışmalarda daha uzun süreli karvakrol uygulamasının veya farklı doz ve uygulama yolları kullanılması; karvakrolle ilgili gelişmelere ışık tutacağı söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Bessems JG, Vermeulen NP. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. Crit Rev Toxicol 2001; 31: 55-138.
2. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. Drug Metab Dispos 2003; 31: 1499-1506.
3. Prescott LF, Critchley JA. The treatment of acetaminophen poisoning. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1983; 23: 87-101.
4. Larson AM, Polson J, Fontana RJ, et al. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. Hepatology 2005; 42: 1364-1372.
5. Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiødt FV, et al. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. Ann Intern Med 2002; 137: 947-954.

6. Bond GR, Novak JE. The human and economic cost of paracetamol (acetaminophen) overdose. *Pharmacoeconomics* 1995; 8: 177-181.
7. Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 3106-3119.
8. Canbek M, Uyanoglu M, Bayramoglu G, et al. Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver. *Phytomedicine* 2008; 15: 447-452.
9. Tran A, Tréluyer JM, Rey E, et al. Protective effect of stiripentol on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 170: 145-152.
10. Uyanoglu M, Canbek M, Aral E, Husnu Can Baser K. Effects of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy. *Phytomedicine* 2008; 15: 226-229.
11. Yang R, Miki K, He X, Killeen ME, Fink MP. Prolonged treatment with N-acetylcystine delays liver recovery from acetaminophen hepatotoxicity. *Crit Care* 2009; 13: R55.
12. Aristatile B, Al-Numair KS, Veeramani C, Pugalendi KV. Effect of carvacrol on hepatic marker enzymes and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2009; 23: 757-765.
13. Li J, Kaneko T, Wang Y, Qin LQ, Wang PY, Sato A. Troglitazone enhances the hepatotoxicity of acetaminophen by inducing CYP3A in rats. *Toxicology* 2002; 176: 91-100.
14. Hwang J. Diets with corn oil and/or low protein increase acute acetaminophen hepatotoxicity compared to diets with beef tallow in a rat model. *Nutr Res Pract* 2009; 3: 95-101.
15. Kim ST, Kim JD, Ahn SH, Ahn GS, Lee YI, Jeong YS. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Alnus japonica* extracts on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Phytother Res* 2004; 18: 971-975.
16. Grosse H, Ozier Y, Fabre M, et al. Acetaminophen-induced fulminant hepatic failure in pigs. A new model to assess pre-clinical liver assistance [abstract]. *Hepatology* 1996; 24: 722A.
17. Blitzer BL, Waggoner JG, Jones EA, et al. A model of fulminant hepatic failure in the rabbit. *Gastroenterology* 1978; 74: 664-671.
18. Kamanaka Y, Kawabata A, Matsuya H, Taga C, Sekiguchi F, Kawao N. Effect of a potent iNOS inhibitor (ONO-1714) on acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat. *Life Sci* 2003; 74: 793-802.
19. Tuñón MJ, Alvarez M, Culebras JM, González-Gallego J. An overview of animal models for investigating the pathogenesis and therapeutic strategies in acute hepatic failure. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3086-3098.
20. Terblanche J, Hickman R. Animal models of fulminant hepatic failure. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 770-774.
21. Sökmen M, Serkedjieva J, Daferera D, et al. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 3309-3312.