

Atıf İçin: Türcan, F. ve Timur, Ç. (2025). Ratlarda Doksorubisin Uygulamasının Glutasyon S-Transferaz, Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimleri Üzerine Aktivitesi: Kafeik Asit'in Etkisi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15(4), 1495-1503.

To Cite: Türcan, F. & Timur, Ç. (2025). Activity of Doxorubicin Administration on Glutathione S-Transferase, Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Enzymes in Rats: Effect of Caffeic Acid. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 15(4), 1495-1503.

Ratlarda Doksorubisin Uygulamasının Glutasyon S-Transferaz, Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimleri Üzerine Aktivitesi: Kafeik Asit'in Etkisi

Fikret TÜRKAN^{1*}, Çetin TİMUR²

Öne Çıkanlar:

- DOX uygulamasıyla AChE enzimi aktivitesini sham ve izotonik gruba göre düşüş bulundu
- CAPE uygulandığında bu oran biraz artış gösterdi.

Anahtar Kelimeler:

- Doksorubisin
- Asetilkolin Esteraz
- Bütirilkolin Esteraz
- Glutasyon S-transferaz
- Kafeik Asit

ÖZET:

Kemoterapi, kanser hücrelerini yok etmek veya bu hücrelerin büyümesini kontrol altına almak için antikanser ilaçlar kullanılarak yapılan tedavidir. Doksorubisin kemoterapide birçok kanserin tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçtır. Kemoterapi ilaçları bir taraftan vücudumuzda bulunan kötü hücreleri yok ederken diğer taraftan vücuttaki normal hücreler üzerine de etki etmektedir. Bu durum vücutta kemoterapiye bağlı bir takım yan etkiler ile kendini gösterir. Kanser tedavisinde amaç maksimum yararlı yan etkileri en aza indirmektir. Kombine tedavi, kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötiklerin yan etkisini azaltarak tedavinin etkinliğini artırmaktadır. Bu çalışmada Albino Wistar cinsi ratlara doksorubisin (DOX) ilacı verilerek dokularda oluşan toksisitenin immunoterapide sıklıkla kullanılan kafeik asitin etkilerine kas dokusunda bakılmıştır. Biyokimyasal değer olarak da Glutasyon S-Transferaz (GST), Asetilkolinesteraz (AChE), Bütirilkolinesteraz (BChE) enzim aktivite değerleri üzerindeki değişimler incelenmiştir. Araştırma bulgularında GST değerleri incelendiğinde, İzotonik grubunun GST aktivitesi diğer gruplara göre yüksek çıkmıştır. GST aktivitesi sadece izotonik ve CAPE arasında anlamlı bir fark bulundu ve bu anlamlı farkta CAPE ye göre GST aktivitesi, izotonik grupta daha yüksek bulunmuştur (p=0.032). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. DOX grubundaki AChE aktivitesi, izotonik ve CAPE ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur (p<0.05). DOX grubundaki BChE aktivitesi, izotonik ve DOX+CAPE grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur (p<0.05). Ayrıca, diğer gruplarda BChE aktivitesinde istatistiksel bir fark belirlenmemiştir.

Activity of Doxorubicin Administration on Glutathione S-Transferase, Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Enzymes in Rats: Effect of Caffeic Acid

Highlights:

- AChE enzyme activity was found to decrease with DOX application compared to sham and isotonic groups.
- This rate slightly increased when CAPE was applied.

Keywords:

- Doxorubicin
- Acetylcholinesterase
- Butyrylcholinesterase
- Glutathione S-transferase
- Caffeic Acid

ABSTRACT:

Chemotherapy is a treatment conducted using anticancer medicines to exterminate cancer cells or control the growth of these cells. Doxorubicin is a commonly used medicine in chemotherapy in many treatments of cancers. While chemotherapeutic medicines destroy the ill cells in our body, they affect the normal cells in the body too. This case is seen with some side effects which depend on the chemotherapy in the body. The treatment of chemotherapy aims to diminish side effects with maximum benefits. Combined treatment increases the effectiveness of treatment by decreasing the side effects of chemotherapeutics that are used in cancer therapy. In this study, the toxicity formed in tissues and the effects of caffeic acid on muscle tissues were observed by giving the doxorubicin (DOX) medicine to Albino Wistar rats. As biochemical values, variations in Glutathione S-Transferase (GST), Acetylcholinesterase (AChE), and Butyrylcholinesterase (BChE) enzyme activity values were investigated. The experimental results revealed that GST activity was higher than the other groups. The activity of GST was determined to be a meaningful difference between only isotonic and CAPE, and this meaningful difference in GST activity compared to CAPE was found to be higher in the isotonic group (p=0.032). Any meaningful differences were determined in the other groups. AChE activity in the DOX group compared to isotonic and CAPE was found to be significantly lower (p<0.05). BChE activity in the DOX group was determined to be significantly lower compared to the isotonic and DOX+CAPE group (p<0.05). Further, any statistical differences in BChE activity were found in the other groups.

¹ Fikret TÜRKAN ([Orcid ID: 0000-0002-0538-3157](https://orcid.org/0000-0002-0538-3157)), İğdır Üniversitesi, Dış Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, İğdır, Türkiye

² Çetin TİMUR ([Orcid ID: 0009-0001-1704-0768](https://orcid.org/0009-0001-1704-0768)), İğdır Üniversitesi, İğdır, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Fikret TÜRKAN, e-mail: fikret.turkan@gmail.com

GİRİŞ

Serbest radikaller, insan ve hayvanlarda fizyolojik aktivitenin doğal sonucu olarak ortaya çıkan ve yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektronun olduğu atom veya atom gruplarıdır. Doku ve hücrelerde oluşan serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Hücre metabolizmasında oksijen içeren pek çok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucu serbest oksijen radikalleri oluşabilmektedir. Bu kimyasal reaksiyonlar sırasında oksijen elektron transport zincirinde suya kadar indirgenirken her basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır (şahin, 2016).

Oksijen molekülü hayat devamlılığı için oldukça önemlidir. Hücrelerde reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller fazla miktarda olursa oksidatif stres oluşur. Oksidatif stres ise karbonhidrat metabolizmasına, yağ ve proteinler üzerinde negatif etkiler meydana getirmektedir. Serbest radikaller DNA'da nükleik asit baz diziliminde değişiklikler yaparak hidroksil radikallerinin pürin ve pirimidin bazlarını okside ederek; baz delesyonları, baz modifikasyonları ve zincir kırılmalarına neden olabilmektedir. Oksijen radikalleri, oksidatif bozulma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidin bazları en hassas yapılardır. DNA zincirinin kopması ve dolayısıyla DNA'da ki çift sarmal yapının ayrılması sonucu hücrede mutasyon ve kanser gerçekleşebilmektedir. Bu durum antioksidanlar tarafından sonlandırılınca kadar tekrar etmeye devam etmektedir. Serbest radikal oluşumunun engellenebilinmesi için mutlaka antioksidan içeren besinleri tüketilmesi gerekmektedir (Akdağ, 2021).

Antioksidan zellikli birçok madde araştırılıp bulunmuştur. Bu maddelerden bazıları dışardan bitkiler aracılığıyla alınabildiği gibi bazıları da vücudun savunma sistemi tarafından üretilmektedir. Vücudun savunma olarak serbest radikallere karşı ürettiği antioksidanlar, katalaz, glutasyon peroksidaz, ve superoksitdismutaz (SOD) gibi enzimlerdir (Valko ve ark., 2007).

Sigara kullanımı, hava kirliliği, uygunsuz beslenme alışkanlıkları (iki tüketimi, kalitesiz ve yetersiz besin alımı), stres de endojen ve eksojen olarak serbest radikal üretimini fazlalaştırmaktadır. şayet organizmadaki antioksidan kapasitesi yetersiz olursa metabolik reaksiyonların hücreler için negatif etkileri olabilmekte ve geri dönüşümü olmayan bu zararlı reaksiyonlar sonucunda ciltte kırışıklık, akne, Alzheimer, erken yaşlanma, diyabet, damar tıkanıklıkları, Parkinson ve birçok kanser türünün oluşmasına neden olmaktadır (Yılmaz, 2010).

ABD Milli Kanser Araştırmaları Enstitüsü kimyasal engelleme veya nemeyi; "Vitamin, ilaç veya diğer ajanları kullanarak kanser gelişim riskini geciktirmek, engellemek ya da ortadan kaldırmak" diye tanımlamıştır. Bu ajanlarla kimyasal nleyiciler arasında karotenoidler, indoller ile meyve ve sebzelerle vücuda giren düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar önce gelmektedir. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlarda özellikle 'hasarlı olmayan' diğer bir deyişle 'normal' yapıda bulunan doku ve hücrelerin korunması hedeflenmektedir. Bu durumu en iyi sağlayabilen bileşiklerin başında da meyve ve sebzelerde bulunan antioksidanlar gelmektedir. Bu nedenle çok sayıda değerli ve doğal olarak antioksidan bileşikler içeren kaynakların başında gelen bitkiler, yaklaşık olarak sekiz bin kadar farklı yapıdaki fenolikleri bünyesinde barındırmaktadır (Davidson ve ark., 2009).

Kanser tedavisinde birçok farklı tedavi ve antikanser ilaç kullanılmaktadır. Bu ilaçların en yaygın kullanılanı doksorubisindir (DOX). DOX klinik kullanımıyla beraber pekçok yan etkiyi de yanında getirmektedir. Bu yan etkilerin doğal maddeler tarafından azaltılıp ortadan kaldırılması oldukça önemlidir. Kafeik asit bu maddelerden biri olup fenolik bir bileşiktir. DOX kaynaklı istenmeyen toksisiteler ve beraberinde antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişimlerin neler olacağını bilmemiz konusunda Albino Wistar cinsi ratlara DOX ilacı verilerek antioksidan bir madde

olan Kafeik Asit'in (CAPE) etkileri ile nasıl değiştiği sıçanların kas dokusunda incelendi. Biyokimyasal parametre olarak antioksidan enzimlerden Asetilkolin Esteraz, Btirilkolin Esteraz ve Glutasyon-S transferaz (GST) enzim aktivitelerindeki değişim düzeyleri incelendi.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Deney hayvanlarında kullandığımız doksorubisin, kafeik asit, kas doku homojenatını hazırlamak için gerekli fosfat ve diğer kimyasallarının yanı sıra enzim aktivite çalışmaları için gerekli tüm sarf malzemeler Sigma Aldrich Company'den temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan sıçanlar ve etik onay belgesi ise Van YY Deney Hayvanları nitesinden temini yapılmıştır.

Kullanılan kimyasallar

Çalışma boyunca laboratuvarıda kullanılan kimyasallar; 5,5-dithio-bis-(2- nitrobenzoik asit (DTNB), astilkolin iyodat (AChI), btirilkoliniyodat (BChI) trihidroksimetilaminometan (Tris), hidroklorik asit (HCl), Glutasyon (GSH), 1-kloro 2,4 dinitrobenzen (CDNB), Takrin, podyum fosfat, EDTA, sodyum sitrat.

Deney hayvanlarının hazırlanması

Çalışma esnasında 50 mg/kg ketamin+20 mg/kg ksilazin ile anestezi altında sıçanların karın bölgeleri açılmıştır. 200 mg kas dokusu tartılarak üzerine 1.8 (1:10) ml 50 mM (pH: 7.4) fosfat tamponu ilave edilmiştir. 30 saniye boyunca ultra turrax cihazı ile homojenize edilmiştir. 10000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki fazda kalan süpernatant başka bir eppendorf tüpe aktarılarak çalışma gününe kadar -80 °C' de muhafaza edilmiştir.

Metod

Çalışmada, ağırlıkları 250-350 gr arasında ve yaşları 2-3 ay arasında değişen toplam 40 advdino Wistar cinsi sıçan kullanılmıştır. Ratlar alışma boyunca 24 °C'de 12'i saat aydınlık ve 12'i saat karanlık olmak üzere oda şartlarında plastik kafeslerde barındırılmıştır. Ratlar her gupta 8 sayıda olacak şekilde rastgele 5 gruplara ayrılmıştır (n=5). Kullanılan doksorubisin'in etkin doz ve süresi daha önce Nishi ve ark., (2018)'nın kullandığı etken doz ve süresi dikkate alınarak uygulanmıştır (Nishi ve ark., 2018). Kafeik Asit'in etkin dozları için ise Costa ve ark., (2017) kullandığı etken doz miktarları kısmen modifiye edilerek uygulanmıştır (Costa ve ark., 2018). Gruplar aşağıdaki gibi oluşturulmuştur.

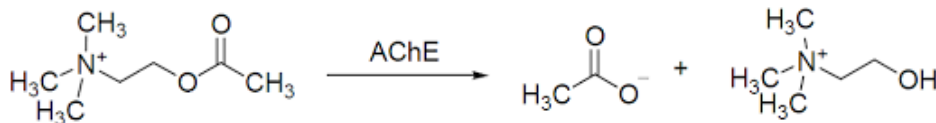
Tablo 1. DOX ve CAPE uygulanan deney hayvanlarında gruplandırma ve sıçan sayısı

Grup Adı	Sıçan Sayısı	Uygulama ve Tedavi şekli	Kafeik Asit (CAPE)	Doksorubisin(DO X)
Sham	8	Periton bölgesine boş enjektör batırılıp çıkarılmıştır.	Yok	Yok
İzotonik	8	21 gün boyunca günde tek doz (200 µL) intraperitoneal olarak DMSO verilmiştir.	Yok	Yok
DOX	8	DMSO içinde znmş 3 mg/kg dozda doksorubisin 21 gün boyunca günde tek doz intraperitoneal olarak uygulanmıştır.	Yok	Var
CAPE	8	21 gün süresince günde tek doz 30 mg/kg intraperitoneal kafeik asit verilmiştir.	Var	Yok
CAPE+DOX	8	21 gün boyunca günde tek doz intraperitoneal olarak 30 mg/kg dozda kafeik asit ve 3 mg/kg doksorubisin verilmiştir.	Var	Var

Enzim aktivite ölçüm yöntemleri

Asetilkolin esteraz enziminin aktivite ölçümü

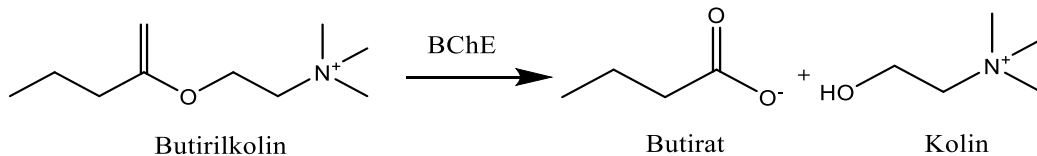
AChE enziminin aktivite tayini, etkili antikolinesteraz aktivitesi olan böcek öldürücülerin neden olduğu kronik ve akut zehirlenme olaylarında tedaviye yanıt vermek için klinik olarak önemlidir. Eritrosit ve serum kolinesteraz aktivite düzeyleri çeşitli durumlarda anlamlı klinik veriler olarak onay görmüştür. Asetilkolin esteraz enzimi, asetilkolinin (ACh) tiyokoline hidrolizini katalizlemektedir. Tiyokolinin oluşum oranı, 5-tiyo-2-nitrobenzoik asitin oluşumundan kaynaklanan sarı rengi üreten DTNB ile tiyokolinin reaksiyonunu sonrası sarı renğinde anyonun oluşum oranı 412 nanometrede ölçümler yapılmıştır (Ellman ve ark., 1961, Buldurun ve ark., 2022, ztrk ve ark., 2025).



şekil 1. Asetilkolin'in kolin ve asetik asite parçalanması reaksiyonu (Demir ve Türkan, 2022)

Btirilkolin esteraz enziminin aktivite ölçümü

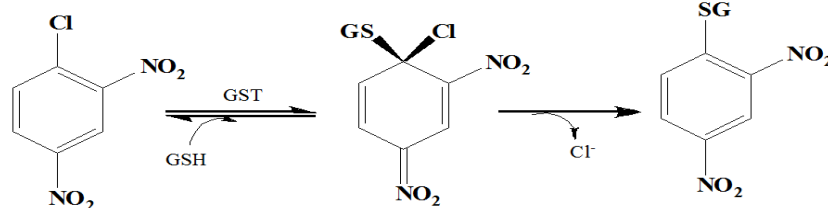
BChE, memelilerde bilinen biyolojik substratı bulunmayan bir enzimdir (Türkan, 2021). Fakat btiriltiyokolin, propiyoniltiyokolin, BCh, propiyonilkolin ve farmakolojik açıdan önemli bir yeri olan süksinilkolin gibi kolin esterlerini hidroliz etmektedir (Kutty ve Payne, 1994). Bütirilkolinesteraz (BChE) aktivitesi tıpkı asetilkolinesteraz enziminde olduğu gibi Ellman yöntemiyle ölçülür. Bu yöntemde butiriltiyokolin substratı, BChE tarafından hidrolize edilerek tiyokolin oluşturur; bu tiyokolin, DTNB (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid) ile reaksiyona girerek sarı renkli 5-thio-2-nitrobenzoat anyonunu oluşturur ve absorbans değişimi 412 nm'de spektrofotometrik olarak izlenir. Enzim aktivitesi, oluşan ürün miktarına göre hesaplanır.



şekil 2. Btirilkolinin kolin ve bütirata dönüşüm mekanizması (Türkan ve Akil,2024)

Glutasyon s-transferaz enziminin aktivite tayini

GST enzimi aromatik elektrofil ile bir glutasyon molekllnn konjugasyonunu katalizlemektedir (Balcı ve ark., 2019). En çok kullanılan aromatik elektrofil CDNB'dir. CDNB substratının kullanımıyla oluşan dinitrobenzen S-glutasyon (DNB-SG) rn 340 nanometrelik dalga boyunda maksimum absorbans değerini göstermektedir (Türkan ve ark., 2019). Bunun sonucunda dalga boyundaki absorbans artış değerinden faydalanılarak aktivite ölçümü yapılabilir. Çalışmamızda bu ölçüm metodu kullanılmıştır (Türkan ve Atalar, 2018).



şekil 3. GST enziminin aktivitesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesinde kullanılan ürünün oluşum mekanizması (Habdous ve ark., 2002)

CDNB, GSH'ın yokluğunda hızlı bir şekilde glutasyon S-transferazı inaktive etmektedir. Bu nedenle reaksiyonun mutlaka CDNB ile başlatılması gerekir. Spektrofotometre cihazı kullanılarak başlangıçta ve dakikada bir olmak üzere üç dakika süresince absorbans değerleri ölçülüp kaydedilmiştir (Habig ve ark., 1974).

Protein konsantrasyonunun belirlenmesi

Potasyum fosfat (KH_2PO_4) çözeltisinden 0.5 mikrolitre alınıp blank referans alındı. Nanodropta OD₂₅₀ dalga boyunda örnekler 0.5 mikrolitre kullanılarak konsantrasyonu ölçülmüştür. 3 tekerrürlü ölçüm yapılarak toplamda bu sonuçların ortalaması BSA cinsinden hesaplanmıştır.

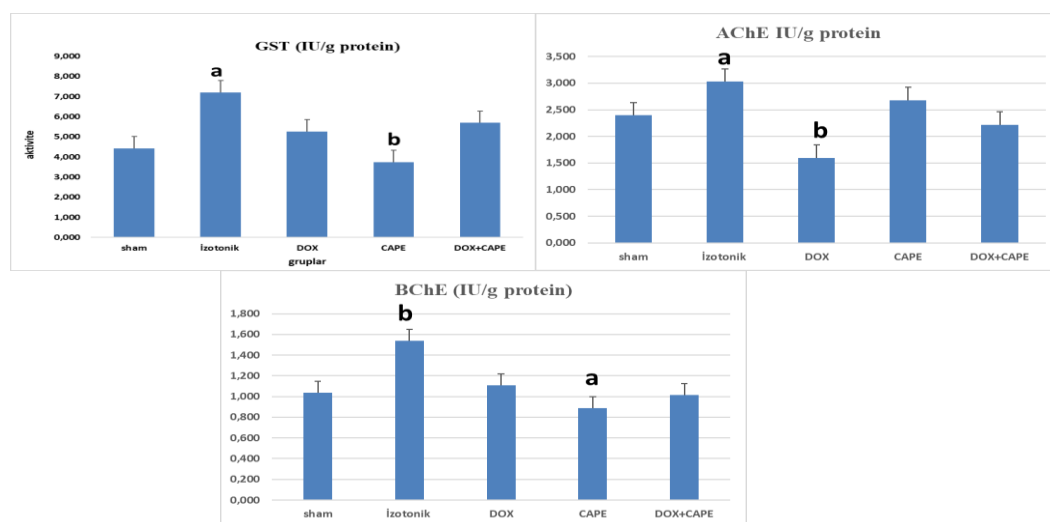
BULGULAR VE TARTIŞMA

Kas dokusuna ait GST değerleri incelendiğinde, İzotonik grubunun GST aktivitesi diğer gruplara göre yüksek çıkmıştır. GST aktivitesi sadece izotonik ve CAPE arasında anlamlı bir fark bulundu ve bu anlamlı farkta CAPE ye göre GST aktivitesi, izotonik grupta daha yüksek bulunmuştur ($p=0.032$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Diğer ayrıntılı sonuçlar Tablo 2 ve Şekil 4'de görülmektedir.

Tablo 2. GST, AChE ve BChE seviyelerine ait sonuçların ortalama ve standart sapma değerleri

	GST (IU/g protein)	AChE (IU/g protein)	BChE (IU/g protein)
Sahm	4.424±0.920	2.396±0.505	1.037±0.226
İzotonik	7.202±0.894 ^a	3.031±0.446 ^a	1.539±0.199 ^b
DOX	5.257±1.169	1.600±0.175 ^b	1.108±0.213
CAPE	3.743±0.592 ^b	2.682±0.203	0.888±0.072 ^a
DOX+CAPE	5.695±1.142	2.22±0.737	1.015±0.202
P Değeri	=0.032	=0.012	<0.05

p: diğer gruplara göre anlamıdır ($p=0.001$), **p: sahm ve izotonik grubuna göre anlamlı ($p=0.001$), ^ap: sahm, izotonik ve DOX gruplarına göre anlamlı ($p=0.001$).



Şekil 4. Kas dokusundaki GST, AChE ve BChE değerleri karşılaştırıldığında, aynı sütunda farklı harf alan gruplar arasında anlamlı bir fark vardır (İzotonik ve CAPE, $p = 0.032$).

Gruplar arası AChE aktivitesinde ise, en düşük aktivite DOX grubunda iken en yüksek aktivite İzotonik grubunda izlenmiştir. DOX grubundaki AChE aktivitesi, izotonik ve CAPE ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Gruplar arası BChE aktivitesinde ise, en yüksek aktivite İzotonik grubunda görülürken en düşük aktivite CAPE grubunda izlenmiştir. CAPE

grubundaki BChE aktivitesi, izotonik grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca, diğ er gruplarda BChE aktivitesinde istatistiksel bir fark belirlenmemiştir.

Temel, (2018) Kolinesteraz metabolizmasındaki değ işiklikleri ve bozulmaları Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirmiş ti. Bu hastalıkta semptomatik tedavilerde genellikle acetylcholiesterase inhibitörleri reaktif oksijen moleküllerinin toksik durumlarından hücrelere bariyer görevi yaparak antioksidan üretimini desteklediğ ine dair çalışmaların bulunduğ unu bildirmiştir. Bu çalışmada üç aylık süre zarfında rivastigmin ve donepezil tedavisi alan Alzheimer hastalarında kolinesteraz inhibisyonu ile oksidatif strese ne gibi değ işimler olduğ unu incelemiştir. Alzheimer hastalığı tanısı konmuş 13 hastaya (8'i kadın, 5'i erkek), rivastigmin ilacı verilirken; geri kalan 13 hastaya (8'i erkek, 5'i kadın) donepezil tedavisi baş lanmıştır. Kontrol grubuna ise 17 sağı klı kişi (9'u erkek, 8'i kadın) konulmuştur. Kontrol grubu ve tedavi öncesi ve sonrasında hastalardan elde edilen doku preparatlarında; malondialdehit düzeyleri ve asetilkolinesteraz, süperoksit dismutaz, bütirilkolinesteraz, glutasyon peroksidaz, katalaz aktivitesi ölçülmüştür. Kısaca mental sağı klarını inceleyerek, kognitif bunama evrelendirilmesi yapmış ve günlük yaşamdaki becerilerinin ne olduğ unu saptamıştır. Çalışma sonucunda donepezil ve rivastigmin tedavisi alan Alzheimer tanısı almış grupların artış gösterdiğ i saptamış malondialdehit seviyelerini ise anlamlı bir düzeyde azalttığ ını bulmuştur. Alzheimer tanısı alan hastalarda azaldığı tespit edilen eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesini donepezil ve rivastigmin ilaçları anlamlı bir seviyede artış gösterdiğ ini bildirmiştir. Rivastigmin ilacıyla olan tedavide plazma bütirilkolinesteraz aktivitesi; donepezil ilacı alanlarda ise eritrosit asetilkolinesteraz aktivitelerini anlamlı seviyelerde azalttığ ını bulmuştur. Rivastigmin ilacını kullanan hastaların günlük yaşamdaki beceri ve aktivitelerinde olumlu sonuçlar verdiğ ini bildirmiştir. Çalışmada ki elde ettiğ i sonuçlarda donepezil ve rivastigmini alarak tedavi olan Alzheimer'lı bireylerin semptomatik tedavisinde asetilkolin düzeylerini arttırarak kolinerjik iletimin dzenleneceğ ine yardımcı olabilecek potansiyelinin varlığ na ve aynı zamanda oksidatif strese olumlu etkiler sağı layacağ ını saptamıştır (Temel, 2008). Bizim alışmamızda ratlarda doksorubisin ile oluşturulan toksikasyonda önemli enzim seviyelerine bakıldığ ı zaman CAPE uygulanmasıyla GST'nin antioksidan zelliğ i ortaya bir kez daha çıkılmış tır. GST aktivitesi en yüksek izotonik grubunda olmuştur.

zalp ve ark., (2020) yapmış olduğ u çalışmada, son evrede olan Galleria mellonella larvalarına arka bacakları üzerinden ZnO NP 30 mg/L ve 30 µg/mL'lik enjeksiyonu uygulanmış lardır. Enjeksiyon uygulaması sonrası deneme ve kontrol gruplarıyla izole ettikleri yağ dokusundaki oksidatif stres seviyesini AChE enzim aktivitesinin tespitiyle belirlemiş lerdir. Elde olan verilerde ZnO NP'ye uzunca maruz kalan Galleria mellonella larvalarının yağ dokularındaki AChE aktivitesinde kontrol gruplarına göre her 2 uygulama grubunda da istatistiksel olarak belirgin yükselme ve azalışlar görmüşlerdir. neri olarak ise elde edilen veriler doğ rultusunda yeni yapılacak immünolojik ve fizyolojik çalışmaların daha ayrıntılı sonuçlar vereceğ ini bildirmiş lerdir (zalp ve ark., 2020). Bizim alışmamızda kas dokusundaki AChE enzimi için en yüksek aktivite izotonik grubunda iken bunu CAPE uygulanan grup takip etmiştir. DOX grubundaki AChE aktivitesi, izotonik ve CAPE ile kıyaslandığında ise anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur.

Alp ve ark., (2011) yapmış oldukları çalışmada sıçanlara akut malathion (MAL) vererek zehirlenme yaparak onların böbrek, karaciğ er ve akciğ er dokularında oluşan nitrik oksit (NO), malondialdehit (MDA) ve redükte glutasyon (GSH) aktiviteleri üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE)'nin ve elajik asitin (EA) ne gibi etkiler yaptığını incelemiş lerdir. alışmalarında 36 adet yetişkin dişi sıçan kullanarak rastgele her grupta 6 adet sıçan olacak şekilde sıçanları 6 gruba (kontrol, CAPE, EA, MAL+EA MAL, MAL+CAPE) ayrılmış lardır. Sonuca bakıldığ ında ise kontrol grubu ile

EA ve CAPE gruplarını MDA, redükte GSH ve NO aktivitelerini kıyaslamışlar ve gruplar arasında önemli bir istatistiksel fark saptamamışlardır. MAL grubunun karaciğer dokusunda MDA seviyelerini önemli düzeyde arttırdığını fakat CAPE grubunun ise MAL'un toksik etkisini engelleyip MDA seviyesini anlamlı bir şekilde azalttığını gözlemlemişlerdir. MAL grubunun böbrek, karaciğer ve akciğer dokularında redükte GSH seviyelerini azalttığı, buna karşılık CAPE ve EA grubunun ise redükte olan GSH seviyelerini arttırdığı saptamışlardır. MAL'ın sebep olduğu şiddetli doku intoksikasyonlarına bağlı NO seviyelerinin de önemli derecede yükseliş gösterdiğini; CAPE ve EA'in NO seviyelerini düşürdüğü tespit etmişlerdir ($p < 0.05$). CAPE ve EA grubunun birbirlerine benzer şekilde etkiler gösterdiklerini ve akut malathion zehirlenmelerinin sebep olduğu doku harabiyeti ve oksidatif strese karşı koruyucu amaçla kullanılabilirliği sonucuna varmışlardır (Alp ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda kas dokusundaki DOX ilacı verilen ratlarda GST aktivitesi sadece izotonik grup ve CAPE grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ve bu anlamlı farkta CAPE ye göre GST aktivitesi, izotonik grupta daha yüksek düzeyde saptanmıştır ($p=0.032$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Deveci ve ark., (2015) yapmış olduğu bir çalışmada pestisit bir madde olan klorprifos-etil (CPF) ile akut zehirlenme yapılarak; kafeik asit fenetil esterinin oksidatif stres indeksi (OSİ), total oksidan (TOS) düzeyleri, paraoksonaz (PON1) aktivitesi ve total antioksidan (TAS) zerine ne gibi etkiler yaptığı araştırmışlardır. Her biri 25-30 gram ağırlıklı, Mus musculus türü 32 tane erkek sıçanı gelişgzel 4 eşit gruba ayırmışlardır. 1. gruba intraperitoneal enjeksiyon ile serum fizyolojik (% 0.9 NaCl), 2. Gruba deri altı fizyolojik serum ile 101 mg/kg CPF verilmiş, 3. Gruba ise intraperitoneal olarak 10 µmol/kg kafeik asit; 4.gruba ise deri altı 101 mg/kg CPF ve periton içi 10 µmol/kg kafeik asiti uygulamışlardır. Serum rnekleri sonucunda CPF uygulamaları yapılan sıçanlarda, PON1 seviyesi 189.21 ± 22.31 U/L; TAS seviyesi 1.03 ± 0.13 mmol Trolox eğivalen/L; TOS 7.10 ± 0.69 µmol H₂O₂ eğiv./L ve OSİ değerlerini 0.69 ± 0.09 arbitrary birim olarak bulmuşlardır. CPF ile oluşturulan zehirlenmede PON1 aktivitesi ve TAS seviyelerini azalarak seyrettiğini görürken; OSİ ve TOS seviyelerinin ise artış gösterdiğini saptamışlardır. CAPE'nin ise, CPF'nin sebep olduğu oksidatif stresi düşürücü etki yaparak hücreyi koruduğunu belirlemişlerdir (Deveci ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda ise doksorubisinle toksikasyon yapılmış ve farklı parametrelere bakılmıştır. BChE enzimi aktivitesini sham ve izotonik gruplarına göre azalış gösterirken; CAPE (kafeik asit) uygulandığında ise bu oran biraz artış göstermekte ve DOX+CAPE etkisiyle enzim aktivitesinin biraz daha arttığı görülmüştür. Fakat artış oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Kuloğlu ve ark., (2022) yapmış oldukları çalışmada doksorubisin toksikasyonu ile böbrek hasarında D vitamininin iyileştirici etkileri ve asprosin ile ne gibi ilişkilerinin olduğunu araştırmışlardır. Albino Wistar cinsi erkek ratları 4 gruba ayırarak her grupta da 6 tane hayvan olacak şekilde sınıflandırmışlardır. Kontrol grubuna hiçbir işlem yapmamışlardır. D vitamini verilen ratlara günde 200 IU d vitamini vermişlerdir. Doksorubisin grubuna bakıldığında ratlara 1.günde intraperitoneal şekilde bir doz doksorubisin 10 mg/kg oranında uygulamışlardır. D vitamini+ Doksorubisin grubundaki ratlara bir doz doksorubisin intraperitoneal olarak vermişlerdir. Deneyin 1.gününde 10 mg/kg ve 14 günlük deney süresince her gün ağız yoluyla 200 IU/gün D vitaminini vermişlerdir. Çalışmalarında doksorubisinin toplam oksidan seviyelerini ve TUNEL pozitifliğini arttırdığını, asprosin seviyelerini düşürdüğünü, tedavi edici olarak verilen D vitamininin toplam oksidan seviyesini ve TUNEL pozitifliğini düşürdüğünü, asprosin düzeyininse değişmediğini gözlemlemişlerdir. DOX'un asprosin azaltarak doku hasarı mekanizmasında etkisinden söz edilebileceği ve tedavide vitamin D'nin iyileştirici etkisinin var olduğu fakat bu etkinin asprosin

bağımsız bir düzenek ile sağlandığı bildirmişlerdir (Kuloğlu ve ark., 2022). Bizim çalışmamızda DOX uygulamasını ile detoksifikasyon merkezinde aşırı salgılanıp savunma sistemini güçlendirmiş. Aktiviteye bakıldığında sham grubuna göre artış vardır. CAPE uygulamasını ile GST'nin antioksidan özelliğine olan ihtiyacı azaltmıştır. Bu da CAPE'nin antioksidan özelliğini ortaya koymaktadır.

SONUÇ

GST enzimi detoksifikasyon metabolizmasının faz II aşamasında görev alan çok önemli bir antioksidan enzimdir. DOX uygulamasıyla aşırı salgılanıp savunma sistemini güçlendirmiştir. Aktivitesi özellikle sham grubuna göre artmıştır. CAPE uygulaması ile GST'nin antioksidan özelliğine olan ihtiyacı azaltmıştır. Bu da CAPE'nin antioksidan özelliğini ortaya koymaktadır. DOX+CAPE uygulaması sham grubuna göre GST'nin aktivitesinde artışa sebep olurken izotonik grubuna göre GST aktivitesinde anlamlı düşüşe sebep olmuştur. Kolinesteraz enzimleri daha çok eritrositlerde, dalak ve akciğerde, sinir uçları ve beyinde bulunmaktadır. Sinir uçlarında sinapslarda salgılanan nörotransmitter asetilkolini hidroliz ederek sinirin depolarizasyonunu sağlamaktadır. Cerrahide asetilkoline benzeyen ilaçlar kas gevşetici ilaç olarak kullanılır. Bu ve benzeri ilaçlar kolinesterazlar tarafından hızlıca hidroliz edilip organizmadan atılmaktadır. Bundan dolayı DOX'un kolinesterazlar üzerindeki etkisini inceledik. Sonuçlara bakıldığında DOX uygulamasıyla AChE enzimi aktivitesini sham ve izotonik gruba göre düşüş gösterirken; CAPE uygulandığında bu oran biraz artış göstermekte ve DOX+CAPE etkisiyle aktivitenin biraz daha arttığı görülmektedir. Fakat artış oranı istatistiksel olarak anlamlı olmadığından DOX, CAPE, DOX+CAPE etkisinden bahsedemeyiz. Benzer durum BChE enzimi içinde geçerli olup araştırmanın daha da aydınlatılması için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın in vitro deneysel kısmı Iğdır Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. İn vivo çalışmalar ise Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi deney hayvanları hastanesi ve Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederim.

Yazar Katkısı

Yazarların makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Alp, H., Aytekin, İ., Atakişi, O., & Ogün, M. (2011). Ratlarda akut malathion toksisitesinin neden olduğu oksidatif stres üzerine kafeik asit fenetil ester ve elajik asit'in etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 6(2), 117-124.
- Balcı, N., Türkan, F., Şakiroğlu, H., Aygün, A., & Şen, F. (2019). Purification and characterization of glutathione S-transferase from blueberry fruits (*Vaccinium arctostaphylos* L.) and investigated of some pesticide inhibition effects on enzyme activity. *Heliyon*, 5(4).
- Buldurun, K., Aras, A., Turan, N., Turkan, F., Adiguzel, R., & Bursal, E. (2022). Synthesis and characterization of azo dye complexes as potential inhibitors of acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and glutathione S-transferase. *ChemistrySelect*, 7(40), e202203365.
- Costa, C., Chaves, F., Rombaldi, C., & Souza, C. (2018). Bioactive compounds and antioxidant activity of three biotypes of the sea asparagus *sarcocornia ambigua* (michx.) ma alonso & mb creso: A halophytic crop for cultivation with shrimp farm effluent. *South African Journal of Botany*, 117, 95-100.

- Davidson, P. G., & Touger-Decker, R. (2009). Chemopreventive role of fruits and vegetables in oropharyngeal cancer. *Nutrition in Clinical Practice*, 24(2), 250-260.
- Demir, Z., & Türkan, F. (2022). Asetilkolinesteraz ve Bütirilkolinesteraz Enzimlerinin Alzheimer Hastalığı ile İlişkisi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(4), 2386-2395.
- Deveci, H. A., Karapehlivan, M., Kükürt, A., & Alpay, M. (2015). Akut klorprifos-etil zehirlenmesine karşı kafeik asit fenetil ester'in koruyucu etkisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 62(4), 255-260.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Habdous, M., Vincent-Viry, M., Visvikis, S., & Siest, G. (2002). Rapid spectrophotometric method for serum glutathione s-transferases activity. *Clinica Chimica Acta*, 326(1-2), 131-142.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Fleischner, G., Gatmaitan, Z., Arias, I. M., & Jakoby, W. B. (1974). The identity of glutathione s-transferase b with ligandin, a major binding protein of liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(10), 3879-3882.
- Kuloğlu, T., Kocaman, N., & Artaş, G. (2022). Doksorubisin'in sıçan bbrek dokularında yaptığı hasar üzerine vitamin d'nin etkilerinin ve asprosin ile İlişkinin İncelenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 36(1), 13-18.
- Kutty, K., & Payne, R. (1994). Serum pseudocholinesterase and very-low-density lipoprotein metabolism. *Journal of clinical laboratory analysis*, 8(4), 247-250.
- Nishi, K., Gunasekaran, V. P., Arunachalam, J., & Ganeshan, M. (2018). Doxorubicin-induced female reproductive toxicity: An assessment of ovarian follicular apoptosis, cyclicity and reproductive tissue histology in wistar rats. *Drug and chemical toxicology*, 41(1), 72-81.
- zalp, P., Tunsoy, B., & Meşe, Y. (2020). inko oksit nanopartiklnn galleria mellonella (lepidopetra: Pyralidae)(l.) larvalarında asetilkolinesteraz enzim aktivitesi üzerine etkisi. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(Suppl 1)), 213-216.
- ztrk, C., Balci, N., Aslan, O. N., & Kalay, E. (2025). Novel Sulfonylhydrazones With Sulfonate Ester Framework: Promising Dual Inhibitors of AChE and hCAs. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, e2780.
- Şahin, S. (2016). Sıçanlarda monosodyum glutamatın neden olduğu oksidatif strete eritrosit ve karaciğer dokusundaki değişiklikler; melatoninin koruyucu rolü. *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*,
- Temel, H. E. (2008). Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi.
- Türkan, F., & Atalar, M. N. (2018). The effects of amoxicillin and vancomycin hydrochloride hydrateon glutathione S-transferase enzyme activity: an in vitro study. *Iğdır Univ. J. Inst. Sci. Technol*, 8, 141-148.
- Türkan, F., Huyut, Z., Huyut, M. T., & Calimli, M. H. (2019). In vivo biochemical evaluations of some β-lactam group antibiotics on glutathione reductase and glutathione S-transferase enzyme activities. *Life sciences*, 231, 116572.
- Türkan, F. (2021). Investigation of the toxicological and inhibitory effects of some benzimidazole agents on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. *Archives of physiology and biochemistry*, 127(2), 97-101.
- Türkan, F., & Akil, K. (2024). Piperidin Halkası İçeren Bazı Moleküllerin Glutasyon S-Transferaz ve Kolinesteraz Enzimleri zerine Etkilerinin Teorik ve Deneysel Olarak İncelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(2), 812-821.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan ieren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 17(2), 143-154.