



**SIÇANLARDA PARASETAMOLLE İNDÜKLENMİŞ
AKUT KARACİĞER HASARINA KARŞI HORDENİNİN
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Erhan BALLI

Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Rüstem Anıl UĞAN

Doktora Tezi-2025



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**SIÇANLARDA PARASETAMOLLE İNDÜKLENMİŞ
AKUT KARACİĞER HASARINA KARŞI HORDENİNİN
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Erhan BALLI

**Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Rüstem Anıl UĞAN**

ERZURUM

2025

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Karaciğer.....	5
2.1.1. Karaciğerin Anatomik Yapısı	5
2.1.2. Karaciğerin Fizyolojik Fonksiyonları	6
2.2. Parasetamol.....	10
2.2.1. Parasetamol Tarihçesi	10
2.2.2. Parasetamol Farmakokinetiği	11
2.2.3. Parasetamol Etki Mekanizması.....	13
2.2.3.1. COX-1, COX-2 ve COX-3 ile İlişkisi	14
2.2.3.2. Merkezi Sinir Sistemi Etkileri	15
2.2.3.3. Endokannabinoid Sistem	15
2.2.3.4. Serotonerjik Yollar	16
2.2.3.5. TRP Kanalları (Özellikle TRPV1 ve TRPA1).....	16
2.2.3.6. Voltaj-kapılı Potasyum (Kv7) ve Kalsiyum (Cav3.2) Kanalları	17
2.2.3.7. Nitrik Oksit (NO) Yolu.....	18
2.2.3.8. Diğer Bulunan Mekanizmalar.....	18

2.2.4. Parasetamolün Klinik Kullanımı	18
2.2.5. Yan Etkiler	20
2.3. Parasetamol Hepatotoksisitesi	20
2.3.1. Toksik Metabolit (NAPQI) Oluşumu ve Glutasyon Tükenmesi.....	21
2.3.2. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Oksidatif Stres	22
2.3.3. Mikrovasküler Düzeyde Gelişen Hasarlar	24
2.3.4. ER Stresi	25
2.3.5. DNA Hasarı ve Alternatif Hücre Ölüm Yolları.....	26
2.3.6. Steril İnflamasyon ve İmmün Yanıt.....	26
2.4. Tedavi Yaklaşımları.....	27
2.4.1. NAC	27
2.4.2. CYP450 İnhibitörleri	29
2.4.3. Otofaji Aktivasyonu & Nrf2 Yolu	29
2.4.4. Karaciğer Onarımı ve Rejenerasyon.....	30
2.4.5. Karaciğer Nakli.....	31
2.4.6. Bitkisel Kaynaklı Ajanlar	31
2.5. Hordenin	32
3. MATERYAL ve METOT	40
3.1. Materyal.....	40
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Hayvanlar	40
3.1.2. Kimyasallar.....	40
3.1.3. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	41
3.1.4. Kullanılan İlaç/Kimyasalların Dozları ve Çözeltilerin Hazırlanışları	42
3.2. Metot.....	42
3.2.1. Deney Planı.....	42

3.2.2. Biyokimyasal Analizler	44
3.2.2.1. Serumda Gerçekleştirilen Biyokimyasal Analizler.....	44
3.2.2.2. Karaciğer Dokusunda Gerçekleştirilen Analizler	45
3.2.3. Moleküler Analiz	47
3.2.3.1. Total RNA İzolasyonu	47
3.2.3.2. Reverse Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi	48
3.2.3.3. mRNA Ekspresyonunun Real Time PCR ile Belirlenmesi	49
3.2.4. Histopatolojik Analizler.....	50
3.2.5. İstatistiksel Analiz.....	52
4. BULGULAR.....	52
4.1. Biyokimyasal Bulgular	52
4.1.1. Serum ALT, AST ve ALP Seviyeleri	52
4.1.2. Serum Dopamin Seviyesi.....	54
4.1.3. Karaciğer Dokusu GSH, SOD ve MDA Düzeyleri	56
4.2. Rölatif mRNA Ekspresyon Bulguları	58
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	64
4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	65
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	87
KAYNAKLAR	88
EKLER	108
EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu.....	108
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	109

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanı hocam Sayın Doç. Dr. Rüstem Anıl UĞAN'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım. Laboratuvar çalışmalarımı yapabilmem için her türlü imkânı sağlayan ve Moleküler Farmakoloji Araştırma Laboratuvarının her türlü imkanını sağlayan ve her zaman çalışmalarımı destekleyen Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Elif ÇADIRCI'ya, tez izleme komitesinde yer alan ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Yasin BAYIR'a, deneysel çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Araştırma görevlisi Aylin AYDIN'a, histopatolojik analizleri yapan Dr. Nevra AYDEMİR CELEP'e, bu tez çalışmasını TDK-2023-13158 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, bu tez çalışmasını "1002-B Acil Destek Modülü" kapsamında 224S172 numaralı proje ile destekleyen TÜBİTAK'a, çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma, bu doktora eğitimim aşamasında beni destekleyen Eşime teşekkür ederim. Son olarak kızım ve oğluma kucak dolusu sevgilerimle...

Erhan BALLI

ÖZET

Sıçanlarda Parasetamolle İndüklenmiş Akut Karaciğer Hasarına Karşı Hordeninin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Bu çalışma, parasetamol toksisitesine bağlı akut karaciğer hasarında hordeninin olası koruyucu etkisini biyokimyasal, moleküler ve histolojik düzeyde değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Materyal ve Metot: Toplam 42 sıçan, her grupta 6 hayvan olacak şekilde 7 gruba ayrıldı. Hayvanlara 24 saat aç bırakıldıktan sonra üç farklı dozda hordenin (25, 50 ve 100 mg/kg, oral) veya N-asetilsistein (140 mg/kg, oral) kendi gruplarına verildi. Ardından, 2 g/kg parasetamol oral yolla uygulanarak toksisite oluşturuldu. Parasetamol uygulamasından 24 saat sonra hayvanlar sakrifiye edilerek kan ve karaciğer dokuları alındı. Serumda ALT, AST, ALP ve dopamin düzeyleri; dokularda ise GSH, SOD ve MDA düzeyleri analiz edildi. TNF- α , IL-1 β , IL-6, DRD2, TGF- β 1, iNOS ve NF- κ B mRNA ekspresyonları Real Time-PCR ile değerlendirildi. Ayrıca karaciğer dokusunda nekroz, hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik bulgular ile TNF- α ve DRD2 için immünohistokimyasal boyamalar yapıldı.

Bulgular: PARA grubuna göre, tüm hordenin tedavi gruplarında serum ALT, AST ve ALP düzeylerinde anlamlı azalma ile sonuçlandı ($p<0.05$). Serum dopamin düzeyleri, PARA grubuna kıyasla 50 ve 100 mg/kg dozlarında artış gösterdi. Hordenin tedavisini takiben SOD aktivitesi ve GSH düzeylerinde artış, MDA düzeylerinde ise azalma gözlemlendi. PARA grubuyla karşılaştırıldığında, tüm hordenin tedavi gruplarında TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β 1, iNOS ve NF- κ B ekspresyonunda belirgin düşüş, DRD2 ekspresyonunda ise 50 ve 100 mg/kg dozlarında anlamlı artış saptandı. Histopatolojik incelemelerde, hordenin uygulanan gruplarda karaciğer hasarının azaldığı gözlemlendi.

Sonuç: Hordeninin; antioksidan savunmayı artırarak, DRD2 aracılığıyla dopaminerjik sinyal yollarını modüle ederek, inflamatuvar gen ekspresyonunu baskılayarak ve histopatolojik iyileşmeyi destekleyerek hepatoprotektif etki gösterdiği ortaya kondu.

Anahtar Kelimeler: Akut karaciğer hasarı, DRD2, GSH, hordenin, parasetamol, sıçan

ABSTRACT

Investigation of the Protective Effects of Hordenine Against Paracetamol-Induced Acute Liver Injury in Rats

Aim: This study aims to evaluate the potential protective effects of hordenine on acute liver injury induced by paracetamol toxicity through biochemical, molecular, and histological assessments.

Material and Method: A total of 42 rats were randomly allocated into seven groups, with six animals in each group. Following a 24-hour fasting period, the animals received either hordenine at three different doses (25, 50, and 100 mg/kg, orally) or N-acetylcysteine (140 mg/kg, orally), according to their respective group assignments. Subsequently, toxicity was induced by oral administration of paracetamol at a dose of 2 g/kg. Twenty-four hours after paracetamol administration, the animals were sacrificed, and blood and liver tissues were collected. Serum levels of ALT, AST, ALP, and dopamine were analyzed, while tissue levels of GSH, SOD, and MDA were measured. mRNA expression levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, DRD2, TGF- β 1, iNOS, and NF- κ B were evaluated using Real Time-PCR. Additionally, histopathological findings including necrosis, hemorrhage, and mononuclear cell infiltration in liver tissue were assessed, along with immunohistochemical staining for TNF- α and DRD2.

Results: Compared to the PARA group, all hordenine-treated groups showed a significant reduction in serum ALT, AST, and ALP levels ($p < 0.05$). Serum dopamine levels increased at doses of 50 and 100 mg/kg compared with the PARA group. Following hordenine treatment, increases in SOD activity and GSH levels, along with a decrease in MDA levels, were observed. Compared with the PARA group, a significant decrease in the expression of TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β 1, iNOS and NF- κ B and a significant increase in the expression of DRD2 were detected at doses of 50 and 100 mg/kg in all hordenine-treated groups. Histopathological analysis revealed a reduction in liver damage in the hordenine-treated groups.

Conclusion: It was demonstrated that hordenine exerts hepatoprotective effects by enhancing antioxidant defense, modulating dopaminergic signaling pathways via DRD2, suppressing inflammatory gene expression, and promoting histopathological improvement.

Key Words: Acute liver injury, GSH (Glutathione), DRD2, hordenine, paracetamol, rat

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AM404	: N-araşidonoilfenolamin
ASK1	: Apoptozis sinyal düzenleyici kinaz 1
ConA	: Concanavalin A
COX	: Siklooksijenaz
DRD2	: Dopamin reseptörü D2
ER	: Endoplazmik retikulum
GPx1	: Glutasyon peroksidaz 1
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
IHC	: İmmunohistokimyasal
IL-1β	: İnterlökin-1 β
IL-6	: İnterlökin-6
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
LPS	: Lipopolisakkarit
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MDA	: Malondialdehit
NAC	: N-asetilsistein
NAPQI	: N-asetil-para-benzokinon imine
NF-κB	: Nükleer faktör-kappa B
NO	: Nitrik Oksit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TGF-β1	: Transforming growth faktör- β 1
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör- α
UGT	: Uridin difosfat glukuroniltransferaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Parasetamolün kimyasal yapısı	10
Şekil 2.2. Parasetamol (asetaminofen) metabolizması yolları.....	13
Şekil 2.3. Hordeninin kimyasal yapısı.....	33
Şekil 3.1. Deneyde kullandığımız hayvanlar ve gruplandırmaları	43
Şekil 3.2. Çalışmada RNA izolasyonu için kullandığımız Qiaquebe cihazı	47
Şekil 3.3. cDNA sentezinde kullanılan Techne TC-5000 Thermal Cycler cihazı.....	49
Şekil 3.4. cDNA sentezinde kullanılan sıcaklık değerleri ve süreleri	49
Şekil 3.5. Real Time PCR ile mRNA ekspresyonunda kullanılan StepOne Plus real time sistemi (Applied Biosystems)	50
Şekil 4.1. Serumda ALT, AST, ALP ve dopamin düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	55
Şekil 4.2. Karaciğer dokusundaki GSH, SOD ve MDA düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	56
Şekil 4.3. Real Time PCR ile ölçülen karaciğer dokusunda TNF- α , IL-1 β , TGF- β 1, IL-6, NF- κ B, iNOS ve DRD2 ekspresyonları.....	62
Şekil 4.4. Karaciğer örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler.....	67
Şekil 4.5. İmmünohistokimyasal olarak anti-TNF- α ile boyanan karaciğer dokusuna ait görüntü	68
Şekil 4.6. İmmünohistokimyasal olarak anti-D2DR ile boyanan karaciğer dokusuna ait görüntü	69

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. İnsan karaciğerindeki hücreler ve işlevleri	9
Tablo 2.2. Parasetamolün hedef bölgeleri ve bu bölgelerdeki etkileri.....	14
Tablo 2.3. Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarının patofizyolojik mekanizmaları	21
Tablo 2.4. Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarında tedavi stratejileri–karşılaştırmalı tablo	27
Tablo 2.5. Hordenin hakkında özet tablo	39
Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve reaktifler	40
Tablo 3.2. Deneylerde kullanılan cihazlar ve malzemeler	41
Tablo 4.1. Tüm gruplara ait karaciğer dokularının histopatolojik bulgularının skorlanması	65
Tablo 4.2. Karaciğer dokusunda anti-TNF- α ve anti-D2DR antikorlarının immünreaktivitesine ait skor tablosu	66

1. GİRİŞ

Karaciğer protein sentezi, biyotransformasyon, enerji depolama ve detoksifikasyon gibi yaşamsal işlevleri nedeniyle farmakolojik ve çevresel toksinlere karşı oldukça duyarlıdır (Kalra ve ark., 2024; Trefts ve ark., 2017). Parasetamol (asetaminofen) dünyada en popüler ve en sık kullanılan analjezik ve antipiretik ilaçlardan biridir ve hem tek başına hem de kombine preparatlar halinde reçetesiz olarak temin edilebilmektedir (Jaeschke ve ark., 2020). Bu yüzden aynı zamanda tıbbi kullanımdaki en tehlikeli bileşiklerden biridir ve gelişmiş ülkelerde akut karaciğer yetmezliği nedeniyle yüzlerce ölüme neden olmaktadır (Brune ve ark., 2015; Stravitz & Lee, 2019). Tedavi dozlarında güvenli olmasına karşın, yüksek dozları hepatotoksisiteye yol açabilir ve karaciğer transplantasyonu gerekebilir (Li ve ark., 2025).

Parasetamol çoğunlukla sülfat ve glukuronid konjugasyonuna metabolize olur (>%80) ve %2'si de değişmeden idrarla atılır. Parasetamolün %10-15 gibi sınırlı bir bölümü özellikle CYP2E1 tarafından hepatotoksik N-asetil-para-benzokinon imine (NAPQI)'ye dönüştürülür. NAPQI karaciğerde anti-oksidan molekül indirgenmiş glutatyon (GSH) ile konjuge edilerek deaktive edilir ve daha sonra safrayla atılabilir (Chidiac ve ark., 2023). NAPQI, GSH tüketimi ve mitokondride protein eklentileri oluşturarak karaciğer hasarını başlatır. Mitokondriyal oksidatif stres, c-Jun N-terminal kinaz (JNK)'ın mitokondriye geçişini tetikler; fosforile JNK süperoksit üretimiyle protein nitrasyonu, DNA fragmentasyonu ve hepatosit nekrozuna yol açar (Chidiac ve ark., 2023; Hartmut Jaeschke ve ark., 2020).

Toksisite durumunda Nükleer faktör-kappa B (NF-κB) aktivasyonu artar. NF-κB sinyal yolu enfeksiyon, inflamasyon, bağışıklık tepkisi, apoptoz ve tümör gibi patolojik süreçlerde ve hedef gen ekspresyon ürünleri aracılığıyla hücre döngüsü düzenlemesinde ve hücre farklılaşmasında rol oynar. NF-κB'nin çekirdeğe taşınması sonucunda mRNA

seviyesinde tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), interlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) gibi sitokinlerin transkripsiyon artışına yol açar (Cusabio, 2025).

Birçok mekanizma bulunmasına rağmen parasetamolün karaciğer toksisitesinin mekanizması tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Tedavi antidotu N-asetilsistein (NAC), GSH sentezini artırarak depoları yeniler ve mitokondriyal enerji metabolizmasını destekleyerek protein katkı ürünlerinin zararlı etkilerini azaltır (Hartmut Jaeschke ve ark., 2020; Jiang ve ark., 2022). NAC kullanılmasına rağmen bazı hastalarda karaciğer transplantasyonu gerekebilmektedir. Bu nedenle, NAC'a alternatif ya da kombine edilebilecek daha etkili ilaçlara ihtiyaç vardır. Günümüzde çeşitli hastalıklar düşük maliyetli bitkisel ilaçlarla tedavi edilmektedir. Sentetik ilaçların pahalı olması, özellikle gelişmekte olan ülkelerde bitkisel ilaçlara yönelimi artırmaktadır. Doğal kaynaklı biyoaktif bileşiklerin etki mekanizmalarının aydınlatılması hem yeni ilaç moleküllerinin geliştirilmesine hem de alternatif tedavi stratejilerinin oluşmasına katkı sağlayacaktır (Kashyap ve ark., 2018; Ugan ve ark., 2023).

Hordenin kimyasal olarak 4-(2-Dimetilaminoetil)-fenol olarak bilinen semptomimetik ve dopamin agonisti bir alkaloiddir. Kaktüsler ve tahıl fideleri (örneğin arpa, proso darı, mısır ve sorgum gibi) de dahil olmak üzere çok çeşitli bitkilerden ekstrakte edilir, ayrıca bazı algler ve mantarlarda da bulunur. Özellikle çimlendirilmiş arpada yüksek oranda bulunmaktadır. Antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antitümör ve antifibrotik gibi farmakolojik etkilere sahip olduğu literatürdeki çalışmalardan anlaşılmaktadır. İnsan melanositlerinde melanogenezisi cAMP seviyesini azaltarak inhibe ettiği bilinmektedir (Anwar ve ark., 2020; Hahn ve ark., 2022; Kim ve ark., 2013; Shuhao Su ve ark., 2018; Yingchun Su ve ark., 2022; Zhengguang Xu ve ark., 2023; Xiyue Zhang ve ark., 2021).

LPS ile oluşturulan fare modelinde hordeninin akciğer hasarına karşı koruyucu etkisi gösterilmiş, bu etkinin NF- κ B sinyal yolağının baskılanmasına bağlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hordenin tedavisiyle, LPS ile indüklenen IL-6, IL-1 β , TNF- α ve nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonlarının anlamlı şekilde azaldığı raporlanmıştır (X. Zhang ve ark., 2021). Bu bulgular, hordeninin NF- κ B yolunu inhibe ederek proinflamatuvar ajanları azaltmasıyla parasetamol kaynaklı akut karaciğer hasarında da koruyucu olabileceğini düşündürmektedir. Ülseratif kolit modelinde hordeninin IL-6, IL-1 β ve TNF- α ekspresyonunu baskılayarak inflamasyonu azalttığı ve mukozal iyileşmeyi desteklediği bildirilmiştir (Xu ve ark., 2023). Mukozal iyileşmedeki olumlu etkileri, hordeninin karaciğer toksisitesine bağlı doku onarımına da katkı sağlayabilir.

Parasetamol kaynaklı hepatotoksisite çalışmalarında proinflamatuvar faktörlerin arttığı, antioksidan tedavilerle ise azaldığı gösterilmiştir (Palabiyik ve ark., 2016; Uzkeser ve ark., 2012). Literatürde proinflamatuvar sitokinleri düşürdüğü ve antioksidan özelliği gösterilen hordeninin de parasetamol toksisitesinde de bu yararlı etkileri gösterebilir. Parasetamol toksisitesinde karaciğerde özellikle GSH havuzu tükenmektedir. Bunun yanında toksisite sırasında süperoksit dismutaz (SOD) seviyesinin azalıp malondialdehit (MDA) ve reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerinin arttığı bilinmektedir (Palabiyik ve ark., 2016; Uzkeser ve ark., 2012). Streptozotosin ile diyabet indüklenen farelerde yapılan çalışmada hordenin uygulamasıyla reaktif oksijen türleri (ROS) düzeylerinde azalma ve SOD1, SOD2 ile glutatyon peroksidaz 1 (GPx1) ekspresyonlarında artma rapor edilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018). Hordenin de içeren bitkisel ekstraktların karaciğer hasarı modellerinde GSH düzeyini artırabildiği ve antioksidan etki gösterebildiği bilinmektedir (Chen & Li, 2015; Mohd Amir ve ark., 2016; Sabiu Saheed ve ark., 2016). Ancak artıştaki hordenin katkısı burda net değildir. LPS ile indüklenen akut mastitis modelinde GSH düzeylerinin belirgin şekilde azaldığı ve hordenin ile tekrar arttığı bildirilmiştir (Xie ve

ark.,2024). Hordenin etken maddesinin ise SOD, GPx, ROS gibi oksidatif stres parametreleri üzerinde faydalı etkileri gösterilmiş olsa da akut karaciğer hasarı durumunda GSH üzerindeki etkisi doğrudan gösterilmemiştir.

Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), başlıca fibroblast büyüme faktörlerinden biridir (Zhang ve ark., 2008). Diyabetik farelerde hordenin, böbrek dokusundaki TGF- β 1 düzeyini düşürerek fibrozisi azalttığı gösterilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018). Karaciğer hasarında da fibrozisi önlemede hordenin yararlı olabilir.

Deneysel hayvan modellerinde akut karaciğer hasarında dopamin ve bazı agonistlerinin koruyucu etkileri gösterilmiştir (Honghong Zhou ve ark., 2018; Mingan Li ve ark., 2022; Shumin Yue ve ark., 2021). Benzer şekilde hordeninin Concanavalin A (ConA) ile indüklenen immün karaciğer hasarında da faydalı olabileceği çalışılmıştır (Liu ve ark., 2025). Hordenin dopamin agonisti olarak parasetamolle indüklenen akut karaciğer hasarındaki potansiyel faydaları henüz tam olarak belirlenmemiştir. Toksik hasarda hordeninin, DRD2 reseptörlerini aktive ederek dopaminerjik yollar üzerinden doku hasarını azaltabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bir dopamin agonisti olan hordeninin antikanser, antifibrotik, antioksidan ve antiinflamatuvar gibi özellikleri literatürde gösterilmiştir (Anwar ve ark., 2020; Hahn ve ark., 2022; Shuhao Su ve ark., 2018; Yingchun Su ve ark., 2022; Zhengguang Xu ve ark., 2023; Xiyue Zhang ve ark., 2021). Parasetamol kaynaklı akut karaciğer hasarında GSH miktarının azaldığı bilinmekle beraber hordeninin parasetamol kaynaklı karaciğer hasarında GSH üzerindeki etkisi doğrudan bilinmemektedir. Yaptığımız çalışmayla hordeninin parasetamol kaynaklı akut karaciğer hasarında GSH üzerindeki olumlu etkilerini ilk defa göstermeyi amaçlamaktayız. Aynı zamanda hordeninin bir dopamin agonisti olarak parasetamol kaynaklı akut karaciğer hasarında DRD2 reseptörleri üzerinden inflamasyon üzerine etkilerini belirlemeyi amaçlamaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Karaciğer

2.1.1. Karaciğerin Anatomik Yapısı

Karaciğer vücudun merkezi metabolizma organı, en büyük sindirim organı ve ayrıca en büyük bezidir (1200-1800 gr) (Arnold ve ark., 2015). Karaciğer büyük organlardan biridir ve ortalama vücut ağırlığının yaklaşık %2 ila %3'ünü oluşturur. Karaciğerde tipik olarak morfolojik anatomi ve fonksiyonel anatomi olmak üzere iki şekilde tanımlanan 2 lob bulunur (Abdel-Misih & Bloomston, 2010). Karın boşluğunun sağ üst kadranında, sağ hemidiyaframın altında yer alan karaciğer, göğüs kafesi tarafından korunur ve ligamentöz bağlantılar olarak adlandırılan peritoneal yansımalar aracılığıyla konumunu korur. Gerçek bağlar olmamakla birlikte, bu bağlar avaskülerdir ve Glisson kapsülü veya karaciğerin viseral peritonunun eşdeğeri ile devamlılık içindedir (Abdel-Misih & Bloomston, 2010).

Karaciğerin fonksiyonel birimi lobüldür. Her lobül hegzagonaldir ve altıgenin her köşesinde bir portal triad (portal ven, hepatik arter, safra kanalı) bulunur. Lobülün temeli, fizyolojik olarak farklı apikal ve bazolateral membranlara sahip hepatositlerden oluşur. Hepatositler fonksiyon ve perfüzyona göre 3 bölgeye ayrılır. Bölge I, hepatositlerin periportal bölgesi olarak kabul edilir ve oksijenli kan ve besinlere yakınlığı nedeniyle en iyi perfüze edilen ve ilk rejenerasyona uğrayan bölgedir. Yüksek perfüzyonu nedeniyle bölge I, beta-oksidasyon, glukoneogenez, safra oluşumu, kolesterol oluşumu ve amino asit katabolizması gibi oksidatif metabolizmalarda büyük rol oynar. II. Bölge hepatositlerin perisantral bölgesi olarak tanımlanır ve II. Bölge I ve III. Bölgeler arasında yer alır. Bölge III, portal triaddan uzaklığı nedeniyle en düşük perfüzyona sahiptir. Detoksifikasyonda, ilaçların biyotransformasyonunda, ketogenezde, glikolizde,

lipogenezde, glikojen sentezinde ve glutamin oluşumunda en büyük rolü oynamaktadır (Kalra ve ark., 2024).

2.1.2. Karaciğerin Fizyolojik Fonksiyonları

Karaciğerin çok önemli ve yaşam için hayati fonksiyonları vardır. Karaciğerin fonksiyonları özetle şu şekilde sıralanabilir (Kalra ve ark., 2024):

- Metabolizma organı ve glikojen, yağ, amino asit, vitamin, mineral vb. besin maddesi deposu
- İlaç metabolizması
- Detoksifikasyon organı
- Kolesterol ve safra üretimi
- Plazma proteini üretimi (pıhtılaşma faktörleri, albümin, protein C gibi)
- Hormon üretimi
- İmmün savunma
- Eritrositlerin yıkımı (hemoliz) ve ayrıca kan yapımı (fötal dönemde)
- Portal venden (yaklaşık %75) ve hepatik arterden (yaklaşık %25) ikili kan desteği

Safra, böbrekler aracılığıyla atılamayan maddelerin uzaklaştırılmasına ve safra asitleri ile tuzları sayesinde lipidlerin sindirimine ve emilimine katkı sağladığı için önemli bir sıvıdır. Hepatositler tarafından üretilen safra; su, elektrolitler, safra tuzları, safra asitleri, kolesterol, safra pigmentleri, bilirubin ve fosfolipitler gibi bileşenlerden oluşur. Üretildikten sonra safra kanaliküllerine salgılanır, küçük kanallardan daha büyük kanallara ilerleyerek ya doğrudan duodenuma ulaşır ya da Oddi sfinkteri basıncına bağlı olarak safra kesesinde depolanır ve yoğunlaştırılır. Duodenuma salgılandıktan sonra bağırsakta görevini yerine getirir, ardından enterohepatik dolaşıma katılır. Bu süreçte atılmayan safra bileşenleri, bağırsak bakterileri tarafından yeniden safra asitlerine dönüştürülerek ileumdan emilir ve karaciğere geri taşınır (Ahmed, 2022).

Yağda çözünen vitaminlerin çoğu, şilomikronlar veya VLDL formunda bağırsak emilimi yoluyla karaciğere ulaşır. Karaciğer, yağda çözünen vitaminleri depolar ve/veya metabolize eder. A vitamini İto hücrelerinde depolanır. Fototransdüksiyon için retinoik asit tarafından takip edilen retinal oksidasyona uğrayabilir veya retinoik asit safra salgılanması için glukuronide konjuge edilebilmektedir (Blaner ve ark., 2016). D3 vitamini deriden, hayvansal ürünlerden veya bitkisel ürünlerden gelsin, fonksiyonel formuna ulaşmak için böbrekte daha fazla hidroksile edilen hepatik CYP-450 sistemi tarafından 25-hidroksilasyona uğraması gerekmektedir. Hepatik CYP-450 sistemi daha sonra D vitamini etkisiz hale getirmek için karbon 24'ü hidroksile eder (Wikvall, 2001). Karaciğer, alfa ve gama-tokoferol formlarında E vitamini alır. Alfa-tokoferol, karaciğerde VLDL veya HDL ile entegre olur ve daha sonra karaciğer gama-tokoferol formunu atılmak üzere metabolize ederken dolaşıma geri salgılanır (Mah ve ark., 2015). K vitamini karaciğerde depolanmaz veya metabolize edilmez; ancak varlığı, karaciğer enzimi gama-glutamil karboksilazın pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX, X ve protein C ve protein S'nin gama-karboksilasyonu için bu vitamine ihtiyaç duyması nedeniyle önemlidir (Mladěnka ve ark., 2021).

Karaciğerin temel görevlerinden biri, ksenobiyotiklerin metabolizması ve/veya detoksifikasyonudur. Bu süreçte bazı maddeler lizozomlar aracılığıyla elimine edilse de biyotransformasyon asıl yoldur. Karaciğer, ksenobiyotikleri lipofilik yapıdan hidrofilik forma dönüştürmek için iki ana reaksiyon evresi yürütür: Faz I ve Faz II. Bu reaksiyonlar büyük ölçüde hepatositlerin düz endoplazmik retikulum (ER)'unda gerçekleşir. Faz I, sitokrom P450 (CYP450) enzimleri aracılığıyla oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz tepkimeleriyle daha reaktif ara ürünler oluşturur. Faz II'de ise bu metabolitler, glukuronat, glutatyon veya sülfat konjugasyonlarıyla daha hidrofilik hale getirilerek safra ya da kana atılmaya hazır hale gelir. Glukuronidasyon genellikle ER'de, sülfat ve

glutasyon konjugasyonları ise çoğunlukla sitozolde gerçekleşir; glutasyon konjugasyonunun bir kısmı mitokondride de meydana gelir. GSH eksikliği, özellikle parasetamol toksisitesinde olduğu gibi toksik metabolit birikimine neden olabilmektedir. Bazı kaynaklar, bu ürünlerin vücuttan atılmasını Faz III olarak tanımlar. Ayrıca böbrek ve bağırsak gibi organlar da ilaç metabolizmasına katkıda bulunur. Yaş, cinsiyet, ilaç-ilaç etkileşimleri, diyabet, gebelik, karaciğer-böbrek hastalıkları, inflamasyon ve genetik gibi birçok faktör bu süreci etkileyebilmektedir (Almazroo ve ark., 2017).

Karaciğer, hem molekülünün yıkımında merkezi rol oynar. Hemoliz; karaciğer, dalak ve kemik iliği gibi organlarda gerçekleşir. Hem, önce biliverdine, ardından konjuge olmayan bilirubine indirgenir. Karaciğer, albümine bağlı bu bilirubini dolaşımdan alır ve faz II detoksifikasyon yoluyla, uridin difosfat glukuroniltransferaz (UGT) enzimi aracılığıyla glukuronat ile konjüge ederek suda çözünebilen forma dönüştürür. Konjuge bilirubinin büyük kısmı safra kanalcıkları yoluyla safraya salgılanır ve bağırsakta emilmeden dışkı yoluyla atılır. Küçük bir kısmı kana karışabilir ve böbrekler yoluyla atılır. Bir miktar bilirubin ise bağırsak bakterileri tarafından ürobilinojene veya tekrar konjuge olmayan bilirubine dönüştürülerek enterohepatik dolaşıma katılır (Stec ve ark., 2016).

Karaciğerin başka fonksiyonları da mevcuttur. Karaciğer T4'ün T3'e deiyodinasyon yeri olarak tiroit hormonu işlevinde rol oynar. Karaciğer, vücuttaki hemen hemen her plazma proteininin sentezini yönetir ve bazı örnekler arasında albümin, bağlayıcı globulinler, protein C, protein S ve faktör VIII'in yanı sıra intrinsik ve ekstrinsik yolların tüm pıhtılaşma faktörleri bulunur (Kalra ve ark., 2024).

İnsan karaciğerinde var olan hücreler ve işlevleri özet bir şekilde Tablo 2.1’de sunulmuştur (Si-Tayeb ve ark., 2010).

Tablo 2.1. İnsan karaciğerindeki hücreler ve işlevleri

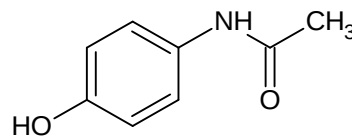
Hücre tipi	Karaciğerdeki yeri	İşlevi
Hepatosit	Parenkima	Karaciğer hücrelerinin yaklaşık %70’i; protein ve safra salgısı, detoksifikasyon, kolesterol, üre ve glikoz metabolizması, akut faz kan pıhtılaşması cevabı
Kolanjiyositler	Safra kanalı epitelleri	Safra kanalının oluşumu Safra akış ve safra pH kontrolü Su ve bikarbonat sekresyonu
Endotelial hücreler	Damar yapısı	Kan akış kontrolü
Karaciğer sinüzoidal endotelial hücreler	Sinüzoidler	Kan dolaşımını kolaylaştırmak için sinüzoidal pleksus oluşturma Serum ve hepatositler arasında molekül ve protein transferine izin verme Makromoleküler atıkların temizlenmesi Sitokin salgılanması Antijen sunumu Kanın pıhtılaşması
Pit hücreleri	Karaciğerin doğal öldürücü hücreleri	Sitotoksik aktivite
Kupffer hücreleri	Sinüzoidler	Yabancı moleküllerin yok edilmesi Sitokin ve proteazların sekresyonu
Hepatik stellat hücreleri	Perisinüzoidal	Hücre dışı matriksin, A vitamininin ve retinoid deposunun bakımı Mikrovasküler tonu kontrol eder Yaralanmaya karşı rejeneratif tepkiye katkıda bulunur Sitokinlerin salgılanması

2.2. Parasetamol

2.2.1. Parasetamol Tarihçesi

Parasetamol (Şekil 2.1) "anilin türevleri" veya "anilin analjezikleri"nin (asetanilid, fenasetin ve parasetamol) neredeyse tek hayatta kalanıdır. Asetanilidin tesadüfen ateş düşürücü aktiviteye sahip olduğu bulunmuş ve hızla antifebrin Cahn ve Hepp adı altında tıbbi uygulamaya sokulmuştur (Brune ve ark., 2015). Hem ağrı kesici hem de ateş düşürücü aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak methemoglobinemiye bağlı siyanoz gibi endişe verici toksik etkileri daha az toksik etkiye sahip anilin türevlerinin araştırılmasına yol açmış ve bir dizi bileşik test edildikten sonra en tatmin edici sonuçların fenasetin (asetofenetidin) ve parasetamol (asetaminofen, N-asetil-p-aminofenol) moleküllerinde olduğu gösterilmiştir (Bertolini ve ark., 2006).

Parasetamol, 1878'de Morse tarafından sentezlenmiştir (Morse, 1878). Fenasetin ve parasetamol, 1887'de von Mering tarafından klinik kullanıma sokulmuştur. Fakat kısa süre sonra fenasetinin daha az toksik olduğu varsayılarak parasetamol, fenasetin lehine terk edilmiştir. Ancak fenasetinin neden olduğu nefrotoksisitenin ortaya çıkmasıyla parasetamol kullanımına yönelim artmıştır (Von Mering, 1893).



Şekil 2.1. Parasetamolün kimyasal yapısı (Kimyasal yapı ChemSketch ACD/Labs programı ile çizildi.)

Brodie ve Axelrod, asetanilid ve fenasetinin analjezik etkisinden sorumlu olan ana metabolitin parasetamol olduğunu, methemoglobininin ise başka bir metabolit olan fenilhidroksilamin tarafından kaynaklandığını göstermiştir (Brodie & Axelrod, 1948). Bu nedenle, parasetamol 1950'lerin ortalarından itibaren yeniden pazarlanmıştır. Hızla

popülerlik kazanmış ve Birleşik Krallık da dahil olmak üzere birçok ülkede parasetamol satışları yaklaşık 1980 yılından beri aspirin satışlarını geçmiştir (Lee, 2017). Buna, "analjezik nefropati", hematolojik toksisite ve kötüye kullanımı gibi psikotropik etkilere neden olduğu iddia edilen fenasetinin ticari sonu eşlik etmiştir (Bertolini ve ark., 2006).

2.2.2. Parasetamol Farmakokinetiği

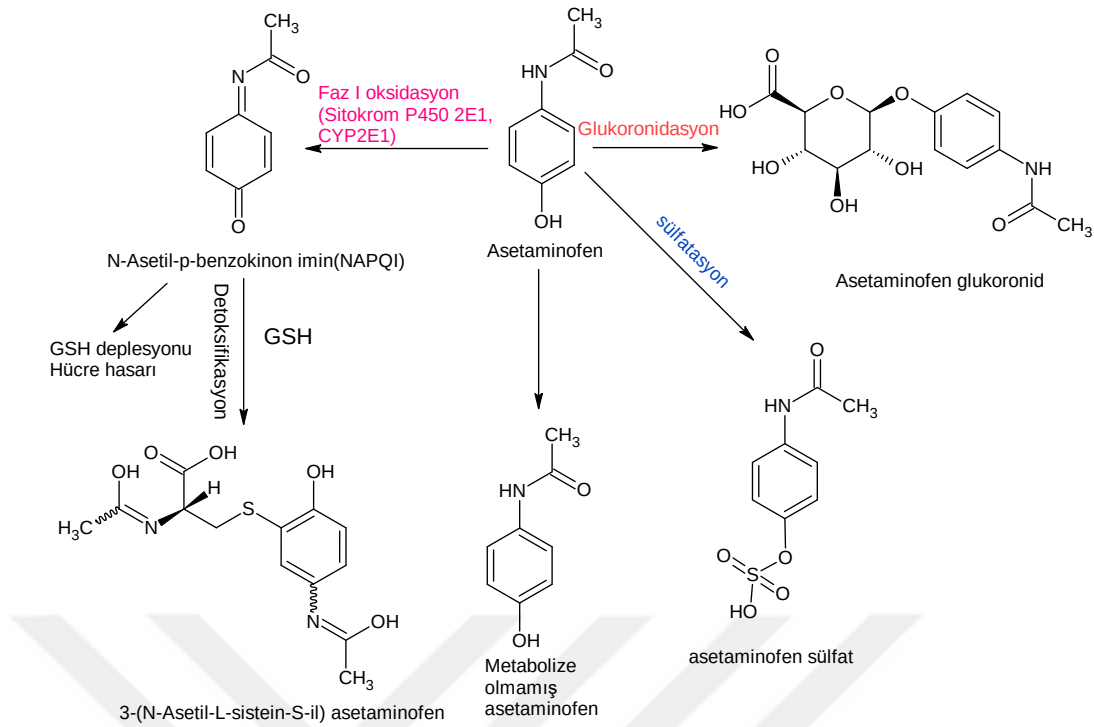
Emilim: Oral asetaminofen gastrointestinal sistemden hızla ve etkili bir şekilde emilir ve 30 ila 60 dakika içinde en yüksek plazma konsantrasyonlarına ulaşır. Asetaminofenin intravenöz (IV) uygulaması anında ve daha yüksek en yüksek plazma konsantrasyonlarına yol açmaktadır. Özellikle bilinçsiz hastalarda ve çocuklarda ilk geçiş metabolizmasını atlatmak için uygulama için rektal yol tercih edilmektedir. Bu yaklaşım, parenteral uygulamaya bir alternatif sunarak mide tahrişini azaltır ve rektumdaki zengin vasküler kaynak nedeniyle etkili emilimi sağlar. Üst rektumdaki emilim, ilaçları üst hemoroidal ven yoluyla portal dolaşıma yönlendirirken, alt rektal emilim doğrudan sistemik dolaşıma girişle sonuçlanır (Mahajan ve ark., 2017).

Dağılım: Parasetamol, uygulamadan sonra hızla gastrointestinal sistemden emilir ve vücuda homojen şekilde dağılır. Dağılım hacmi yetişkin bireylerde yaklaşık 0.9 L/kg düzeyindedir, bu da ilacın vücut sıvılarına ve dokulara iyi derecede dağıldığını gösterir (Forrest ve ark., 1982). Parasetamol, %10 ila %25 arasında düşük plazma protein bağlanması gösterir ve yağ dokusu hariç olmak üzere vücutta yaygın dağılım gösterir (Mazaleuskaya ve ark., 2015).

Metabolizma: Parasetamol başlıca karaciğerde metabolize edilir (Şekil 2.2). Terapötik bir dozdan sonra, parasetamol çoğunlukla farmakolojik olarak inaktif glukuronid (parasetamol-gluk, idrar metabolitlerinin %52-57'si) ve sülfat (parasetamol sülfat, %30-44) konjugatlarına dönüştürülür ve küçük bir kısmı reaktif bir metabolit olan NAPQI'ye (%5-10) oksitlenir. Parasetamolün %5'inden azı değişmeden atılır

(Mazaleuskaya ve ark., 2015). Glukuronidasyon, parasetamol metabolizmasının oluşturan ana yoldur ve karaciğerde UGT1A1, UGT1A6, UGT1A9, UGT2B15 ve bağırsakta UGT1A10 aracılığıyla gerçekleşir. Parasetamol ayrıca metabolizmanın önemli bir kısmını oluşturan sülfatlama yolu sülfotransferazlar SULT1A1, SULT1A3, SULT1A4, SULT1E1 ve SULT2A1 tarafından katalize edilir. Dahası, parasetamol ayrıca CYP3A4, CYP2E1, CYP2D6 CYP1A2, CYP2E1 ve CYP2A6 aracılığıyla toksik NAPQI oluşturmak üzere aktive edilebilir (Wishart DS, 2025). CYP3A4, asetaminofen metabolizmasında sınırlı bir rol oynamaktadır. Bu süreç, NAPQI olarak bilinen reaktif bir ara metabolit oluşturmaktadır. Terapötik dozlarda, NAPQI GSH ile hızla birleşmekte ve daha sonra sistein ve merkaptürik asit konjugatları oluşturmak için daha fazla metabolizmaya uğramaktadır (Li, Hong ve ark., 2023).

Eliminasyon: Parasetamol metabolitlerinin çoğu idrarla atılır ve %5'ten azı konjuge olmayan veya serbest asetaminofen olarak görülür. Verilen dozun %90'ından fazlası 24 saat içinde atılır (Gerriets, 2024).



Şekil 2.2. Parasetamol (asetaminofen) metabolizması yolları. Parasetamol, karaciğerde üç ana yolla metabolize olur: glukuronidasyon, sülfatlama ve Faz I oksidasyon.

CYP2E1 parasetamolün Faz I oksidasyon yolu üzerinden NAPQI'ye biyodönüşümünden sorumlu başlıca enzimdir. Metabolitlerin kimyasal yapıları The Human Metabolome Database (HMDB)'den alınmıştır (<http://hmdb.ca>). Kimyasal yapılar ChemSketch ACD/Labs programı ile çizildi.

2.2.3. Parasetamolün Etki Mekanizması

Parasetamol analjezik ve antipiretik etkisini birden çok merkezi yolak aracılığıyla göstermektedir. Literatürde, parasetamolün prostaglandin sentezini düzenleyen siklooksijenazlar, serotonerjik sistem, endokannabinoid sistemi ve TRPV1 gibi geçitlerinin rol aldığı bildirilmiştir (Sharma ve ark., 2017). Literatür parasetamolün etkisinin siklooksijenaz (COX)-1, COX-2 ve canlılarda tartışılan COX-3 üzerinde kısmi inhibitörlük ile endokannabinoid ve serotonin yolaklarına katılım, ayrıca TRP kanalları, Kv7 potasyum kanalları, Cav3.2 kalsiyum kanalı ve L-arginin–NO yoluna etkiler

içerdiğini göstermektedir (Przybyła ve ark., 2021; Sharma ve ark., 2017). Aşağıda bahsi geçen mekanizmalar (Tablo 2.2) ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

Tablo 2.2. Parasetamolün hedef bölgeleri ve bu bölgelerdeki etkileri

Mekanizma / Hedef	Etkisi / Rolü
COX-2/3 enzimleri	Zayıf COX-2 inhibisyonu; COX-3 insanlarda önemsiz (analjezi ana sebep değil).
Endokannabinoid sistemi (CB1)	AM404, anandamid geri alımını engeller ve CB1 reseptörünü aktive eder (analjezi artırır).
Serotonerjik yollar	Aşağı yönlü serotonin sinyallerini aktive eder (analjezik etki).
TRP kanalları (TRPV1, TRPA1)	AM404 TRPV1'i aktifler; NAPQI TRPA1'i aktifler (analjezi sağlar).
Kv7 potasyum kanalları	Nöronal Kv7 kanallarını aktive ederek ağrı iletimini azaltır.
Cav3.2 kalsiyum kanalları	Cav3.2 kanallarını inhibe ederek nöronal uyarılabilirliği düşürür.
NO yolu	NO sentezini modüle ederek analjeziye katkıda bulunur.
Na_v1.7 ve Na_v1.8 gerilim-bağımlı sodyum kanalları	AM404 çevresel sinir uçlarında doğrudan blokajla analjezik etki oluşturur.

2.2.3.1. COX-1, COX-2 ve COX-3 ile İlişkisi

Parasetamolün COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe ederek araşidonik asitten prostaglandin sentezini engelleyerek analjeziyi indüklediği düşünülmüştür. Ancak, NSAİİ'lerin aksine, asetaminofen COX izoenzimlerinin peroksidaz aktivitesine, ağırlıklı olarak COX-2'ye, çok az klinik etkiyle müdahale ettiği ve büyük ölçüde etkisinin çevresel oksidasyon durumuna bağlı olduğu görülmüştür (Aminoshariae & Khan, 2015; Graham ve ark., 2013). COX-1'in bir ekzon ekleme varyantı olan üçüncü COX izoenzimi COX-3'ün özellikle asetaminofene duyarlı olduğu da bildirilmiştir (Chandrasekharan ve ark., 2002). Ancak yapılan genomik ve kinetik analizler, bu seçici etkileşimin klinik olarak

anlamlı olma ihtimalinin düşük olduğunu göstermektedir (Graham & Scott, 2005). Bu gibi sebeplerden dolayı günümüzde COX inhibisyonunun parasetamol analjezisini açıklayan birincil mekanizma olmadığı kabul edilmektedir (Ohashi & Kohno, 2020).

2.2.3.2. Merkezi Sinir Sistemi Etkileri

Parasetamol esas olarak santral sinir sisteminde etki gösteren bir analjeziktir. Parasetamolün ana metaboliti p-aminofenol hızlıca kan-beyin bariyerini geçer ve beyin dokusunda yağ asidi amid hidrolaz ile N-araşidonoilfenolamin (AM404)'e dönüşür (Ohashi & Kohno, 2020). Oluşan AM404, merkezi sinir sistemindeki ağrı modülasyon yollarını aktive eder. Yapılan bir fMRI çalışmasında, parasetamolün PAG (periaqueductal gray) bölgesinde TRPV1-mGlu5-PLC-DAGL-CB1 işaret zincirini aktive ederek GABA ve glutamat salımını artırdığı ve bu sayede analjezik etki oluşturduğu gösterilmiştir. Başka bir ifadeyle, parasetamol AM404 aracılığıyla beyinde kanabinoid (CB1) ve TRPV1 reseptörlerini aktive ederek ağrı algısını azaltır (Barrière ve ark., 2020). Bu bulgular, parasetamolün etki noktasının sıklıkla beyin kökü ve beyin omurilik tratosu gibi merkezî alanlar olduğunu göstermektedir.

2.2.3.3. Endokannabinoid Sistem

Anandamid insan sinir sisteminde bulunan ve antinosiseptif etkileri kanıtlanmış endojen bir kanabinoiddir. Etkileri bir FAAH benzeri anandamid taşıyıcı (FLAT) tarafından sinaptik yarıktan postsinaptik nörona geri alınmasıyla başlayan iki adımlı bir inaktivasyon süreciyle sonlandırılır (Fu ve ark., 2011). Parasetamolün analjezik etkisinde endokannabinoid sistem kritik bir rol oynar. Parasetamolün beyin içindeki metaboliti AM404, anandamid geri alımını engelleyerek sinaptik aralıkta anandamid konsantrasyonunu artırır. Artan anandamid düzeyi, kanabinoid 1 reseptörlerinin aktivitesini yükselterek analjezi sağlar. Ayrıca yapılan çalışmalar, parasetamol analjezisi için kanabinoid 1 aktivasyonunun ve merkezi serotonerjik yolların birlikte gerekli

olduğunu ortaya koymaktadır (Sharma ve ark., 2017). Özetle, AM404 aracılığıyla endokannabinoid sinyalinin güçlendirilmesi, parasetamolün ağrı kesici etkisine önemli katkı yapmaktadır.

2.2.3.4. Serotonerjik Yollar

Parasetamol analjezi, beyin sapındaki aşağı yönlü serotonin (5-HT) yollarının aktivasyonunu da içermektedir. Yapılan hayvan çalışmalarında parasetamolün analjezi etkisi sadece TRPV1 ve endokannabinoid sistemle sınırlı olmadığı aynı zamanda merkezi ağrı baskısıyla birlikte spinal serotonerjik yolların da (özellikle 5-HT₃ ve 5-HT_{1A} reseptörleri aracılığıyla) rolü olduğu gösterilmiştir (Barrière ve ark., 2013). Parasetamol merkezi ağrı baskı sistemi yollarını uyarak serotonin salınımını artırmakta ve bu şekilde analjeziyi desteklemektedir. Bu mekanizma, parasetamolün opioid benzeri olmadan bile etkili bir analjezik olarak çalışmasını sağlamaktadır.

2.2.3.5. TRP Kanalları (Özellikle TRPV1 ve TRPA1)

Parasetamolün etkisinde, özellikle metaboliti AM404 aracılığıyla Transient Receptor Potential (TRP) kanalları, önemli bir rol oynamaktadır. AM404, TRPV1 (vanilloid-1) kanalını aktive ederek merkezi sinir sisteminde analjezik etki sağlar. Bu aktivasyon, özellikle beyin omurilik tratosunda ağrı sinyallerinin baskılanmasına katkıda bulunur (Przybyła ve ark., 2021). Parasetamolün metabolitleri TRP kanallarını etkileyerek analjezik etki gösterir. AM404 TRPV1 kanalını doğrudan aktive ederek merkezi ağrı modülasyonu yollarında ağrı baskılayıcı etki gösterir (Sharma ve ark., 2017). Öte yandan parasetamolün reaktif ara ürünü NAPQI de geçici reseptör potansiyeli ankrin 1 reseptörlerini (TRPA1) aktive ederek analjezi üretebilir (Gentry ve ark., 2015). Bu iki mekanizma parasetamolün merkezi analjezik etkisini güçlendirir. Özetle, TRPV1 ve TRPA1 gibi geçit kanallarının uyarılması AM404 ve NAPQI aracılığıyla parasetamol analjezisine katkıda bulunmaktadır.

2.2.3.6. Voltaj-kapılı Potasyum (Kv7) ve Kalsiyum (Cav3.2) Kanalları

Parasetamolün reaktif metaboliti NAPQI'nin Kv7 potasyum kanallarını aktive etmesiyle meydana gelen hiperpolarizasyon, ağrı iletiminin engellenmesine katkıda bulunur. Parasetamolün reaktif metaboliti olan NAPQI, sinir hücrelerinde bulunan Kv7 potasyum kanallarını doğrudan aktive eder. Bu aktivasyon, hücre zarında hiperpolarizasyona neden olarak nöronal uyarılabilirliği azaltır ve sonuç olarak ağrı iletimini baskılar (Przybyła ve ark., 2021). Bu etki, 2019 yılında Ray ve arkadaşları tarafından farelerde dorsal kök gangliyonu ve omurilik dorsal boynuzu nöronlarında yapılan deneylerle doğrulanmıştır. Yapılan çalışmada, NAPQI uygulaması sonrası nöronların aksiyon potansiyeli oluşturma sıklığının azaldığı, ancak bu etkinin Kv7 kanal inhibitörü olan XE-991 ile engellenebildiği gösterilmiştir. Bu bulgu, parasetamolün analjezik etkisinin en azından kısmen Kv7 kanal aktivasyonu aracılığıyla gerçekleştiğini desteklemektedir. Ayrıca, inflamatuvar mediatörlerin Kv7 kanallarını inhibe ederek nöronal aşırı uyarılabilirliği artırdığı bilinirken, NAPQI'nin bu inhibisyonu tersine çevirebilme potansiyeli taşıdığı gösterilmiştir. Böylece parasetamol, yalnızca sinirsel iletimi baskılamakla kalmaz, aynı zamanda inflamasyon sonucu bozulan iyon dengesi üzerinde de düzenleyici bir etki gösterebilir (Ray ve ark., 2019). Aynı zamanda parasetamol, T tipi Cav3.2 gerilim-bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe etmektedir. Cav3.2 kanalları, özellikle omuriliğin ağrı iletim devrelerinde rol aldığından, bu inhibitör etki analjeziye katkı yapmaktadır. Supraspinal Cav3.2 kanalları inhibe edildiğinde farelerde parasetamolün antinosiseptif etkisinin kaybolduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, parasetamolün analjezik etkisini aracılık eden AM404 aracılığıyla supraspinal Cav3.2 ve TRPV1 arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. AM404, TRPV1'i aktive edebilir ve Cav3.2'yi zayıf bir şekilde inhibe etmektedir (Kerckhove ve ark., 2014). Sonuç olarak

parasetamol, sinir hücrelerinde Kv7 kanal aktivasyonu ve Cav3.2 kanal inhibisyonu yoluyla iyon akımlarını değiştirerek analjezik etki sağlamaktadır.

2.2.3.7. Nitrik Oksit (NO) Yolu

Parasetamol sinir sistemi analjezisinde spinal NO üretimini azaltarak etkili olurken, periferde düşük doz koşullarda endotelial NO sentezini artırarak hemodinamik dengeye katkıda bulunur. N-substitüsyon veya düşük doz alternatif formlarından biri olan nitroparasetamol adlı bileşik, fare endotoksemi modelinde COX-2 ve iNOS ekspresyonunu azaltarak NO salınımını engeller; böylece antiinflamatuvar etki gösterir (Marshall ve ark., 2006). Parasetamolün sıçan ve insan modellerinde spinal korddaki NO üretimini baskılayarak analjezik etki sağlar. Örneğin, fare spinal kord dilimlerinde parasetamol uygulaması, glutamat etkisiyle artan NO sentezini (arginin → sitrülün dönüşümü) azaltmakta; bu durum analjeziye katkıda bulunmaktadır (Godfrey ve ark., 2007). İnsanlarda yapılan bir çalışmada, yüksek tek doz parasetamol alımı sonucunda düşen prostasiklin (PGI₂) üretimine karşılık, kan basıncının dengelenmesi ve damar genişlemesi için NO artışı devreye girdiği gözlenmiştir (Trettin ve ark., 2014).

2.2.3.8. Diğer Bulunan Mekanizmalar

Son yıllarda, parasetamol analjezisine katkıda bulunan yeni mekanizmalar da keşfedilmiştir. Örneğin çok yakın tarihli bir çalışma, parasetamolün etkisinden türeyen AM404'ün çevresel sinir uçlarındaki Na_v1.7 ve Na_v1.8 gerilim-bağımlı sodyum kanallarını doğrudan bloke ederek analjezik etki oluşturduğunu göstermiştir (Maatuf ve ark., 2025). Bu bulgu, parasetamol analjezi mekanizmalarına periferik bileşenler de eklemiştir.

2.2.4. Parasetamolün Klinik Kullanımı

Parasetamol analjezik veya antipiretik amacıyla tercih edilir; özellikle aspirine duyarlılığı olan hastalarda önemli bir alternatiftir. Genel olarak kullanılan oral dozu 4-6

saat arayla 325-650 mg'dır. Erişkinlerde maksimum günlük doz ise 4000 mg'dır. Alkoliklerde maksimum doz 2000 mg'ı aşmamalıdır. Analjezik etkisi genellikle 6 saatten uzun sürmemektedir. Çocuklarda parasetamol dozu yaşa bağlı farmakokinetik farklılıklar ve rektal yolla kullanılan formların değişken biyoyararlanımı nedeniyle daha zor belirlenir. Ancak genellikle oral yolla 10 mg/kg dozda 4 saatte bir, toplamda 60 mg/kg/gün olacak şekilde uygulama, istenilen analjezik veya antipiretik etkinin sağlanması için yeterli olmaktadır (Randa Hilal-Dandan, 2017).

Parasetamolün (asetaminofen) en önemli avantajlarından biri, oral, intravenöz ve rektal yollarla uygulanabilir olmasıdır. Rektal uygulama, aktif maddenin yavaş ve düzensiz emilimi nedeniyle oral uygulamadan farklılık gösterir. Terapötik konsantrasyonlarda, parasetamolün farmakokinetiği doğrusaldır; yani dozdan bağımsızdır ve tekrarlayan uygulamalarda sabit kalır. Parasetamolün etkinliği hem akut hem de kronik ağrılı sendromlarda geniş bir yelpazede kanıtlanmıştır. Efervesan tabletler, ilacın emilimini ve etki başlangıcını konvansiyonel tabletlerden daha hızlı hale getirir. Bununla birlikte, parasetamolün serum konsantrasyonu ile analjezik veya antipiretik etkisi arasında doğrudan bir ilişki yoktur. Parasetamol, yaşlı bireyler veya kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda tercih edilen opioid dışı analjeziktir. Bu hastalarda ilaç klirensi azalmış olsa bile, genellikle doz azaltımına gerek duyulmaz. Kronik, selim (iyi huylu) karaciğer hastalıklarında parasetamolün biyoyararlanımı bozulmaz; ancak karaciğer yetmezliği olan bireylerde kullanımı kontrendikedir. Parasetamol, gebelik ve emzirme döneminde güvenle kullanılabilir. Plazma proteinlerine bağlanma düzeyinin çok düşük olması ve karaciğerde başlıca glukuronid ve sülfat konjugasyonlarıyla metabolize edilmesi, ilaç etkileşimlerinin düşük olmasını sağlamaktadır. Parasetamol, geleneksel non-steroidal antiinflatuvar ilaçlara (NSAID) eklendiğinde analjezik etkiyi

artırabilmekte ya da daha düşük NSAID dozlarıyla benzer etkinlik sağlanmasına yardımcı olabilmektedir (Bannwarth & Péhourcq, 2003).

2.2.5. Yan Etkiler

Asetaminofenin oral veya rektal uygulanmasıyla ilişkili yaygın yan etkiler arasında deri döküntüsü, aşırı duyarlılık reaksiyonları, kan üre azotu (BUN) ve kreatinin yükselmeleriyle karakterize nefrotoksisite ve anemi, lökopeni, nötropeni ve pansitopeni gibi hematolojik anormallikler yer alabilmektedir. Ek olarak, azalmış serum bikarbonat, azalmış sodyum ve kalsiyum konsantrasyonları, hiperamonyemi, hiperkloremi, hiperürisemi, artmış serum glikozu ve yükselmiş bilirubin ve alkalın fosfataz seviyeleri gibi metabolik ve elektrolit dengesizliklere neden olabilmektedir. Asetaminofenin IV uygulanmasıyla ilişkili ek yan etkiler arasında bulantı, kusma, kabızlık, kaşıntı ve karın ağrısı bulunmaktadır (Gerriets V, 2024).

Uzun süre kullanıldığında analjezik nefropatisi yapma olasılığını artırır (Kayaalp, 2012). Nadir görülen ancak ciddi yan etkiler arasında aşırı duyarlılık, anafilaktik reaksiyonlar ve şiddetli ve ölümcül cilt reaksiyonları bulunur. Bunlara toksik epidermal nekroliz, akut yaygın ekzantematöz püstüloz ve Stevens-Johnson sendromu dahildir (Popiołek ve ark., 2019). Ek olarak, asetaminofen nedeniyle ilaç kaynaklı akciğer hasarı sonucu oluşan nadir bir pnömoni vakası bildirilmiştir (Fujii & Kenzaka, 2022).

2.3. Parasetamol Hepatotoksitesisi

Parasetamol, terapötik dozlarda oldukça güvenli kabul edilmesine rağmen, aşırı doz alımı durumunda ciddi karaciğer toksisitesine yol açabilen önemli bir farmakolojik ajandır. Parasetamol ile ilişkili karaciğer hasarı günümüzde gelişmiş ülkelerde akut karaciğer yetmezliğinin en yaygın nedenlerinden biri olarak bildirilmektedir (Li ve ark., 2025). Aşağıda Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarının ayrıntılı olarak tanımlanan patofizyolojik mekanizmaları sunulmuştur (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarının patofizyolojik mekanizmaları

Mekanizma	Açıklama	Temel Moleküler/Selüler Etkiler
1. Toksik Metabolit (NAPQI) Oluşumu ve GSH Tükenmesi	Yüksek doz parasetamol, NAPQI adlı toksik bir metabolit üretir.	GSH tükenmesi, NAPQI-protein bağlanması, JNK aktivasyonu, DNA hasarı, hücre nekrozu
2. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Oksidatif Stres	NAPQI, mitokondriye bağlanarak fonksiyonunu bozar ve ROS üretimini artırır.	ASK1/JNK aktivasyonu, MPTP açılması, ATP sentezi azalması, ROS döngüsü, hücre ölümü
3. Mikrovasküler Hasar	Sinüzoidal endotel hücrelerinin (LSEC) erken hasarı, mikrosirkülasyon bozukluğu	LSEC şişmesi, hipoksi, hiyalüronik asit düzeylerinde artış, FSA bozukluğu
4. ER Stresi	NAPQI, ER proteinlerine bağlanarak protein katlanmasını bozar.	PERK, IRE1, ATF6 aktivasyonu; UPR yanıtı, devam eden stres durumunda CHOP aracılı apoptoz
5. DNA Hasarı ve Alternatif Hücre Ölüm Yolları	Mitokondri yıkımı sonrası DNA hasarı oluşur; alternatif hücre ölümü yolları aktive olur.	Nekroz, apoptoz, ferroptozis, piroptozis, nekroptozis gibi yolların katılımı
6. Steril İnflamasyon ve İmmün Yanıt	Hücre hasarı sonrası salınan DAMP'ler immün sistemi aktive eder.	Kupffer hücre ve nötrofil aktivasyonu, TNF- α , IL-1 β artışı, inflamasyon ve progresif hasar

2.3.1. Toksik Metabolit (NAPQI) Oluşumu ve GSH Tükenmesi

Normal koşullarda parasetamolün büyük bölümü faz II konjugasyon reaksiyonları (glukuronidasyon ve sülfatlama) yoluyla metabolize edilir ve non-toksik metabolitler şeklinde vücuttan atılır. Ancak yüksek doz alımı sonrasında bu yollar doygunluğa ulaşır ve parasetamol, faz I enzim sistemi olan sitokrom P450 (özellikle CYP2E1 ve CYP1A2) aracılığıyla reaktif ve toksik bir metabolit olan NAPQI'ye dönüştürülür (Mazaleuskaya ve ark., 2015).

NAPQI, hücredeki GSH rezervleri ile detoksifiye edilerek etkisiz hâle getirilir (Cai ve ark., 2022; Chidiac ve ark., 2023). Parasetamol doz aşımından sonra oluşan NAPQI'nin hücresel GSH ile reaksiyonu, karaciğerdeki NAPQI-protein eklentilerinin tespit edilebildiği 30 dakika içinde hızlı bir şekilde tükenmesine neden olur. Mitokondriyal proteinlerle NAPQI reaksiyonu, elektron taşıma zinciriyle etkileşim

yoluyla hafif oksidan stresin eşlik ettiği mitokondriyal protein eklentilerinin hızlı bir şekilde yükselmesine neden olur. Bu durum 1 saat içinde sitozolde mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz JNK'yı aktive eder ve ardından 2 saat içinde mitokondriye translokasyonunu sağlar. Süperoksitin NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit üretmesi ile mitokondriyal oksidan stresin artması, mitokondriyal geçirgenlik geçişinin indüklenmesi ve endonükleaz G ve Apoptozu indükleyen faktörün (AIF) sitozole salınması ile sonuçlanır. Parasetamolden 6 saat sonra, bu DNA ile ve lipitlerle kovalent bağlar kurarak addukt proteinler çekirdeğe yer değiştirerek DNA parçalanmasını ve ardından hücre nekrozunu indükler (Ramachandran & Jaeschke, 2019).

2.3.2. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Oksidatif Stres

Mitokondriyal oksidatif/nitrozatif stres ve işlev bozukluğu. Mitokondrilerdeki aşırı NAPQI, ATP sentaz, GSH sentaz ve oksidatif solunum zinciri enzimleriyle birleşerek protein adüktleri oluşturur ve bu da daha sonra mitokondriyal işlev bozukluğuna ve oksidatif strese yol açar. NAPQI-ATP sentaz, ATP sentezini engeller ve kademeli olarak mitokondriyal geçirgenlik gözeneklerinin (MPTP) açılmasını tetikler. MPT gözeneklerinin anormalliği, ATP sentezinin inhibisyonuyla daha da kötüleşir. NAPQI-GSH sentaz, GSH sentezini azaltır, NAPQI atılımını zayıflatır ve ROS oluşumunu başlatır. ROS, antioksidan enzim sistemi tarafından ortadan kaldırılabilir, ancak aşırı ROS, peroksinitrit oluşturmak için serbest NO ile birleşerek mitokondriyal DNA hasarına neden olur (Cai ve ark., 2022).

NAPQI'nin mitokondri proteinlerine bağlanması sonucunda, mitokondrilerin enerji üretimi, kalsiyum dengesi ve hücre içi redoks homeostazisi bozular. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, ROS' ların aşırı üretimine neden olur. Bu oksidatif stres, hücre içi sinyal yollarından ASK1 (Apoptosis Signal-regulating Kinase 1) ve JNK aktivasyonunu tetikler. JNK'nin mitokondriye translokasyonu, mitokondriyal geçirgenlik

geçidi (MPTP)'nin açılmasına ve ATP üretiminin durmasına yol açar. Enerji yetersizliği sonucu hücre, nekrotik hücre ölümü sürecine girer. Bu süreçte hücre içi bileşenlerin dış ortama salınması, immün sistemin yanıtını tetikleyerek inflamasyonun başlamasına zemin hazırlar (Li ve ark., 2025).

JNK'nin aktivasyonu, mitokondriyal oksidatif stresi sürekli olarak artırarak bir kapalı aktivasyon döngüsü oluşturur. Bu sinyal yolunun yukarı akışında yer alan ilk kinaz molekülü, JNK'nin geç aktivasyonunu büyük ölçüde düzenleyen ASK1'dir. Sitoplazmada, ASK1 oksidatif stres olmayan koşullarda tiyoredoksin ile kompleks oluşturarak inaktif halde bulunur. Mitokondride oksidatif stres oluştuğunda, mitokondriyal ROS sitoplazmaya salınır; bu da ASK1'in kompleksinden ayrılmasına ve aktif hale geçmesine yol açar. Aktifleşen ASK1, MAP kinaz kinaz 4/7 (MKK4/7)'yi fosforile ederek JNK'nin aktivasyonunu başlatır. JNK'nin fosforilasyonu sonrası, mitokondriye hızlı translokasyonu gerçekleşir ve mitokondri dış zarında yer alan Sab proteini ile bağ kurar. Bu olaylar zinciri sonucunda mitokondriyal solunum zinciri (MRC) bozulur ve ROS salınımı gerçekleşir. Bu patolojik değişimler, JNK sinyal yolunun aktivasyonunu tetikler ve ROS üretimini başlatır. Ardından, ROS tekrar JNK yoluna etki ederek, ROS-JNK arasında kendi kendini sürdüren bir döngü oluşturur (Win ve ark., 2016). Bu süreçte, P53 proteini, hücresel stres yanıtına karşı aktive olan bir tümör baskılayıcı proteindir. P53; glikoliz ve oksidatif fosforilasyonu düzenleyerek ROS üretimini sınırlar, hücre hayatta kalımını ve DNA onarımını destekler (Kruiswijk ve ark., 2015).

JNK'ye ek olarak parasetamol kaynaklı karaciğer hasarı sürecinde P38 ve ERK gibi birçok telafi edici sinyal yolunun da aktive olduğu gösterilmiştir. MAPK ailesine ait bu iki üyeden P38 ve ERK, hücre proliferasyonu, göçü ve ölümü gibi birçok hücresel işlevde rol oynamaktadır (Zhang ve ark., 2017). Benzer şekilde, önceki çalışmalar ERK

aktivasyonunun oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz olayları ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Liu ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2017).

Parasetamol aşırı doz alımı, hücre içi sinyal yolları ERK/JNK MAPK ve NF- κ B sinyal yollarını MAPK ve NF- κ B'yi aktive ederek ROS aracılı hepatosit ölümüne neden olabilir. NF- κ B, inflamatuvar yanıtları düzenleyen önemli bir transkripsiyon faktörüdür ve aktive olduğunda çekirdeğe geçerek proinflamatuvar genlerin ifadesini artırır. Çalışmalar, parasetamolün karaciğerde MyD88 ve NF- κ B'nin artışıyla inflamasyonu başlattığını göstermiştir. Ayrıca, MAPK aracılığıyla NF- κ B aktivasyonu, ilaç kaynaklı karaciğer hasarı modellerinde proinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırmaktadır (Liu ve ark., 2020). Toksikite durumunda NF- κ B aktivasyonu artar. NF- κ B yolunun işlevi genel olarak, NF- κ B sinyal yolu enfeksiyon, inflamasyon, bağışıklık tepkisi, apoptoz ve tümör gibi patolojik süreçlerde ve hedef gen ekspresyon ürünleri aracılığıyla hücre döngüsü düzenlemesinde ve hücre farklılaşmasında rol oynar. Adaptör proteinler, I κ B'yi fosforile eden ve parçalayan IKK kompleksini işe alır ve NF- κ B'nin çekirdeğe taşınmasını sağlar. NF- κ B sinyalleşmesinin düzensizliği, iltihaplı ve otoimmün hastalıklara ve kansere yol açabilmektedir. NF- κ B çekirdeğe taşındığında, hedef gen promotörü veya güçlendirici üzerindeki NF- κ B'ye bağlanır ve birçok faktörün transkripsiyonunu başlatmaktadır. Bu faktörler arasında özellikle çalışmamızda mRNA seviyesinde ölçtüğümüz sitokinlerden TNF- α , IL-1 β , IL-6 sitokinlerinin transkripsiyonun artışına yol açmaktadır (Cusabio, 2025).

2.3.3. Mikrovasküler Düzeyde Gelişen Hasarlar

Parasetamol toksisitesinde, karaciğerdeki sinüzoidal endotel hücreleri (LSECs) erken dönemde hasar görür ve bu durum hepatosit hasarından önce gerçekleşir. LSEC'lerde şişme, gözenek oluşumu ve sinüzoidal çökme gibi yapısal bozulmalar dolaşımı olumsuz etkileyerek hipoksiye neden olur. Ayrıca, hiyalüronik asit (HA)

düzeylerindeki artış ve FSA reseptör fonksiyonlarındaki bozulma, LSEC disfonksiyonunu gösteren biyobelirteçlerdir. Bu bulgular, parasetamole bağlı karaciğer hasarında mikrosirkülasyonu bozuklukların önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (Li ve ark., 2025).

2.3.4. ER Stresi

NAPQI, glutatyon S-transferaz, protein disülfid izomeras ve kalretikülin gibi çeşitli mikrozomal proteinlere kovalent olarak bağlanabilir. Protein disülfid izomeras ve kalretikülin, ER içinde protein katlanması ve kalsiyum şelasyonu gibi önemli görevler üstlendiğinden, NAPQI'nin bu proteinlere kovalent bağlanması ER stresini tetikleyebilir (Henderson ve ark., 2000). ER proteinlerin katlanması, birleştirilmesi, taşınması, post-translasyonel düzenlenmesi, salgılanması ve membran proteinlerinin kalite kontrolü, lipid sentezi ve hücre içi kalsiyum dengesinin düzenlenmesi gibi birçok hücresel süreçte hayati bir rol oynar. Hücresel redoks dengesindeki değişiklikler, oksidatif stres, kalsiyum dengesi bozukluğu, hipoksi veya enerji yetersizliği gibi uyarıcılar ER fonksiyonunu bozabilir ve bunun sonucunda ER içinde katlanmamış proteinlerin birikmesine yol açarak ER stresine neden olabilir. ER strese karşı katlanmamış protein yanıtı (UPR) olarak bilinen karmaşık bir dizi olayla tepki verebilir. UPR, ER zarında bulunan transmembran proteinlerinin aktivasyonu gibi bir dizi sinyal yollarını içeren olaylardan oluşur (Hetz & Papa, 2018). ER stresi oluştuğunda hücre, bu durumu dengelemek için UPR savunma mekanizmasını başlatır. Bu yanıt, üç ana sensör proteinin (PERK, IRE1 ve ATF6) aktivasyonu ile gerçekleşir: (1) PERK, protein sentezini azaltarak hücreyi korur ve ATF4'ün üretimini artırarak şaperonlar ve metabolik düzenleyicilerin sentezini destekler. (2) IRE1, XBP1 mRNA'sını keserek aktif bir transkripsiyon faktörü oluşturur; bu faktör ER proteinlerini düzenleyen genlerin ifadesini artırır. (3) ATF6, Golgi'de aktive edilerek protein katlanması ve bozulmuş proteinlerin yıkımıyla ilgili genleri uyarır. Bu süreç,

ER'deki yükü azaltarak homeostazı sağlar. Ancak stres devam ederse, UPR sistemi CHOP adlı faktör aracılığıyla apoptozu tetikler. Böylece UPR hem hücreyi koruyan hem de son çare olarak hücre ölümünü başlatan bir yanıt sistemidir (Foufelle & Fromenty, 2016).

2.3.5. DNA Hasarı ve Alternatif Hücre Ölüm Yolları

Mitokondriyal yıkım, endonükleaz enzimi aktivasyonu ile nükleer ve mitokondriyal DNA hasarına neden olur. Bu hasarlar sadece klasik nekroz ve apoptozla sınırlı kalmayıp, son yıllarda tanımlanan ferroptozis (demir bağımlı lipid peroksidasyon yoluyla hücre ölümü), piroptozis (inflamasyonla ilişkili kaspaz aktivasyonuna bağlı hücre ölümü) ve nekroptozis gibi alternatif ölüm mekanizmalarının da toksisite sürecinde rol oynadığı düşünülmektedir (Jaeschke ve ark., 2019).

2.3.6. Steril İnflamasyon ve İmmün Yanıt

Hasar gören hepatositlerden salıverilen hücre içi bileşenler (örneğin DAMPs – Damage-Associated Molecular Patterns), karaciğerde bulunan Kupffer hücrelerini ve nötrofilleri aktive etmektedir. Bu durum, inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β vb.) salınımına yol açmaktadır. Steril inflamasyon adı verilen bu süreç, karaciğer hasarını başlangıçtaki kimyasal toksisiteden bağımsız olarak daha da şiddetlendirmektedir. İmmün hücrelerin aşırı aktivasyonu hepatosit nekrozunu artırarak parasetamol kaynaklı karaciğer hasarının progresyonunu desteklemektedir (Li ve ark., 2025).

Yukarıda açıklanan patofizyolojik süreçler, parasetamolün toksik dozda alımının neden karaciğerde ciddi ve bazen geri dönüşümsüz hasara yol açtığını net şekilde ortaya koymaktadır. Bu süreçte hem biyotransformasyon yollarının (özellikle CYP2E1 aktivitesi ve GSH durumu) hem de mitokondriyal stabilitenin korunması hayati önemdedir. Bu mekanizmaların anlaşılması, NAC gibi antidotların kullanımını bilimsel olarak desteklemekte ve hepatoprotektif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine olanak tanımaktadır.

2.4. Tedavi Yaklaşımları

Parasetamol zehirlenmesinin birincil tedavisi karaciğere verdiği hasarı en aza indirebilen spesifik detoksifiye edici ilaç NAC'ın kullanımıdır. Ek olarak, karaciğer nakli akut karaciğer hasarı oluşan hastalar için düşünülebilecek bir seçenektir. Ancak, NAC klinik uygulamada bazı olumsuz etkilere neden olabilir ve ilaç direnci sorunu vardır (Li ve ark., 2025). Bu nedenle, terapötik etkinliği iyileştirmek için yeni ilaçlar geliştirmeye ihtiyaç vardır.

Parasetamol toksisitesi için olası terapötik hedefler aşağıda özetlenmiştir (Tablo 2.4) (Li ve ark., 2025).

Tablo 2.4. Parasetamol kaynaklı karaciğer hasarında tedavi stratejileri-karşılaştırmalı tablo.

Strateji	Mekanizma	Avantaj	Dezavantaj
NAC (IV/Oral)	GSH prekürsörü, toksik NAPQI detoksifikasyonu	Standart, etkili antitot; FDA onaylı	Yan etkiler, geç başvuran vakalarda etkisiz
4-Metilpirazol	CYP2E1 inhibitörü → NAPQI azalması	NAC ile sinerjik etki	Deneysel, klinik veriler sınırlı
Nrf2 indüktörleri & Otofaji	Antioksidan savunma, otofaji aracılığıyla hasarı azaltma	Bitkisel kökenli, düşük yan etki	Klinik uygulama yaygın değil, deneysel düzeyde
Rejenerasyon destekleyicileri	Mikrovasküler onarım, hücresele rejenerasyon	Doğal iyileşme sürecinin desteklenmesi	HCV riski, kanser potansiyeli ihtimali
Karaciğer nakli	Hasarlı karaciğerin değiştirilmesi	Şiddetli ALF için tek kesin çözüm	Kısıtlı donör, maliyet, immünsüpresyon, psikososyal zorluklar

2.4.1. NAC

NAC parasetamol doz aşımını tedavi etmek ve mukolitik bir bileşik olarak yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. İyi belirlenmiş bir güvenlik profiline sahiptir ve toksisitesi nadirdir ve uygulama yoluna ve yüksek dozajlara bağlıdır. Dikkat çekici antioksidan ve antiinflatuar kapasitesi, oksidatif stres ve inflamasyonla ilişkili çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılan biyokimyasal temeldir. NAC'nin bir antioksidan olarak

birincil rolü, hücrel redoks dengesinden sorumlu en önemli biyotiyol olan GSH'ın hücre içi konsantrasyonunu artırma yeteneğinden kaynaklanır (Tenório ve ark., 2021). NAC, 1970'lerden beri asetaminofen zehirlenmesinin tedavisinde kullanılmaktadır (Prescott, 1983). İlgili NAC mekanizmaları, karaciğerdeki GSH düzeylerini artırmaktan, keratin-18 ve dolaşımdaki kaspazla bölünmüş sitokeratin-18 gibi parasetamol toksisitesine özgü biyobelirteçleri azaltmaya kadar uzanmaktadır (Ntamo ve ark., 2021).

NAC çeşitli mekanizmalar yoluyla farmakolojik etkiler gösteren bir moleküldür. En önemli etki mekanizmalarından biri antioksidan özellikleridir. NAC, bazı oksidan türlerine (örneğin NO_2 ve HOX) karşı doğrudan antioksidan olarak işlev görebilir. Bunun yanı sıra, hücre içi sistein düzeylerini artırarak dolaylı yoldan GSH sentezini destekler. GSH, hücrel oksidatif metabolizmanın düzenlenmesinde ve birçok hücrel savunma mekanizmasında kritik rol oynayan bir antioksidandır. NAC aynı zamanda şelatlayıcı özelliklere sahiptir. Geçiş metalleri ve ağır metal iyonlarıyla kompleks oluşturarak bu maddelerin vücuttan atılmasını kolaylaştırır. Ayrıca, sistemik tiyol havuzlarını ve proteinlerin indirgenmiş sülfhidril gruplarını yenileyerek hücrelerdeki redoks dengesinin korunmasına katkıda bulunur. Antiinflamatuvar etkisi de önemli bir özelliğidir. NAC, NF- κ B yollarını baskılayarak TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltır. Böylece inflamatuvar yanıtları sınırlandırır. NAC'nin bir diğer önemli özelliği ise disülfid bağlarını kırma kapasitesidir. Bu özelliği sayesinde mukolitik etki gösterir; mukustaki yüksek molekül ağırlıklı glikoproteinlerin disülfid köprülerini kırarak mukusun viskozitesini azaltır ve solunum yollarında sekresyonun daha kolay atılmasını sağlar. Tüm bu etkiler NAC'nin, antioksidan, antiinflamatuvar, detoksifiye edici ve mukolitik özellikleriyle birçok klinik durumda geniş bir kullanım alanına sahip olmasını sağlamaktadır. NAC; oral, intravenöz ve inhalasyon gibi çeşitli yollarla uygulanabilmektedir (Aldini ve ark., 2018; Tenório ve ark., 2021).

NAC glutatyon sentezinde hız kısıtlayıcı faktör olan sisteini yerine koyarak glutatyon seviyelerini yeniler. Bu durum, toksik bir metabolit olan NAPQI'nin detoksifikasyonunu sağlar ve çoğu vakada hepatotoksisiteyi önler. NAC, parasetamol alımından sonraki ilk 8 saat içinde verildiğinde hepatotoksisite gelişme riski belirgin şekilde azalır (Chidiac ve ark., 2023). Yüksek doz NAC ile ilişkili en yaygın yan etkiler gastrointestinal yakınmalar, döküntü, bronkospazm ve taşikardidir (Schmidt & Dalhoff, 2001).

2.4.2. CYP450 İnhibitörleri

4-Metilpirazol (fomepizol) gibi ajanlar, CYP2E1 aktivitesini engelleyerek NAPQI oluşumunu azaltır ve NAC ile kullanıldığında hepatoprotektif etkiyi artırabilir (Akakpo ve ark., 2021; Akakpo ve ark., 2023). İnsan hepatositlerinde, fomepizol, parasetamol uygulamasından 18 saat sonra tedavi edildiğinde, hücre ölümünü önlemede NAC'tan daha yüksek etkinlik göstermiştir. Bu nedenle, daha geniş bir tedavi süresi penceresi sunması ve iyileşme süreci üzerinde olumsuz bir etkisinin bulunmaması nedeniyle, en azından preklinik modellerde fomepizolün parasetamol doz aşımına karşı NAC'tan daha üstün bir antidot olduğu görülmektedir (Akakpo ve ark., 2021).

2.4.3. Otofaji Aktivasyonu ve Nrf2 Yolu

Parasetamol nedeniyle oluşan karaciğer hücresi ölümü, hasar görmüş mitokondri ve ATP tükenmesi gibi nedenlerle ortaya çıkmaktadır. Otofaji, bu hasarlı mitokondrileri ortadan kaldırarak ve hücreye enerji sağlayarak parasetamol kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruyucu bir mekanizma olarak önem kazanır. Farelerde yapılan çalışmalar, parasetamol tedavisinin karaciğerin belirli bölgelerinde otofagozom sayısını artırdığını göstermiştir. Otofajinin özellikle nekrotik alanlara yakın bölgelerde artması, nekrozun yayılmasını sınırlandıran bir savunma işlevi görebilir. Ayrıca, adiponektin gibi bazı moleküller otofajiyi aktive ederek parasetamolün zararlarına karşı koruma sağlar.

Parasetamol hücrelerde mTOR aktivitesini baskılayarak AMPK-ULK1 yolunu etkinleştirir ve otofajiyi tetikler. Otofaji indükleyicileri karaciğeri korurken, otofaji engelleyicileri parasetamole bağlı hasarı artırır. Ancak, otofaji bozukluğu olan genetik modellerde sonuçlar karışık olabilmektedir. Genel olarak, mitofaji ve protein adduktlarının temizlenmesi parasetamol kaynaklı karaciğer hasarını azaltmada kritik rol oynamaktadır (Chao ve ark., 2018).

Nrf2 yolu, parasetamol kaynaklı karaciğer hasarında önemli bir rol oynadığı kabul edilmekte ve Nrf2 sinyal yolunun aktive edilmesi, parasetamol hepatotoksitesinin hafifletilmesi için potansiyel bir hedef olarak görülmektedir. parasetamol tarafından üretilen ara metabolit NAPQI, GSH tükenmesine ve ROS'ların oluşumuna katkıda bulunmakta; bu durum oksidatif strese yol açarak mitokondriyal disfonksiyon, hepatosit nekrozu ve karaciğer hasarına neden olmaktadır (Jaeschke & Ramachandran, 2024). Nrf2/ARE yolu, bu sürece yanıt veren başlıca nükleer transkripsiyon faktörü mekanizmalarından biridir ve faz II detoksifikasyon enzimlerini aktive etmektedir. Nrf2, antioksidan enzimleri uyararak toksik metabolit NAPQI'nin detoksifikasyonunda önemli rol oynamaktadır. Nrf2/ARE eksenini, GSH sentezini artırarak antioksidan savunmayı güçlendirmektedir (Wang ve ark., 2019).

2.4.4. Karaciğer Onarımı ve Rejenerasyon

Karaciğer rejenerasyonu, hepatosit ölümü ve doku hasarına karşı kompanse edici ve faydalı bir süreçtir; bu sürecin uyarılması, parasetamol kaynaklı karaciğer toksisitesini kontrol etmek için potansiyel bir tedavi stratejisi olabilir (Yan ve ark., 2018). Parasetamol hepatotoksitesinde doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin rolü tartışmalı olsa da kanıtlar bu hücrelerin karaciğer onarımında kritik olduğunu vurgulamaktadır. Nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık hücreleri, parasetamol doz aşımından sonra ağırlıklı olarak nekrotik bölgelerde bulunur; özellikle karaciğere nötrofil infiltrasyonu, akut karaciğer

hasarına karşı doğuştan gelen bağışıklık yanıtının önemli bir adımıdır ve parasetamol doz aşımından sonra iyileşme süreci için kritik öneme sahiptir (Calvente ve ark., 2019). Ayrıca, plateletler de parasetamol kaynaklı karaciğer hasarının seyrinde önemli bir rol oynar; platelet sayısındaki azalma karaciğer hasarını bir dereceye kadar azaltabilir. Plateletlerde bulunan C-tipi lektin benzeri reseptör 2 (CLEC-2), platelet aktivasyonunun ana araçlarından ve bu reseptörler aracılığıyla platelet sinyalinin ortadan kaldırılması, TNF- α bağımlı nötrofil karaciğer toplanmasını artırarak akut karaciğer hasarından sonra iyileşmeyi destekleyebilmektedir (Chauhan ve ark., 2020). Bu bağlamda, nötrofil infiltrasyonu, akut karaciğer hasarından sonra hızlı onarımı destekleyen doğuştan gelen bağışıklık yanıtının bir parçası olarak kabul edilmektedir.

2.4.5. Karaciğer Nakli

Akut karaciğer yetmezliği gelişen ağır vakalarda, NAC yeterli olmadığında karaciğer nakli hayat kurtarıcıdır. Hepatotoksisite, parasetamol aşımından sonraki ilk 10 saat içinde NAC uygulanması durumunda tamamen önlenir. Ancak zamanında NAC almayan hastalarda, şiddetli karaciğer hasarı gelişebilir ve bu durum akut karaciğer yetmezliğine ilerleyebilmektedir. Bu nedenle, parasetamol kaynaklı ciddi karaciğer hasarı vakalarında, hastanın hayatını kurtarabilmek için karaciğer nakli tek tedavi seçeneği olabilmektedir (Hu ve ark., 2020; Simpson ve ark., 2009).

2.4.6. Bitkisel Kaynaklı Ajanlar

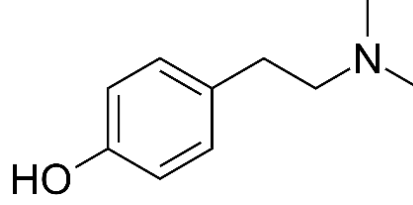
Karaciğer hasarını tedavi etmek amacıyla çok sayıda bitkisel ajan veya bitki içerisindeki bazı bileşenler araştırılmaktadır. Örneğin soğan, salatalık, elma, üzüm, hurma, fındık ve çilek bitkilerinde bulunan fisetin bu amaçla çalışılmış ve bu çalışmada fisetinin parasetamol kaynaklı karaciğer toksisitesine karşı doza bağımlı olarak serum karaciğer enzimlerini (ALT, AST, ALP) düşürdüğü, karaciğer dokusunda GSH ve SOD düzeylerini artırırken MDA seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca fisetin,

parasetamol ile artan TNF- α , NF- κ B ve CYP2E1 mRNA ekspresyonlarını anlamlı biçimde baskılamış, histopatolojik incelemelerde özellikle yüksek doz uygulamada hepatik hücre bütünlüğünü koruyarak sağlıklı grup ile benzer bulgular sergilemiştir (Ugan ve ark., 2023). Limonin citrus bitkilerinde bulunan bioaktif bir bileşendir. Karaciğer hasarında limonin, ALT/AST yükselmelerini ve karaciğer nekrozunu belirgin biçimde azaltmış ve karaciğer GSH düzeylerini korurken, MDA gibi oksidatif stres ürünlerini azaltmıştır (Yang ve ark., 2020). Taraxacum'dan izole edilen başlıca aktif bileşen olan taraksasterol uygulanan farelerde parasetamol toksisitesi sonrası serum ALT/AST seviyeleri belirgin düşmüştür. Karaciğer dokusunda GSH ve SOD gibi antioksidanlar artarken MDA azalmış; TNF- α ve diğer inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu baskılanmıştır (Lin ve ark., 2024). Karabiberde bulunan piperin tedavisi sonucu farelerde parasetamol kaynaklı karaciğer hasarını anlamlı olarak azalmış; ALT seviyeleri korunmuş ve oksidatif hasar ile inflamasyon belirteçleri baskılanmıştır (Coelho ve ark., 2024). Bu şekilde çok sayıda çalışma literatürde mevcuttur. Bitkisel kaynaklı ürünlerin karaciğer hasarında deneme çalışmaları giderek artış göstermektedir.

2.5. Hordenin

Hordenin kimyasal yapısı 4-(2-Dimetilaminoetil)-fenol (C₁₀H₁₅NO) olarak bilinen semptomimetik ve dopamin agonisti bir alkaloiddir (Şekil 2.3). Hordenin, kaktüsler ve tahıl fideleri (örneğin arpa, proso darı, mısır ve sorgum) gibi çeşitli bitkilerden ekstrakte edilmektedir. Ayrıca bazı alg ve mantar türlerinde de doğal olarak bulunmaktadır. Özellikle çimlendirilmiş arpada yüksek oranda bulunmaktadır. Antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antitümör ve antifibrotik gibi farmakolojik etkilere sahip olduğu literatürdeki çalışmalardan anlaşılmaktadır. İnsan melanositlerinde melanogenezisi cAMP seviyesini azaltarak inhibe ettiği bilinmektedir (Anwar ve ark., 2020; Hahn ve ark., 2022; Kim ve ark., 2013; Shuhao Su ve ark., 2018; Yingchun Su ve

ark., 2022; Zhengguang Xu ve ark., 2023; Xiyue Zhang ve ark., 2021). Hordenin, arpanın genç köklerinde tiraminin ardışık N-metilasyonu yoluyla biyosentezlenir. Bu metilasyon reaksiyonlarından iki farklı enzimin sorumlu olduğu gösterilmiştir (Meyer, 1982).



Şekil 2.3. Hordeninin kimyasal yapısı (Kimyasal yapı ChemSketch ACD/Labs programı ile çizildi.)

Hordenin, MAO-B izoformu için seçici substrat olduğundan, MAO inhibitörü olarak değil metaboliti olarak kabul edilmektedir. Rat karaciğer MAO-B enzimleri tarafından deamine edilmesi ve bağırsak MAO-A tarafından yıkılmaması ile tanımlanmıştır (Barwell ve ark., 1989). Bu özellik, ağızdan alım sonrası hordeninin parçalanmadan dolaşıma geçmesine ve merkezi sisteme etki edebilmesine imkân tanımaktadır. Hordenin, sinir uçlarından noradrenalin salınımını hızlandırarak (tiramine benzeri mekanizma) sempatik etkinliği artırır (Hapke & Strathmann, 1995). Ayrıca hordeninin noradrenalin geri alımını engelleyici etkileri de gösterilmiştir (Barwell ve ark., 1989).

Hordenin gastrointestinalden hızla emilir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada (bira içimi modeli), dozun %0.075'i (kg başına) yutulduğunda plazmada 0–60 dakika içinde 12–17 nM seviyelerine ulaştığı rapor edilmiştir. Emilim sonrası plazmada etkin yarılanma ömrü 52–66 dakika civarındadır; metabolizma öncelikle faz-II konjugasyonları (öncelikle sülfasyon, ardından glukuronidasyon) yoluyla olmaktadır. Yutulan dozun yalnızca yaklaşık %10'u 24 saat içinde idrarla atılmaktadır (Sommer ve ark., 2020). Yüksek dozlarda IV uygulama yapılan hayvan çalışmalarında ise farmakokinetik parametreler daha kesin belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada atlara 2.0 mg/kg IV hordenin

verdiklerinde plazma zirve konsantrasyonunu $\sim 1.0 \mu\text{g/mL}$ olarak ölçmüş, ilaç dağılımının alfa-faz yarı-ömürünü ~ 3 dakika, beta-faz yarı ömrünü ~ 35 dakika olarak bildirilmiştir (Frank ve ark., 1990). Özetle hordenin, iyi emilip hızla metabolize olan ve suyla çözünebilen bir feniletilamin olarak tanımlanabilir (Frank ve ark., 1990; Sommer ve ark., 2020).

Mevcut verilere göre hordeninin akut toksisitesi düşüktür. Örneğin, erken dönem bir deneyde hordenin sülfat formunun köpeklerde IV LD₅₀'si $\sim 0.30 \text{ g/kg}$ olarak bulunmuş, bu dozlarda bile hayvanların çoğu birkaç saat içinde iyileşmiştir. Bu, hordeninin oldukça zayıf bir zehir olduğunu göstermektedir (Tanaka, 1923). Hayvan çalışmalarında yutma ile toksisite artmadığı ve atlarda yüksek doz ağızdan uygulamada hiçbir toksik etki saptanmadığı ileri sürülmüştür (Frank ve ark., 1990).

Hordenin üzerine yapılan çalışmaların çoğu deneysel modellerdedir. İn vitro olarak insan melanositleri üzerine yapılan bir çalışmada, gerilmiş arpa özütünden elde edilen hordeninin melanin sentezini güçlü biçimde inhibe ettiği gösterilmiştir (S. C. Kim ve ark., 2013). Bu bulgu, hordeninin kozmetik amaçlı pigmentasyon azaltıcı potansiyelini ortaya koymaktadır. Hayvan modellerinde, hordeninin antiinflamatuvar etkileri öne çıkmıştır. DSS ile indüklenen ülseratif kolitis modellerinde 25–50 mg/kg dozlarda hordenin uygulayarak hastalık aktivite indeksini (DAI) ve kolonik IL-6, IL-1 β , TNF- α gibi pro-enflamatuvar sitokin seviyelerini anlamlı biçimde azalttıklarını göstermiştir. Aynı çalışmada histolojik olarak kolon hasarının da mukozal iyileşmeyle azaldığı rapor edilmiştir (Xu ve ark., 2023).

Bir çalışmada ConA ile indüklenen immün karaciğer hasarı modelinde hordenin uygulanması; serum ALT ve AST düzeylerini düşürdüğü, proinflamatuvar sitokin (IL-6, IL-1 β , TNF- α) ekspresyonunu azalttığı, SOD aktivitesini artırıp MDA düzeylerini düşürdüğü ve oksidatif stres ile apoptozu baskıladığı gösterilmiştir (Liu ve ark., 2025).

Alüminyum klorür ile oluşturulan Alzheimer benzeri nörodejenerasyon modelinde ise hordeninin bilişsel fonksiyonları iyileştirdiği, oksidatif stresi azalttığı ve nöroinflamasyonu (IL-1 β , TNF- α , NF- κ B) baskıladığı rapor edilmiştir. Ayrıca histopatolojik incelemelerde hordenin uygulamasının, korteks ve hipokampustaki hücrel hasarı belirgin ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Agrawal ve ark., 2024).

Deneysel bir çalışmada farelerde LPS ile oluşturulmuş akciğer hasarına karşı hordeninin koruyucu etkileri gösterilmiştir. Bulgular NF- κ B, protein kinaz B(AKT) ve MAPK yolağının hordeninin antiinflamatuvar etkisi sonucu inhibe edildiği gösterilmiştir (Xiyue Zhang ve ark., 2021). Parasetamol hepatotoksitesinde mitojenle aktiveleşen protein c-Jun N-terminal kinazın aktivasyonunun sonucunda hücrel hasar geliştiği bilindiğinden hordeninin MAPK yolağını inhibe etmesi parasetamol hepatotoksitesinde koruyucu yolları olabileceğini düşündürmektedir. Yine bu çalışmada hasar sonucu mRNA seviyesinde artan IL-6, IL-1 β ve TNF- α , iNOS ve COX-2 seviyelerinin hordenin koruyucu tedavisi sırasında azaldığı gösterilmiştir (Xiyue Zhang ve ark., 2021).

Parasetamol toksitesinde karaciğerde özellikle GSH havuzunun tükenmesi önemli bir parametredir. Bunun yanında toksite sırasında SOD seviyesinin azalıp MDA ve ROS seviyelerinin arttığı bilinmektedir (Palabiyik ve ark., 2016; Uzkeser ve ark., 2012). Streptozotosin ile indüklenen diyabetik farelerde yapılan bir çalışmada hordenin verilen hayvanlarda ROS seviyesinin azaldığı, mRNA seviyesinde SOD1, SOD2 ve GPx1 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018). TGF- β 1 ana fibroblast büyüme faktörlerinden biridir yani hepatik fibrozisin temel etkenidir. Hepatik stellate hücreler TGF- β 1'in ana kaynağıdır. Kupffer hücreleri ve hepatositler de TGF- β 1 salgılayabilmektedir (Zhang ve ark., 2008). Diyabetli farelerde yapılan çalışmada böbrek dokusunda TGF- β 1 seviyesi hordenin uygulamasıyla anlamlı bir şekilde azaldığı ve fibrozisin gerilediği gösterilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018).

Deneyisel çalışmalarda akut karaciğer hasarı oluşturulan hayvanlarda dopamin ve bazı agonistlerinin yararlı etkileri gösterilmiştir (Li ve ark., 2022; Yue ve ark., 2021; Zhou ve ark., 2018). DRD2, bağışıklık sistemi üzerinde anti-inflamatuar bir modülatör rolü oynar ve bu etki başlıca NF- κ B ve Akt sinyal yollarının baskılanması, sitokin üretiminin azalması ve apoptozun engellenmesi yoluyla gerçekleşir. Bu özellikleri nedeniyle DRD2 agonistleri, akut karaciğer hasarı, sepsis, nöroinflamasyon ve diyabete bağlı komplikasyonlar gibi birçok inflamatuvar durumda terapötik potansiyel taşımaktadır. Hordenin DRD2 reseptör agonistidir (Hahn ve ark., 2022; Sommer ve ark., 2017) ancak dopamin agonisti olarak akut karaciğer hasarında olası yararlı etkileri bilinmemekle beraber dopamin agonistleriyle yapılan çalışmalar literatürde mevcuttur. Bu çalışmaların birinde, RoMS (dopamin agonisti)'un DRD2 uyarımıyla LPS kaynaklı inflamasyonu azaltıp karaciğer hasarını β -arrestin2 aracılı Akt/NF- κ B baskılanmasıyla önlediği ileri sürülmektedir (M. Li ve ark., 2022). Başka bir çalışmada ise Rotigotin ve RoMS, karaciğerde DRD2 ve β -arrestin2'yi artırıp Akt, I κ B α ve NF- κ B aktivasyonunu azaltarak inflamasyonu baskıladığı gösterilmiştir. Haloperidolün ise bu koruyucu etkiyi ortadan kaldırması DRD2'nin merkez rolünü göstermektedir (S. Yue ve ark., 2021). LPS/D-Gal ile oluşturulan akut karaciğer hasarı modelinde ise dopaminin serum ALT ve AST'yi düşürüp TNF- α üretimi ve JNK/kaspaz yolunu baskılayarak hasarı azalttığı ve sağkalımı artırdığı belirtilmiştir; bu da dopaminin hepatoprotektif etkisini destekler (H. Zhou ve ark., 2018). Çoğu çalışma dopamin ve agonistlerinin akut karaciğer hasarında koruyucu olduğunu gösterirken, 20 haftalık bir çalışmada diyabetik karaciğerde ve yüksek glukozlu hepatik stellat hücrelerinde DRD2 ekspresyonunun arttığı, bunun oksidatif stres ve inflamasyonu tetikleyerek fibrozisi desteklediği saptanmıştır. Haloperidol ve NAC, inflamatuvar sitokinler ile TGF- β 1/Smads ve NF- κ B yollarını baskılayarak hücre aktivasyonunu ve hasarı azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgular, DRD2'nin diyabetik

karaciğer fibrozisinde kritik rol oynadığını ve hedeflenmesinin tedavi için potansiyel olduğunu göstermektedir (Zhao ve ark., 2021).

Yapılan deneysel çalışmalarda, hordeninin CNS (merkezi sinir sistemi) üzerinde belirgin psikomotor uyarıcı etkisi gözlenmemiştir. Farelerde hordenine yüksek dozlarda bile verildiğinde davranışsal uyarım veya depresyon belirtisi olmadığını bildirilmiştir (Hapke & Strathmann, 1995). Hordenin, doz bağımlı olarak motor aktivite üzerinde baskılayıcı bir etki gösterdiği ve kronik hordenin maruziyeti, birçok beyin bölgesinde monoamin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Daha ileri analizler, hordeninin monoaminerjik bağlanma bölgelerini ortaya çıkarmış; serotonin ve dopamin taşıyıcıları üzerinde güçlü bağlanma gösterdiği, ayrıca dopamin D₃ ve adrenerjik α_1 A ile α_2 A reseptörlerini aktive ettiği bulunmuştur. Ancak GABA reseptörü veya glisin reseptörleri üzerinde etkisi saptanmamıştır (Li, Vogel, ve ark., 2023).

Hordeninin de bir bileşeni olduğu bitkilerin ekstrelerinin akut karaciğeri modellerinde GSH seviyesini yükselttiği ve antioksidan özellik gösterdiği bilinmektedir (Chen & Li, 2015; Mohd Amir ve ark., 2016; Sabiu Saheed ve ark., 2016). LPS ile indüklenen akut mastitis modelinde yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin önemli bir biyokimyasal göstergesi GSH düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığı rapor edilmiştir. Hordenin uygulamasının LPS grubuna kıyasla GSH seviyelerini anlamlı düzeyde artırdığı, ancak bu artışın SAĞLIKLİ kontrol grubunun değerlerine tamamen ulaşmadığı bildirilmiştir. Bu bulgu, hordeninin antioksidan savunma sistemini destekleyerek hücrel redoks dengesinin korunmasına katkıda bulunabileceğini göstermektedir (Xie ve ark.,2024) Hordenin etken maddesinin ise SOD, GSH, GPx, ROS gibi oksidatif stres parametreleri üzerinde antioksidan etkileri gösterilmiş olsa da akut karaciğer hasarı durumunda GSH üzerindeki etkisi doğrudan gösterilmemiştir.

İnsanlara yönelik kontrollü klinik çalışma sayısı çok sınırlıdır. Tek yayınlanmış pilot denemelerden biri, gönüllülere 0.075 mg/kg hordenin dozunda bira içirerek plazmalarda elde edilen konsantrasyonları incelemiştir. Bu çalışmada hordenin hızlı emilip çok düşük düzeylerde dağıldığı, bulunan maksimum plazma seviyelerinin (10–20 nM) doğrudan farmakolojik etki için yetersiz olduğu rapor edilmiştir (Sommer ve ark., 2020). Bunun dışında, hordenin besin takviyeleri ve performans artırıcı ürünlerde kullanımı nedeniyle vaka çalışmaları veya gözlemsel incelemeler mevcuttur; ancak bu alanda derinlemesine randomize kontrollü çalışmalar henüz yapılmamıştır. Özetle, hordeninin deneysel modellerde ortaya koyduğu melanin baskılayıcı, antioksidan, antiinflamatuvar, antitümör ve semptomimetik etkiler henüz yeterli klinik veriyle doğrulanmamıştır. Hordenin hakkında özet bilgiler Tablo 2.5’te sunulmuştur.

Tablo 2.5. Hordenin hakkında özet tablo

Başlık	Açıklama	Kanıt Türü	Kaynak/Not
Kimyasal Yapı	4-(2-Dimetilaminoetil)-fenol	-	Alkaloid
Doğal Kaynaklar	Arpa, darı, mısır, sorgum, kaktüsler, algler, mantarlar	-	Çimlendirilmiş arpada yüksek
Biyosentez	Tiraminin N-metilasyonu ile	Bitki biyokimyası	(Meyer, 1982)
MAO-B Substratı	MAO-B için seçici substrat, MAO-A tarafından yıkılamaz	İn vitro / in vivo	(Barwell ve ark., 1989)
Sempatomimetik Etki	Noradrenalin salınımını artırır, geri alımını inhibe eder	Hayvan modeli	(Hapke & Strathmann, 1995)
Farmakokinetik (İnsan)	Tmax: 0–60 dk; Cmax: 12–17 nM; t1/2: ~60 dk	İnsan (pilot çalışma)	(Sommer ve ark., 2020)
Farmakokinetik (Hayvan)	IV doz: 2 mg/kg; Cmax: ~1.0 µg/mL; t1/2: ~35 dk	Hayvan (at)	(Frank ve ark., 1990)
Toksisite	LD50 (köpek): ~0.30 g/kg IV; toksik etkiler nadir	Hayvan çalışması	(Tanaka, 1923)
Melanin Baskılama	Melanin üretimini azaltır (cAMP baskısıyla)	İn vitro (melanosit)	(S. C. Kim ve ark., 2013)
Antiinflamatuvar Etki	IL-6, TNF- α , IL-1 β , iNOS, COX-2 düşüşü; DSS ve LPS modelleri	Hayvan modeli	(Zhang ve ark., 2021; Xu ve ark., 2023)
Antioksidan Etki	ROS ↓, SOD1/2 ↑, GPx1 ↑	Diyabet modeli (fare)	(Su ve ark., 2018)
Fibrozis Karşıtı Etki	TGF- β 1 düzeyini düşürür, böbrek dokusunda fibrozis azaltır	Diyabetik fare	(Su ve ark., 2018)
Dopamin Agonizmi	D2 ve D3 reseptörleri aktive eder, monoamin seviyelerini artırır	Hayvan / bağlanma çalışması	(Sommer ve ark., 2017; Li ve ark., 2023)
Psikomotor Etki	Yüksek dozlarda bile belirgin uyarıcı ya da depresif etki yok	Hayvan modeli	(Hapke & Strathmann, 1995)
GSH Üzerine Etki	Karaciğer hasarında ekstre düzeyinde ↑; ancak saf hordenin için doğrudan kanıt yok	Hayvan modeli	(Amir ve ark., 2016; Chen & Li, 2015)
Klinik Çalışmalar	Yalnızca plazma seviyeleri üzerine küçük ölçekli çalışma	İnsan (pilot)	(Sommer ve ark., 2020)
Kullanım Alanı Potansiyeli	Akut karaciğer hasarı, Pigmentasyon, inflamasyon, oksidatif stres, fibrozis, sempatomimetik aktivite	Potansiyel (preklinik)	Klinik geçerliliği kanıtlanmamış

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Hayvanlar

Çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 42 adet erkek Albino Wistar sıçanlar kullanıldı. Deney öncesinde hayvanlar, laboratuvar ortamında $22\pm1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında uygun koşullarda ve gruplar hâlinde barındırıldı.

3.1.2. Kimyasallar

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.1.'de listelenmiştir.

Tablo 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal madde ve reaktifler

Kullanılan Kimyasal Madde / Reaktif	Firma Adı	Kullanılan Kimyasal Madde / Reaktif	Firma Adı
Hordenin	TCI	TNF-Alfa primer prob	Thermo Fisher Scientific
Parasetamol	Glaxosmithkline İlaçları San. ve Tic. A.Ş.	Nfkappa primer prob	Thermo Fisher Scientific
N-asetilsistein	Basel Kimyevi Maddeler ve İlaç San. Tic. A.Ş.	IL-6 primer prob	Thermo Fisher Scientific
Formaldehit	Bioradlab	IL-1 β primer prob	Thermo Fisher Scientific
DMSO	EcoTech Biotechnology	İNOS primer prob	Thermo Fisher Scientific
Dopamin ELİSA kiti	Sunred Biotechnology	TGF- β 1 primer prob	Thermo Fisher Scientific
SOD ELİSA kiti	ELK Biotechnology	B-Aktin primer prob	Thermo Fisher Scientific
MDA ELİSA kiti	Biorbyt Biotechnology	Qpcr Master Mix	Applied Biosystem Taqman
GSH ELİSA kiti	ELK Biotechnology	Cdna Sentez Kiti	Applied Biosystem
Ksilazin (%2)	Bioveta	RNA İzolasyon Kiti	Qiagen RNeasy Mini
Ketamin	Vem İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.		

3.1.3. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Deneylerde kullanılan araç ve gereçler Tablo 3.2’de listelenmiştir.

Tablo 3.2. Deneylerde kullanılan cihazlar ve malzemeler

Cihaz / Araç	Marka ve Model
Buzdolabı	Arçelik
Cerrahi Set	F.S.T., Germany
-20 °C Derin dondurucu	Siemens
-80 °C Derin dondurucu	New Brunswick U410 Premium
Doku homojenizatörü	Tissue Lyser II, Qiagen, Almanya
ELISA okuyucu	Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, ABD
Etüv	BINDER
Hassas terazi	Shimadzu AUW220D
Kafes	Tecniplast, İtalya
Manyetik karıştırıcı	Wisd WiseStir MSH-20A, Almanya
Mikroplate yıkayıcı	Stat Fax 2600 Microplate Washer, USA
Otomatik pipet seti	Eppendorf, Research Plus
pH Metre	SCHOTT Instruments Lab 850, Germany
Real-Time PCR cihazı	Applied Biosystems
RNA izolasyon cihazı	QIAcube, Qiagen
Saf su sistemi	Ultrapure (Type 1) Water System, Merck Millipore
Sıvı azot tankı	Taylor Wharton, LS750
Soğutmalı santrifüj	Hettich Zentrifugen 320R, Germany
Su banyosu	Memmert SV1422
Thermal Cycler	Techne TC-5000

3.1.4. Kullanılan İlaç/Kimyasalların Dozları ve Çözeltilerin Hazırlanışları

Çalışmada, 2 ml 1X'lik PBS (phosphate buffer saline) içinde %1'lik CMC (Karboksi Metil Selüloz) ile 2 g/kg parasetamol süspansiyonu oral gavajla sıçanlara verildi. Hordenin 1:100 oranında dimetil sülfoksit (DMSO)/distile su çözeltisinde çözülerek çalışma gruplarına göre 25, 50 ve 100 mg/kg dozlarında oral gavaj yöntemiyle sıçanlara uygulandı. NAC PBS çözeltisinde hazırlanan çözelti sıçanlara 140 mg/kg dozunda oral olarak gavaj yöntemiyle uygulandı. Ksilazin (%2) sedasyon amacıyla kullanıma hazır ksilazin 15 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı. Ketamin anestezi için 100 mg/kg intraperitoneal ketamin kullanıldı; anestezi sırasında ksilazin ile kombine olarak uygulandı.

3.2. Metot

3.2.1. Deney Planı

İlaç uygulaması

Gruplara Parasetamol, Hordenin ve NAC ağızdan gavaj yöntemiyle verildi. Toz formdaki maddeler, üretici firmanın talimatları doğrultusunda süspansiyon/çözelti haline getirildi. SAĞLIKLI kontrol grubundaki hayvanlara da aynı ilaç taşıyıcıları aynı yollardan uygulandı. Deneyde kullandığımız hordenin dozları ise daha önceki çalışmalara göre belirlendi (S. Su ve ark., 2018; Z. Xu ve ark., 2023; X. Zhang ve ark., 2021). Hordeninin uygulayacağımız en yüksek dozu aynı zamanda SAĞLIKLI bir gruba verilerek olası toksik etkiler saptandı.

Deneysel gruplar:

Sıçanlar rastgele gruplara ayrıldı.

1. SAĞLIKLI (KONTROL) (6 sıçan)
2. SAĞLIKLI + HORDENİN 100 mg/kg (SAĞLIKLI+HOR100 grubu-6 sıçan)
3. PARA 2 g/kg (PARA grubu-6 sıçan)
4. PARA 2 g/kg + NAC 140 mg/kg (PARA+NAC grubu-6 sıçan)
5. PARA 2 g/kg + HORDENİN 25 mg/kg (PARA+HOR25 grubu-6 sıçan)
6. PARA 2 g/kg + HORDENİN 50 mg/kg (PARA+HOR50 grubu-6 sıçan)
7. PARA 2 g/kg + HORDENİN 100 mg/kg (PARA+HOR100 grubu-6 sıçan)



Şekil 3.1. Deneyde kullandığımız hayvanlar ve gruplandırmaları

Deneyin yapılışı:

Deney hayvanları 24 saat aç bırakıldı. Deney gruplarına Hordenin ve NAC verildikten 1 saat sonra parasetamol verildi. Parasetamol verildikten sonra ratlara yemleri verildi. Parasetamol verildikten 24 saat sonra deney sonlandırıldı. Deneyin sonunda serum ve dokular elde edildi. Bu işlem için anestezi uygulanmış hayvanlarda,

sternumun hemen altından yapılan bir kesiyle batin boşluğuna girildi. Akciğer dokusuna zarar vermemek amacıyla künt uğlu makas ile diyafram kesildikten sonra, kalbin apeksinden sol ventriküle enjektör yardımıyla girilerek yaklaşık 5 mL kan rneği alındı. Ardından batin kesilerek karaciğer çıkarıldı ve her hayvanın dokusunun yarısı biyokimyasal ve moleküler incelemeler için -80°C’de diğer yarısı histopatolojik inceleme için formalinde saklandı. Kanlar santrifüj edilip serumları -80°C’de saklandı. Karaciğer dokusu moleküler ve biyokimyasal ölçümler için sıvı azot yardımıyla havanda homojenize edilerek toz haline getirildi. Biyokimyasal analizlerde; serumlarda Dopamin, ALT, AST ve ALP seviyelerine bakıldı. Karaciğer dokusunda SOD, GSH ve MDA lld. Moleküler analizlerde, karaciğer dokusunda TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β 1, DRD2, iNOS ve NF- κ B mRNA ekspresyon ölçümleri yapıldı. Ayrıca karaciğerde histopatolojik incelemeler yapıldı.

3.2.2. Biyokimyasal Analizler

3.2.2.1. Serumda Gerçekleştirilen Biyokimyasal Analizler

Eczacılık Fakltesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarında hayvanlardan alınan kanlar 4000 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek serumları alındı ve -80 °C’de muhafaza edilirdi. Serumda ALT, AST ve ALP lmleri Atatürk Üniversitesi Veteriner fakültesi Hayvan hastanesi biyokimya laboratuvarında hizmet alımı yoluyla yaptırıldı.

Serumda ayrıca dopamin düzeyleri, ticari olarak temin edilen ELISA yöntemiyle çalışan bir kit aracılığıyla belirlendi (Dopamine ELISA Kit, SunRed Biotechnology, Cat. No: SRB-T 85891, şanghay, Çin). Ölçümler retici firmanın sağladığı protokole uygun olarak gerçekleştirildi. Analiz öncesinde tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Hazırlanan serum örnekleri ve standartlar, enzimle işaretlenmiş antikörlerle birlikte mikropalakaya eklendi ve 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. Bu inkübasyonun ardından plak 5 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa kromojen A ve kromojen B çözeltileri

eklendi, 37°C'de 10 dakika boyunca karanlıkta reaksiyona bırakıldı. Reaksiyon, durdurma çözeltisi (stop solution) eklenerek sonlandırıldı. Ardından optik yoğunluk (OD) değerleri, 450 nm dalga boyunda mikroparka okuyucu ile 10 dakika içinde ölçüldü. Örneklerdeki dopamin konsantrasyonları, standart eğri üzerinden hesaplanarak ng/mL cinsinden ifade edildi.

3.2.2.2. Karaciğer Dokusunda Gerçekleştirilen Analizler

Sıvı azotta toz hale getirilip homojenize edilen dokulardan 100 mg alınarak 1 ml PBS içerisinde Tissue Lyser cihazı ile 4 dk 30 hertz'de parçalandı. Daha sonra 4000 rpm'de 16 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmı SOD, GSH ve MDA elisa ölçümlerinde kullanıldı. SOD, GSH ve MDA analizleri, üretici firmaların protokollerine uygun olarak, ticari ELISA kitleri aracılığıyla gerçekleştirildi. Ölçüm sırasında kitlerin kılavuzunda yer alan bilgilere göre ölçümler yapıldı.

Karaciğer Dokusunda GSH Düzeyinin Belirlenmesi

Karaciğer dokusundaki GSH düzeyleri, ELK Biotechnology firmasına ait ticari ELISA kiti kullanılarak belirlendi (Rat GSH ELISA Kit, Cat. No: ELK8577, Wuhan, Çin). Ölçümler, üretici protokolüne uygun şekilde gerçekleştirildi. Analizlerde mikro ELISA plakalarına her birinden 50 µL'lik standart, örnek ve blank çözeltileri yerleştirildi. Her kuyuya 50 µL biyotin konjugat (1×) eklendi ve 1 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası sıvı uzaklaştırıldı ve kuyular 200 µL yıkama tamponu ile üç kez yıkandı. Ardından 100 µL Streptavidin-HRP (1×) eklendi ve 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Beş kez yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra 90 µL TMB substrat eklendi, plakalar karanlıkta 37 °C'de 20 dakika bekletildi. Ardından 50 µL durdurma reaktifi eklendi ve renk sarıya döndü. Absorbans değerleri 450 nm'de ölçüldü. GSH düzeyleri, standart eğri kullanılarak ng/mL cinsinden hesaplandı.

Karaciğer Dokusunda SOD Düzeyinin Ölçülmesi

SOD düzeyleri, ticari olarak temin edilen ELISA kiti kullanılarak belirlendi (Rat SOD ELISA Kit, ELK Biotechnology, Cat. No: ELK8178, Wuhan, Çin). Ölçümler, üretici firmanın talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi. Standart, blank ve örnekler olmak üzere mikro ELISA plakasındaki ilgili kuyulara 100 µL standart çalışma çözeltisi veya örnek eklendi. Plaka kapatılarak 37 °C’de 80 dakika inkübe edildi. Ardından plakadaki sıvı uzaklaştırıldı, her kuyuya 200 µL 1× yıkama tamponu eklendi ve üç kez yıkama yapıldı. Her kuyuya 100 µL biyotin konjugat (1×) eklendi ve 37 °C’de 50 dakika inkübe edildi. Sonrasında üç kez yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra her kuyuya 100 µL Streptavidin-HRP çözeltisi eklenerek 37 °C’de 50 dakika inkübe edildi. Bunu takiben yıkama işlemi beş kez tekrarlandı. Her kuyuya 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi ve karanlık ortamda 37 °C’de 20 dakika inkübe edildi. Renk gelişimini takiben, 50 µL durdurma çözeltisi eklendi. Ölçüm öncesi plakanın alt yüzeyi temizlendi ve kabarcıklar giderildi. Absorbans değerleri 450 nm’de ölçüldü. SOD düzeyleri, standart eğri kullanılarak ng/mL cinsinden hesaplandı.

Karaciğer Dokusunda MDA Düzeyinin Belirlenmesi

Karaciğer dokusundaki MDA düzeyleri, Biorbyt firmasına ait ticari ELISA kiti kullanılarak belirlendi (Rat MDA ELISA Kit, Cat. No: orb2809669, Cambridge, Birleşik Krallık). Ölçümler, üretici protokolüne uygun şekilde gerçekleştirildi. Analiz öncesinde plaka iki kez yıkandı. Her kuyuya 50 µL standart veya örnek eklendi ve hemen ardından 50 µL biyotin ile işaretli antikor eklendi. Plaka hafifçe çalkalanarak 1 dakika karıştırıldı ve 37 °C’de 45 dakika inkübe edildi. Ardından plakalar üç kez yıkandı, her yıkamada 1 dakika bekletildi. Her kuyuya 100 µL SABC çalışma çözeltisi eklendi, plaka kapatıldı ve 37 °C’de 30 dakika inkübe edildi. Bu aşamadan sonra plakalar beş kez yıkandı. Her kuyuya 90 µL TMB substrat çözeltisi eklendi, plaka kapatılarak 37 °C’de 10–20 dakika

karanlıkta inkübe edildi. Renk gelişimini takiben 50 µL durdurma çözeltisi eklendi ve absorbans değerleri 450 nm’de ölçüldü. MDA düzeyleri, standart eğri kullanılarak ng/mL cinsinden hesaplandı.

Total Protein Ölçümü

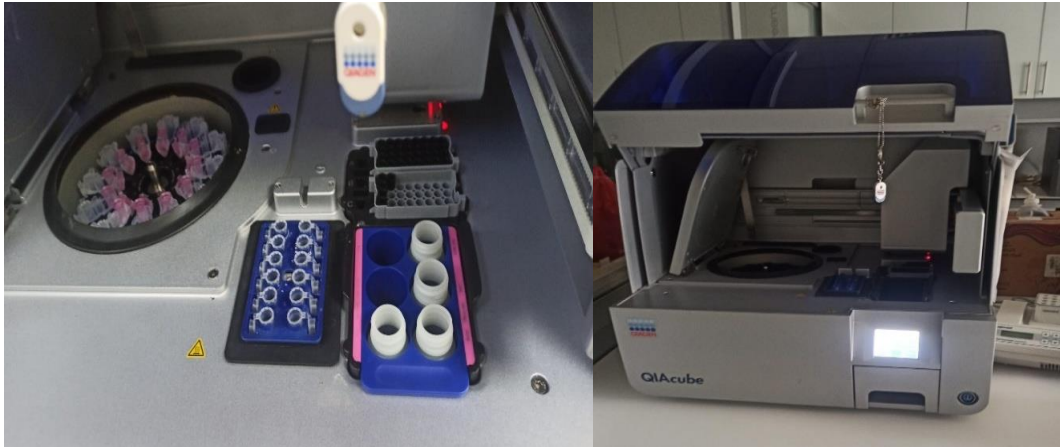
Her bir numunedeki total protein miktarı Thermo Scientific Pierce Modified Lowry Protein Assay Kit kullanılarak lowry metoduna göre ölçüldü. SOD, MDA ve GSH seviyeleri sonuçlarımızı standardize etmek için tüm veriler mg proteine bölünerek ve ortalama ± standart sapma olarak verildi.

3.2.3. Moleküler Analiz

Real Time PCR ile karaciğer dokusunda TNF- α , IL-1 β , IL-6, DRD2, iNOS, TGF- β 1 ve NF- κ B ekspresyonları ölçüldü.

3.2.3.1. Total RNA İzolasyonu

Doku örnekleri Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalındaki RNeasy Mini Kit (Qiagen) kullanılarak Qiacube’de (Qiagen RNA izolasyon cihazı) total RNA izolasyonu aşamaları üretici tarafından belirtildiği gibi yapıldı.



Şekil 3.2. Çalışmada RNA izolasyonunu için kullandığımız Qiacube cihazı (Qiagen RNA izolasyon cihazı)

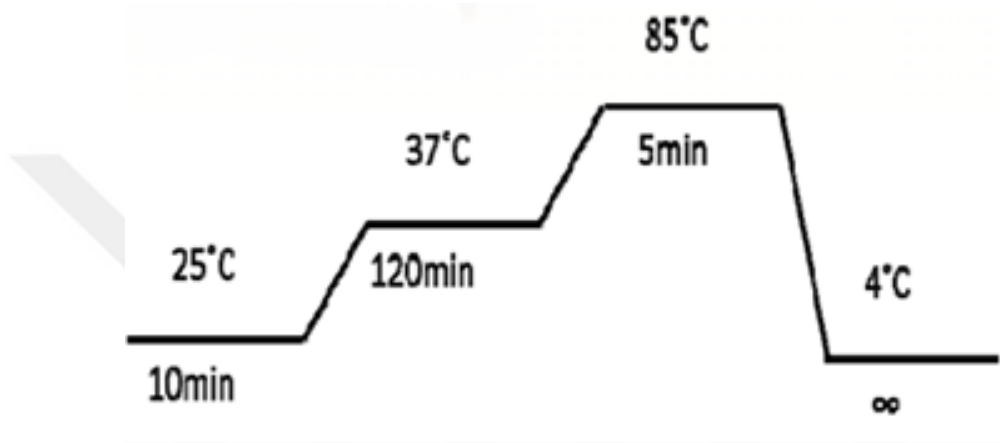
-80°C’de muhafaza edilen karaciğer dokuları sıvı azot yardımıyla toz haline getirildi. Her grup için havuz olacak şekilde toplam 20 mg öğütölmüş karaciğer dokusu üzerine RNeasy Mini Kit (Qiagen) protokolüne uygun olarak 350 µl RLT tamponu eklendi ve içersisine steril bilye konularak Tissue Lyser II (Qiagen) cihazında 30 hertz’de 2 dk homojenize edildi. Ardından 14.000 rpm’de 4 dk boyunca santrifüj edilip supernatantlar alındı. QIAcube cihazında RNeasy Mini Kit (Qiagen) protokolü takip edilerek mRNA izolasyonu supernatanlardan yapıldı. 260/280 nm’de mRNA miktarı ve saflığı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3, Biotek) cihazı ile ölçöldü. -80°C’de cDNA sentezi için saklandı.

3.2.3.2. Reverse Transkriptaz Reaksiyonu ve cDNA Sentezi

High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit enzimi kullanımı ile total RNA’dan cDNA sentezi yapıldı. Her reaksiyon 10 µl RNA ile gerçekleştirilerek cDNA sentezi belirtilen sıcaklık değerslerine göre Atatürk Üniversitesi Eczacılık Faköltesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı’ndaki Thermal Cycler (Techne TC-5000) ile sağlandı. cDNA miktarı nano drop spektrofotometre ile (EPOCH Take3 Plate, Biotek) belirlendi ve -20°C’de saklandı. cDNA sentez reaksiyonu: Toplam RNA: 10 µl, 10 X RT Buffer: 2 µl, 25X dNTPs karışım 0.8 µl, 10X RT Random Primer: 2 µl MultiScribe Reverz Transkriptaz: 1 µl, DEPC- su: 4.2 µl



Şekil 3.3. cDNA sentezinde kullanılan Techne TC- 5000 Thermal Cycler cihazı



Şekil 3.4. cDNA sentezinde kullanılan sıcaklık değerleri ve süreleri

3.2.3.3. mRNA Ekspresyonunun Real Time PCR ile Belirlenmesi

TNF- α , IL-1 β , IL-6, DRD2, iNOS, TGF- β 1 ve NF- κ B mRNA ekspresyonları TaqMan Gene Expression Master Mix kiti kullanılarak kantifiye edildi. Amplifikasyon ve kantifikasyon işlemi Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı'ndaki StepOne Plus Real Time PCR Sisteminde (Applied Biosystems) yapıldı. (Endojen) Kontrol geni olarak β -actin kullanıldı ve 40 siklus ile yürütüldü. Ct değerleri cihazdan alınarak formül ile delta delta Ct'ye çevrildi. Tüm sonuçlar $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak hesaplandı ve kontrol grubuna göre kat değişimi olarak ifade edildi (Livak & Schmittgen, 2001).

cDNA (200 ng): 9 μ l, TaqMan Master karışım: 10 μ l, deney karışımı (assay): 1 μ l, RNase free H₂O ile 20 μ l'e tamamlandı.



Şekil 3.5. Real Time PCR ile mRNA ekspresyonunda kullanılan StepOne Plus real time pcr sistemi (Applied Biosystems)

3.2.4. Histopatolojik Analizler

Konvansiyonel ışık mikroskobu işlemleri Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Sıçanların tüm gruplarından alınan karaciğer dokuları, grup isimleriyle etiketlenmiş şişelere %10'luk formaldehit çözeltisi içine alındı. Daha sonra, belirli bir sırayla doku işleme prosedürüne başlandı. İlk adım olarak, doku örnekleri formaldehit solüsyonundan arındırılmak üzere gün boyunca akan su altında yıkandı. Ardından, örnekler bir gece boyunca %70'lik alkolde bekletildi. Bu aşamayı sırasıyla %80, %96 (iki kez) ve %100'lük alkolde bekletme işlemleri izledi. Sonraki adımda, doku örnekleri ksilol içerisinde bekletilerek işlem devam ettirildi; bu süreç üç kez tekrarlandı. Daha sonra örnekler, boncuk parafin çözeltisinde 60°C'lik etüvde tutuldu. Doku örnekleri parafin bloklara gömülerek kesit alınmaya hazır hale getirildi. Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler, Leica RM2125RT mikrotomu kullanılarak kesildi ve lamalar üzerine yerleştirildi. Kesitler belirli bir sırayla işlemlerden geçirilip boyandı. İlk olarak kesitler ksilolde bekletildi, ardından %96'lık alkol serilerinde işlem gördü ve %80'lik alkolde bir süre bekletildi. Son aşamada, kesitler çeşme suyunda yıkandı. Hematoksilen

ile çekirdekler boyandı ve fazla boya, distile su ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Lamlar daha sonra sodyum tiyosülfat çözeltisinde bekletildi ve tekrar distile su ile durulandı. Sitoplazmanın boyanması için dokular asit fuksine maruz bırakıldı, ardından fosfotungstik asit kullanıldı. Bağ dokusunun boyanması için anilin mavisi çözeltisinde bekletilen lamlar, dereceli etanol serilerinden geçirilerek tekrar ksilolde bekletildi. Son olarak, lamlar lamel ve entellan ile kapatıldı.

İmmunohistokimyasal (IHC) Boyama Prosedürü

Adezivli lamlara alınmış doku örnekleri, ilk olarak ksilol ve dereceli alkol serilerinden geçirildi. Dokulardaki metilasyonu engellemek amacıyla %3'lük hidrojen peroksit damlatılarak 10 dakika bekletildi ve sonrasında lamlar phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. Antijen maskesini kaldırmak için, lamlar sitrat tampon solüsyonu (pH: 6.0) içeren bir şaleye yerleştirilip 500 Watt gücünde çalışan mikrodalga fırında 15 dakika ısıtıldı. Şale oda sıcaklığına kadar soğuduktan sonra lamlar tekrar PBS ile yıkandı. Nonspesifik bağlanmayı önlemek için, lamların üzerine protein blok damlatılarak nemli bir ortamda 10 dakika bekletildi. TNF Alpha Monoclonal Antibody (Q34, D:1/100, BT-MCA1210) ve D2DR (B-10, D:1/100, Sc-5303), antikorları PBS ile seyreltilerek kullanıma hazır hale getirildi. Protein blok uygulamasının ardından, primer antikorlar lamların üzerine damlatılarak dokular 24 saat boyunca +4°C'de buzdolabında bekletildi. Yıkama işlemi sonrasında, lamların üzerine 30 dakika süreyle komplement (Thermo Fisher, DAB Substrate System) damlatıldı ve ardından PBS ile tekrar yıkandı. Sonrasında 25 dakika konjugat (Thermo Fisher, DAB Substrate System) eklenerek inkübe edildi ve PBS ile yıkama işlemi tekrarlandı. Kahverengileşme sağlamak için, dokulara DAB (3,3'diaminobenzidine) (Thermo Fisher, Catalog no:34002) çözeltisi uygulandı ve PBS ile yıkama yapıldıktan sonra, zıt boyama için Mayer's hematoksilen solüsyonu kullanıldı.

Lamlar son olarak PBS ile yıkandı, %96'lık alkol, absolü alkol ve ksilol serilerinden geçirildi ve entellan ile kapatılarak işlem tamamlandı.

Boyama işlemi tamamlandıktan sonra mikroskopik incelemeler Zeiss AXIO Scope.A1 model, bilgisayar ve kamera bağlantılı bir mikroskop ile gerçekleştirildi. Elde edilen görüntüler Adobe Photoshop CS6 programı ile düzenlendi.

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve sonrasında Tukey post hoc testi kullanılarak, SPSS programı (sürüm 20.0; SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) ile gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak sonuç bölümünde sunuldu. p değerinin <0.05 gruplar arası anlamlı farklılık olarak kabul edildi. Grafiklerin çiziminde ise GraphPad Prism 8.0.2 programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. Serum ALT, AST ve ALP Seviyeleri

Serum ALT, AST ve ALP düzeylerine bakıldı. Şekil 4.1’de görüldüğü üzere şu bulgular elde edildi:

Alanin Aminotransferaz (ALT) Seviyesi: PARA grubunda ALT düzeyi, SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı şekilde arttığı görüldü ($p<0.001$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda ALT seviyesinin anlamlı ölçüde azaldığı görüldü ($p<0.001$). Yine PARA grubuna göre PARA+HOR25 ($p<0.001$), PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarının ALT seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. Uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağımlı ALT seviyelerini düşürdüğü tespit edildi. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda ALT düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak değişmediği görüldü.

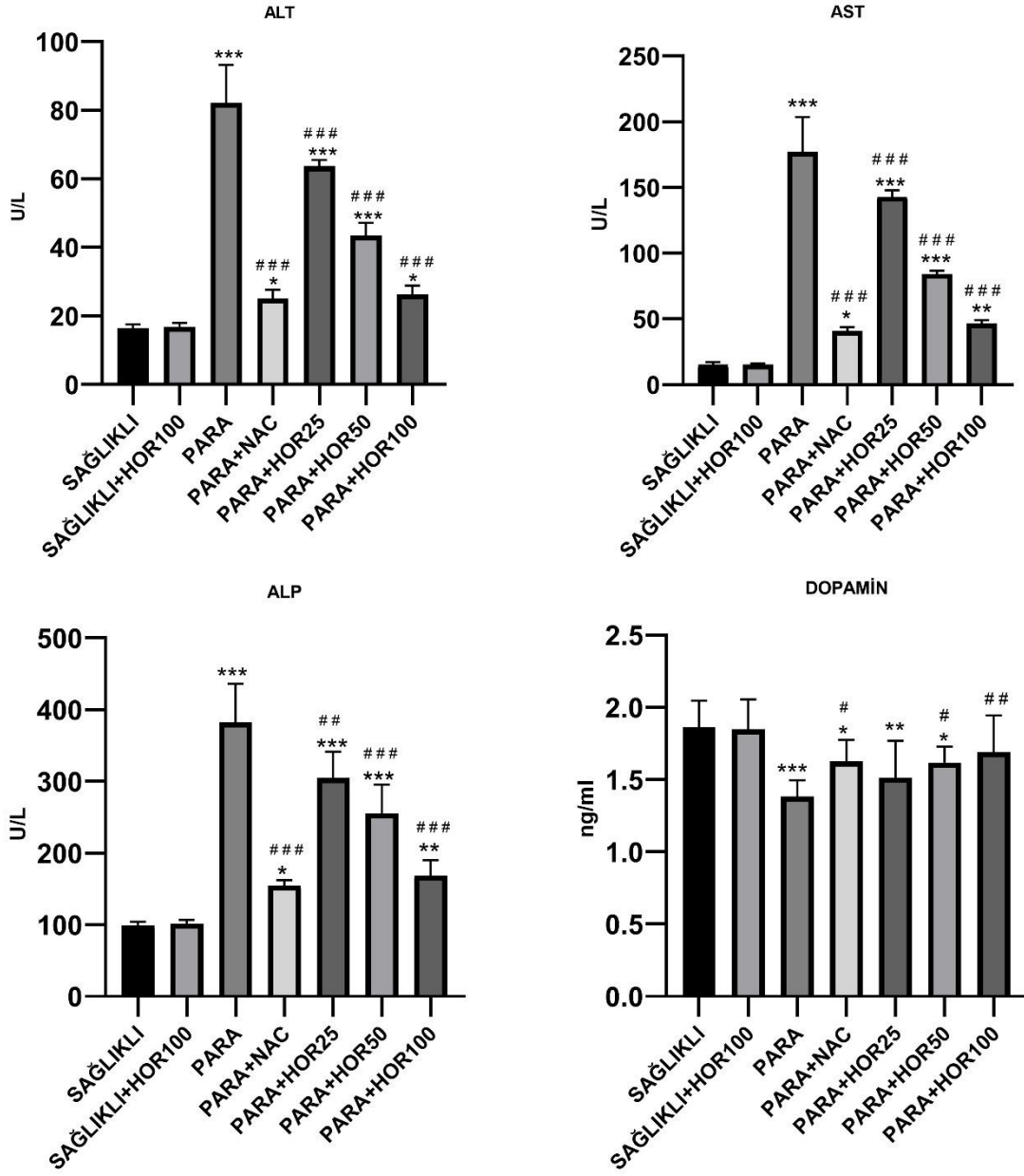
Aspartat Aminotransferaz (AST) Seviyesi: PARA grubu SAĞLIKLI gruba göre anlamlı derecede yüksek AST düzeyine sahip olduğu görüldü ($p<0.001$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda AST seviyesinin anlamlı ölçüde azaldığı ($p<0.001$) görüldü. Uyguladığımız farklı hordenin dozları PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.001$), PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında AST seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. Uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağımlı AST seviyelerini düşürdüğü tespit edildi. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda AST düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği tespit edildi.

Alkalın Fosfataz (ALP) Seviyesi: PARA grubunda SAĞLIKLI gruba göre anlamlı derecede ALP düzeyi arttığı görüldü ($p<0.001$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda ALP seviyesinin anlamlı ölçüde azaldığı

görüldü ($p<0.001$). Uyguladığımız farklı hordenin dozları PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.01$), PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında ALP seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.001$) ve PARA+HOR50 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.001$) anlamlı bir farklılık olmasına rağmen PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR50 grubu arasında anlamlı bir farklılık olmaması nedeniyle uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı ALP düzeyini düşürmediği görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda ALP düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

4.1.2. Serum Dopamin Seviyesi

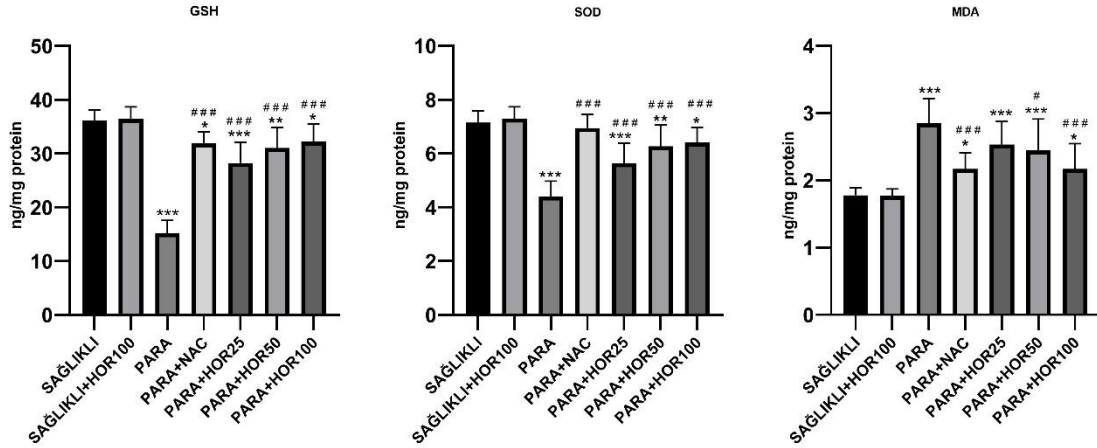
Serum dopamin seviyesine bakıldı (Şekil 4.1). PARA grubu SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı derecede düşük serum Dopamin düzeyine sahip olduğu görüldü ($p<0.001$). PARA+NAC grubunda serum Dopamin düzeyinin SAĞLIKLI grup ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$). PARA+HOR100 grubu hariç PARA+HOR gruplarında SAĞLIKLI gruba göre serum Dopamin düzeyinin anlamlı olarak düşük olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.01$; PARA+HOR50 $p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda serum dopamin seviyesinin anlamlı ölçüde arttığı görüldü ($p<0.05$). PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR50 ($p<0.05$) ve PARA+HOR100 ($p<0.01$) gruplarında anlamlı bir farklılık görüldü. Uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı serum Dopamin düzeyini yükseltmediği görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda Dopamin düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.



Şekil 4.1. Serumda ALT, AST, ALP ve Dopamin düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Sonuçlar Ortalama $\pm$ S.D. olarak ifade edilmiştir (Sonuçlar One Way ANOVA Post Hoc Tukey testine göre karşılaştırılmıştır ($p < 0.05$). ***, ** ve * işaretleri diğer grupların SAĞLIKLI grubuyla karşılaştırıldığında; ###, ## ve # işaretleri ise PARA grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılığın sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.01$ ve $p < 0.05$ olduğunu ifade etmektedir.)

4.1.3. Karaciğer Dokusu GSH, SOD ve MDA Düzeyleri

Karaciğer dokusunda GSH, SOD ve MDA düzeylerine bakıldı. Elde edilen sonuçlar şu şekildedir (Şekil 4.2):



Şekil 4.2. Karaciğer dokusundaki GSH, SOD ve MDA düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.D. olarak ifade edilmiştir (Sonuçlar One Way ANOVA Post Hoc Tukey testine göre karşılaştırılmıştır ($p < 0.05$). ***, ** ve * işaretleri diğer grupların SAĞLIKLI grubuyla karşılaştırıldığında; ###, ## ve # işaretleri ise PARA grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılığın sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.01$ ve $p < 0.05$ olduğunu ifade etmektedir.).

Karaciğer Dokusu GSH Düzeyleri: PARA grubunun SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı derecede düşük GSH düzeyine sahip olduğunu tespit edildi ($p < 0.001$). PARA+NAC grubunda GSH düzeyinin SAĞLIKLI gruba yakınlaştığını fakat SAĞLIKLI gruba göre anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). PARA+HOR grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında GSH düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p < 0.001$; PARA+HOR50 $p < 0.01$; PARA+HOR100 $p < 0.05$). PARA grubuna göre PARA+NAC grubunda GSH seviyesinin anlamlı ölçüde arttığı görüldü ($p < 0.001$). Uyguladığımız farklı hordenin dozlarının PARA grubuna göre PARA+HOR25 ($p < 0.001$), PARA+HOR50 ($p < 0.001$) ve PARA+HOR100 ($p < 0.001$) gruplarının GSH düzeyini anlamlı bir şekilde artırdığı bulundu. PARA+HOR25 grubu ile

PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.05$) anlamlı bir farklılık tespit edildi ancak uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı GSH düzeyini yükseltmediği görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda GSH düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

Karaciğer Dokusu SOD Düzeyleri: PARA grubunun SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı derecede düşük SOD düzeyine sahip olduğu görüldü ($p<0.001$). PARA+NAC grubunda SOD düzeyinin SAĞLIKLI gruba yakınlığı ve SAĞLIKLI grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. PARA+HOR grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında SOD düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.01$; PARA+HOR100 $p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda SOD düzeyinin anlamlı ölçüde artırdığı görüldü ($p<0.001$). Uyguladığımız farklı hordenin dozları PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.001$), PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarının SOD düzeyini anlamlı bir şekilde artırdığı bulundu. PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.05$) anlamlı bir farklılık görüldü ancak uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı SOD düzeyini yükseltmediği görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda SOD düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri: PARA grubunun SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı derecede yüksek MDA düzeyine sahip olduğu görüldü ($p<0.001$). PARA+NAC grubunda MDA düzeyinin SAĞLIKLI grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fazla olduğu tespit edildi ($p<0.05$). PARA+HOR gruplarının SAĞLIKLI gruba göre MDA düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.001$; PARA+HOR100 $p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda MDA düzeyinin anlamlı ölçüde düştüğü tespit edildi ($p<0.001$).

Uyguladığımız farklı hordenin dozları PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+HOR25 grubunda anlamlı bir farklılık görülmezken, PARA+HOR50 ($p<0.05$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında MDA seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu. Uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı MDA seviyelerini düşürmediği görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda MDA düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

4.2. Rölatif mRNA Ekspresyon Bulguları

Karaciğer dokusunda rölatif mRNA ekspresyon değerlerine bakıldı. Elde edilen sonuçlar şu şekildedir (Şekil 4.3):

Karaciğer Dokusunda NF- κ B Ekspresyonu Bulguları: NF- κ B düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$). PARA+NAC grubunun NF- κ B düzeyi SAĞLIKLI grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlendi ($p<0.05$). PARA+HOR grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında NF- κ B düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.001$; PARA+HOR100 $p<0.05$). PARA grubuna göre PARA+NAC grubunda NF- κ B düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı görüldü ($p<0.001$). Yine PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.05$) PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu bulundu. PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR50 grubu arasında ($p<0.05$) ve PARA+HOR50 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.001$) istatistiksel fark bulunması ile üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı NF- κ B düzeyini düşürdüğü görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda NF- κ B düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak değişmediği görüldü.

Karaciğer Dokusunda TNF- α Ekspresyonu Bulguları: TNF- α düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLI grubuna kıyasla anlamlı şekilde yükseldiği görüldü ($p<0.001$). PARA+NAC grubunun TNF- α düzeyi SAĞLIKLI grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). PARA+HOR grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında TNF- α düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.01$; PARA+HOR100 $p<0.05$) PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda TNF- α düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı ($p<0.001$) görüldü. Yine PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.05$) PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu bulundu. PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR50 grubu arasında ($p<0.05$) ve PARA+HOR25 grubuyla PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.01$) anlamlı bir farklılık olmasına rağmen PARA+HOR50 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmaması nedeniyle uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı TNF- α düzeyini azaltmadığı görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda TNF- α düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

Karaciğer Dokusunda IL-1 β Ekspresyonu Bulguları : IL-1 β düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı olarak yükseldiği görüldü ($p<0.001$). PARA+NAC grubunun IL-1 β düzeyi SAĞLIKLI grup ile mukayese edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p<0.05$). PARA+HOR grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında IL-1 β düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.001$; PARA+HOR100 $p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda IL-1 β düzeyinin anlamlı ölçüde düştüğü görüldü ($p<0.001$). Yine PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.001$) PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve

PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu bulundu. PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR50 grubu arasında ($p<0.001$) ve PARA+HOR50 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.001$) anlamlı bir farklılık olması IL-1 β düzeyinin doza bağlı düştüğünü göstermektedir. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda IL-1 β düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

Karaciğer Dokusunda IL-6 Ekspresyonu Bulguları: IL-6 düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre istatistiksel olarak yüksek olduğu bulundu ($p<0.001$). PARA+NAC grubunun IL-6 düzeyi SAĞLIKLI grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değerde görüldü ($p<0.05$). PARA+HOR grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında IL-6 düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.01$; PARA+HOR100 ($p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda IL-6 düzeyi anlamlı ölçüde azaldı ($p<0.001$). Yine PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.01$) PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu bulundu. PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR50 grubu arasında ($p<0.05$) ve PARA+HOR25 grubuyla PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.01$) anlamlı bir farklılık olmasına rağmen PARA+HOR50 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmaması uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı IL-6 düzeyini düşürmediğini gösterdi. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda IL-6 düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

Karaciğer Dokusunda TGF- β 1 Ekspresyonu Bulguları: TGF- β 1 düzeyi PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre istatistiksel anlamda yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.001$). PARA+NAC grubunun TGF- β 1 düzeyi SAĞLIKLI grup ile

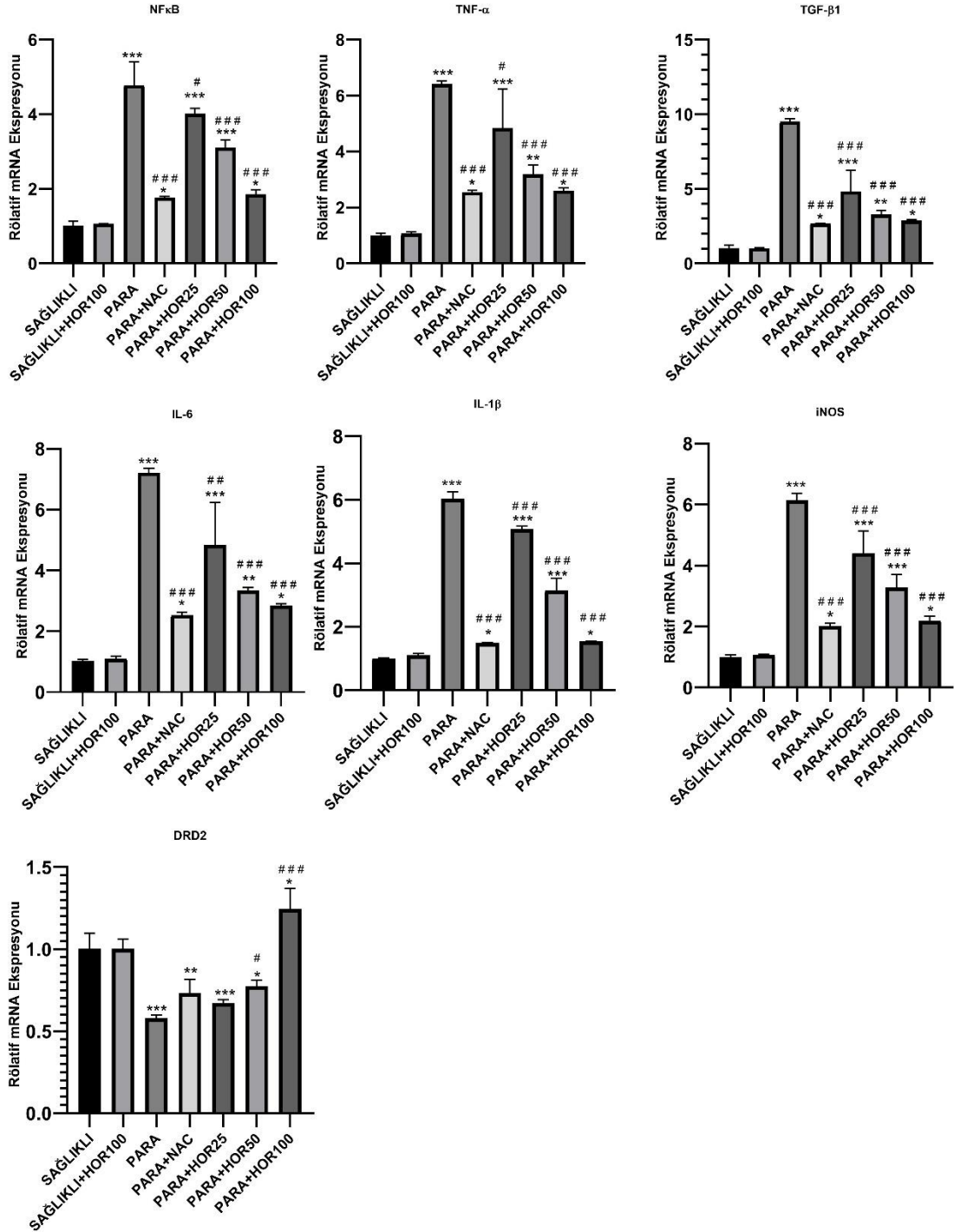
karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değerde görüldü ($p<0.05$). PARA+HOR gruplarıyla SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında TGF- β 1 düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu bulundu (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.01$; PARA+HOR100 $p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda TGF- β 1 düzeyinin anlamlı ölçüde azaldığı görüldü ($p<0.001$). Yine PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.001$) PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu bulundu. PARA+HOR25 grubuyla PARA+HOR50 grubu arasında ($p<0.05$) ve PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.01$) istatistiksel bir farklılık olmasına rağmen PARA+HOR50 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında anlamlı bir farklılık olmaması uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı TGF- β 1 düzeyini düşürmediğini gösterdi. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda TGF- β 1 düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

Karaciğer Dokusunda iNOS Ekspresyonu Bulguları: iNOS düzeyi PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p<0.001$). PARA+NAC grubunun iNOS düzeyi SAĞLIKLI grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p<0.05$). PARA+HOR grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında iNOS düzeylerinde anlamlı farklılık olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.001$; PARA+HOR100 $p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda iNOS düzeyi anlamlı ölçüde azaldı ($p<0.001$). Yine PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p<0.001$) PARA+HOR50 ($p<0.001$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu bulundu. PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR50 grubu arasında ($p<0.05$) ve PARA+HOR50 grubuyla PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.05$) anlamlı bir farklılık olması bize üç farklı hordenin dozunun

istatistiksel olarak doza bağılı iNOS düzeyini düşürdüğünü göstermektedir.

SAĞLIKLI+HOR100 grubunda SAĞLIKLI+HOR100 grubunda iNOS düzeyinin

SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.



Şekil 4.3. Real Time PCR ile ölçülen karaciğer dokusunda NF-κB, TNF-α, IL-1β, IL-6,

TGF-β1, iNOS ve DRD2 ekspresyonları. Sonuçlar Ortalama ± S.D. olarak ifade

edilmiştir. Grupların mRNA ekspresyonları SAĞLIKLI kontrol grubuna göre kat

değişimi olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar One Way ANOVA Post Hoc Tukey testine göre karşılaştırılmıştır ($p<0.05$). ***, ** ve * işaretleri diğer grupların SAĞLIKLI grubuyla karşılaştırıldığında; ###, ## ve # işaretleri ise PARA grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılığın sırasıyla $p<0.001$, $p<0.01$ ve $p<0.05$ olduğunu ifade etmektedir.

Karaciğer Dokusunda DRD2 Ekspresyonu Bulguları: DRD2 düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre azaldığı tespit edildi ($p<0.001$). PARA+NAC grubunun DRD2 düzeyi SAĞLIKLI grup ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değerde olduğu görüldü ($p<0.01$). PARA+HOR25 ve PARA+HOR50 grupları ile SAĞLIKLI grubu karşılaştırıldığında DRD2 düzeylerinin anlamlı bir şekilde düşük olduğu görüldü (PARA+HOR25 $p<0.001$; PARA+HOR50 $p<0.05$). PARA+HOR100 grubunda ise SAĞLIKLI gruptaki değerlerle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı şekilde daha yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda DRD2 düzeyinde anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 ($p>0.05$) grubu hariç PARA+HOR50 ($p<0.05$) ve PARA+HOR100 ($p<0.001$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş olduğu bulundu.

PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.001$) ve PARA+HOR50 grubu ile PARA+HOR100 grubu arasında ($p<0.001$) anlamlı bir farklılık olmasına rağmen PARA+HOR25 grubu ile PARA+HOR50 grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı, uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun istatistiksel olarak doza bağlı DRD2 düzeyini artırmadığı görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda DRD2 düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre istatistiksel olarak anlamlı değişmediği görüldü.

4.3. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarındaki ışık mikroskopik değişiklikler incelendiğinde, SAĞLIKLI grubunda karaciğer lobüler yapısındaki hepatositlerin sağlıklı olduğu, hücrelerin vena sentralisten lobulus periferine doğru radyal olarak düzenli bir şekilde sıralandığı görüldü. Remark plakları (hepatik cordon) olarak bilinen bu hücre kordonlarının düzenliliği, sinüzoidlerde ve endotel hücrelerinde herhangi bir yapısal bozukluk olmadığı görüldü.

SAĞLIKLI+HOR100 grubunda, karaciğer dokusunda yapısal bozulma veya nekroz izlenmedi. Remark plaklarının düzenli sıralanması ve sinüzoid yapısının korunması, sağlıklı bir karaciğer yapısını destekleyen bulgular arasında olduğu görüldü.

PARA grubunda, çok sayıda nekrotik odak gözlemlenmiş olup, parankim bölgesindeki hepatositlerde belirgin eozinofili, çekirdeklerde hiperkromazi ve hücre membranında düzensizlik tespit edildi. Ayrıca, sinüzoidlerdeki düzensizlikler ve yapısal bozulmalar dikkat çekici olduğu görüldü.

PARA+NAC grubunda NAC'nin karaciğer dokusunda koruyucu etki gösterdiği belirlendi. Hücreler arasındaki düzen, SAĞLIKLI grubuna yakın bir şekilde korunurken, herhangi bir nekrotik hücre varlığına rastlanmadı ve hepatositlerin morfolojisi sağlıklı bir görünüme sahip olduğu tespit edildi.

Parasetamol ile düşük doz hordenin (25 mg) uygulanan grupta ise parankim yapısında iyileşme görüldü; hücre diziliminde düzensizlikler hafifledi ve inflamasyon ile nekroz, yalnızca parasetamol grubuna kıyasla azaldı. Orta doz hordenin (50 mg) uygulanan grupta bu iyileşmenin daha belirgin olduğu ve soluk boyanan alanların azaldığı kaydedildi. Hücrelerin dizilimi daha düzenli, sinüzoid yapısı ise daha iyi korunmuş durumda olduğu görüldü.

PARA+HOR100 grubunda karaciğer dokusunda parankim yapısının daha sağlıklı olduğu görüldü ve nekrotik hücrelere rastlanmadı. Hücrelerin yapısal bütünlüğü ve

düzeni, SAĞLIKLI grubuna yakın bir görünümdeydi. SAĞLIKLI, PARA, PARA+NAC ve hordeninin artan dozlarıyla tedavi edilen gruplara ait histopatolojik inceleme sonuçları, Şekil 4.4'te sunulmuştur. Dokulara ait histopatolojik skorlamalar Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Tüm gruplara ait karaciğer dokularının histopatolojik bulgularının skorlanması

Grup	Hepatosit Nekrozu	Eozinofili / Hiperkromazi	Sinüzoid Bozukluğu	Parankim Düzeni / İnflamasyon
SAĞLIKLI	-	-	-	-
SAĞLIKLI+HOR100	-	-	-	-
PARA	++++	++++	++++	++++
PARA +NAC	-	-	+	+
PARA+HOR25	+++	++	+++	+
PARA+HOR50	++	+	++	+
PARA+HOR100	+	-	+	-

4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

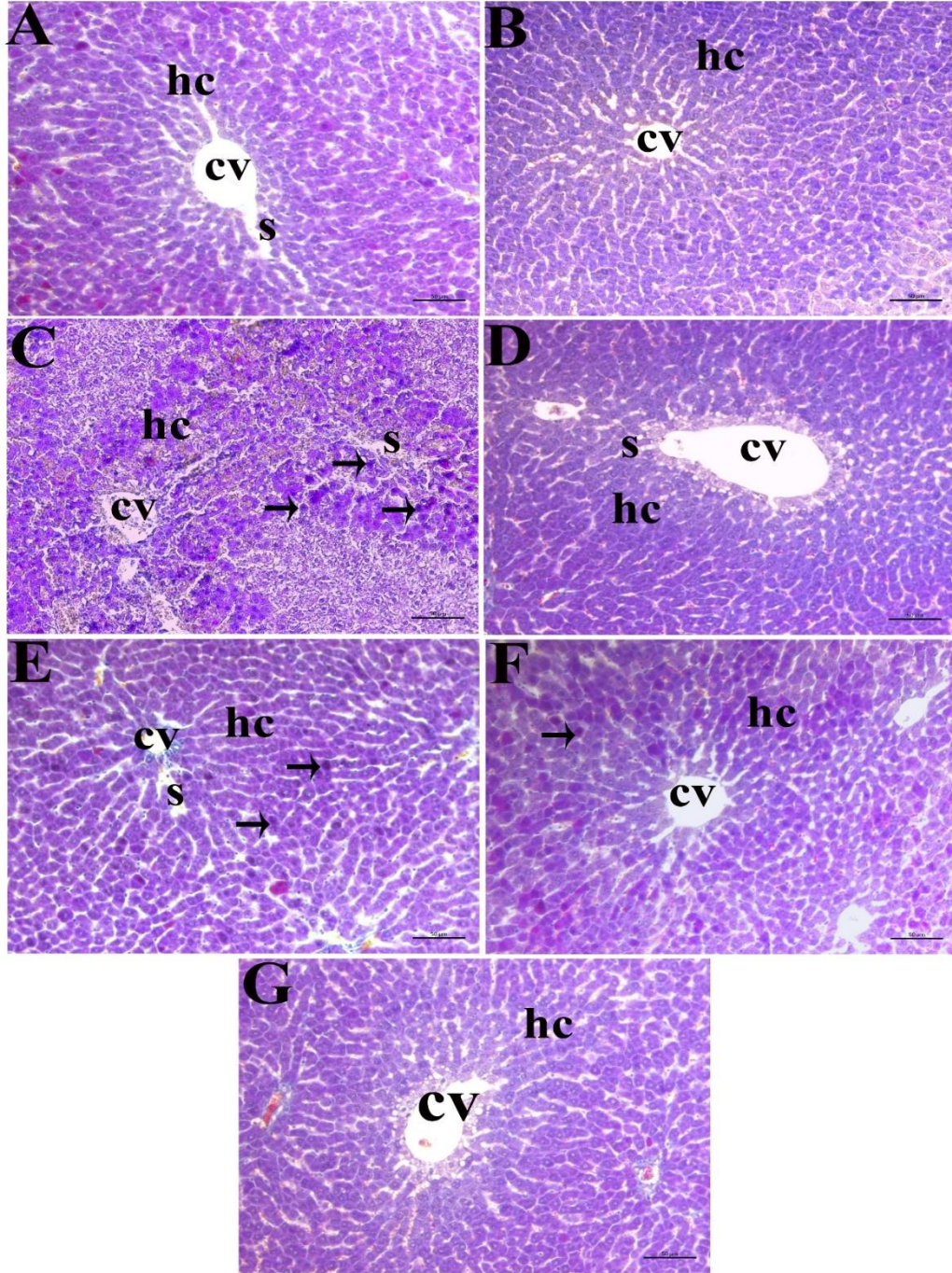
İmmünohistokimyasal boyama bulguları incelendiğinde, TNF- α için gruplar arası immünoreaktivite farklılıkları gözlemlendi. SAĞLIKLI grubunda oldukça düşük düzeyde olan TNF- α immünoreaktivitesi, PARA grubunda belirgin bir şekilde arttı. Ancak, parasetamol ile farklı dozlarda hordenin uygulanan gruplarda, doza bağlı olarak TNF- α immünoreaktivitesinde azalma olduğu görüldü. Özellikle PARA+HOR100 grubunda TNF- α ekspresyonunun PARA grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğu gözlemlendi. SAĞLIKLI, PARA, PARA+NAC ve hordeninin artan dozlarıyla tedavi edilen

gruplara ait TNF- α immün boyama bulguları, Şekil 4.5'te sunulmuştur.

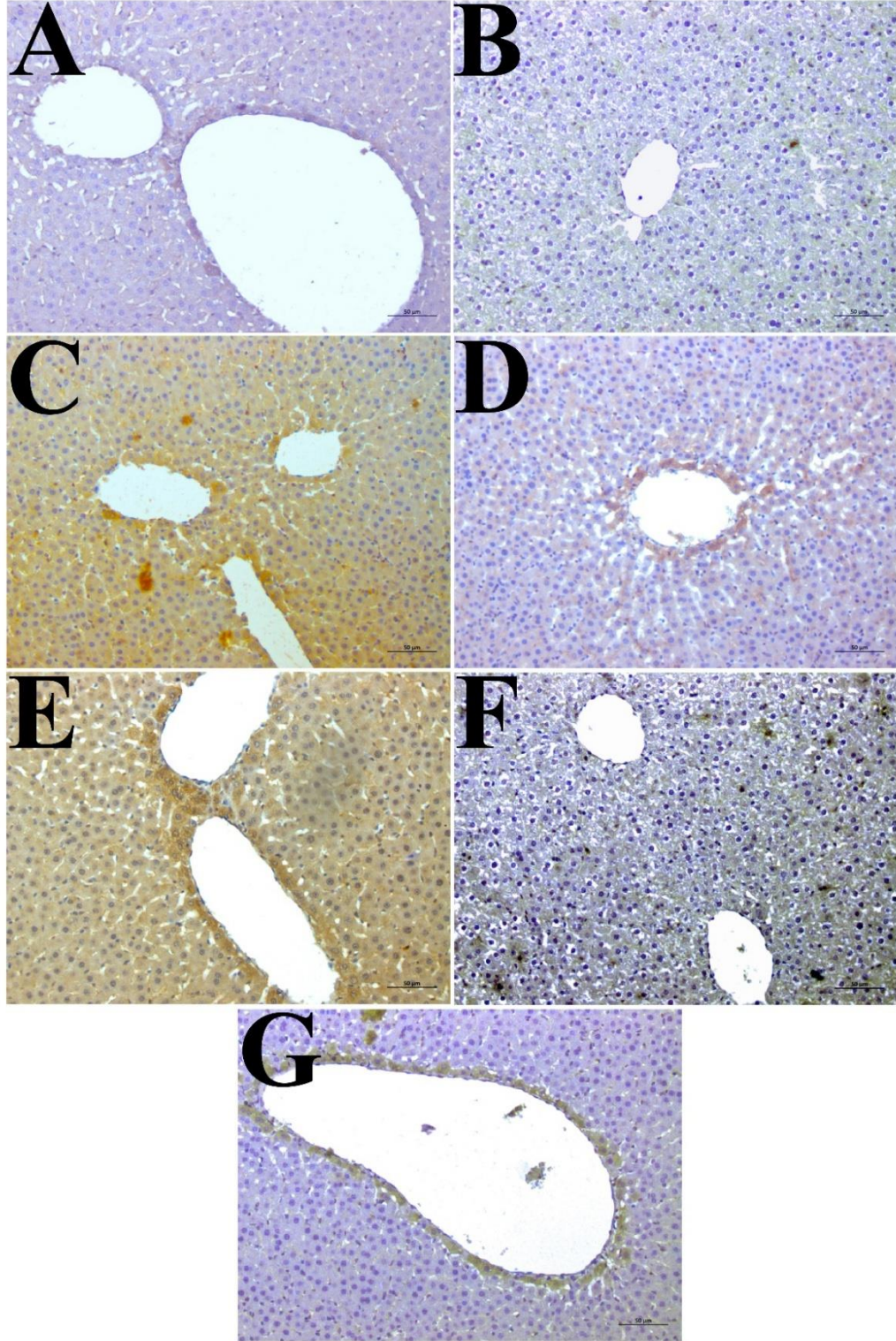
SAĞLIKLI kontrol grubunda D2DR immünreaktivitesi hafif pozitif seviyelerde gözlemlendi. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda ise D2DR immünreaktivitesinde hafif bir artış gözlemlendi. PARA grubunda, toksisite sonucu D2DR immünreaktivitesinin negatif veya çok düşük seviyelere olduğu bulundu. PARA+NAC grubunda NAC'ın antioksidan etkisi ile D2DR reaktivitesinin orta derecede pozitif olduğu ve daha dengeli bir seviyeye indiği gözlemlendi. PARA+HOR25 grubunda D2DR immünreaktivitesinin hafif pozitif, PARA+HOR50 grubunda ise orta pozitif olduğu tespit edildi. PARA+HOR100 grubunda ise D2DR immünreaktivitesinin belirgin bir şekilde pozitif seviyelere ulaştığı gözlemlendi. SAĞLIKLI kontrol, PARA, PARA+NAC ve hordeninin artan dozlarıyla tedavi edilen gruplara ait D2DR immün boyama bulguları, Şekil 4.6' da sunulmuştur. Karaciğer dokusunda anti-TNF- α ve anti-D2DR antikorlarının immünreaktivitesine ait skorlar Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Karaciğer dokusunda anti-TNF- α ve anti-D2DR antikorlarının immünreaktivitesine ait skor tablosu

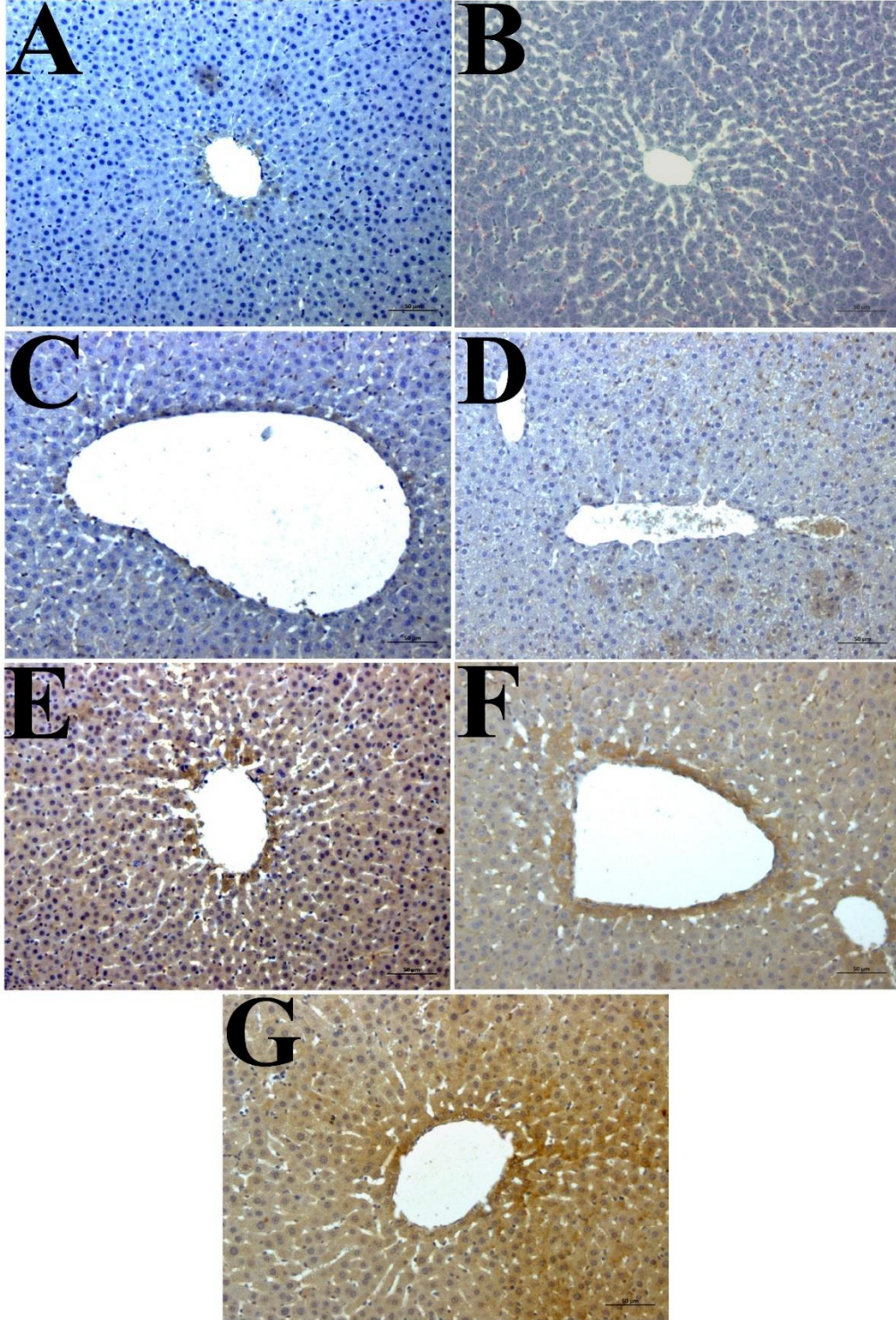
Gruplar	anti-TNF- α	anti-D2DR
SAĞLIKLI (Kontrol)	-	++
SAĞLIKLI+HOR100	+	++
PARA	+++++	+
PARA+NAC	++	++
PARA+HOR25	++++	+
PARA+HOR50	+++	++
PARA+HOR100	++	++++



Şekil 4.4. Karaciğer örneklerinden elde edilen ışık mikroskopik kesitler (Boya: Mallory'nin modifiye ettiği Corsman'ın üçlü boyası, Büyütme X200): A: SAĞLIKLI, B: SAĞLIKLI+HOR100, C: PARA, D: PARA+NAC, E: PARA+HOR25, F: PARA+HOR50, G: PARA+HOR100; cv: santral ven; hc: hepatik kordon; s: sinüzoid; ok: nekrotik hücre.



Şekil 4.5. İmmünohistokimyasal olarak anti-TNF- α ile boyanan karaciğer dokusuna ait görüntü, (Avidin-biotin Metodu, Büyütme X200) A: SAĞLIKLI, B: SAĞLIKLI+HOR100, C: PARA, D: PARA+NAC, E: PARA+HO25, F: PARA+HOR50, G: PARA+HOR100.



Şekil 4.6. İmmünohistokimyasal olarak anti-D2DR ile boyanan karaciğer dokusuna ait görüntü, (Avidin-biotin Metodu, Büyütme X200) A: SAĞLIKLI, B: SAĞLIKLI+HOR100, C: PARA, D: PARA+NAC, E: PARA+HOR25, F: PARA+HOR50, G: PARA+HOR100

5. TARTIŞMA

Parasetamol/asetaminofen dünyada en popüler ve en sık kullanılan analjezik ve antipiretik ilaçlardan biridir ve hem tek başına hem de kombine preparatlar halinde reçetesiz olarak temin edilebilmektedir (Hartmut Jaeschke ve ark., 2020; Józwiak-Bebenista & Nowak, 2014). Aynı zamanda tıbbi kullanımdaki en tehlikeli bileşiklerden biridir ve gelişmiş ülkelerde akut karaciğer yetmezliği nedeniyle yüzlerce ölüme neden olmaktadır (K Brune ve ark., 2015; Stravitz & Lee, 2019). Özellikle yüksek dozlarda alındığında hepatotoksisiteye neden olmakta ve hatta karaciğer transplantasyonuna ihtiyaç oluşmaktadır (Larson ve ark., 2005). Parasetamol çoğunlukla sülfat ve glukuronid konjugasyonuna metabolize olur (>%80) ve %2'si de değişmeden idrarla atılır. Parasetamolün küçük bir kısmı (%10-15) ise hepatik sitokrom P450 izoenzimleriyle (CYP2E1 çoğunluğu) hepatotoksik bir madde olan NAPQI dönüştür. NAPQI karaciğerde antioksidan molekül GSH ile konjuge edilerek deaktive edilir ve daha sonra safrayla atılabilir (Chidiac ve ark., 2023). Oluşan NAPQI hücresel antioksidan GSH'ı tüketerek ve özellikle mitokondri üzerinde protein eklentileri oluşturarak karaciğer hasarını başlatır. Bu durum mitokondriyal oksidatif stresle sonuçlanır ve bu da mitojenle aktifleşen protein JNK'nın aktivasyonuna ve mitokondriye translokasyonuna neden olur. Mitokondride fosforile edilmiş JNK, dış zar proteini Sab'a bağlanır ve elektron taşıma zincirinin blokajı sonucu solunum kompleksleri I ve III'ten süperoksit salıverilemesine neden olur. Süperoksit NO ile reaksiyona girerek mitokondri içerisinde oldukça reaktif nitrojen türü olan peroksi nitriti oluşturur, bu da tirozin kalıntılarının nitrasyonu yoluyla protein modifikasyonuna neden olur. Bu, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu güçlendirir, sonuçta mitokondriyal geçirgenlik geçişinin indüklenmesine ve endonükleaz G ve apoptoz indükleyici faktör gibi mitokondriyal proteinlerin sitozole salınmasına neden olur. Bu proteinlerin nükleer translokasyonu daha sonra DNA fragmentasyonuna ve son

olarak hepatosit nekrozuna neden olur (Chidiac ve ark., 2023; Hartmut Jaeschke ve ark., 2020).

Hordenin, kimyasal yapısı 4-(2-dimetilaminoetil)-fenol olarak bilinir ve semptomimetik ve dopamin agonisti bir alkaloiddir. Kaktüsler, tahıl fideleri (arpa, prosodarı, mısır, sorgum) ile bazı alg ve mantarlardan elde edilmektedir; özellikle çimlenmiş arpada yüksek oranda bulunur. Literatürde antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antitümör ve antifibrotik etkiler gösterdiği bildirilmektedir (Anwar ve ark., 2020; Hahn ve ark., 2022; Shuhao Su ve ark., 2018; Yingchun Su ve ark., 2022; Zhengguang Xu ve ark., 2023; Xiyue Zhang ve ark., 2021). Bu özelliklerinden dolayı ratlarda parasetamolle indüklediğimiz akut karaciğer hasarı modelinde hordeninin koruyucu etkilerini ilk kez göstermeyi amaçladık. Hem antioksidan olarak SOD, GSH ve MDA seviyelerine hem de dopamin agonisti olması nedeniyle serum dopamin, DRD2 mRNA ekspresyon ve IHC boyamasını, toksisite durumunda artan NF- κ B sinyal yolağının aktivasyonunu inhibe edebileceğini düşündüğümüzden NF- κ B seviyesini ve yolağın aktivasyonu sonucu salıverilen TNF- α , IL-1 β , IL-6 sitokinlerini ve iNOS enzim seviyesini mRNA düzeyinde inceledik. Ayrıca TNF- α IHC boyamasını gerçekleştirdik.

Hepatoselüler ve hepatobiliyer hasarı göstermek, modelimizin oluştuğunu ve verdiğimiz ilacın etkisinin olup olmadığını görmek için ilk serumda ALT, AST ve ALP seviyelerini ölçüldü. Yaptığımız çalışmada PARA gruplarında ALT, AST ve ALP seviyelerinin SAĞLIKLI kontrole göre arttığı görüldü. Üç farklı dozda uyguladığımız hordenin tedavi gruplarında PARA grubu ile karşılaştırıldığında bu enzim seviyeleri azaldı ve doza bağlı bir azalma ALT ve AST seviyelerinde gerçekleşti. Yine NAC uyguladığımız koruyucu tedavi grubunda da bu enzim seviyeleri azaldı.

ConA ile indüklenen immün karaciğer hasarında kontrol grubuna kıyasla ConA ile tedavi edilen grupta ALT ve AST düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuş,

hordenin ile tedavi edilen grupta ise bu düzeyler belirgin şekilde azalmıştır (Liu ve ark., 2025). Doğrudan hordeninin değil ama hordeninin de bileşen olarak bulunduğu bitkilerin kullanıldığı hayvan çalışmalarında bu enzimlerin seviyesinde azalma görülmüştür (M. Amir ve ark., 2016; S. Saheed ve ark., 2016). Ancak bu azalmaya bitkilerdeki hangi bileşenlerin etkili olduğu belirtilmemiştir. Literatüre bakıldığında hayvan modellerinde yüksek doz parasetamol sonrası ALT, AST ve ALP serum seviyelerinin arttığı ve antioksidan ajanlar kullanıldığında bu seviyelerin belirgin şekilde azaldığı belirtilmiştir (Aksakalli-Magden ve ark., 2023; Aly ve ark., 2020; Henneh ve ark., 2022; Ugan ve ark., 2023; Uzkeser ve ark., 2012). Yine literatüre bakıldığında NAC'ın bu enzimlerin seviyesini hasar durumunda düşürdüğü görülmektedir (Ntamo ve ark., 2021). Bu bulgular, antioksidan özelliği olduğu bilinen hordeninin parasetamol ile oluşan karaciğer hasarında artan ALT, AST ve ALP serum seviyelerini düşürdüğü bulgularımızı desteklemektedir.

Karaciğer lezyonlarına ve hepatosit hasarına histolojik boyutta bakıldığında hordenin uyguladığımız tedavi gruplarında ve NAC grubunda iyileşme görüldü. Parasetamol ile NAC birlikte uygulanan grupta, NAC'ın karaciğer dokusunda koruyucu etki gösterdiği belirlendi. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda, karaciğer dokusunda yapısal bozulma veya nekroz izlenmedi. Remark plaklarının düzenli sıralanması ve sinüzoid yapısının korunması, sağlıklı bir karaciğer yapısını destekleyen bulgular arasında olduğunu görüldü. PARA+HOR25 grubunda parankim yapısında iyileşme görüldü; hücre diziliminde düzensizlikler hafifledi ve inflamasyon ile nekroz, yalnızca parasetamol grubuna kıyasla azaldı. PARA+HOR50 grubunda bu iyileşmenin daha belirgin olduğu ve soluk boyanan alanların azaldığı kaydedildi. Hücrelerin dizilimi daha düzenli, sinüzoid yapısı ise daha iyi korunmuş durumdaydı. PARA+HOR100 grubunda ise karaciğer dokusunda parankim yapısının daha sağlıklı olduğu ve nekrotik hücrelere rastlanmadı.

Hücrelerin yapısal bütünlüğü ve düzeni, sağlıklı grubuna yakın bir görünümde olduğu görüldü. Sonuç olarak histolojik sonuçlara bakıldığında tasarladığımız akut karaciğer hasarının olduğu ve uyguladığımız hordeninin ve NAC'ın belirgin bir şekilde koruyucu etki yaptığı görüldü. ConA ile indüklenen immün karaciğer hasarında ConA uygulaması karaciğer dokusunda belirgin nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve yapısal bozulmalara yol açarken, hordenin tedavisi bu histolojik hasarı belirgin ölçüde hafifletmiş ve hepatosit bütünlüğünü koruduğu rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2025). LPS mastitis modelinde hordenin, LPS'nin oluşturduğu inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve yapısal bozulmayı azaltarak meme dokusunda histolojik iyileşme sağlamıştır (Xie ve ark., 2024). Alüminyum klorür ile oluşturulan Alzheimer hastalığı modelinde ise genel olarak, histopatolojik değerlendirmeler hordeninin özellikle yüksek dozda $AlCl_3$ 'nin neden olduğu kortikal ve hipokampal doku hasarını azalttığını, inflamasyonu baskıladığını ve nöronal yapıyı koruduğunu göstermektedir (Agrawal ve ark., 2024). Ülseratif kolit modelinde DSS'nin yol açtığı kolon mukozal hasarı hordenin (ülser, nekroz, goblet hücre kaybı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu) önemli ölçüde düzeltmiş; inflamatuvar mediyatörlerin aşırı ekspresyonunu baskılamış ve mukozal bariyer bütünlüğünü iyileştirmiştir (Xu ve ark., 2023). Streptozotosin ile diyabet oluşturulan farelerde karaciğerde hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonunun hordenin, insülin ve özellikle kombine tedavi bu inflamasyonu belirgin biçimde baskılamış olduğu, böylece karaciğer histolojisinin normale yakın görünüm kazandığı rapor edilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018). Literatürdeki histolojik bulgular histolojik bulgularımızı desteklemektedir.

Antioksidan aktiviteyi değerlendirmek ve GSH depolarının dolup dolmadığını göstermek amacıyla GSH seviyeleri incelendi. PARA grubu SAĞLIKLI kontrole göre düşük GSH düzeyine sahip olduğu görüldü. NAC uygulaması uygulanan grupta GSH düzeyi SAĞLIKLI gruba yaklaştığı tespit edildi. PARA+HOR gruplarında SAĞLIKLI

gruba göre GSH düzeyini yüksek olduğu görüldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda GSH düzeyinin arttığı tespit edildi. Uyguladığımız farklı hordenin dozları PARA grubu ile karşılaştırıldığında GSH düzeyini anlamlı bir şekilde arttığı görüldü. Ancak uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun doza bağlı GSH düzeyini yükseltmediği görüldü. Literatüre baktığımızda, hayvanlarda parasetamolle yapılan karaciğer hasarlarında GSH depolarının azaldığı gösterilmiştir (Aksakalli-Magden ve ark., 2023; Henneh ve ark., 2022; Palabiyik ve ark., 2016; Ugan ve ark., 2023). Yine bu çalışmalarda verilen antioksidan özellikli maddelerle ve NAC ile GSH depolarında artış olduğu görülmüştür. Literatürde Streptozotosin ile indüklenen diyabetik farelerde yapılan bir çalışmada hordenin verilen hayvanlarda mRNA seviyesinde GPx1 ekspresyonunun arttığı gösterilmiş (Shuhao Su ve ark., 2018) ancak GSH ölçümü yapılmamıştır. LPS ile indüklenen akut mastitis modelinde ise GSH düzeylerinin belirgin şekilde azaldığını ortaya konmuştur. Aynı çalışmada hordenin uygulamasının, GSH seviyelerinde LPS grubuna kıyasla anlamlı bir artış sağladığı ancak bu değerlerin SAĞLIKLI kontrol grubunun düzeylerine tam ulaşmadığı ileri sürülmüştür. Bu durum, hordeninin oksidatif stres kaynaklı GSH artırdığı ve hücrel antioksidan kapasitenin korunmasına katkı sağladığını düşündürmektedir (Xie ve ark., 2024). Alüminyum klorür ile oluşturulan Alzheimer hastalığı modelinde ise hordeninin GSH seviyesinin arttığı belirtilmiştir (Agrawal ve ark., 2024). Yine doğrudan hordeninin değil ama hordeninin de bileşen olarak bulunduğu bitkilerin kullanıldığı hayvan çalışmalarında GSH seviyelerinde artış görülmüştür (Mohd Amir ve ark., 2016; Chen & Li, 2015; Sabiu Saheed ve ark., 2016) Ancak bu artışta bitkilerdeki hangi bileşenlerin etkili olduğu belirtilmemiştir. Çalışmamızla birlikte hayvanlarda oluşan parasetamolle oluşan akut karaciğer hasarı sonucu GSH seviyesindeki azalmanın hordenin uygulamasıyla arttığını ilk defa göstermiş olduk.

GSH seviyelerinin ölçümüne ek olarak antioksidan parametre olarak SOD'a bakıldı. PARA grubunun SAĞLIKLI kontrole göre daha düşük SOD düzeyine sahip olduğu görüldü. PARA+NAC grubunda SOD düzeyinin SAĞLIKLI gruba yakınlaştırdığı tespit edildi. PARA+HOR gruplarında SAĞLIKLI gruba göre SOD düzeyinin yüksek olduğu görüldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda SOD düzeyi arttığı bulundu. Uyguladığımız farklı hordenin dozları PARA grubu ile karşılaştırıldığında SOD düzeyini artırdığı görüldü. Ancak uyguladığımız üç farklı hordenin dozunun doza bağlı SOD düzeyini yükseltmediği görüldü. SOD enzimi karaciğer hasarında çok önemli bir antioksidan enzimdir. Karaciğer hücreleri, özellikle ilaç toksisitesi gibi durumlarda yüksek düzeyde ROS üretir. SOD, bu ROS'ları detoksifiye eden ilk savunma hattıdır (Campos-Shimada ve ark., 2020; Xu ve ark., 2009). Yapılan hayvan deneylerinde hasar sonucu azalan SOD aktivitesinin antioksidan maddelerle tekrar yükseldiği görülmüştür (Fang ve ark., 2023; Kamiş & Karabağ, 2019). Streptozotosin ile indüklenen diyabetik farelerde yapılan bir çalışmada hordenin verilen hayvanlarda ROS seviyesinin azaldığı mRNA seviyesi düzeyinde SOD1, SOD2 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018). ConA ile indüklenen immün karaciğer hasarında ConA grubunda azalan SOD düzeyleri hordenin uygulanması ile yükselmiştir (Liu ve ark., 2025). Alüminyum klorür ile indüklenen Alzheimer hastalığı modelinde ise SOD seviyesinin hordenin uygulamasıyla arttığı belirtilmiştir (Agrawal ve ark., 2024). Yine doğrudan hordeninin değil ama hordeninin de bileşen olarak bulunduğu bitkilerin kullanıldığı hayvan çalışmalarında tedavi gruplarında SOD seviyelerinde artış görülmüştür (Mohd Amir ve ark., 2016; Chen & Li, 2015; Sabiu Saheed ve ark., 2016). Ancak bu artışa bitkideki hangi bileşenlerin neden olduğu bilinmemektedir. Bu çalışmalar bizim bulgularımızı teyit etmektedir.

Oksidatif hasarın önemli bir belirteci olan MDA seviyelerini de inceledik. PARA grubunun SAĞLIKLI kontrole göre yüksek MDA düzeyine sahip olduğu görüldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda MDA düzeyi azaldı. Uyguladığımız farklı hordenin dozlarının PARA grubu ile karşılaştırıldığında MDA düzeyini azalttığı görüldü. Parasetamol metabolizması sırasında açığa çıkan toksik ara ürün NAPQI, hücredeki glutatyon (GSH) rezervlerini hızla tüketirken, oksidatif stresi artırır. Bu nedenle parasetamol zehirlenmesinde GSH miktarı azalırken lipid peroksidasyonu sonucu MDA birikir. Hordenin ile yapılan bir çalışmada LPS uygulaması sonrası MDA düzeyleri anlamlı şekilde artmıştır, bu da oksidatif stresin göstergesidir. Hordenin tedavisi, MDA düzeylerini anlamlı şekilde azaltmıştır. Bu azalma, hem hücre kültürü (Eph4-Ev hücreleri) hem de LPS ile oluşturulmuş mastitis modelindeki farelerde gözlemlenmiştir (Xie ve ark.,2024). ConA ile indüklenen immün karaciğer hasarı modelinde ise ConA grubunda artan MDA düzeyleri hordenin ile azalmıştır (Liu ve ark., 2025). Yapılan hayvan çalışmalarında parasetamol toksisitesi gerçekleşen hayvanlarda MDA seviyesinin yükseldiği, antioksidan madde verilen tedavi gruplarında ise MDA seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (Damayanti ve ark., 2023; Zhang ve ark., 2024). Bu sebeple, Bulgumuz literatürdeki sonuçlarla örtüşmektedir.

Karaciğer hasarında sitokinlerin artışı hasara katkıda bulunmaktadır. Çalışmamızda sitokin salıverilmesini tetikleyerek karaciğer hasarını artıran NF- κ B seviyesi ve hasar sırasında artacağını düşündüğümüz sitokinlerden TNF- α , IL-1 β ve IL-6'nın mRNA ekspresyonları incelendi.

NF- κ B düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre yükseldiği görüldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda NF- κ B düzeyi azaldığını görüldü. PARA grubu ile farklı doz hordenin tedavi dozları karşılaştırıldığında NF- κ B düzeyi doza bağlı azaldı. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda NF- κ B düzeyinde SAĞLIKLI

gruba göre bir değişim görölmedi. TNF- α düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLİ kontrole göre yüksek derecede olduğu göröldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda TNF- α düzeyi azaldı. PARA grubu ile farklı tedavi dozları karşılaştırıldığında TNF- α düzeyinde azalma göröldü ancak bu azalma doza bağlı bir azalma olarak gerçekleşmedi. SAĞLIKLİ+HOR100 grubunda TNF- α düzeyinde SAĞLIKLİ gruba göre bir değişim görölmedi. Histolojik olarak TNF- α IHC boyaması yapıldı. SAĞLIKLİ kontrol grubunda oldukça düşük düzeyde olan TNF- α immünoreaktivitesi, parasetamol grubunda belirgin bir artış gösterdi. Ancak, parasetamol ile farklı dozlarda hordenin uygulanan gruplarda, doza bağlı olarak TNF- α immünoreaktivitesinde azalma olduğu kaydedildi. IL-1 β düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLİ kontrole göre arttığı göröldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda IL-1 β düzeyi azaldı. Yine PARA grubu ile farklı tedavi dozları karşılaştırıldığında tedavi gruplarında doza bağlı olarak IL-1 β düzeyi azaldı. SAĞLIKLİ+HOR100 grubunda IL-1 β düzeyi SAĞLIKLİ gruba değişmedi. IL-6 düzeyi PARA grubunda SAĞLIKLİ kontrole göre yüksekti. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda IL-6 düzeyi azaldı. PARA grubu ile farklı tedavi dozları karşılaştırıldığında tedavi gruplarında IL-6 düzeyinde azalma oldu. Ancak bu azalma doza bağlı bir azalma şeklinde olmadı. SAĞLIKLİ+HOR100 grubunda IL-6 düzeyi SAĞLIKLİ gruba göre değişmedi.

Literatürdeki parasetamol toksisitesi ile ilgili çalışmalara baktığımızda, parasetamol toksisitesi ile artan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi pro-inflamatuar genlerin karaciğerdeki mRNA düzeylerinin bir antioksidan olan paeonol uygulanması ile doza bağımlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Paeonol uygulanmasının, NF- κ B sinyalini inhibe ettiği de ileri sürölmüştür (Ding ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada ise İpekböceği pupa yağı (SPO) parasetamol toksisitesinde verilmiş ve NF- κ B p65, TNF- α

ve IL-6 sitokin ekspresyonlarının parasetamol ile belirgin şekilde yükseldiği, antioksidan SPO ile bu sitokinlerin seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir (Long ve ark., 2020).

Yapılan başka bir çalışmada ise I κ B β knock-in fareler (AKB fare) kullanılarak parasetamol toksisitesine yapılmıştır. Sürekli I κ B β / NF- κ B sinyalinin toksik parasetamol maruziyetinden sonra abartılı biyokimyasal hasara yol açtığını ve maruziyetten 24 saat sonra hepatik hasar için serolojik belirteçlerde artış olduğu gösterilmiştir. Hasar sonucu TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyelerinde artış olduğu da gösterilmiştir. Sonuç olarak çalışma bulguları I κ B β tarafından aracılık edilen sürekli NF- κ B aktivitesinin parasetamol kaynaklı hasara katkıda bulunduğunu göstermektedir (Sherlock ve ark., 2022). Literatürdeki birçok çalışma bizim bulgularımızla paralel bir şekilde NF- κ B ile TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinlerin parasetamolle oluşturulan hepatotoksositeye aracılık ettiği anlaşılmaktadır.

Hordenin ile yapılan deneysel çalışmalara baktığımızda ConA ile indüklenen immün karaciğer hasarında hordenin uygulaması hepatik doku hasarını hafifletmiş ve immünohistokimyasal analizler ConA'nın tetiklediği proinflamatuvar sitokinler (IL-6, IL-1 β ve TNF- α) üzerindeki artışı hordeninin azalttığını ortaya koymuştur (Liu ve ark., 2025). Hordeninin alüminyum klorür ile oluşturulan Alzheimer hastalığı modelinde inflamatuvar sitokinleri (IL-1 β , TNF- α) ve NF- κ B aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (Agrawal ve ark., 2024). Hordenin ile yapılan deneysel çalışmalara baktığımızda bir çalışmada farelerde LPS ile oluşturulmuş akciğer hasarına karşı hordeninin koruyucu etkileri gösterilmiştir. Bu çalışmada NF- κ B yolağının hordeninin antiinflamatuvar etkisi sonucu inhibe edildiği gösterilmiştir. Yine bu çalışma da hordeninin inflamatuvar sitokinler IL-6, IL-1 β ve TNF- α seviyelerini azalttığı da gösterilmiştir (X. Zhang ve ark., 2021). Yapılan başka bir çalışmada hordenin BV-2 hücrelerinde LPS tarafından tetiklenen inflamatuvar yanıtları azaltarak nöroinflamasyonu inhibe etmiştir. Çalışmada

nöroinflamasyon sırasında artan IL-6 ve TNF- α gibi inflamasyon faktörlerinin seviyelerinde de azalma gösterilmiştir (Y. Su ve ark., 2022). Başka bir deneysel bir çalışmada farelerde ülseratif kolit modeli oluşturulmuş ve hordeninin yararlı etkileri gösterilmiştir. Çalışmada inflamasyon sırasında artan IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi inflamasyon faktörlerinin ekspresyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada mukozal iyileşmeye katkı sunduğu gösterilmiştir (Xu ve ark., 2023). Streptozotosin ile diyabet indüklenmesi yapılan çalışmada farelerde IL-6 ve IL-1 β sitokinlerin seviyeleri artmış ve hordenin ile yapılan tedavi sonucunda farelerde IL-6 ve IL-1 β sitokinlerin azaldığı gösterilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018).

Literatüre bakıldığında aktif NF- κ B sinyalleme, çok sayıda inflamatuvar sitokin ve kemokin ile hücre sağ kalımını ve apoptozu düzenleyen proteinlerin transkripsiyonunu artırır. Aşırı parasetamol maruziyetinden sonra hepatik hasarı azaltan çeşitli müdahalelerin, azalmış NF- κ B aktivasyonu ve azalan sitokin üretimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışmada kullandığımız hordeninin de yapılan çalışmalarda NF- κ B aktivasyonunu baskıladığı ve sitokin üretimini azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz NF- κ B, IL-6, IL-1 β ve TNF- α mRNA ekspresyon sonuçları ile TNF- α IHC boyama görüntüleri literatüre paralel olarak uyguladığımız akut karaciğer hasar modelinin oluştuğunu ve antiinflamatuvar ve antioksidan ajan olan hordeninin burada NF- κ B aktivasyonunu ve akabinde sitokin seviyelerini azaltarak hasara yönelik koruyucu etkilerini göstermiştir.

Akut karaciğer hasarında fibrozis, doku onarımını destekleyen geçici bir yanıt olarak gelişmekle birlikte, bu sürecin kontrolsüz ilerlemesi parankimal yapının bozulmasına ve organ fonksiyonlarının kalıcı olarak zarar görmesine neden olabilir. Akut karaciğer hasarı durumunda doku fibrozisini incelemek amacıyla mRNA seviyesinde TGF- β 1 düzeyi incelendi. PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre yüksek olduğu

görüldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda TGF- β 1 düzeyi azaldı. Yine PARA grubu ile farklı tedavi dozları karşılaştırıldığında tedavi TGF- β 1 düzeyi azaldı. Ancak bu azalmaya doza bağlı azalma eşlik etmedi. Sonuçlarımız akut karaciğer hasarı esnasında TGF- β 1 düzeyi artışıyla fibrozisin tetiklendiğini ve hordenin uygulamasıyla fibrozisin TGF- β 1 düzeyinin azaltılmasıyla önlenebileceğini göstermektedir. Diyabetli farelerde yapılan bir çalışmada böbrek dokusunda TGF- β 1 seviyesi hordenin uygulamasıyla anlamlı bir şekilde azaldığı ve fibrozisin gerilediği gösterilmiştir (Shuhao Su ve ark., 2018).

Literatürde TGF- β 1 sinyalinin hasarı artırdığını göstermektedir. Bir çalışmada farelerde parasetamolle indüklenen toksisitede TGF β R1 blokajı ile karaciğer dokusunda nekroze alanlar azalmış ve rejenerasyon artmıştır (McMillin ve ark., 2019). Başka bir parasetamol hepatotoksitesi çalışmasında, toksisite ile TGF- β seviyesi artmış ve bir antioksidan olan Sinomenin kullanıldığında TGF- β /Smad yolağı inhibe edilmiş böylece oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt azalarak parasetamol kaynaklı akut karaciğer hasarının hafiflediği ifade edilmiştir (Chen ve ark., 2020). Başka bir çalışmada 2, 6 ve 10 hafta boyunca farelere parasetamol uygulanmış ve çalışma sonunda TGF- β 1'in karaciğerde fibroze yol açtığı gösterilmiştir (Bai ve ark., 2017). Başka bir çalışmada ise farklı olarak TGF- β ve kemik morfogenetik proteinleri yollarının koordineli aktivasyonunun otofajiyi birlikte uyardığını ifade etmektedirler. Her iki yoldaki sinyallemeği engellemek başlangıçta asetaminofen kaynaklı karaciğer hasarını kötüleştirse de nihayetinde doku rejenerasyonunu ve iyileşmesini hızlandıracağını ileri sürmektedirler (Stavropoulos ve ark., 2022). Ancak uzun vadede TGF- β düzeyinin artışı iyileşmeyi hızlarsa da akut dönemde hızlı oluşan hasara katkı sağladığı literatürde açıkça belirtilmektedir. Sonuçlarımız akut karaciğer hasarı esnasında TGF- β 1 düzeyi artışıyla fibrozisin tetiklendiğini ve hordenin uygulamasıyla fibrozisin TGF- β 1 düzeyinin

azaltılmasıyla önlenebileceğini göstermektedir. Literatürdeki çalışmalarda sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Çalışmamızda iNOS seviyesini mRNA düzeyinde inceledik. iNOS düzeyinin PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre yüksek olduğu görüldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda iNOS düzeyinin azaldığı tespit edildi. Yine PARA grubu ile farklı tedavi dozları karşılaştırıldığında tedavi gruplarında doza bağlı olarak iNOS düzeyi azaldı. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda iNOS düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre bir farklılık görülmedi. NAC ve çeşitli antioksidan/hepatoprotektif bileşikler parasetamol toksisitesinde artan iNOS seviyelerini düşürmektedir. Örneğin NAC öntedavisi karaciğerde NF- κ B p50 ve iNOS protein seviyelerini anlamlı şekilde düşürdüğü yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Koshak ve ark., 2023). Fukoksantin gibi karotenoidler ve kersetin+rezveratrol gibi polifenoller, parasetamol ile indüklenen iNOS ekspresyonunu ve nitrojen/oksidatif stres belirteçlerini azaltmıştır. Bunun sonucunda serum ALT/AST artışları ve histopatolojik hasarın hafiflediği ileri sürülmüştür (Alqahtani ve ark., 2023; Koshak ve ark., 2023). Benzer şekilde withanolide zengini preparatlar parasetamol sonrası artan iNOS mRNA ve NO artışını engellemiş, karaciğerin antioksidan kapasitesini artırmıştır (Devkar ve ark., 2016). Ayrıca nikorandil parasetamol kaynaklı NO aşırı üretimini ve iNOS ekspresyonunu hafifletmiştir; ancak, eNOS'un protein ekspresyonu önemli ölçüde artmıştır (El-Kashef & Sharawy, 2023). Hordeninle yapılan bir çalışmada LPS ile akut karaciğer hasarında iNOS seviyesinin arttığı, hordenin uygulamasıyla iNOS seviyesinin azaldığı görülmüştür (M. Li ve ark., 2022). Yapılan başka bir çalışmada hordenin BV-2 hücrelerinde LPS tarafından tetiklenen inflamasyonla iNOS seviyelerinde artış görülmüş ve hordenin uygulamasıyla iNOS seviyesi azalmıştır (Y. Su ve ark., 2022). Literatürdeki bu bulgular, iNOS'un parasetamol hasarında önemli rol oynadığını ve iNOS seviyesindeki azalmaların hepatoprotektif etki sağladığını

göstermektedir. Çalışmamızda doza bağlı iNOS seviyesinin azalması hasarda hordeninin önemli yararları olduğunu göstermektedir.

Hordenin bir dopamin agonisti (Hahn ve ark., 2022; Sommer ve ark., 2017) olması nedeniyle bu özelliğinin tedaviye katkısını incelemek için DRD2 mRNA seviyesine, DRD2 IHC boyama ile histolojik bulgularına ve serum dopamin seviyelerine bakıldı. DRD2 reseptörlerinin karaciğer hasarındaki rolünü DRD2 IHC boyama ile teyit etmek istedik. SAĞLIKLI kontrol grubunda D2DR immünreaktivitesi hafif pozitif seviyelerde gözlemlendi. Parasetamol toksikasyonu grubunda, toksisite sonucu D2DR immünreaktivitesinin negatif veya çok düşük seviyelere indiği bulundu. Parasetamol NAC grubunda NAC'ın antioksidan etkisi ile D2DR reaktivitesinin orta derecede pozitif olduğu ve daha dengeli bir seviyeye indiği gözlemlendi. PARA+HOR25 grubunda D2DR immünreaktivitesinin hafif pozitif, PARA+HOR50 grubunda ise orta pozitif olduğu tespit edildi. PARA+HOR100 grubunda ise D2DR immünreaktivitesinin belirgin pozitif seviyelere ulaştığı gözlemlendi. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda ise D2DR immünreaktivitesinde hafif bir artış gözlemlendi.

DRD2 mRNA düzeyi PARA grubunda SAĞLIKLI kontrole göre azaldığı tespit edildi. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda DRD2 düzeyinde anlamlı bir artma görülmedi. PARA grubu ile tedavi dozları karşılaştırıldığında DRD2 seviyesinde doza bağlı olmayan bir artış olduğu görüldü. DRD2 IHC boyama sonuçlarına bakıldığında mRNA sonuçlarını destekleyecek bulgular görüldü. PARA grubunda, toksisite sonucu DRD2 immünreaktivitesinin negatif veya çok düşük seviyelere indiği bulundu. Parasetamol NAC grubunda NAC'ın antioksidan etkisi ile DRD2 reaktivitesinin orta derecede pozitif olduğu ve daha dengeli bir seviyeye indiği gözlemlendi. PARA+HOR25 grubunda DRD2 immünreaktivitesinin hafif pozitif, PARA+HOR50

grubunda ise orta pozitif olduğu tespit edildi. PARA+HOR100 grubunda ise DRD2 immünreaktivitesinin belirgin pozitif seviyelere ulaştığı gözlemlendi.

Serum dopamin seviyesine bakıldığında ise PARA grubu SAĞLIKLI kontrole göre düşük serum dopamin düzeyine sahip olduğu görüldü. PARA grubu ile karşılaştırıldığında PARA+NAC grubunda serum dopamin düzeyinin arttığı bulundu. Yine PARA grubu ile farklı tedavi dozları karşılaştırıldığında PARA+HOR25 grubundaki artış az iken, diğer gruplarda önemli oranda artış olduğu görüldü. SAĞLIKLI+HOR100 grubunda serum dopamin düzeyinin SAĞLIKLI gruba göre değişim görülmedi. Deneysel çalışmalarda akut karaciğer hasarı oluşturulan hayvanlarda dopamin ve bazı agonistlerinin yararlı etkileri gösterilmiştir (M. Li ve ark., 2022; S. Yue ve ark., 2021; H. Zhou ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada LPS/D-Gal'e maruz bırakılan fareler dopamin ile tedavi edilmiş ve histolojik lezyonların insidansının azaldığı, plazma ALT, AST seviyelerinin düştüğü ve LPS/D-Gal'e maruz bırakılan farelere kıyasla sağkalım oranlarının iyileştiği görülmüştür. Dopamin ile tedavi ayrıca LPS/D-Gal'in neden olduğu TNF- α üretimini, JNK fosforilasyonunu yukarı regülasyonunu baskıladığı ve TUNEL pozitif hepatosit sayısını azalttığı ileri sürülmüştür. Bu veriler dopaminin farelerde LPS/D-Gal'in neden olduğu şiddetli karaciğer hasarını zayıflattığını göstermektedir, bu da dopaminin inflamatuvar karaciğer hastalığının önlenmesinde değerli olabileceğini göstermektedir (H. Zhou ve ark., 2018). Bir çalışmada Ergot olmayan bir dopamin reseptör agonisti olan rotigotin uzatılmış salımlı mikroküreler (RoMS) esas olarak DRD2'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Bu çalışma, RoMS'nin farelerde LPS kaynaklı karaciğer hasarını hafifletip hafifletemeyeceğini araştırmayı amaçlamıştır. Sonuçlar, tek doz RoMS ile önceden uygulamanın LPS tarafından indüklenen ALT, AST artışını engelleyebileceğini, karaciğer dokusunun patolojik hasarını hafifletebileceğini ve TNF- α ve IL-6 seviyelerini

azaltılabileceğini göstermiştir. LPS uygulaması ile DRD2 seviyesinde azalma görülmüş ve RoMS, DRD2'leri aktive ederek ve β -arrestin2'ye bağlı Akt/NF- κ B sinyal yolunu negatif olarak düzenleyerek karaciğer hasarını hafiflettiği ileri sürülmüştür. RoMS'nin etkileri, spesifik DRD2 antagonisti R121 tarafından zayıflatılabilirliği veya ortadan kaldırılabilirliği tespit edilen bir diğer husustur. Sonuç olarak, DRD2'lerin aktivasyonunun, pro-inflamatuvar sitokinlerin salıverilmesini inhibe ettiği ve farelerde LPS tarafından indüklenen bağışıklık aracılı karaciğer hasarını hafiflettiği ileri sürülmüştür (M. Li ve ark., 2022). Diğer bir çalışmada LPS/D-galaktozamin (D-Gal) kaynaklı akut karaciğer hasarı üzerine Rotigotin'in etkileri incelenmiştir. Rotigotin tedavisi sadece karaciğer histolojik lezyonlarını iyileştirmekle kalmadığı, aynı zamanda serum ALT, AST aktivitelerini ve TNF- α üretimini de azalttığı görülmüştür. Ayrıca, rotigotin ve RoMS'nin LPS/D-Gal'e maruz kalan farelerde DRD2 ekspresyonunu artırdığını bulmuşlardır. Rotigotin ve RoMS, β -arrestin 2'yi aktive ettiği, Akt, I κ B'nin fosforilasyonunu ve NF- κ B'nin aktivasyonunu inhibe ettiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada rotigotin'in koruyucu etkilerinin, bir dopamin reseptör antagonisti olan haloperidol tarafından ortadan kaldırıldığı da görülmüştür (S. Yue ve ark., 2021). Literatürde dopamin ve agonistlerinin akut karaciğer hasarında koruyucu etkileri bu şekilde ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızın DRD2 mRNA seviyeleri, DRD2 IHC boyama bulguları ve serum dopamin seviyeleri hordeninin dopamin agonisti olarak benzer yönde koruyucu etkilerinin olduğunu göstermektedir. Bunun yanında dopamin agonistinin NF- κ B'nin aktivasyonunu inhibe etmiş (S. Yue ve ark., 2021) olması açısından çalışmamızı değerlendirdiğimizde parasetamolle indüklenen akut karaciğer hasarında hordeninin ilk defa kullanılıyor olması ve sonuçlarımızın da bu yönde olması çalışmayı daha da değerli kılmaktadır. Söz konusu çalışmaların büyük çoğunluğu, hayvan modellerinde oluşturulan akut karaciğer hasarında dopamin ve dopamin agonistlerinin

koruyucu etkilerine odaklanmaktadır. Öte yandan, bu çalışmalara ters olarak, 20 hafta süren bir çalışmada, diyabetik karaciğerlerde ve yüksek glukozla uyarılan hepatik stellat hücrelerinde DRD2 ekspresyonunun belirgin şekilde arttığı, bu artışın ise oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtları tetikleyerek fibrotik süreçleri desteklediği gösterilmiştir. DRD2 inhibitörü haloperidol ve antioksidan NAC uygulamaları, inflamatuvar sitokin düzeylerini düşürmüş; TGF- β 1/Smads ve NF- κ B sinyal yollarını baskılayarak hem hepatik stellat hücre aktivasyonunu hem de hücre hasarı azalttığı belirtilmiştir (Zhao ve ark., 2021).

Çalışmalarda dopamin DRD2 reseptörünün akut ve kronik karaciğer hasarı modellerinde farklı yönlerde etkiler gösterdiği dikkat çekmektedir. Akut inflamatuvar yanıtta DRD2 aktivasyonunun, proinflamatuvar sitokin üretimini baskılayarak anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik bir etki sağladığı bildirilmiştir (M. Li ve ark., 2022; S. Yue ve ark., 2021; H. Zhou ve ark., 2018). Ancak kronik süreçte, özellikle diyabetik karaciğerlerde ve yüksek glukozla uyarılmış hepatik stellat hücrelerinde DRD2 ekspresyonunun belirgin şekilde arttığı, bu artışın ise oksidatif stres ve inflamatuvar sinyal yollarını tetikleyerek fibrojeneze katkı sağladığı gösterilmiştir (Zhao ve ark., 2021). Akut inflamasyonda, dopamin ve DRD2 aktivitesi genellikle bağışıklık hücrelerinde veya hepatositlerde anti-inflamatuvar bir etki oluşturabildiği düşünülebilir. Kronik inflamasyon sürecinde ise özellikle hepatik stellat hücrelerde DRD2'nin aşırı ekspresyonu, bu hücrelerin aktivasyonunu ve fibrotik yanıtını destekleyebilir. Bizim çalışmamızda da akut toksisite durumunda hem dopamin seviyesinin hem DRD2 reseptör gen ekspresyonunun ve dokudaki miktarının azalması bu sistemin baskılandığını, NAC ve hordenin uygulaması ile hem dopamin seviyelerinin hem de reseptörlerinin sağlıklıya yaklaşması bu sistemin iyileşme ile paralel düzeldiğini göstermektedir. Ancak akut hasar durumunda düşmüş olan dopamin seviyeleri hordenin 100 mg/kg uygulanması ile sağlıklı seviyeye geri yükselirken hasarla azalmış olan reseptörler bu uyarımla ekstra artarak iyileşme

yanıtını desteklemiş olabilir. Bulgularımızda hasar olmayan durumda (sitokinlerin, oksidatif stresin ve dopaminerjik sistemin etkilenmediği durum) hordenin uygulamasının yüksek dozda bile dengeyi değiştirmedeğini ancak hasarlı durumda hem NAC uygulamasının hem de hordeninin düşük dozlarının genel antiinflamatuvar özellikleri ile iyileşmeye katkı sunduğunu, hordenin 100 mg/kg uygulamasının ise hasarlı dokuda rebound bir reseptör stimölasyonuna neden olduğunu düşündürmektedir. Parasetamol hasarı varlığında hordenin 100 mg/kg uygulaması dopamin serum seviyesini sağlıklı seviyeye çekerken, normale dönen dopamin ile birlikte yüksek doz hordenin miktarının oluşturacağı dopaminerjik uyarı birbirini potansiyalize ederek DRD2 reseptör üretimini sağlıklı grubunun bile üzerine çıkmasına sebep olmuş olabilir. Ancak burada oluşan dopaminerjik yanıtın ileri çalışmalarla detaylı incelenmesi gerekmektedir.

Çalışmamızda hordenin farklı dozlarının karaciğer hasarı üzerindeki etkileri değerlendirilmiş olup bazı parametrelerde doz artışına paralel anlamlı bir iyileşme gözlemlenmemiştir. Bu bulgu, hordeninin ilgili biyolojik sistemler üzerindeki etkisinin belirli bir doz aralığında plato yapabileceğine veya test edilen bazı parametrelerin bu etkinliği yansıtmakta yetersiz kalabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, doza bağılı yanıt alınamayan bu parametrelerde farmakodinamik doyum, reseptör regölasyonu ya da farmakokinetik sınırlılıklar gibi faktörlerin rol oynaması da olasıdır. Biyolojik sistemlerde farmakolojik yanıtın her zaman doğrusal bir doz-cevap ilişkisi göstermediği ve bazı durumlarda U-şekilli ya da maksimum etki düzeyine erken ulaşan non-lineer yanıtların gözlenebileceği bilinmektedir. Bu nedenle bulgular, hordeninin doz-bağımlı etkilerinin parametreye özgü olabileceğini ve optimal doz aralığının daha ileri çalışmalarda netleştirilmesi gerektiğini göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, hordenin tedavisi parasetamol kaynaklı karaciğer hasarını histolojik bulgular, biyokimyasal parametreler ve Real Time PCR verilerinin ışığında çok yönlü olarak hafiflettiği ve hordeninin parasetamol toksisitesi sonucu ortaya çıkan akut karaciğer hasarındaki rolü ilk defa bu çalışmayla gösterilmiş oldu. Parasetamol toksisitesiyle ortaya çıkan zararlı metabolitleri etkisiz hale getiren GSH havuzunun tükendiği ve hordeninin bir antioksidan olarak GSH seviyelerini önemli oranda artırdığı görüldü. GSH'ın parasetamol toksisitesi sonrası hordenin ile artışı literatürde ilk defa gösterilmiş oldu. Yine çalışmamızda önemli bir antioksidan parametre olan SOD düzeyi hordenin tedavisiyle arttığı bunun yanında oksidan parametre olan MDA düzeyi hordenin tedavisiyle azaldığı bulundu. Hasarın önemli bir belirteci olan karaciğer enzimleri ALT, AST ve ALP miktarları hordenin kullanımı sonucu azaldı. Aynı zamanda çalışmamızda proinflatuar sitokin ve enzim ekspresyonları (TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β 1 ve iNOS) önemli ölçüde düştü, NF- κ B sinyalizasyonu baskılandı. Bu etkiler hordeninin literatürde tanımlanan antioksidan ve antiinflatuar özellikleriyle örtüşmektedir. Ayrıca hordeninin dopamin D2 reseptör agonisti olması, toksisite grubunda azalan serum dopamin ve DRD2 düzeyinin hordenin tedavisi ile tekrar yükselişe geçmesi dopamin ve DRD2 parametrelerinin parasetamol hepatotoksitesisi üzerinde koruyucu etkileri olabileceğini gösterdi. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu bulgular, hordeninin ratlarda parasetamol ile indüklediğimiz akut karaciğer hasarı modelinde hepatoprotektif, antioksidan ve antiinflatuar rolünü desteklemektedir.

Parasetamolün meydana getirdiği akut karaciğer hasarında hordeninin NAC koruyucu tedavisine yardımcı bitkisel kaynaklı bir ajan olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz ve buna yönelik daha ileri klinik çalışmalarla tedaviye sunulabileceğini öngörmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abdel-Misih, S. R., & Bloomston, M. (2010). Liver anatomy. *Surgical Clinics of North America*, 90(4), 643-653. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2010.04.017>
- Agrawal, M., Singhal, M., Semwal, B. C., Arora, S., Singh, B., Sikarwar, V., ... & Kumar, S. (2024). Neuroprotective action of hordenine against the Aluminium Chloride (AlCl₃) induced Alzheimer's diseases & associated memory impairment in experimental rats. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 12, 100492.
- Ahmed, M. (2022). Functional, Diagnostic and Therapeutic Aspects of Bile. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 15, 105-120. <https://doi.org/10.2147/ceg.S360563>
- Akakpo, J. Y., Jaeschke, M. W., Ramachandran, A., Curry, S. C., Rumack, B. H., & Jaeschke, H. (2021). Delayed administration of N-acetylcysteine blunts recovery after an acetaminophen overdose unlike 4-methylpyrazole. *Archives Toxicology*, 95(10), 3377-3391. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03142-9>
- Akakpo, J. Y., Ramachandran, A., Rumack, B. H., Wallace, D. P., & Jaeschke, H. (2023). Lack of mitochondrial Cyp2E1 drives acetaminophen-induced ER stress-mediated apoptosis in mouse and human kidneys: Inhibition by 4-methylpyrazole but not N-acetylcysteine. *Toxicology*, 500, 153692. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2023.153692>
- Aksakalli-Magden, Z. B., Ugan, R. A., Toktay, E., Halici, Z., & Cadirci, E. (2023). Potential role of angiotensin converting enzyme/neprilysin pathway and protective effects of omapatrilat for paracetamol-induced acute liver injury. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 25(1), 66. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11765>

- Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., & Sergio, F. (2018). N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radical Research*, 52(7), 751-762. <https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1468564>
- Almazroo, O. A., Miah, M. K., & Venkataramanan, R. (2017). Drug Metabolism in the Liver. *Clinics in Liver Disease*, 21(1), 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2016.08.001>
- Alqahtani, S. M., Dawood, A. F., Kamar, S. S., Haidara, M. A., ShamsEldeen, A. M., Dallak, M., Al-Ani, B., & Ebrahim, H. A. (2023). Quercetin and Resveratrol are Associated with the Downregulation of TNF- α /NF- κ B/iNOS Axis-Mediated Acute Liver Injury in Rats Induced by Paracetamol Poisoning. *International Journal of Morphology*, 41(1).
- Aly, O., Abouelfadl, D. M., Shaker, O. G., Hegazy, G. A., Fayez, A. M., & Zaki, H. H. (2020). Hepatoprotective effect of Moringa oleifera extract on TNF- α and TGF- β expression in acetaminophen-induced liver fibrosis in rats. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 21, 1-9.
- Aminoshariae, A., & Khan, A. (2015). Acetaminophen: old drug, new issues. *Journal of Endodontics*, 41(5), 588-593. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.01.024>
- Amir, M., Khan, M. A., Ahmad, S., Akhtar, M., Mujeeb, M., Ahmad, A., Khan, S. A., & Al-Abbasi, F. A. (2016). Ameliorating effects of Tamarindus indica fruit extract on anti-tubercular drugs induced liver toxicity in rats. *Natural Product Research*, 30(6), 715-719. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1039001>
- Anwar, S., Mohammad, T., Shamsi, A., Queen, A., Parveen, S., Luqman, S., Hasan, G. M., Alamry, K. A., Azum, N., & Asiri, A. M. (2020). Discovery of Hordenine as a potential inhibitor of pyruvate dehydrogenase kinase 3: implication in lung

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7277448/pdf/biomedicines-08-00119.pdf>

- Arnold, W., Bechmann, I., Böckers, A., Brauer, L., Dehghani, F., Deller, T., Gericke, M., Hirt, B., Krüger, M., Kugelman, D., Scaal, M., Schmeiber, M. J., Scholz, M., Schwarzacher, S., Spindler, V., & Vlachos, A. (2015). *Sobotta Anatomi Konu Kitabı* (P. D. M. F. SARGON, Ed. 1.Baskı ed.). Ayrıntı Basım ve Yayın Matbaacılık.
- Bai, Q., Yan, H., Sheng, Y., Jin, Y., Shi, L., Ji, L., & Wang, Z. (2017). Long-term acetaminophen treatment induced liver fibrosis in mice and the involvement of Egr-1. *Toxicology*, 382, 47-58. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.03.008>
- Bannwarth, B., & Péhourcq, F. (2003). [Pharmacologic basis for using paracetamol: pharmacokinetic and pharmacodynamic issues]. *Drugs*, 63 Spec No 2, 5-13. (Bases pharmacologiques de l'emploi du paracétamol: aspects pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.)
- Barrière, D. A., Boumezbeur, F., Dalmann, R., Cadeddu, R., Richard, D., Pinguet, J., Daulhac, L., Sarret, P., Whittingstall, K., Keller, M., Mériaux, S., Eschalier, A., & Mallet, C. (2020). Paracetamol is a centrally acting analgesic using mechanisms located in the periaqueductal grey. *British Journal of Pharmacology*, 177(8), 1773-1792. <https://doi.org/10.1111/bph.14934>
- Barrière, D. A., Mallet, C., Blomgren, A., Simonsen, C., Daulhac, L., Libert, F., Chapuy, E., Etienne, M., Högestätt, E. D., Zygmunt, P. M., & Eschalier, A. (2013). Fatty acid amide hydrolase-dependent generation of antinociceptive drug metabolites acting on TRPV1 in the brain. *Plos One*, 8(8), e70690. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070690>

- Barwell, C. J., Basma, A. N., Lafi, M. A., & Leake, L. D. (1989). Deamination of hordenine by monoamine oxidase and its action on vasa deferentia of the rat. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 41(6), 421-423. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1989.tb06492.x>
- Bertolini, A., Ferrari, A., Ottani, A., Guerzoni, S., Tacchi, R., & Leone, S. (2006). Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, 12(3-4), 250-275. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2006.00250.x>
- Blaner, W. S., Li, Y., Brun, P. J., Yuen, J. J., Lee, S. A., & Clugston, R. D. (2016). Vitamin A Absorption, Storage and Mobilization. *Subcellular Biochemistry*, 81, 95-125. https://doi.org/10.1007/978-94-024-0945-1_4
- Brodie, B. B., & Axelrod, J. (1948). The fate of acetanilide in man. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 94(1), 29-38.
- Brune, K., Renner, B., & Tiegs, G. (2015). Acetaminophen/paracetamol: A history of errors, failures and false decisions. *European Journal of Pain*, 19(7), 953-965. <https://doi.org/10.1002/ejp.621>
- Cai, X., Cai, H., Wang, J., Yang, Q., Guan, J., Deng, J., & Chen, Z. (2022). Molecular pathogenesis of acetaminophen-induced liver injury and its treatment options. *Journal of Zhejiang University Science B*, 23(4), 265-285. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2100977>
- Calvente, C. J., Tameda, M., Johnson, C. D., Del Pilar, H., Lin, Y. C., Adronikou, N., De Mollerat Du Jeu, X., Llorente, C., Boyer, J., & Feldstein, A. E. (2019). Neutrophils contribute to spontaneous resolution of liver inflammation and fibrosis via microRNA-223. *The Journal of Clinical Investigation*, 129(10), 4091-4109. <https://doi.org/10.1172/jci122258>

- Campos-Shimada, L. B., Hideo Gilglioni, E., Fernandes Garcia, R., Rizato Martins-Maciel, E., Luiza Ishii-Iwamoto, E., & Luzia Salgueiro-Pagadigorria, C. (2020). Superoxide dismutase: a review and a modified protocol for activities measurements in rat livers. *Archives Physiology and Biochemistry*, 126(4), 292-299. <https://doi.org/10.1080/13813455.2018.1520891>
- Chandrasekharan, N. V., Dai, H., Roos, K. L., Evanson, N. K., Tomsik, J., Elton, T. S., & Simmons, D. L. (2002). COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*, 99(21), 13926-13931. <https://doi.org/10.1073/pnas.162468699>
- Chao, X., Wang, H., Jaeschke, H., & Ding, W. X. (2018). Role and mechanisms of autophagy in acetaminophen-induced liver injury. *Liver International*, 38(8), 1363-1374. <https://doi.org/10.1111/liv.13866>
- Chauhan, A., Sheriff, L., Hussain, M. T., Webb, G. J., Patten, D. A., Shepherd, E. L., Shaw, R., Weston, C. J., Haldar, D., Bourke, S., Bhandari, R., Watson, S., Adams, D. H., Watson, S. P., & Lalor, P. F. (2020). The platelet receptor CLEC-2 blocks neutrophil mediated hepatic recovery in acetaminophen induced acute liver failure. *Nature Communications*, 11(1), 1939. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15584-3>
- Chen, H., Wang, Y., Jiao, F. Z., Yang, F., Li, X., & Wang, L. W. (2020). Sinomenine Attenuates Acetaminophen-Induced Acute Liver Injury by Decreasing Oxidative Stress and Inflammatory Response via Regulating TGF- β /Smad Pathway in vitro and in vivo. *Drug Design, Development and Therapy*, 14, 2393-2403. <https://doi.org/10.2147/dddt.S248823>

- Chen, Y.-r., & Li, B.-s. (2015). Phytochemical composition and antihyperplasic effect of Fructus hordei G in Rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(5), 789-794.
- Chidiac, A. S., Buckley, N. A., Noghrehchi, F., & Cairns, R. (2023). Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease. *Expert Opinion on Drug Metabolism-Toxicology*, 19(5), 297-317. <https://doi.org/10.1080/17425255.2023.2223959>
- Coelho, A. M., Queiroz, I. F., Perucci, L. O., Menezes, T. P., Lima, W. G., Talvani, A., & Costa, D. C. (2024). Piperine as an Herbal Alternative for the Prevention of Drug-Induced Liver Damage Caused by Paracetamol. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 17(11), 1477. <https://doi.org/10.3390/ph17111477>
- Cusabio. NF-kappa B signaling pathway (2025). <https://www.cusabio.com/pathway/NF-kappa-B-signaling-pathway.html>. (Erişim tarihi 01.07.2025)
- Damayanti, I. P., Susilaningsih, N., Nugroho, T., Suhartono, S., Suryono, S., Susanto, H., Suwondo, A., & Mahati, E. (2023). The effect of curcumin nanoparticles on paracetamol-induced liver injury in male wistar rats. *Pharmaceutical Nanotechnology*, 11(5), 493-503. <https://doi.org/10.2174/2211738511666230601105536>
- Devkar, S. T., Kandhare, A. D., Zanwar, A. A., Jagtap, S. D., Katyare, S. S., Bodhankar, S. L., & Hegde, M. V. (2016). Hepatoprotective effect of withanolide-rich fraction in acetaminophen-intoxicated rat: decisive role of TNF- α , IL-1 β , COX-II and iNOS. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), 2394-2403. <https://doi.org/10.3109/13880209.2016.1157193>

- Ding, Y., Li, Q., Xu, Y., Chen, Y., Deng, Y., Zhi, F., & Qian, K. (2016). Attenuating oxidative stress by paeonol protected against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Plos One*, 11(5), e0154375. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154375>
- El-Kashef, D. H., & Sharawy, M. H. (2023). Hepatoprotective effect of nicorandil against acetaminophen-induced oxidative stress and hepatotoxicity in mice via modulating NO synthesis. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(6), 14253-14264. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23139-w>
- Fang, Z., Xu, Y., Liu, G., Shao, Q., Niu, X., Tai, W., Shen, T., Fan, M., Chen, M., Lei, L., Gao, W., Song, Y., Wang, Z., Du, X., & Li, X. (2023). Narirutin activates TFEB (transcription factor EB) to protect against Acetaminophen-induced liver injury by targeting PPP3/calcineurin. *Autophagy*, 19(8), 2240-2256. <https://doi.org/10.1080/15548627.2023.2179781>
- Forrest, J. A., Clements, J. A., & Prescott, L. F. (1982). Clinical pharmacokinetics of paracetamol. *Clinical Pharmacokinetics of Paracetamol*, 7(2), 93-107. <https://doi.org/10.2165/00003088-198207020-00001>
- Foufelle, F., & Fromenty, B. (2016). Role of endoplasmic reticulum stress in drug-induced toxicity. *Pharmacology Research&Perspectives*, 4(1), e00211. <https://doi.org/10.1002/prp2.211>
- Frank, M., Weckman, T. J., Wood, T., Woods, W. E., Tai, C. L., Chang, S. L., Ewing, A., Blake, J. W., & Tobin, T. (1990). Hordenine: pharmacology, pharmacokinetics and behavioural effects in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 22(6), 437-441. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1990.tb04312.x>
- Fu, J., Bottegoni, G., Sasso, O., Bertorelli, R., Rocchia, W., Masetti, M., Guijarro, A., Lodola, A., Armirotti, A., Garau, G., Bandiera, T., Reggiani, A., Mor, M., Cavalli,

- A., & Piomelli, D. (2011). A catalytically silent FAAH-1 variant drives anandamide transport in neurons. *Nature Neuroscience*, 15(1), 64-69. <https://doi.org/10.1038/nn.2986>
- Fujii, M., & Kenzaka, T. (2022). Drug-induced lung injury caused by acetaminophen in a Japanese woman: A case report. *World Journal of Clinical Cases*, 10(27), 9936-9944. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i27.9936>
- Gentry, C., Andersson, D. A., & Bevan, S. (2015). TRPA1 mediates the hypothermic action of acetaminophen. *Scientific Reports*, 5, 12771. <https://doi.org/10.1038/srep12771>
- Gerriets V, A. J., & Patel, P. (2024). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482369/>. StatPearls Publishing. Retrieved 2025 Jan from
- Godfrey, L., Bailey, I., Toms, N. J., Clarke, G. D., Kitchen, I., & Hourani, S. M. (2007). Paracetamol inhibits nitric oxide synthesis in murine spinal cord slices. *European Journal of Pharmacology*, 562(1-2), 68-71. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.01.075>
- Graham, G. G., Davies, M. J., Day, R. O., Mohamudally, A., & Scott, K. F. (2013). The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology*, 21(3), 201-232. <https://doi.org/10.1007/s10787-013-0172-x>
- Graham, G. G., & Scott, K. F. (2005). Mechanism of action of paracetamol. *American Journal of Therapeutics*, 12(1), 46-55. <https://doi.org/10.1097/00045391-200501000-00008>
- Hahn, M., Lindemann, V., Behrens, M., Mulac, D., Langer, K., Esselen, M., & Humpf, H.-U. (2022). Permeability of dopamine D2 receptor agonist hordenine across the

- intestinal and blood-brain barrier in vitro. *Plos one*, 17(6), e0269486.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9202863/pdf/pone.0269486.pdf>
- Hapke, H. J., & Strathmann, W. (1995). [Pharmacological effects of hordenine]. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 102(6), 228-232. (Pharmakologische Wirkungen des Hordenin.)
- Henderson, C. J., Wolf, C. R., Kitteringham, N., Powell, H., Otto, D., & Park, B. K. (2000). Increased resistance to acetaminophen hepatotoxicity in mice lacking glutathione S-transferase Pi. *The Proceedings National Academy of Sciences U S A*, 97(23), 12741-12745. <https://doi.org/10.1073/pnas.220176997>
- Henneh, I. T., Ahlidja, W., Alake, J., Kwabil, A., Ahmed, M. A., Kyei-Asante, B., Adinortey, M. B., Ekor, M., & Armah, F. A. (2022). Ziziphus abyssinica root bark extract ameliorates paracetamol-induced liver toxicity in rats possibly via the attenuation of oxidative stress. *Toxicology Reports*, 9, 1929-1937. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.10.012>
- Hetz, C., & Papa, F. R. (2018). The unfolded protein response and cell fate control. *Molecular Cell*, 69(2), 169-181. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.06.017>
- Hu, C., Zhao, L., Wu, Z., & Li, L. (2020). Transplantation of mesenchymal stem cells and their derivatives effectively promotes liver regeneration to attenuate acetaminophen-induced liver injury. *Stem Cell Research&Therapy*, 11(1), 88. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01596-9>
- Jaeschke, H., Akakpo, J. Y., Umbaugh, D. S., & Ramachandran, A. (2020). Novel therapeutic approaches against acetaminophen-induced liver injury and acute liver failure. *Toxicological Sciences*, 174(2), 159-167. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7098369/pdf/kfaa002.pdf>

- Jaeschke, H., & Ramachandran, A. (2024). Acetaminophen hepatotoxicity: paradigm for understanding mechanisms of drug-induced liver injury. *Annual Review of Pathology*, 19, 453-478. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-051122-094016>
- Jaeschke, H., Ramachandran, A., Chao, X., & Ding, W. X. (2019). Emerging and established modes of cell death during acetaminophen-induced liver injury. *Archives of Toxicology*, 93(12), 3491-3502. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02597-1>
- Jiang, S. X., Hussaini, T., & Yoshida, E. M. (2022). N-acetylcysteine for non-acetaminophen induced acute liver failure: A review. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 28(2), 85-91. https://doi.org/10.4103/sjg.sjg_406_21
- Jóźwiak-Bebenista, M., & Nowak, J. Z. (2014). Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 71(1), 11-23.
- Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle, C. J., & Tuma, F. (2024). Physiology, Liver. In *StatPearls*. StatPearls Publishing Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.
- Kamiş, N., & Karabağ, F. (2019). Parasetamol indüklü hepatotoksisite modelinde kafeik asit fenil ester'in inflamasyon ve oksidatif stres üzerine etkisinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14(3), 290-298.
- Kashyap, D., Sharma, A., Sak, K., Tuli, H. S., Buttar, H. S., & Bishayee, A. (2018). Fisetin: A bioactive phytochemical with potential for cancer prevention and pharmacotherapy. *Life sciences*, 194, 75-87. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002432051730632X?via%3Dihub>
- Kayaalp, S. O. (2012). *Akılci Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (S. O. Kayaalp, Ed. 13 ed.). Pelikan yayıncılık.

- Kerckhove, N., Mallet, C., François, A., Boudes, M., Chemin, J., Voets, T., Bourinet, E., Alloui, A., & Eschalier, A. (2014). Ca(v)3.2 calcium channels: the key protagonist in the supraspinal effect of paracetamol. *Pain*, 155(4), 764-772. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.01.015>
- Kim, S. C., Lee, J. H., Kim, M. H., Lee, J. A., Kim, Y. B., Jung, E., Kim, Y. S., Lee, J., & Park, D. (2013). Hordenine, a single compound produced during barley germination, inhibits melanogenesis in human melanocytes. *Food Chemistry*, 141(1), 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.017>
- Koshak, M. F., El-Readi, M. Z., Elzubier, M. E., Refaat, B., Almainani, R. A., Idris, S., Althubiti, M., Al-Amodi, H. S., & Eid, S. Y. (2023). Antioxidative and Anti-Inflammatory Protective Effects of Fucoxanthin against Paracetamol-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Marine Drugs*, 21(11). <https://doi.org/10.3390/md21110592>
- Kruiswijk, F., Labuschagne, C. F., & Vousden, K. H. (2015). p53 in survival, death and metabolic health: a lifeguard with a licence to kill. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16(7), 393-405. <https://doi.org/10.1038/nrm4007>
- Larson, A. M., Polson, J., Fontana, R. J., Davern, T. J., Lalani, E., Hynan, L. S., Reisch, J. S., Schiødt, F. V., Ostapowicz, G., & Shakil, A. O. (2005). Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology*, 42(6), 1364-1372.
- Lee, W. M. (2017). Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity-Isn't it time for APAP to go away? *Journal of Hepatology*, 67(6), 1324-1331. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.07.005>
- Li, M., Zhang, C., Zhou, L., Sun, X., Wang, T., & Fu, F. (2022). Continuous activation of dopamine receptors alleviates LPS-induced liver injury in mice via β -arrestin2

- dependent Akt/NF- κ B pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 853834.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8963954/pdf/fphar-13-853834.pdf>
- Li, R., Wu, H., Xu, Y., Xu, X., Xu, Y., Huang, H., Lv, X., Liao, C., Ye, J., & Li, H. (2025). Underlying mechanisms and treatment of acetaminophen-induced liver injury (Review). *Molecular Medicine Reports*, 31(4).
<https://doi.org/10.3892/mmr.2025.13471>
- Li, Y., Hong, X., Liang, L., Wang, X., & Ladd-Acosta, C. (2023). Association between acetaminophen metabolites and CYP2E1 DNA methylation level in neonate cord blood in the Boston Birth Cohort. *Clinical Epigenetics*, 15(1), 132.
<https://doi.org/10.1186/s13148-023-01551-4>
- Li, Y., Vogel, C., Kalinichenko, L. S., Hübner, H., Weikert, D., Schaefer, N., Gmeiner, P., Villmann, C., Pischetsrieder, M., & Müller, C. P. (2023). The beer component hordenine inhibits alcohol addiction-associated behaviours in mice. *Addiction Biology*, 28(8), e13305. <https://doi.org/10.1111/adb.13305>
- Lin, W., Gu, B., Gu, Y., Zhao, R., Huang, Y., Fan, R., Rong, W., & Liu, Z. (2024). Taraxasterol protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity by reducing liver inflammatory response and ameliorating oxidative stress in mice. *International immunopharmacology*, 138, 112580.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112580>
- Liu, F. C., Yu, H. P., Chou, A. H., Lee, H. C., & Liao, C. C. (2020). Corilagin reduces acetaminophen-induced hepatotoxicity through MAPK and NF- κ B signaling pathway in a mouse model. *American Journal of Translational Research*, 12(9), 5597-5607.

- Liu, Y., Wang, Y., Jiang, M., Zhang, Q., Yang, M., Sun, F., Xu, Z., Liu, T., & Yao, J. (2025). Protective Effect of Hordenine on Concanavalin A-Induced Hepatic Injury. *Journal of inflammation research*, 18, 9823–9835. <https://doi.org/10.2147/JIR.S507792>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 25(4), 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Long, X., Song, J., Zhao, X., Zhang, Y., Wang, H., Liu, X., & Suo, H. (2020). Silkworm pupa oil attenuates acetaminophen-induced acute liver injury by inhibiting oxidative stress-mediated NF- κ B signaling. *Food Science & Nutrition*, 8(1), 237-245. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1296>
- Maatuf, Y., Kushnir, Y., Nemirovski, A., Ghantous, M., Iskimov, A., Binshtok, A. M., & Priel, A. (2025). The analgesic paracetamol metabolite AM404 acts peripherally to directly inhibit sodium channels. *The Proceedings National Academy of Sciences U S A*, 122(23), e2413811122. <https://doi.org/10.1073/pnas.2413811122>
- Mah, E., Sapper, T. N., Chitchumroonchokchai, C., Failla, M. L., Schill, K. E., Clinton, S. K., Bobe, G., Traber, M. G., & Bruno, R. S. (2015). α -Tocopherol bioavailability is lower in adults with metabolic syndrome regardless of dairy fat co-ingestion: a randomized, double-blind, crossover trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 102(5), 1070-1080. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.118570>
- Mahajan, L., Mittal, V., Gupta, R., Chhabra, H., Vidhan, J., & Kaur, A. (2017). Study to compare the effect of oral, rectal, and intravenous infusion of paracetamol for postoperative analgesia in women undergoing cesarean section under spinal

- anesthesia. *Anesthesia: Essays and Researches*, 11(3), 594-598.
<https://doi.org/10.4103/0259-1162.206872>
- Marshall, M., Keeble, J., & Moore, P. K. (2006). Effect of a nitric oxide releasing derivative of paracetamol in a rat model of endotoxaemia. *British Journal of Pharmacology*, 149(5), 516-522. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706855>
- Mazaleuskaya, L. L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., FitzGerald, G. A., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2015). PharmGKB summary: pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. *Pharmacogenetics and Genomics*, 25(8), 416-426. <https://doi.org/10.1097/fpc.0000000000000150>
- McMillin, M., Grant, S., Frampton, G., Petrescu, A. D., Williams, E., Jefferson, B., & DeMorrow, S. (2019). The TGF β 1 receptor antagonist GW788388 reduces jnk activation and protects against acetaminophen hepatotoxicity in mice. *Toxicological Sciences*, 170(2), 549-561. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz122>
- Meyer, E. (1982). Separation of two distinct S-adenosylmethionine dependent N-methyltransferases involved in hordenine biosynthesis in *Hordeum vulgare*. *Plant Cell Reports*, 1(6), 236-239. <https://doi.org/10.1007/bf00272627>
- Mladěnka, P., Macáková, K., Kujovská Krčmová, L., Javorská, L., Mrštná, K., Carazo, A., Protti, M., Remião, F., Nováková, L., researchers, t. O., & collaborators. (2021). Vitamin K – sources, physiological role, kinetics, deficiency, detection, therapeutic use, and toxicity. *Nutrition Reviews*, 80(4), 677-698. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab061>
- Morse, H. N. (1878). Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 11(1), 232-233.
- Ntamo, Y., Ziqubu, K., Chellan, N., Nkambule, B. B., Nyambuya, T. M., Mazibuko-Mbeje, S. E., Gabuza, K. B., Marcheggiani, F., Tiano, L., & Dlodla, P. V. (2021).

- Drug-induced liver injury: Clinical evidence of n-acetyl cysteine protective effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 3320325. <https://doi.org/10.1155/2021/3320325>
- Ohashi, N., & Kohno, T. (2020). Analgesic effect of acetaminophen: A review of known and novel mechanisms of action. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 580289. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.580289>
- Palabiyik, S., Karakus, E., Halici, Z., Cadirci, E., Bayir, Y., Ayaz, G., & Cinar, I. (2016). The protective effects of carvacrol and thymol against paracetamol-induced toxicity on human hepatocellular carcinoma cell lines (HepG2). *Human & Experimental Toxicology*, 35(12), 1252-1263.
- Popiołek, I., Piotrowicz-Wójcik, K., & Porebski, G. (2019). Hypersensitivity reactions in serious adverse events reported for paracetamol in the eudragilance database, 2007-2018. *Pharmacy (Basel)*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/pharmacy7010012>
- Prescott, L. F. (1983). New approaches in managing drug overdosage and poisoning. *British Medical Journal (Clinical Research Edition)*, 287(6387), 274-276. <https://doi.org/10.1136/bmj.287.6387.274>
- Przybyła, G. W., Szychowski, K. A., & Gmiński, J. (2021). Paracetamol - An old drug with new mechanisms of action. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 48(1), 3-19. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13392>
- Ramachandran, A., & Jaeschke, H. (2019). Acetaminophen Hepatotoxicity. *Seminars in Liver Disease*, 39(2), 221-234. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1679919>
- Randa Hilal-Dandan, L. L. B. (2017). *Goodman ve Gilman'in Farmakoloji ve Tedavi El Kitabı* (R. Erdem, Ed. 2 ed.). Ayrıntı Basım ve Yayın Matbaacılık.
- Ray, S., Salzer, I., Kronschräger, M. T., & Boehm, S. (2019). The paracetamol metabolite N-acetyl-p-benzoquinone imine reduces excitability in first- and second-order

- neurons of the pain pathway through actions on KV7 channels. *Pain*, 160(4), 954-964. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001474>
- Saheed, S., Frans Hendrik, O., & Tom, A. A. (2016). Zea mays, *Stigma maydis* prevents and extenuates acetaminophen-perturbed oxidative onslaughts in rat hepatocytes. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), 2664-2673. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1178307>
- Schmidt, L. E., & Dalhoff, K. (2001). Risk factors in the development of adverse reactions to N-acetylcysteine in patients with paracetamol poisoning. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 51(1), 87-91. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.2001.01305.x>
- Sharma, C. V., Long, J. H., Shah, S., Rahman, J., Perrett, D., Ayoub, S. S., & Mehta, V. (2017). First evidence of the conversion of paracetamol to AM404 in human cerebrospinal fluid. *Journal of Pain Research*, 10, 2703-2709. <https://doi.org/10.2147/jpr.S143500>
- Sherlock, L. G., Balasubramanian, D., Zheng, L., Grayck, M., McCarthy, W. C., De Dios, R. C., Zarate, M. A., Orlicky, D. J., De Dios, R., & Wright, C. J. (2022). APAP-Induced $\text{I}\kappa\text{B}\beta/\text{NF}\kappa\text{B}$ Signaling Drives Hepatic IL6 Expression and Associated Sinusoidal Dilation. *Toxicological Sciences*, 185(2), 158-169. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfab131>
- Si-Tayeb, K., Lemaigre, F. P., & Duncan, S. A. (2010). Organogenesis and development of the liver. *Developmental Cell*, 18(2), 175-189. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.01.011>
- Simpson, K. J., Bates, C. M., Henderson, N. C., Wigmore, S. J., Garden, O. J., Lee, A., Pollok, A., Masterton, G., & Hayes, P. C. (2009). The utilization of liver transplantation in the management of acute liver failure: comparison between

- acetaminophen and non-acetaminophen etiologies. *Liver Transplantation*, 15(6), 600-609. <https://doi.org/10.1002/lt.21681>
- Sommer, T., Göen, T., Budnik, N., & Pischetsrieder, M. (2020). Absorption, Biokinetics, and Metabolism of the Dopamine D2 Receptor Agonist Hordenine (N,N-Dimethyltyramine) after Beer Consumption in Humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(7), 1998-2006. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06029>
- Sommer, T., Hübner, H., El Kerdawy, A., Gmeiner, P., Pischetsrieder, M., & Clark, T. (2017). Identification of the Beer Component Hordenine as Food-Derived Dopamine D2 Receptor Agonist by Virtual Screening a 3D Compound Database. *Scientific Reports*, 7, 44201. <https://doi.org/10.1038/srep44201>
- Stavropoulos, A., Divolis, G., Manioudaki, M., Gavriil, A., Kloukina, I., Perrea, D. N., Sountoulidis, A., Ford, E., Doulou, A., Apostolidou, A., Katsantoni, E., Ritvos, O., Germanidis, G., Xilouri, M., & Sideras, P. (2022). Coordinated activation of TGF- β and BMP pathways promotes autophagy and limits liver injury after acetaminophen intoxication. *Science Signaling*, 15(740), eabn4395. <https://doi.org/10.1126/scisignal.abn4395>
- Stec, D. E., John, K., Trabbic, C. J., Luniwal, A., Hankins, M. W., Baum, J., & Hinds, T. D., Jr. (2016). Bilirubin Binding to PPAR α Inhibits Lipid Accumulation. *Plos one*, 11(4), e0153427. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153427>
- Stravitz, R. T., & Lee, W. M. (2019). Acute liver failure. *Lancet*, 394(10201), 869-881. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)31894-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)31894-x)
- Su, S., Cao, M., Wu, G., Long, Z., Cheng, X., Fan, J., Xu, Z., Su, H., Hao, Y., Li, G., Peng, J., Li, S., & Wang, X. (2018). Hordenine protects against hyperglycemia-associated renal complications in streptozotocin-induced diabetic mice.

- Biomedicine&Pharmacotherapy*, 104, 315-324.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.036>
- Su, Y., Liu, Y., He, D., Hu, G., Wang, H., Ye, B., He, Y., Gao, X., & Liu, D. (2022). Hordenine inhibits neuroinflammation and exerts neuroprotective effects via inhibiting NF- κ B and MAPK signaling pathways in vivo and in vitro. *International Immunopharmacology*, 108, 108694.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108694>
- Tanaka, U. (1923). An experimental study on maltsprout poisoning. *Journal of The Japanese Society of Veterinary Science*, 2(1), 93-99.
- Tenório, M., Graciliano, N. G., Moura, F. A., Oliveira, A. C. M., & Goulart, M. O. F. (2021). N-Acetylcysteine (NAC): Impacts on Human Health. *Antioxidants (Basel)*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/antiox10060967>
- Trefts, E., Gannon, M., & Wasserman, D. H. (2017). The liver. *Current Biology*, 27(21), R1147-r1151. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019>
- Trettin, A., Böhmer, A., Suchy, M. T., Probst, I., Staerk, U., Stichtenoth, D. O., Frölich, J. C., & Tsikas, D. (2014). Effects of paracetamol on NOS, COX, and CYP activity and on oxidative stress in healthy male subjects, rat hepatocytes, and recombinant NOS. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 212576.
<https://doi.org/10.1155/2014/212576>
- Ugan, R. A., Cadirci, E., Un, H., Cinar, I., & Gurbuz, M. A. (2023). Fisetin Attenuates Paracetamol-Induced Hepatotoxicity by Regulating CYP2E1 Enzyme. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 95(2), e20201408.
<https://doi.org/10.1590/0001-3765202320201408>
- Uzkeser, M., Karakus, E., Albayrak, A., Kiki, İ., Bayir, Y., Cadirci, E., Unal, D., Halici, Z., & Karadeniz, A. (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.
- Von Mering, J. (1893). Beitrage zur Kenntniss der antipyretica. *Therapie Monatsschrift*, 7, 577-587.
- Wang, L., Wei, W., Xiao, Q., Yang, H., & Ci, X. (2019). Farrerol Ameliorates APAP-induced Hepatotoxicity via Activation of Nrf2 and Autophagy. *International Journal of Biological Sciences*, 15(4), 788-799. <https://doi.org/10.7150/ijbs.30677>
- Wikvall, K. (2001). Cytochrome P450 enzymes in the bioactivation of vitamin D to its hormonal form (review). *International Journal of Molecular Medicine*, 7(2), 201-209. <https://doi.org/10.3892/ijmm.7.2.201>
- Win, S., Than, T. A., Min, R. W., Aghajan, M., & Kaplowitz, N. (2016). c-Jun N-terminal kinase mediates mouse liver injury through a novel Sab (SH3BP5)-dependent pathway leading to inactivation of intramitochondrial Src. *Hepatology*, 63(6), 1987-2003. <https://doi.org/10.1002/hep.28486>
- Wishart DS, T. D., Knox C, ve diğerleri. (2025). <https://hmdb.ca/>. Retrieved June 30 from
- Xie, Y., Li, X., Xu, D., He, D., Wang, J., Bi, J., Liu, J., & Fu, S. (2024). Hordenine Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Mastitis by Suppressing Inflammation and Oxidative Stress, Modulating Intestinal Microbiota, and Preserving the Blood-Milk Barrier. *Journal of agricultural and food chemistry*, 72(39), 21503–21519. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c02867>
- Xu, G. S., Liu, H. N., Li, J., Wu, X. L., Dai, X. M., & Liu, Y. H. (2009). Hepatic injury induced by carbon dioxide pneumoperitoneum in experimental rats. *World Journal of Gastroenterology*, 15(24), 3060-3064. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.3060>

- Xu, Z., Zhang, Q., Ding, C., Wen, F., Sun, F., Liu, Y., Tao, C., & Yao, J. (2023). Beneficial Effects of Hordenine on a Model of Ulcerative Colitis. *Molecules*, 28(6). <https://doi.org/10.3390/molecules28062834>
- Yan, M., Huo, Y., Yin, S., & Hu, H. (2018). Mechanisms of acetaminophen-induced liver injury and its implications for therapeutic interventions. *Redox Biology*, 17, 274-283. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.04.019>
- Yang, R., Song, C., Chen, J., Zhou, L., Jiang, X., Cao, X., Sun, Y., & Zhang, Q. (2020). Limonin ameliorates acetaminophen-induced hepatotoxicity by activating Nrf2 antioxidative pathway and inhibiting NF- κ B inflammatory response via upregulating Sirt1. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 69, 153211. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153211>
- Yue, S., Wang, T., Yang, Y., Fan, Y., Zhou, L., Li, M., & Fu, F. (2021). Lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury could be attenuated by dopamine receptor agonist rotigotine via regulating NF- κ B signaling pathway. *International Immunopharmacology*, 96, 107798. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107798>
- Zhang, B. J., Xu, D., Guo, Y., Ping, J., Chen, L. b., & Wang, H. (2008). Protection by and anti-oxidant mechanism of berberine against rat liver fibrosis induced by multiple hepatotoxic factors. *Clinical and Experimental Pharmacology and physiology*, 35(3), 303-309.
- Zhang, J., Zhang, S., Bi, J., Gu, J., Deng, Y., & Liu, C. (2017). Astaxanthin pretreatment attenuates acetaminophen-induced liver injury in mice. *International Immunopharmacology*, 45, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.01.028>
- Zhang, N., Han, Z., Zhang, R., Liu, L., Gao, Y., Li, J., & Yan, M. (2024). Ganoderma lucidum Polysaccharides Ameliorate Acetaminophen-Induced Acute Liver Injury

- by Inhibiting Oxidative Stress and Apoptosis along the Nrf2 Pathway. *Nutrients*, 16(12). <https://doi.org/10.3390/nu16121859>
- Zhang, X., Du, L., Zhang, J., Li, C., Zhang, J., & Lv, X. (2021). Hordenine Protects Against Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting Inflammation. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 712232. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.712232>
- Zhao, B., Li, S., Guo, Z., Chen, Z., Zhang, X., Xu, C., Chen, J., & Wei, C. (2021). Dopamine receptor D2 inhibition alleviates diabetic hepatic stellate cells fibrosis by regulating the TGF- β 1/Smads and NF κ B pathways. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 48(3), 370-380. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13437>
- Zhou, H., Tang, L., Yang, Y., Lin, L., Dai, J., Ge, P., Ai, Q., Jiang, R., & Zhang, L. (2018). Dopamine alleviated acute liver injury induced by lipopolysaccharide/d-galactosamine in mice. *International Immunopharmacology*, 61, 249-255. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.06.004>

EKLER

EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 1	% 15
II. Genel Bilgiler	% 4	% 35
III. Materyal ve Metod	% 25	% 35
IV. Bulgular	% 15	% 15
V. Tartışma	% 2	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanına tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
İmza:	İmza:

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı alınıp tezin Ekler kısmına EK-1 olarak eklenmelidir.

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : E-75296309-050.01.04-2300314003
Konu : HADYЕК Kararı.

04.10.2023

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 28.09.2023 tarihli ve E-93722986-000-2300303355 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.09.2023 tarihli ve 2023/11 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 175 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYЕК Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 28.09.2023

TOPLANTI SAYISI : 2023/11

KARAR N0 175: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi 'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **"Sıçanlarda Parasetamolle İndüklenmiş Akut Karaciğer Hasarına Karşı Hordeninin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması"** isimli araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 28.09.2023 tarihli ve E-93722986-000-2300303355 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.