



**RATLARDA DOKSORUBİSİN UYGULAMASININ GLUTATYON
S-TRANSFERAZ, ASETİLKOLİNESTERAZ VE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ
ENZİMLERİ ÜZERİNE AKTİVİTESİ; KAFEİK ASİT'İN ETKİSİ**

Hazırlayan: Çetin TİMUR

Danışman: Doç. Dr. Fikret TÜRKAN

BİYOMÜHENDİSLİK ve BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

IĞDIR/2023

Her Hakkı Saklıdır

T.C
İĞDIR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DOKSORUBİSİN UYGULAMASININ GLUTATYON
S-TRANSFERAZ, ASETİLKOLİNESTERAZ VE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ
ENZİMLERİ ÜZERİNE AKTİVİTESİ; KAFEİK ASİT'İN ETKİSİ**

Çetin TİMUR

BİYOMÜHENDİSLİK ve BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

İĞDIR/2023

Her hakkı saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Çetin TİMUR



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

RATLARDA DOKSORUBİSİN UYGULAMASININ GLUTATYON S-TRANSFERAZ, ASETİLKOLİNESTERAZ VE BÜTİRİLKOLİNESTERAZ ENZİMLERİ ÜZERİNE AKTİVİTESİ; KAFEİK ASİT'İN ETKİSİ

TİMUR, Çetin

Yüksek Lisans Tezi

Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fikret TÜRKAN

Şubat 2023, 61 sayfa

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 tez çalışmasında 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.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, Asetilkolin Esteraz, Bütirilkolin Esteraz, Glutasyon S-transferaz, Kafeik Asit

ABSTRACT

THE ACTIVITY OF DOXORUBICIN APPLICATION ON ENZYMES OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE, ACETYLCHOLINESTERASE AND BUTYRYLCHOLINESTERASE; THE EFFECTS OF CAFFEIC ACID

TİMUR, Çetin

Master's Thesis

Department of Bioengineering and Sciences

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Fikret TÜRKAN

February 2023, 61 Pages

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.

Keywords: Doxorubicin, Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Glutathione S-transferase, Caffeic Acid

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince benim için her türlü araştırma ve geliştirme olanakları sağlayan, her türlü sorularımı cevaplamaya çalışan, beni doğru bir şekilde yönlendiren tez danışmanlarım sayın **Doç. Dr. Fikret TÜRKAN'a**, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi **Doç. Dr. Zübeyir HUYUT'a**, Iğdır Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi öğretim üyesi **Doç. Dr. Mehmet Nuri ATALAR'a** çok teşekkür ederek şükranlarımı sunarım. Ayrıca çalışmalarım boyunca benden yardımını ve desteğini esirgemeyen her türlü sorularımı güler yüzle cevaplayan ve gelişmeme yardımcı olan Iğdır Üniversitesi ALUM Personellerine, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanları ve Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim elemanlarına teşekkür ederim.

Çetin TİMUR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALARDIZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Enzimler	2
1.1.1. Enzimlerin Yapısal Özellikleri	4
1.1.1.1. Enzimlerin Sınıflandırılması ve Biyokimyasal Fonksiyonları.....	5
1.1.1.2. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler	5
1.1.1.2.1. Ph Etkisi:	5
1.1.1.2.2. Sıcaklık Etkisi	5
1.1.1.2.3. Substrat Değişimi.....	6
1.1.1.2.4. Enzim Değişimi	6
1.1.1.2.5. Süre.....	6
1.1.1.2.6. Ürün Değişimi.....	6
1.1.2. Asetilkolin Esteraz Enzimi	6
1.1.2.1. AChE Yapısı	7
1.1.2.2. AChE'nin ACh Hidrolizindeki Görevi	7
1.1.3. Bütililkolin Esteraz Enzimi	9
1.1.3.1. Bütililkolin Esteraz Enziminin Yapı ve Görevleri.....	9
1.1.4. Glutasyon S-transferaz Enzimi	10
1.1.4.1. GST Enzimi'nin Yapısı.....	11
1.1.4.2. GST Enzimi'nin Görevleri	11
1.2.Kanser.....	12
1.2.1. Kanser Tedavisi	14

1.2.2. Kanser Kemoterapisi	15
1.3. Dokсорubisin	16
1.3.1. Dokсорubisin'in Tarihi	16
1.3.2. Etki Mekanizması	17
1.3.3. Klinik Kullanımı	17
1.3.4. Yan Etkileri	17
1.4. Serbest Radikaller	17
1.5. Antioksidan	19
1.5.1. Doğal Antioksidanlar	20
1.6. Kafeik Asit	20
2. KAYNAK ÖZETLERİ	22
2.1. Glutasyon S- Transferaz Enzimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar	22
2.2. Asetilkolinesteraz Enzimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar	24
2.3. Bütirilkolinesteraz Enzimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar	27
2.4. Dokсорubisin ile İlgili Yapılan Çalışmalar	28
2.5. Kafeik Asit ile İlgili Yapılan Çalışmalar	30
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Materyal	33
3.2. Kullanılan kimyasallar	33
3.3. Kullanılan alet ve cihazlar	33
3.4. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması	34
3.4.1. Asetilkolin Esteraz Enzimi'nin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması	34
3.4.2. Glutasyon S-transferaz (GST) Enzimi'nin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması	34
3.4.3. Bütirilkolin Esteraz Enzimi'nin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması	34
3.5. Deney hayvanlarının hazırlanması	35
3.6. Metod	35
3.7. Enzim Aktivite Ölçüm Yöntemleri	37
3.7.1. Asetilkolin Esteraz Enzimi'nin Aktivite Ölçümü	37

3.7.2. Bütürlkolin Esteraz Enzimi'nin Aktivite Ölçümü	38
3.7.3. Glutasyon S-transferaz Enzimi'nin Aktivite Tayini	39
3.8. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	41
4.1. İstatistiksel Analiz	41
4.2. Bulgular	41
4.3. Tartışma.....	43
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	48
KAYNAKÇA	49
ÖZGEÇMİŞ.....	62

SİMGELER ve KISALTMALARDIZINI

Simgeler

%.....	Yüzde
G.....	Gram
µl.....	Mikrolitre
µM.....	Mikromolar
Kg.....	Kilogram
M.....	Molar
mg.....	Miligram
°C.....	Santigrat Derece
pH.....	Hidrojen iyonu konsantrasyonu

Kısaltmalar

BChE.....	Bütirilkolin Esteraz Enzimi
AChE.....	Asetilkolin Esteraz
CAPE.....	Kafeik Asit
DOX.....	Doksorubisin
DTNB.....	5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
E.C.....	Enzim kod numarası
E.....	Enzim
EDTA.....	Etilendiamintetraasetik asit
EÜ.....	Enzim ünitesi
AChE.....	Asetilkolin Esteraz Enzimi
GST.....	Glutasyon S-tranferaz
I.....	İnhibitör
IC ₅₀	Maksimum hızı yarıya düşüren inhibitör konsantrasyon
Tris.....	Trihidroksimetilaminometan

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Enzim-substrat kompleksi	4
Şekil 1.2. Astilkolinesteraz Enzimin Üç Boyutlu Yapısı	7
Şekil 1.3. Asetilkolin'in kolin ve asetik asite parçalanması	9
Şekil 1.4. Bütirilkolinin kolin ve bütirata dönüşüm mekanizması.....	9
Şekil 1.5. Bütirilkolinesteraz Enziminin üç boyutlu yapısı	10
Şekil 1.6. Glutasyonun oluşum mekanizması	11
Şekil 1.7. 2020 yılında her iki cinsiyet, her yaşta yeni vaka sayısı	14
Şekil 1.8. 2020 yılında erkeklerdeki kanser dağılım grafiği.....	14
Şekil 1.9. 2020 yılında kadınlarda kanser dağılım grafiği	14
Şekil 1.10. Dokсорubisin ilacının etken maddesinin kimyasal yapı resmi	16
Şekil 1.11. Serbest radikal kaynakları.....	18
Şekil 1.12. Serbest radikal ve antioksidan etkileşimi	19
Şekil 1.13. Kafeik asitin kimyasal formülü	20
Şekil 3.1. GST enziminin aktivitesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesinde kullanılan ürünün oluşum mekanizması	39
Şekil 4.1. Kas dokusuna ait GST değerlerinin karşılaştırılmasında; aynı sütunda farklı harf alan değerler birbirine göre anlamlıdır (İzotonik ve CAPE, p=0.032).....	42
Şekil 4.2. Kas dokusuna ait AChE değerlerinin karşılaştırılmasında; aynı sütunda farklı harf alan değerler birbirine göre anlamlıdır (İzotonik ve CAPE, p=0.032).....	42
Şekil 4.3. Kas dokusuna ait BChE değerlerinin karşılaştırılmasında; aynı sütunda farklı harf alan değerler birbirine göre anlamlıdır (İzotonik ve CAPE, p=0.032).....	43

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa No

Tablo3.1. DOX ve kafeik asit uygulanan deney hayvanlarında gruplandırma ve sıçan sayısı.....	36
Tablo3.2. AChE enziminin aktivite ölçümü için gereken kimyasal ve miktarları	38
Tablo3.3. 13.6 = 412 nm’de ve 37°C de 3 Mm asetiltiyokoliniyodür’ün indirgenmesi sonucu okunan OD, sabit değeridir	39
Tablo3.4. GST enziminin aktivite ölçümü için gereken kimyasallar ve miktarları	40
Tablo4.1. GST, AChE ve BChE seviyelerine ait sonuçların ortalama ve standart sapma değerleri.....	41

1. 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 sonlandırılıncaya kadar tekrar etmeye devam etmektedir. Serbest radikal oluşumunun engellenebilmesi için mutlaka antioksidan içeren besinleri tüketilmesi gerekmektedir (Akdağ, 2021).

Antioksidan özellikli 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, glutatyon peroksidaz, ve superoksitdismutaz (SOD) gibi enzimlerdir (Valko vd., 2007).

Sigara kullanımı, hava kirliliği, uygunsuz beslenme alışkanlıkları (içki tüketimi, kalitesiz ve yetersiz besin alımı), stres de endojen ve eksojen olarak serbest radikal üretimini fazlaştırmaktadır. Şayet organizmadaki antioksidan kapasitesi yetersiz olursa metabolik reaksiyonların hücreler için negatif etkileri olabilmekte ve geri dönüşümü

olmayan bu zararlı reaksiyonlar sonucunda ciltte kırıskılık, 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 önlemeyi; “Vitamin, ilaç veya diğer ajanları kullanarak kanser gelişim riskini geciktirmek, engellemek ya da ortadan kaldırmak” diye tanımlamıştır. Bu ajanlarla kimyasal önleyiciler 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 and Decker, 2009).

Kanser tedavisinde birçok farklı tedavi ve antikanser ilaç kullanılmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden biri doksorubisin (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 bu tez çalışmasını 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, Bütirilkolin Esteraz ve Glutasyon-S transferaz (GST) enzim aktivitelerindeki değişim düzeyleri incelendi.

1.1. Enzimler

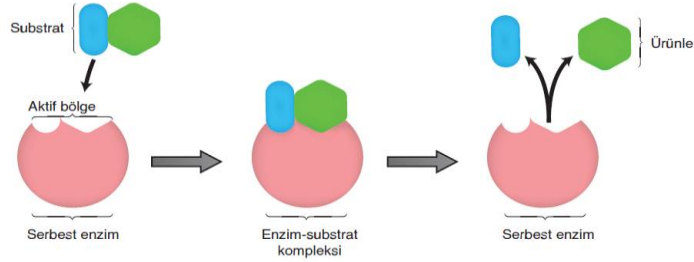
Canlı metabolizmasındaki kimyasal tepkimelerin hızlanmasını sağlayan biyolojik katalizörler ve biyomoleküllerdir. Enzimler, yüksek katalitik verime sahip olup; bir hücredeki tüm kimyasal reaksiyonlar, enzimler vasıtasıyla gerçekleştirilir. Esas olarak protein yapıdan oluşan biyolojik katalizörler etkilerini aktivasyon enerjisini azaltarak göstermektedir. Enzimler ilaç, kimya, gıda, kozmetik gibi çeşitli dallarda

retimlerinde yüksek potansiyel ve uygulamaları sebebiyle araştırmacıların ilgi odağı olmuştur (Bingöl, 2022).

Biyokimyasal reaksiyonların merkezinde enzimler yer alır. Düzenli bir şekilde sıralaması yapılacak olursa; basamaklı tepkimeleri katalizleyip, besin moleküllerinin parçalanmasını sağlar ve tepkimeler sonucunda ortaya çıkan kimyasal enerjiyi dönüştürüp korurlar. Ayrıca temel çıkış bileşiklerinden biyolojik öneme sahip olan makromoleküllerin sentezini sağlamaktadırlar (Nelson and Cox 2008; Berg vd. 2012).

Enzimler 1800'l yıllarda mide salgısı aracılığıyla çeşitli bitki zleri, etin sindirimi ve tükürük vasıtasıyla nişastanın şekere dönüştürülmesinin araştırılmasıyla tanımlanmıştır. Lous Pasteur 1850'li yıllarda glukozun maya aracılığı ile alkole fermentasyonunun fermentler ile katalizlendiği saptadı ve enzim olarak adlandırılan bu fermentleri canlı maya hücrelerinden ayrılmaz bir bütün olduğunu varsaymıştır. Lakin Eduard Buchner 1897 yılında maya özlerinin şekeri alkol ile fermente edebildiğini keşfedince fermentasyonu gerçekleştiren enzimlerin canlı bir hücre yapısından çıkarıldığında da çalışabildiğini ispat etmiştir (Akdağ, 2021).

Enzimler, substratına bağlanıp, sonrasında enzim-substrat kompleksi oluşturup reaksiyonların aktivasyon enerjisini dşrrlar. Tepkimede enzimin olması tepkimenin denge sabitini etkilememektedir. Fakat aktivasyon enerjisinde, reaksiyon aynı sıcaklıkta olmasına rağmen önemli şekilde düşüş gözlenir. Enzimler tepkimedeki özgül oldukları substrat ile etkileşim kurarak enzim-substrat kompleksini oluştururlar. Substrat, enzime aktif kısım olarak bilinen özgül bölgeler vasıtasıyla bağlanmaktadır. Substrat molekülü kendisinden daha büyük olan enzimin aktif bölgesine tam olarak uygun yapıdadır. Bu sebeple enzim-substrat kompleksi anahtar-kilit modeli ile adlandırılmaktadır (Savir and Tlutsy, 2007).



Şekil. 1.1. Enzim-substrat kompleksi (Anonim, 2022)

1.1.1. Enzimlerin Yapısal Özellikleri

Neredeyse tüm enzimler protein yapıdadır. Enzimlerin katalitik aktiviteleri, doğal olan protein enzimlerinin konformasyonel değişimleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Alt birimlerine ayrıştırılırsa veya aminoasit komponentleri yıkılırsa enzimlerin yapıları bozulur ve katalitik aktiviteleri kaybederler. Enzimlerin yapısında bulunan proteinler primer, sekonder, tersiyer ve kuartern yapıya sahip olup enzimin katalitik aktivite gösterebilmesi için bu yapıların olması şarttır. Birtakım enzimler ise katalitik aktivite gösterebilmek adına kofaktör isminde kimyasal eklere ihtiyaç duyarlar (Nelson and Cox, 2004).

Enzimlerin sınıflandırılması genel olarak kimyasal, yapısal ve etkileşimsel özellikleri göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Bu sınıflandırma Uluslararası Biyokimya Birliği İsimlendirme Komitesi tarafından, enzimleri sınıflandırırken katalizledikleri reaksiyonlara göre gruplandırılarak yapılmıştır. Enzim Komisyonu (EC) numaraları 4 hane ile temsil edilmektedir. Birinci seviyede, sistem ana enzimatik sınıfları (EC1: oksidoredüktazlar, EC2: transferazlar, EC3: hidrolazlar, EC4: liyazlar, EC5: izomerazlar ve EC6: ligazlar) adlandırmıştır. Bu durumda EC numarasının ilk hanesi sınıfını, enzimin 6 ana gruptan hangisine ait olduğunu, ikinci hanesi alt üçüncüsü alt sınıfını ve son hane ise enzimin substratını ifade eder (Feltcher and Braunstein, 2012). Bir sonraki basamak, önceki basamaklar ile birleşip bir enzimin görevini daha spesifik tanımlamaktadır.

1.1.1.1. Enzimlerin Sınıflandırılması ve Biyokimyasal Fonksiyonları

- 1-**Oksidoredüktaz:** Substratlar arasındaki indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarının katalizinden sorumlu enzimlerdir.
- 2 -**Transferaz:** Hidrojen dışındaki substratlar arasındaki grup transferlerini katalizleyen enzimlerdir.
- 3- **Hidrolaz:** Su molekülünün katılması ile eter, peptid, ester, glikozid, P-N, Chalojenür, anhidrit bağlarının hidroliz reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir.
- 4 -**Liyaz:** Substratlardan grupları uzaklaştırarak, çift bağların oluşum reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir.
- 5-**İzomeraz:** İzomer bileşiklerinin birbirlerine dönüşüm reaksiyonlarını katalizlemektedirler.
- 6-**Ligaz:** Yüksek enerjili fosfat moleküllerinden fosfat bağının kopması ile oluşan enerjiyi kullanıp iki molekülün bağlanma reaksiyonlarını katalizlemektedirler.

1.1.1.2. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

1.1.1.2.1. Ph Etkisi:

Bazı enzimler aktif bölgelerinde iyonik grup ihtiva ederler. Ortamın pH'sındaki değişimler aktif bölgelerin iyonik durumda değişikliğe sebep olurlar. Bu durumsa enzim aktivitesinde değişime, böylelikle tepkime hızı da farklı olur. Enzimin maximum aktivitede bulunduğu pH aralığına optimum pH aralığı denmektedir. Optimum pH aralığı dışındaki değerlerde 3 boyutlu enzim yapısındaki meydana gelecek değişimler sebebiyle aktivite düşüş gözlenmektedir. Bu sebeple her enzim belirli bir pH değeri aralığında çalışmaktadır.

1.1.1.2.2. Sıcaklık Etkisi

Bütün kimyasal tepkimelerde sıcaklık artışı ile tepkime hızının artışı da olumlu katkıda bulunmaktadır. Enzim katalizli reaksiyonların hızı, belli bir sıcaklık değerine kadar sıcaklıkla beraber artış göstermektedir. Bu noktaya kadar reaksiyona giren moleküller arasındaki çarpışmanın hızı kinetik enerjisindeki artış sebebiyle yükselmektedir. Böylelikle gereken aktivasyon enerji değerini geçen molekül sayısı da

artmaktadır. Bu nedenle enzimatik tepkimenin hızı belirli bir sıcaklık değerine kadar artış gösterip en sonunda bir optimum değere ulaşır.

1.1.1.2.3. Substrat Derişimi

Enzim derişiminin sabitlendiği reaksiyon ortamında, substrat derişiminin artmasıyla daha çok enzim-substrat kompleksi oluşacağından reaksiyonun hızı da artar. Tepkime hızındaki yükseliş belirli bir sürenin sonunda durur ve sonrasında substrat derişiminde artış olsa dahi tepkime hızı sabit kalır. En sonunda ulaşılan bu değeri maksimum hız (V_m) olarak da isimlendirilmektedir.

1.1.1.2.4. Enzim Derişimi

Yeterli substrat derişiminin olduğu tepkime ortamında, Michealis-Menten'in kinetiğine göre enzim yoğunluğunun artması, tepkimenin hızını da artırır. Ancak yüksek enzim derişimlerine çıkıldığı zaman görülecek olan substrat derişiminin azlığı sebebiyle tepkimenin hızındaki artış bir süre sonra yavaşlar ve sabit bir değere yaklaşır.

1.1.1.2.5. Süre

Reaksiyonun süresi enzim aktivitesini etkilemektedir. Tepkimenin ilerletildiği ortamın koşulları zamanla enzimin yapısında bozulma oluşurmaya başlar ve bu bozulmalar sonucunda enzimde aktivite kaybı oluşmaktadır.

1.1.1.2.6. Ürün Derişimi

Enzim katalizli biyolojik reaksiyonlar genelde birbirini ardı ardına takip eden zincirleme reaksiyonlardır. Bir enzimin ürünü farklı diğer enzimin substratı olur ve zincirleme tepkimeler sonucunda son ürün oluşur. Reaksiyonda ki ürün derişiminin artması ile ürün enzime bağlanmaktadır. Bunun sonucunda enzim inhibe olur ya da aktivitesi azalır. Böylece enzimatik reaksiyon ile oluşan ürünler enzimlerin aktivitelerini kontrol altına almaktadır (Demirci, 2013).

1.1.2. Asetilkolin Esteraz Enzimi

Sistemik adı Asetilkolin Asetilhidrolaz (AChE; E.C.3.1.1.7) olup; hidrolaz sınıfında yer alan bir enzimdir. Nörotransmitter bir molekül olan asetilkolini hidrolize eden bu enzim sağlıklı insan beyinde vücudun geriye kalan dokularından daha yüksek miktarda bulunmaktadır. AChE aktivitesine sahip bir amiloid protein oluşumu Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalığın ortaya çıkmasına sebep olur. Bu nedenle

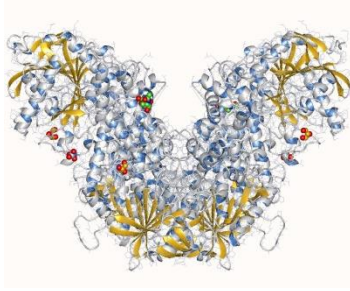
AChE'nin inhibisyonu bu hastalıkların yaygın tedavi yöntemleri arasındadır (Lolak vd. 2020).

1.1.2.1. AChE Yapısı

AChE beyinde, sinir uçlarında, eritrositlerde bulunmaktadır. AChE saniyede yirmibeş bin ACh molekülünü asetat ve kolin'e dönüştürür. Oluşan kolin ise yeni ACh molekül yapılarını oluşturmak üzere yine sinir merkezlerine gönderilmektedir (Aras vd. 2021; Akıncıoğlu and Gülçin, 2020)

Asetilkolinesteraz ilk kez 1938 yılı içerisinde Elektrik Balığı'nın (Torpedo Marmoreta) elektrik kısmı organından ekstraksiyon işlemiyle saflaştırılmıştır (Güven, 2000).

İlk kez Oakeshott vd. tarafından enzimin üç boyutlu yapısı incelenip aydınlatılmıştır. Buna göre enzimin yapısı α -heliks ve β tabakalarından oluşmaktadır. 14 aromatik rezidü aktif merkezin etrafında sıralanmıştır. Aktif merkezin içinde ki histidin, glutamat ve serin amino asitleri katalitik üçlü yapıyı oluşturmuştur. Molekül dış yüzeyinde aktif merkezi çevrelemiş halde bulunan substrat ile uyumlu bağlanma bölgeleri bulunmaktadır (Oakeshott vd., 1999).



Şekil 1.2. Asetilkolinesteraz enzimin üç boyutlu yapısı (Anonim, 2022)

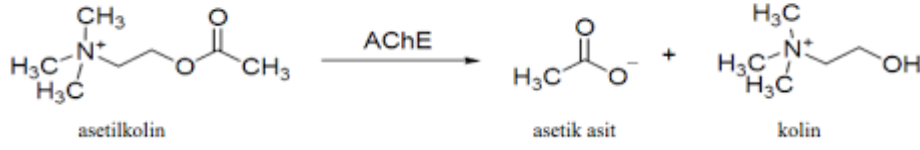
1.1.2.2. AChE'nin ACh Hidrolizindeki Görevi

AChE, nörotransmitter maddelerden biri olan asetilkolinin asetat ve koline hidrolizinden sorumludur. Asetilkolinin hidroliz olması sonucund kas veya sinirlerin paralizi ve lokal olan reseptörlerin sürekli bir şekilde uyarımı engellenmektedir. AChE asetilkolinle bağlandığı zaman esteratik alt merkez adı verilen aktif merkezin 2. bölgesinde hidrolitik reaksiyonları oluşturmaktadır. Böylelikle asetilkolinde ki ester bağlarının kırılması ile kolin ve asetat meydana gelir. Bir sonraki adımda presinaptik

membrandaki güçlü affinite özelliğinde ki kolin toplama sistemi aracılığı ile kolin hızlı bir şekilde yakalanır. Asetat, esteratik alt merkezdeki serin rezidüleriyle kovalent bağ ile bağlanıp AChE'nin geçici asetillenmiş formunu oluşturmaktadır. Böylelikle geçici olan bu bileşik ile bir molekül suyun reaksiyona girmesi ile asetat grubu serbest kalmaktadır (Arabacı, 2015).

AChE aktivitesi engellenirse parasempatik, sempatik sinir sistemi içeren periferik sinir sistemi, motor sinirler ve merkezi sinir sisteminin çalışmasında bozukluk oluşmaktadır (Lotti, 1995).

Beyin hücrelerinin zaman içerisinde ölüme bağlı hafıza kaybı, bunama ve bilişsel fonksiyonların azalması ile Alzheimer hastalığı meydana gelmektedir. Bu hastalıkta ise en çok azalması gösteren nörotransmitter madde ACh molekülüdür. ACh; Kolin asetiltransferaz enziminin katalizlediği reaksiyonda nöronlarda asetilkoenzim As (CoA)'dan gelmiş olan kolin ve asetilin birleştirilmesiyle oluşmaktadır. Asetil CoA glikoliz reaksiyonunda oluşan piruvatın 5 farklı metabolik yollardan bir tanesinde oluşmuş metabolittir. Kolin ise yediklerimiz ve hücre zarındaki fosfolipidlerden, AChE'nin ACh'yi hidroliz edilmesi ile tekrardan oluşan kolinde de elde edilmektedir. Bu kolinin önemli kaynağını hidroliz sonucu oluşan ve yeniden asetilkolin üretiminde kullanılan bir kolin oluşturmaktadır. ACh'in sinaptaki varlığı, miktarı, eksiklik ya da çokluğu ChAT ve AChE enzimlerine bağlı olmaktadır. Üretilen ACh presinaptik nöronlardaki veziküllerde depolanarak; nörona sinir uyarısı geldiği zaman sinaptik boşluğa dökülmektedir. Sinaptik aralığa salınmış olan ACh moleküllerinin çoğu postsinaptik olan reseptörlere bağlanmaktadır. Reseptörlere bağlanmamış olanlar ise AChE tarafından yıkılarak postsinaptik nörona bağlanmış ACh molekülleri, sinir uyarısının diğer nörona iletilmesinden sonra reseptörden ayrılmaktadır. Daha sonrasında AChE ile yıkılan ve kolin tekrardan kullanılmak için presinaptik nörona gönderilmektedir. Bunun genel mekanizması ise aşağıda gösterilmiştir (Göçer, 2014).



Şekil 1.3. Asetilkolin'in kolin ve asetik asite parçalanması (Koçancı ve Aslım, 2016)

Özellikle beyin korteksinde kolinerjik aktivite sistemlerinin bozulması bunun sonucunda zekâ, hafıza, bellek problemleri ile ilişkiye ve AChE nin Alzheimer hastalığının diğer belirtileri ile bağlantılı olduğunu gösteren bulguları göz önüne alındığında AChE inhibitörleri ve antikolinesterazlar, Alzheimer hastalığının tedavisinde günümüzde etkisi en yüksek ilaç grubu olarak kullanılmaktadırlar.

1.1.3. Bütirilkolin Esteraz Enzimi

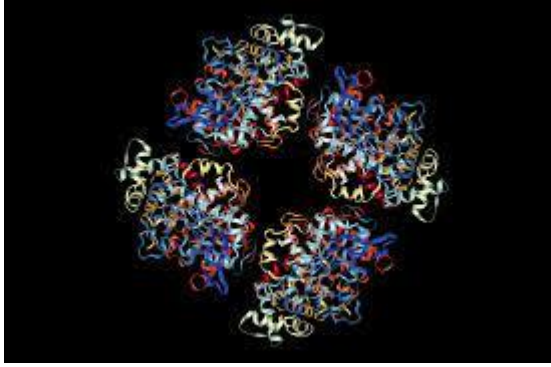
Bütirilkolinesteraz (BChE, E.C.3.1.1.8) enzimi pankreas, kalp, serum, karaciğer, beynin beyaz maddesinde ve ince bağırsaklarda bulunur. Bu enzim karaciğerde sentezlenerek kana karışır. Aktivite gösterdiği en iyi pH aralığı 7,4 aralığındadır (Allam vd., 2007). Bütirilkolinesteraz enzimi hem bütirilkolin ve asetilkolini hidroliz etmektedir. BChE enzimi aynı zamanda kolin yapısında olmayan ester moleküllerini de hidroliz etmektedir (Layer vd., 2005).



Şekil 1.4. Bütirilkolinin kolin ve bütirata dönüşüm mekanizması (Anonim, 2022)

1.1.3.1. Bütirilkolin Esteraz Enziminin Yapı ve Görevleri

BChE enzimi 342 kDa ağırlığı kadar tetramerik yapıya sahip glikoproteindir (Barta vd., 2001). BChE bütirilkolinin, propiyoniltiyokolin, propiyonilkolin, bütiriltiyokolin ve farmakolojik açıdan önemli bir yeri olan 12 süksinilkolin gibi kolin esterlerinin de hidroliz reaksiyonlarını gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (Kutty and Payne, 1994).



Şekil 1.5. Bütirilkolinesteraz enziminin üç boyutlu yapısı (Anonim, 2022)

BChE, AChE'nin tersine, *in vivo*(canlı ortam) şartlar altında bir AChE gibi etki eder. Çeşitli kolinler, asil thiokolinler asil kolinler, süksinil kolinler, asetanilidleri ve organofosfatları parçalayabilen karışık yapılı enzimdir. Bu enzimler, hem nöronlar arası haberleşmede ve hücreler arası farklılaşmada fizyokimyasal olarak farklılıklar göstermektedirler. Böylelikle çok sayıda organik toksik maddeleri algılayabilen, detoksifiye edebilen biyosensörler ve biyolojik temizleyiciler olarak hedef göstermektedir. Ek olarak; Down sendromu, göz tansiyonu, Parkinson, travmatik beyin kanaması, ve hafıza kaybı gibi önemli merkezi sinir sistemi bozuklukları gibi birçok hastalığın iyileştirilmesinde de kullanılmıştır (Sorin vd., 2017; Taslimi vd., 2017)

1.1.4. Glutasyon S-transferaz Enzimi

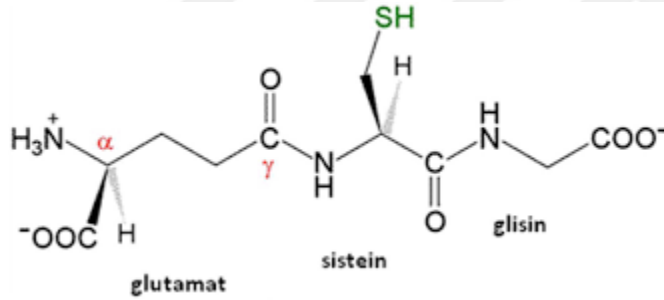
GST (E.C.2.5.1.18), canlı organizmada kendisi için zararlı olan toksik etmenleri temizleyip metabolizmada, suda çözünen merkapturik asit oluşumundaki birinci basamağı katalizleyerek iç dengeyi gerçekleştiren önemli bir enzim grubudur. GST katalizörlüğündeki birinci basamakta, Glutasyon ile iç ve dış kısımda ki hidrofobik elektrofillerin bağ yapması gerçekleşmektedir. GST enziminin işlevselliği için ortamda mutlaka GSH bulunmalıdır. GST, GSH bağlı olduğundan, GSH'a ko-substrat adı verilir ve glutasyon molekülü hücreleri ağır metallerden, serbest radikallerden, peroksit ve pestisitlerden de korur. Glutasyon harici diğer enzimlerin substratları geniş bir skalada olduğu için GST kısmi substrat özgülü olan bir enzimdir.

GST enzimi canlılarda birçok doku ve organda bulunmaktadır. Bitki kısımları, balık, böceklerde, memelilerde, mikroorganizmalarda çok fazla bulunmaktadır. Bu

enzime karaciğer, akciğer, ince bağırsak, böbrek, kalın bağırsak ve meme gibi yerlerde çok sık rastlanır.

1.1.4.1. GST Enzimi'nin Yapısı

GST enzimleri her bir alt birim için yıkıcı bölgeye sahip globular dimerik protein yapısındadır. Molekül ağırlığı 23000- 29000 dalton ağırlığında olmakla beraber her bir alt birim 200-240 aminoasitten meydana gelir (Whalen and Boyer, 1998). "Glutasyon; glisin, glutamik asit ve sistein aminoasitlerinden meydana gelmiş bir tripeptit yapısıdır. Glutatyonda bir amino grubu, bir tiyol grubu, iki peptid bağı ve iki karboksil grubu bulunmaktadır. Glutasyon, redükte olan glutasyon (GSH) ve okside olan glutasyon (GSSG) olmak üzere 2 değişik tipte bulunmaktadır. Molekül kütesinin küçük olması, hidrofilik grupların fazla olması glutasyonun su ile çözünürlüğünün yükselmesini sağlamaktadır. Glutasyonun bu özelliği sayesinde molekülün kararlılığını sürdürülerek savunmada avantaj oluşturmaktadır" (Kidd, 1999).



Şekil 1.6. Glutasyonun oluşum mekanizması (Anonim, 2022)

1.1.4.2. GST Enzimi'nin Görevleri

GST enzimi, glutasyon tripeptidinin elektrofilik substratların üzerine nükleofilik atak reaksiyonlarını kataliz etmektedir. Detoksifikasyonda ise su ile çözünebilen merkapturik asitin oluşum reaksiyonlarının 1. basamağını katalizleyerek homeostasisi yani iç dengeyi sağlar. GST enzimi ile katalizlenmiş reaksiyonların ilk basamağına, GSH(Glutasyon) ile iç ya da dış kaynaklı hidrofobik elektrofiller bağlanmaktadır. GST enziminin çalışması için GSH'ın mutlaka tepkimede olması gerekir. GST enzimi, GSH'a bağımlı çalışması nedeniyle, GSH'a ko-substrat denir (Sheehan vd., 2001).

GST enzimi, besin yoluyla alınmış zehirli etkenleri, metabolik yollar esnasında besinsel değeri kaybolmadan emilimini sağlarken; safra tuzları, yağ asitleri

ve bilirubin vb. nonsubstrat ligandları GSH ile bağlayıp bu maddelerin transfer işlemlerini de yaparlar (Sayın, 2022).

GST enzimleri antineoplastik ilaçlar (sisplatin, klorambusil, fosfomisin, melphalan, mitoksantren ve siklofosfamid), ilaçlar (alkiller, laktonlar, kinonlar, arilhalidler, epoksitler, peptisid, herbisid, esterler vb), kimyasal kanserojenler (dopaminokren, adeninpropenal, etakrinik asit, aminokrom, hidrokarbonlar vb) ve çevresel kirlilikler (etilenoksit, bütodien, akrolein vb) gibi maddelerin atılımında görev almaktadırlar (Gyamfi vd., 2004).

GST enziminin etki düzeyi organların toksikasyonlara karşı korunmasında önem teşkil etmektedir. Birçok GST stümülanı oltipraz, N-heterosiklik bileşikler, fenoller gibi dithiothiones bileşikler antineoplastik ilaçlarda kullanılmaktadır. Bunların sebep verdiği olumsuz etkiler hücreleri oksidatif strese sürüklemektedir. GST enzimi ise bu hücreleri orada oluşan istenmeyen etkilerden koruyor olabilmektedir (Türkan, 2015) .

1.2.Kanser

Kanser genel olarak büyüme şekilleri bozulmuş hücrelerin kendi genetik materyalinin bibebir aynısını taşıyan başka hücre gruplarını da üretmesiyle yayılım göstermesidir. Somatik, genetik bozuklukların en çok ve en karmaşık olanıdır (Futreal vd., 2001).

Avrupa topluluklarında her 3 kişiden birinde kanser meydana gelmekte ve bunlardan beşte birinin hayatı son bulmaktadır. Bütün kanserler DNA dizimindeki bazı anormalliklerle var olmaktadır. Kanser türlerinin %10- 15'lik kısmının, genetik geçişli olduğu, geriye kalan kısmının ise canlı hayatı boyunca hücrelerdeki DNA'nın, mutajenik etmenlere maruzu, replikasyonda hatalar oluşması ve hücre DNA'sındaki hafif progressif değişiklikler ile meydana geldiği düşünülmektedir. Bazı zamanlar oluşmuş olan bu mutasyonlardan bazıları bulundukları hücrenin büyümesini ve bu hücreden meydana gelen yeni bir kanser kolonisinin oluşmasını sağlamaktadır (Yokuş ve Çakır, 2012).

Kanserli hücrelerin gözlemlenebilmesi ve karakterize edilmesi histoloji bilimi sayesinde olağan hale gelmiştir. Kanserli hücrelerin bulunduğu dokularda diğer hücrelerle haberleşmelerinde, morfolojilerindeki ve hücre dışı matrikse bağlanma

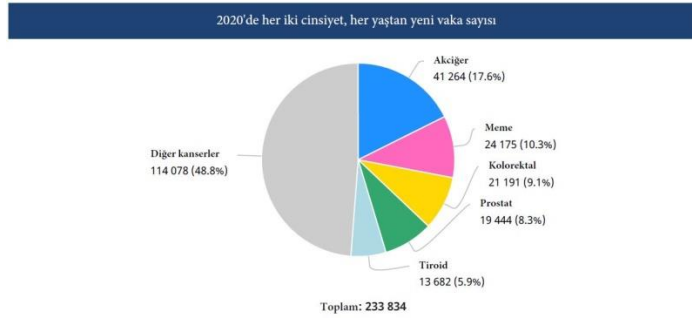
şekillerindeki farklılık kanserin metastaz ve invazyon yapabilme yeteneğini işaret etmektedir. Kanser hücrelerinin bulunduğu bölgeden ayrılıp çevresindeki dokuyu ele geçirmesi veya lenf ve kan damarları vasıtasıyla uzak doku ve organlara göç ederek yerleştikleri yerlerde kontrolsüz bölünmelerine devam etmeleri durumuna invazyon ve metastaz denmektedir (Pavese vd., 2010).

Hücre ölümü yani apoptoz; organ ve doku oluşumunun normal düzende seyri ve dokunun bütünlüğünü sağlayarak korunması adına programlanmış bir mekanizmadır. Hücre içi hem de hücre dışı etkilerin neticelerinden biri olabilen apoptoz DNA hasarı gibi durumlarda bozulmaya uğramış genetik bilginin gelecek nesillere geçmemesi için önemlidir (Hanahan and Weinberg, 2011).

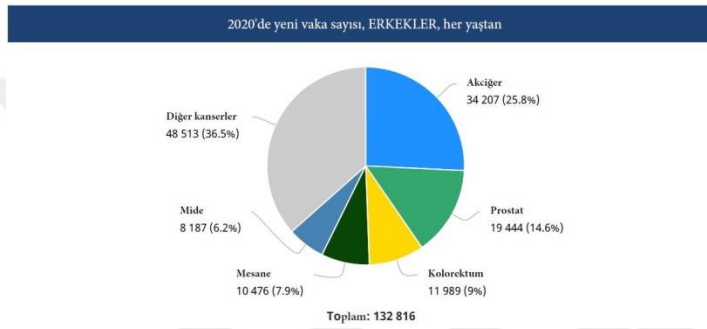
Kanserli hücrelerin hayatta kalması için apoptozun oluşmasını sağlayacak engelden kendini koruması gerekmektedir. Bu hücreler apoptozdan kaçabilmek için birçok mekanizmaya sahiptir. Kanserli hücrelerin kullandığı mekanizmalar göz önüne alındığında, birden fazla yolağın hedeflenip kanser hücrelerinin hücre ölümüne karşı direncini değiştirebilecek güçteki ajanların üretilmesinin, geliştirilmesinin ve kullanılmasının kanser tedavileri için ilerleyen zamanlarda öneminin artacağı düşünülmektedir (Arslan vd., 2011).

Ülkemizde Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2014 senesinde ölüm nedeni istatistiklerine göre; %40,4 ile ilk sırada dolaşım sistemi hastalıkları yer almışken, ikinci sırada %20,7 ile kanser yer almaktadır. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2016 yılında %19,71'lik ölüm oranıyla kanser çok fazla gerçekleşmiştir. Yine sağlık bakanlığı verilerine göre ülkemizde, 2016 yılında %57,7'lik oran ile erkeklerde en çok akciğer, trakea ve bronş kanserleri görülür iken; kadınlarda %45,6'lık oran ile en çok meme kanseri görülmüştür (Hofman vd., 2007).

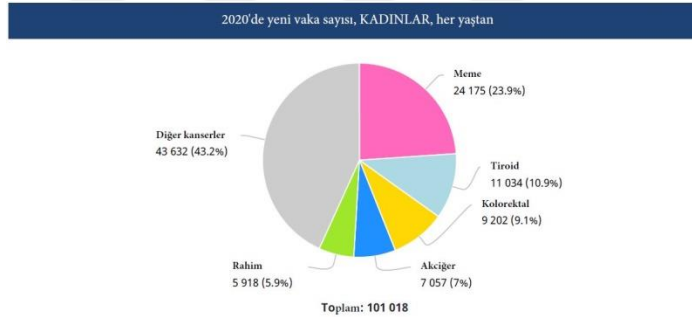
Ülkemizde nüfus artışı devam etmektedir. Bunun neticesinde yıllık yeni tanılar kanserli vaka sayısı da hızla artmaktadır. Türkiye'de 2020 senesinde nüfus 84.339.067 iken, yıldaki yeni kanserli hasta sayısı 233.834 olmuş ve buna bağlı kanseren dolayı hayatını kaybedenler 126.335 olarak bildirilmiştir. 2018'de ise Türkiye nüfusu 81.916.866 iken, yeni kanser vakası sayısı 210.537 ve kanser nedeniyle gerçekleşen ölüm sayısı 116.710 olarak artarak devam ettiği bildirilmiştir.



Şekil 1.7. 2020 yılında her iki cinsiyet, her yaştan yeni vaka sayısı (Özdoğan, 2022)



Şekil 1.8. 2020 yılında erkeklerdeki kanser dağılım grafiği (Özdoğan, 2020)



Şekil 1.9. 2020 yılında kadınlarda kanser dağılım grafiği (Özdoğan, 2020)

1.2.1. Kanser Tedavisi

Kanser tedavisinde en çok başvurulanan tedavi yöntemleri arasında cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gelmektedir. Bunlarla birlikte biyolojik yöntemler ve hormon terapisi gibi yaklaşımlar bu yöntemleri destekler biçimde tek başına ya da birlikte kullanılabilir. Kanser kişiye özgü bir hastalık olduğu için tedavisinde her yöntemin kendine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Tedavi kişiden kişiye değişkenlik gösterebilir. Bu sebeple tek bir tedavi yönteminden bahsetmek mümkün olmamaktadır (Baykara, 2016).

Mevcut kanıta dayalı tıbbi tedavinin yanında kullanılan Tamamlayıcı tedavi, bilimsel tıba destek amacıyla yapılan tedavilerdir. Hayat kalitesini arttırmak, fiziksel ve psikolojik destek sağlamak, hasta şikayetlerini ve ilaçların olası yan etkilerini en az düzeye indirmek amacıyla uygulanırlar. Alternatif tedaviyse, tıbbi uygulamaların yerine yapılmış ve etkisi bilimsellikle kanıtlanmamış tedavilerdir. Kanseri vakalarında tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemi kullanımı hoşnutla giderek artmaktadır (Kav vd., 2008).

Kanser hastalarının genellikle fiziksel ve moral olarak iyi olmaları tedavilerinin yan etkilerini hafifletmede TAT'leri yaygın olarak kullanmaktadır. Kanser hastalarının TAT kullanım nedenlerini açıklamak gerekirse;

- tedavi olmaya yönlendirme,
- tedaviye destekte bulunması,
- kanserin yenilenmesini engelleme,
- geleneksel(konvansiyonel) tedaviler yerine kullanım
- en son çare olarak kullanım
- Etkili olduğu inancı
- Kontrol algısı ihtiyacı yer almaktadır (Tatsumura vd., 2003).

1.2.2. Kanser Kemoterapisi

Kemoterapi, vücudunuzdaki hızlı büyüyen hücreleri öldürmek; onları kontrol altına almak için güçlü kimyasallar kullanan bir ilaç tedavisidir. Kanser hücreleri insan vücudundaki çoğu hücreden daha hızlı büyür ve çok daha hızlı çoğaldığı için genellikle kanser tedavisinde kullanılır.

Birçok kemoterapi ilacı vardır. Kemoterapi ilaçları, çok çeşitli kanserlerin tedavisinde, tek başına veya kombine olarak kullanılmaktadır. Kanserde kemoterapinin kullanımındaki temel hedef kemoterapötik ajanlarla tümör hücrelerinin büyümesini engellemek ve vücudun diğer bölgelerinde gelişimini tümüyle ortadan kaldırmaktır (Anonim, 2023).

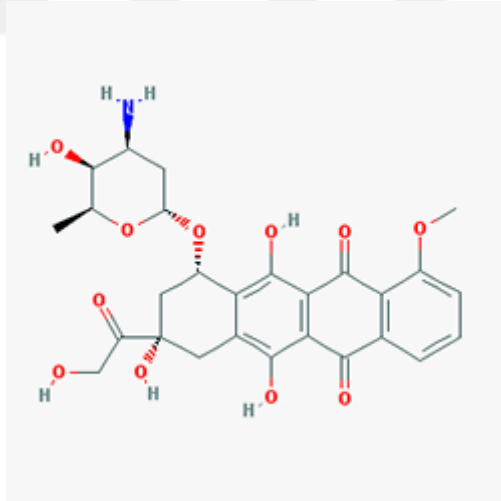
Kemoterapi pekçok kanser türünün tedavisinde etkili olmasının yanı sıra, tedavi istenmeyen yan etki gibi riskleri taşır. Kemoterapinin belli yan etkileri hafif ve tedavi edilebilirken bazı etkileri önemli problemlere yol açabilir. Bu yan etkilerden bazıları; bulantı-kusma, ağrı, yorgunluk, ruhsal değişimler, cilt ve tırnak dokusunda değişiklikler, iştahsızlık, nefes darlığı, ağızda aft, ellerde uyuşukluk vb. yan etkilere neden olmaktadır (Eyigor vd., 2010; Yeşilbalkan vd., 2005; Kurt ve Unsar, 2011).

Kanserde kemoterapinin kullanımındaki temel hedef kemoterapötik ajanlarla tümör hücrelerinin büyümesini engellemek ve vücudun diğer bölgelerinde gelişimini tümüyle ortadan kaldırmaktır.

1.3. Doxorubisin

Doksorubisin (14-hidroksidaunorubisin) Adriamisin olarak da bilinen 1969'dan bu yana kanser tedavisinde yaygın kullanılan antineoplastik ilaçlardan biridir.

Doksorubisin; şeker kısımlarına sahip seçici olmayan, sınıf 1 antrasiklin grubu güçlü bir kemoterapötiktir.



Şekil 1.10. Doksorubisin ilacının etken maddesinin kimyasal yapı resmi (Anonim, 2023)

1.3.1. Doksorubisin'in Tarihi

1950'lerde bir İtalyan araştırma şirketi olan Farmitalia Araştırma Laboratuvarları, toprak bazlı mikroplardan antikanser bileşenleri bulmak amacıyla organize bir çalışma başlatmıştır. Bir toprak numunesi bölgeyi çevreleyen alandan izole

edilmiştir. Castel del Monte 13. yüzyıldan kalma bir kale ve bu civardan izole edilmiştir. Yeni bir tür *Streptomyces peucetius* kırmızı bir pigment üreten bu bakteriden elde edilen antibiyotik farelerde tümörlere karşı etkili olmuştur. Bir grup Fransız araştırmacı ise bu bileşiği aynı zamanlarda bulmaları nedeniyle iki ekip ortak karar ile bileşiğe daunorubisin adını vermiştir (Weiss, 1992).

1.3.2.Etki Mekanizması

Hücrenin S fazına etki ederek DNA çift zincirinde interkalasyon yaparak DNA'nın transkripsiyonunu ve replikasyonunu bozup; topoizomerez II enzimine inhibisyon yaparak hücre bölünmesini engelleyip serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. Bunun sonucunda hücre membranının geçirgenliği de artmış olmaktadır (Mompalao vd., 1976).

1.3.3. Klinik Kullanımı

Doksorubisin Hodgkin lenfoma, bazı lösemileri, multipl miyelom, yumuşak doku sarkoması, mide, mesane, göğüs, akciğer, tiroit, over ve diğer kanserleri tedavi etmek için kullanılır (Songbo, 2019).

1.3.4. Yan Etkileri

Kusma, mide bulantısı, kalp düzensizlikleri, nefes darlığı, kas ağrıları, akyuvar sayısında azalma, bazı hastalarda el ayak sendromu görülür. Doksorubisine bağlı kardiyotoksisitenin gelişmesinde; lipid peroksidasyonunda artışın, serbest radikal oluşumunun ve antioksidan enzimlerin kaybının rol oynayabileceği desteklenmektedir. Doksorubisin serbest radikal oluşumuna sebep olmasının yanı sıra glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi önemli antioksidan enzimleri azaltarak kardiyolojik bozukluklara neden olduğu bildirilmiştir (Singal vd.,1997).

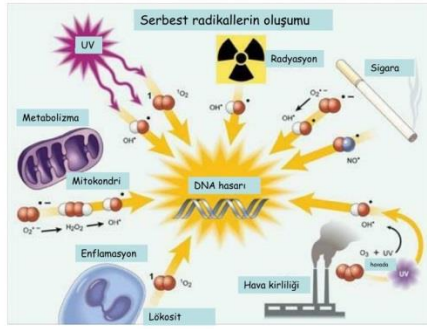
1.4. Serbest Radikaller

Bir ya da birden fazla çiftlenmemiş elektron içeren ve tek başına dolaşan atom veya moleküllerdir. Bu tip moleküller ortaklaşmamış elektronları nedeniyle oldukça ürün üreterek reaktif hale gelmektedirler (Akkuş, 1996).

Serbest radikaller hücreler için hem metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de toksik maddeler nedeniyle meydana gelebilmektedir (Cross vd., 1987). Radyasyon, güneşten gelen ultraviyole ışınlar, virüsler, hava kirliliği yaratan fosil yakıtların yanma

sonucunda ki ürünleri, stres, sigara, yağ metabolizması sonunda açığa çıkan maddeler gibi toksik maddeleri, haşere ilaçları, enfeksiyon, bazı kimyasallar ve bazı başka etkenler serbest radikal yaratan etmenlerdir. Bulunduğumuz dünyada çeşitli fiziksel ve kimyasal olaylar sürekli olarak bir radikal yapımını destekleyip hücrede çok fazla miktar ve çeşitte serbest radikallerin üretimi devam etmektedir (Hurst vd., 1997; Jornot vd., 1998; Mills vd., 1998).

Serbest radikal kaynakları



Şekil 1.11. Serbest radikal kaynakları (Anonim, 2023)

Serbest radikaller düşük miktarda olduğunda yararlı özellikleri de söz konusudur. Düşük miktardaki serbest radikaller ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, vücutta ki enfeksiyonlara karşı savunma ve kanser hücrelerinin yok edilmesi gibi savunma görevleri vardır. İntrasellüler depo içindeki tirozin amino asidinin fosfatlanma aktivasyonu, kalsiyum salınımı ve büyüme faktörü aktivasyonu gibi hücresel sinyallerin aktivitesinde görev almaktadır.

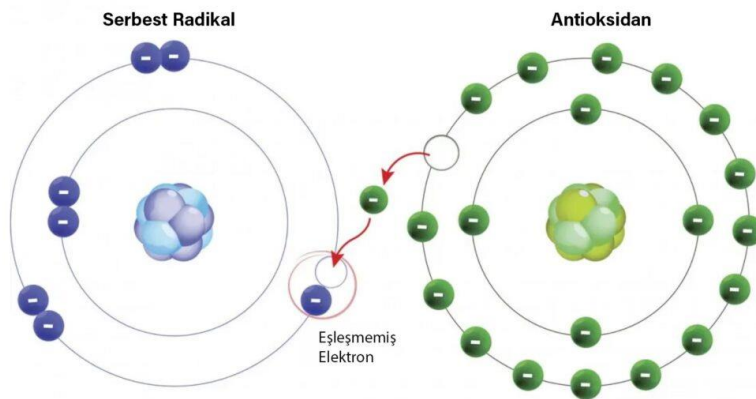
Oksidasyonun oluşması canlı metabolizmasında oldukça normaldir. N.Ş.A'da insan vücudunda oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki denge durumundadır. Bu durum oksidan moleküllerin fazlaca oluşması veya antioksidan moleküllerin düzeyinin azalması sonucunda antioksidan moleküller lehine kaymaktadır. Oksidan düzeylerinin artması canlı için hayati önem arz etmektedir. Çünkü oksidanların artması ile solunum, boşaltım sistemi hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar, gastrointestinal hastalıklar, diyabet, kanser, yaşlanma, infertilite ve spermde fonksiyon bozukluğu gibi pekçok hastalığa neden olabilir. Oksidan maddelerin miktarıyla direk ilişkili olan bu

rahatsızlıkların engellenmesi adına oksidan moleküllerin antioksidanlar ile dengede olması sağlanmalıdır (Karabulut vd., 2016).

1.5. Antioksidan

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu önlemek, ROS'un mevcuda getirdiği hasarları engellemek ve hücrede temizlenmeyi sağlayarak savunma görevini yapan sistemlere antioksidan adı verilmektedir (Şener vd., 2009).

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek etkisiz hale getirip oksidatif stresi azaltıcı moleküllerdir. Bedendeki oksidatif stres, çevre kirliliği, sigara ve alkol kullanımı, radyasyon, sıklıkla geçirilen enfeksiyonlar, ağır metallere maruziyet, vücutta eksik olan antioksidan durumlarına bağlı olarak artabilir. Uzunca bir dönem oksidatif strese maruz kalma, genetik materyal olan DNA'da hasarlara neden olarak kansere zemin hazırlayabilmektedir. Bununla beraber serbest radikallerin insan bedeninde belli olumlu özellikleri de bulunmaktadır. Örnek olarak bağışıklık sistemimiz, bedenimize giren enfeksiyonlar ile savunmada serbest radikalleri kullanmaktadır. Sağlıklı bir bedenin tam anlamıyla korunabilmesi adına serbest radikaller ve antioksidanlar insan vücudunda mutlaka belli bir denge içinde bulunmalıdır. Antioksidanlar dengesiz ve yetersiz beslenme nedeniyle, besinlerle beraber yeteri kadar vücuda alınamadığında bu denge kaybolur ve beden hastalıklara açık hale gelir. Bu sebeple düzenli ve yeterli düzeyde antioksidan alımına dikkat etmek oldukça önemli konumdadır (Anonim, 2023).



Şekil 1.12. Serbest radikal ve antioksidan etkileşimi Anonim, 2023)

1.5.1. Doğal Antioksidanlar

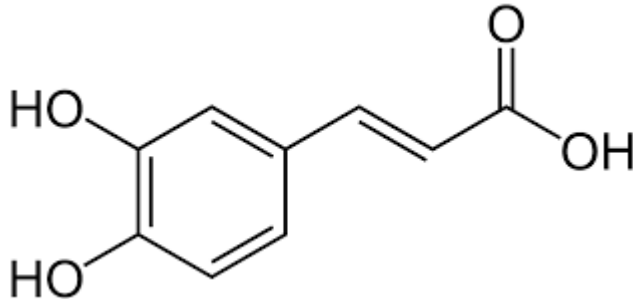
Doğal antioksidanlar, ekzojen (dışarıdan besinlerle alınan) veya endojen (organizma tarafından sentezlenen) moleküllerdir. ''Ancak organizmanın yaşı ilerledikçe doğal antioksidan üretiminde azalma meydana gelir. Burada meydana gelen eksikliğin giderilmesi adına uzmanlar bitkisel antioksidanların iyi bir alternatif olduğunu önermektedir (Taner, 2005). En önemli kaynak meyve, sebzeler olan bitkisel antioksidanlar anormal hücre çoğalmasını engelleyen ve oksidasyon nedeniyle zarar görmüş olan hücreleri korumakla görevlidirler (Brown and Glasner, 1991).

Doğal antioksidanlar içerisinde; enzimler (glutasyon redüktaz, süperoksit dismutaz-SOD, sitokrom C-oksidad, katalaz-KAT, glutasyon peroksidazGPx, hidroksiperoksidaz), mikromoleküller (β -karoten, E vitamini, A vitamini, glutasyon (GSH), C vitamini, tokoferoller, tiol içerenler, N-asetil sistein, ubiquinon, metionin, kaptopril, melatonin) ve makromoleküller (ferritin, seruloplazmin, transferrin, myoglobin, haptoglobilin) sayılabilir. Eksojen olarak kullanılan antioksidan ajanlardan birisi de Kafeik ASİT Fenetil Ester (CAPE)'dir (Hilmi, 1994).

1.6. Kafeik Asit

KAPE, arıların bitkilerden alarak topladığı özlerin içinde bulunan güzel ve keskin kokulu propolis maddesinin aktif bileşenlerinden birisidir.

Yapılan araştırmalar KAPE'nin insan nötrofillerinde ve ksantin/ksantin oksidaz sisteminde 10 μ mol konsantrasyonda reaktif oksijen radikali üretimini tam bir şekilde bloke edip antioksidan etkisi meydana getirdiği tespit edilmiştir (Hepşen vd., 1996).



Şekil 1.13. Kafeik asitin kimyasal formülü (Anonim, 2023)

İnsan HeLa, HL-60 BEAS-2B, MCF-7 ve rat ME üç yüz sekiz hücre hattı üzerinde bazı hücre kültür çalışmalarında kimyasal karsinojenler kullanılmıştır. Bu deneylerde kafeik asitin oksidatif stresi düşürerek kanseri önleyici bir molekül olduğu ortaya konmuştur (Bhimani vd., 1993).

Fenolik bir molekül olan CAPE, propolisin aktif parçalarından biri olmanın yanında antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, hasar önleyici reperfüzyon immun sistemi uyarıcı ve antikanser özellikleri bulunan bir bileşendir (Borrelli vd., 2002).

CAPE, hücre zarlarından araşidonik asitin salınımını engelleyerek, ayrıyetten siklooksijenaz-I ve siklooksijenaz-II aktivitesini direkt olarak engellleyerek prostoglandin sentezini baskılamakta böylelikle antienflamatuvar etkide bulunmaktadır (Michaluart vd., 1999).

Kafeik asit fenetil ester'in yağların peroksidasyonunu azaltıcı görevi vardır. CAPE gibi flavonoidlerin lipit peroksidasyonunun ilk aşamasında rol oynayan peroksit radikalini ortadan kaldırdığı tahmin edilmektedir. Flavonoidlerin lipit peroksidasyonunda görevli diğer radikalleri de bulundukları ortamdan uzaklaştırma özelliğindedir (Kumaran vd., 2010).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Glutatyon S- Transferaz Enzimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

1-Türkan ve Atalar (2018) yaptıkları çalışmada, GST Enzim Aktivitesi Üzerindeki Vankomisin Hidroklorid Hidratın ve Amoksisilin'in Etkisi in vitro (cansız ortamda) olarak araştırmışlardır. GST enzimlerinin çevresel karsinojenler, kemoterapik ilaçlar, endojen moleküller olmak üzere ksenobiyotiklerin büyük bir kısmını temizlediğinden bahsetmişlerdir. Saflaştırılan GST üzerine inhibitör etki gösterecek amoksisilin ve vankomisin hidroklorür için IC₅₀ konsantrasyonları ve Ki sabit değerlerini hesaplayarak inhibisyon türlerini belirlemişlerdir. İnhibisyon araştırmaları sonucunda, amoksisilin ve vankomisin düşük dozda kullanımlarında GST enziminin de inhibisyona sebep olduğunu saptamışlardır.

2. Tekeli, (2012) yaptığı çalışmada, karbon tetraklorür ile meydana getirilen hepatotoksisitede Glutatyon ve GST aktivitesi üzerine N-Asetil Sistein'in yaptığı etkiyi incelemiştir. Çalışmada, ekzojen yollar ile insan vücuduna alınan zararlı moleküllerin organizmada metabolize edilememesiyle meydana gelen serbest radikaller pek çok metabolik ve fonksiyonel bozukluklar meydana getirdiğinden ve oluşmuş reaktif oksijen molekülleri, hücrelerin lipid, protein, karbonhidrat ve DNA gibi tüm değerli moleküllerin yapılarında bozulmalara sebep olduğundan bahsetmişlerdir. CCl₄ zehirlenmesinin, insan ve hayvanlarda karaciğer hasarı meydana getirmek amacıyla deneysel çalışmalarda fazlaca uygulandığı ve karaciğer hasar göstergelerinde ALT ve AST miktarlarının CCl₄ ile belirgin miktarda artış gösterirken, NAS verilmiş olan grupta etkin bir şekilde azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmada, Hepatik enzimlerdeki bu artışın karaciğer dokusunda bozukluk geliştiğinin göstergesi olarak kabul edilmiştir. Edinilen sonuçlar oksidatif strese CCL4'ün neden olduğunu ve N-asetil sisteinin antioksidan madde olarak oksidatif strese karşı koruduğunu göstermiştir.

3. Güven, (2020) yaptığı çalışmada, eşkina balığından GST enziminin karakterizasyonu ve metal inhibisyonunun incelenmesini araştırmıştır. GST enzimi eşkina balığının kas dokusundan kısmi olarak saflaştırılıp karakterizasyonu yapılarak inhibisyon kinetiğini incelemiştir. Saflaştırma işlemi süresince homojenatın hazırlanmasını takiben diyaliz işlemi ve amonyun sülfat çöktürülmesi yapmıştır. Kas

dokusu GST enzimi için en uygun Ph, iyonik şiddet ölçüsü ve substrat miktarlarını incelemiştir. Değerlere bakıldığında, eşkina balığı kas dokusu GST enzimi için; en uygun pH değeri 7.0, iyonik şiddeti 20 mM Tris ve en uygun substrat miktarı 3.125 mM olarak bulmuştur. Ayrıca çevrede var olan ağır metallere bakır, kadmiyum, gümüş ve demirin eşkina balığı kas dokusu için GST enzim aktivitesi üzerine inhibitör etkisini incelemiştir. Enzim aktivitesi üzerinde bu ağır metallerin tümünün inhibitör etki yaptığı tespit etmiştir. Sonrasında ise IC₅₀ değerleri hesaplamıştır. Buna göre, GST enzimi için, bu ağır metallerin IC₅₀ değerleri kadmiyum 0.0109 mM, demir için 0.6039 mM, bakır için 0.7368 mM, gümüş için ise 0.7243 mM olarak saptamıştır.

4. Duran, (2019) yaptığı çalışmada, Siraz (*Capoeta umbla*)'ın karaciğer dokusunda ki GST enziminin saflaştırılması, karakterizasyonu ve bazı kimyasalların enzim aktivitesindeki etkilerini incelemiştir. Glutasyon S-transferaz enzimi metabolizmadaki detoksifikasyon işleminde çok önemli bir yeri olduğu ve GST'deki enzim aktivitesinin herhangi bir sebebe bağlı azalması temizlenme (detoksifikasyon) mekanizmasında düşüşe sebep olduğundan bahsetmiştir. Çalışmada, GST enzimi karaciğer dokusundan bağlanma kromatografisiyle 36,1 EÜ/mg protein aktivite, %73,6 verim ile 55,70 kat saflaştırmıştır. Bu enzimin molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 28,6 kDa bulmuştur. GST enzimin stabil pH'sı 6.5, optimum pH'sı 7.5, en uygun iyonik şiddeti 100 mM K-fosfat ve optimum sıcaklık değeri 35 °C olarak hesaplamıştır. GSH substratı için V_{max} değeri 0,166 EÜ/ml, K_M sabiti 0,168 mM olarak, CDNB substratı için, K_M sabiti 1,179 mM ve V_{max} sonucu 0,979 EÜ/ml olarak hesaplamıştır. Saflaştırılan GST enzime Cu⁺², Se⁺², Ba⁺², Pb⁺² ve Ag⁺ gibi metal iyonlarıyla cypermethrin, esfenvalerate, atrazine, deltamethrin ve diniconazole pestisitlerinin inhibitör etkisini incelemiş ve pestisitler ile metal iyonlarının IC₅₀, Ki sabitleri hesaplamıştır.

5. Yılmaz, (2019) yaptığı çalışmada, böbrek dokusunda inci kefalinin GST'nin saflaştırılması ve GST enziminin aktivitesi üzerine birtakım kimyasalların etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*) için böbrek dokusundan GST enzimi saflaştırmış, ayrıca GST enzimi aktivitesi üzerinde fazla zararlı bazı ağır metallerin, metil civa ve pestisitlerin ne etki yaptığını incelenmiştir. Awasthi yöntemine göre enzim aktivitesi 340 nm'lik değerlerde absorban artışı esas

alınarak spektrofotometrik düzeyde ölçmüştür. GST enzimini %89 oranında verimle 335 kat saflaştırmıştır. Bu saflığı kontrol edebilmek için SDS-PAGE yapmıştır. Saflaştırılmış olan bu enzimin substratı için Vmax ve Km değerini araştırmıştır. GSH substratı değeri olarak; Vmax 0,161 EÜ/ml iken Km: 0,276 mM bulmuştur. CDNB substratı için K_M: 0,429 mM iken CDNB Vmax'ı ise 0,207 EÜ/ml olmuştur. GST aktivitesi üzerine etkisi olan Cu²⁺, Cr⁺³, Zn⁺², Fe⁺³, Mg⁺², Metil cıva, atrazine, diniconazole ve methomyl için IC₅₀ sonuçlarına bakıldığında sırası ile 2,4 µM-1,5 µM-0,15 mM-10 µM-63 µM-34,5 µM, 9,8 µM-1,3 µM-2,67 µM değerleri bulmuştur.

2.2. Asetilkolinesteraz Enzimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

1. Yılmaz, (2020) yaptığı çalışmada, Alzheimer'da adamTS4, adam9 protein mekanizması ve asetilkolinesteraz aktivitesiyle ilişkisini incelemiştir. Çalışmada, yüz yirmi hastayı ikili gruba ayırmış, birinci grup hasta (n=60), ikinci grup kontrol (n=60) grubu diye belirlemiştir. Çalışma kapsamında, Kontrol grubu tamamıyla kendi içlerinde Alzheimer hastalığı bulunmayan ve dışlama kriterine uyan hastalar arasından seçmiştir. Hasta grubuna bakıldığında kendi aralarında yeni tanı konulan (Alzheimer, n=30) ve ilaç alan (Donepezil, n=30) gruplara bölmüştür. Deneklerden onay formu alarak serumlarında ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolinesteraz enzim aktivite seviyelerine uygun yapılmış kitler yardımıyla ELISA yöntemi uygulamıştır. İstatistik olarak tüm sınıflarda dağılımın anormal olduğunu belirlemiş ve Kruskal-Wallis varyans analizi ile sınıflar arasında farklılıktaki anlamlılığı incelemiştir (p<0,05). Buna göre, yeni tanı konulmuş olan Alzheimerlı hastalarda ADAMTS4, ADAM9 ve Asetilkolin esteraz düzeyleri kontrol ve Donepezil gruplarına göre anlamlı olarak yükselmiş (p<0,05), Donepezil grubu incelenildiğinde ilaç tedavisi ile birlikte ADAMTS4, ADAM9 düzeyleri ve asetilkolinesteraz aktivitelerinde yoğun bir düşme olduğunu saptamıştır. ADAMTS4 ve ADAM9 düzeylerinin, asetilkolinesteraz inhibisyonu ile korelasyon yaptığını bulmuş, inhibisyon düzeyi arttıkça, ADAMTS4 ve ADAM9 düzeylerinin düştüğünü gözlemlemiştir. Genel sonuca bakıldığında beyinde işlevsel olan ADAMTS4 ve ADAM9 protein seviyelerinin, asetilkolinesteraz aktivitesine bağlı farklılık gösterdiğini; asetilkolinesterazın inhibe edilmesinin Alzheimer hastalarındaki önem düzeyi düşünüldüğünde, ADAMTS4 ve ADAM9 ölçümünün hastalığın aydınlatılabilinmesinde önem gösterdiğini vurgulamıştır.

2. Alaşehirli, (2005) yaptığı çalışmada, Kolinesteraz İnhibitörlerini (Antikolinesterazlar) araştırmıştır. Çalışmada, Kolinesteraz inhibitörleri nörotransmitter bir molekül olan asetilkolin'in yıkımını katalizlediğini ve insan vücudunda asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz diye 2 adet kolinesteraz enzimi bulunduğuna değinmiştir. Çalışmada ayrıca Asetilkolinesteraz enzimini inhibe eden moleküllere kolinesteraz inhibitörleri diğer bir deyişle antikolinesterazlar ve Alzheimer Hastalığı tedavisi için ilk olarak takrin sonrasında donepezil, rivastigmin ve galantamin ilaçları kullanıma sunulduğu vurgulamıştır. Sonuç olarak, takrin ve rivastigmin asetilkolinesteraz ve butirilkolinesterazın her ikisinde de inhibisyona sebep olduğunu, donepezil ve galantamin özgül olarak asetilkolinesterazı inhibe ettiğini saptamıştır.

3. Küçükılınç, (2014) yaptığı çalışmada, organofosfat intoksikasyonlarında Asetilkolinesterazın biyotemizleyici ajan olarak kullanılma olasılığını araştırmıştır. Çalışmada Organofosfatların (OPlar) genel olarak pestisitler olarak kullanıldığına değinmiştir. Bu pestisitlerin asetilkolinesteraz enzimini inhibe edip merkezi ve çevresel sinir sistemini etkilediklerini vurgulamıştır. Çalışma sonucuna göre, Tyr337Ala/Phe338Ala çifte mutanıt 6 kat hızlı reaktivasyon gücüyle şimdiye kadar ki yapılan en ümit verici mutant olduğunu tespit etmiştir. Bunun yanı sıra, rekombinant enzime polietilen glikol eklenmesinden sonra enzimin plazma yarı ömrü arttığını gözlemlerken; immünojenitesinin ise azaldığına ve bütün bu araştırmalar AChE'ın terapötik olarak bir biyotemizleyici potansiyelinin varlığını yansıttığı sonucuna varmıştır.

4. Durmaz, (2015) yaptığı çalışmada, bazı kumarin türevlerinin antioksidan kapasiteleri ve buna ek olarak insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve II) ile asetilkolinesteraz enzimi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Çalışmanın birinci basamağında Formononetin, Tangeretin, Pelargonidin chloride Genistein, Scopoletin ve Delphinidin chloride gibi bazı kumarin türevlerinin insan eritrosit karbonik anhidraz izoenzimi I ve II (hCA I ve II) ile asetilkolinesteraz enzimi (AChE) üzerine in vitro (cansız ortam) etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla hCA I ve II izoenzimleri Sepharose-4B-L-Tirozin afinite kolon kromatografisi ile insan eritrositlerinden saflaştırmıştır. Enzim saflığını belirlemek amacıyla, SDS-PAGE yapılmış ve her bir izoenzim için tek bant gözlemiştir. Ardından kumarin türevlerinin hCA I, II ve AChE üzerine inhibisyon

etkileri belirlemiş olup IC₅₀ ve Ki değerlerini hesaplamıştır. Çalışmada ayrıca, IC₅₀ ve Ki değerleri hCA I izoenzimi için sırayla 203,88-405,97 µM ve 102,10 -969,00 µM aralığında olduğunu bulmuştur. Aynı parametrelere bakılınca hCA II izoenzimi için 96,10-360,75 µM ve 36,20 -905,05 µM aralığı içinde hesaplamıştır. Bunun yanı sıra, IC₅₀ ve Ki değerleri AChE enzimi için sırasıyla 890,74-1262,29 mM ve 14,60-47,23 µM aralığında olduğu tespit etmiştir. Her iki CA izoenzimi içi Asetazolamit, AChE için ise Tacrin standard olarak uygulamıştır. Çalışmanın devamında kumarin türevlerinin antioksidan kapasiteleri belirlemiştir. Bu amaçla Fe⁺³ -Fe⁺² indirgeme kapasitesi, kuprak metoduyla kuprik iyonları (Cu⁺²) indirgeme kapasitesi, FRAP metoduyla Fe⁺³ indirgeme kapasitesi, DPPH· giderme, ABTS·+ giderme, DMPD·+ giderme, bipiridil reaktifleri ile ferröz iyonları (Fe⁺²) şelatlama aktiviteleri ayrı ayrı çalışmıştır. Antioksidan çalışmalar için ise BHA, BHT, α-tokoferol ve troloks, referans antioksidan maddeler olarak kullanmıştır.

5. Suyundıkov, (2020) yaptığı çalışmada, eber sarısı bitkisinin α-amilaz, α-glukozidaz, tirozinaz, asetilkolinesteraz enzimlerini inhibisyon yapıcı özellikleri ile esansiyel yağ asidi içeriğinin belirlenmesini araştırmıştır. Çalışmada α-amilaz, Caraway-Somoygi iyodür-potasyum iyodür tekniği ile, α-glukozidaz Palanisamy yöntemiyle, asetilkolinesteraz enzimi Ellman yöntemiyle tirozinaz enzimi ise L-DOPA kullanılarak dopachrome tekniği uygulayarak enzimlerin inhibitör aktivitelerini saptamıştır. Clevenger cihazı kullanılarak esansiyel yağ asidi miktarı ve bileşenlerinin belirlenmesinde hidrodestilasyon işlemi (HD) kullanmış olup GC-MS'de analizi yapmıştır. Buna ek olarak bitki yağ asidi içeriği tespit ederek en yüksek palmitik asit (% 51.8), miristik asit (% 17.5) ve hekzahidrofarnesil aseton (% 5.3) olarak belirlemiştir. Bu türün asetilkolinesteraz ve tirozinaz enzimlerine karşı inhibitör aktivite göstermediğini, aseton ve dietil eter ekstresinin α-amilazı inhibe ettiği özellikler dietileter ekstresinin standart madde akarboz kadra inhibitör aktivitesi sergilediğini tespit etmiştir. Bitkide ayrıca ekstresi yapılan aseton ve metanolün α-glukozidaz enzimi üzerinde inhibe etkisinin yüksek derecede olduğunu bulmuştur.

2.3. Bütirilkolinesteraz Enzimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

1. Ağırğöl, (2008) yaptığı çalışmada, serum bütirilkolinesteraz aktivitesinin operasyon öncesindeki korku ve Lipit seviyeleriyle ilişkisini araştırmıştır. Çalışmada bütirilkolinesteraz enziminin karaciğerde üretildiği ve kan damarlarına verildiğine değinmiştir. Ayrıca incebağırsak, yağ dokusu, beynin ak maddesi ve akciğer gibi çeşitli doku ve organlarda bulunduğu ve beyinde ve plazmada çözünmüş olarak mevcut olduğundan bahsetmiştir. Çalışma sonucunda, serum bütirilkolinesteraz aktivitesiyle operasyon öncesi anksiyete düzeyi arasında bir alaka olmadığını saptamıştır. Bununla birlikte ameliyat grubunun serum bütirilkolinesteraz enziminin kontrol grubuna oranla anlamlı bir yükseklik bulmuştur. Bunların yanı sıra, serum bütirilkolinesteraz aktivitesi ile total trigliserit, kolesterol ve LDL kolesterol arasında da pozitif yönde bir ilişki olduğu bulmuştur. Öneri olarak da bütirilkolinesteraz aktivitesindeki yükselişin ameliyat öncesi korkuya bağlı olup olmadığının belirlenmesi için daha kapsamlı çalışmalara gerek olduğunu vurgulamıştır.

2. Şentürk ve Şentürk (2018) yaptıkları çalışmada, gül ekstresinin Kolinesteraz inhibisyon potansiyelinin belirlenmesini incelemişlerdir. Çalışmanın amacı, gül suyunun AChE ve BChE enzimleri için inhibisyon potansiyelini ortaya çıkarmak olmuştur. Çalışma sonucuna göre, gül suyunun AChE ve BChE enzimlerini etkilediği bulmuşlardır. Rivastigmin, Galantamin, takkim gibi araştırılan bu bileşikler burada düşük mikromolar aralıkta etkin AChE inhibitör aktivitesi bu türevlerin cesaret verici AChEI ajanlar olabileceklerini belirlemişlerdir. Bu maddelerin Alzheimer hastalığının tedavisinde faydalı olabilecek yeni BChE ve AChE inhibitörlerini bulmak için kullanılabileceği vurgulamışlardır.

3. Önal, (2021) yaptığı çalışmada, Türkiye'de yayılış gösteren Cistus L. türlerinin kolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibitör potansiyelini araştırmıştır. Çalışma kapsamında, Türkiye'de yayılış gösteren, 5 Cistus türünün yapraklarından %80 etanol ekstrelerini hazırlanmış ve bu ekstrelerin asetilkolinesteraz, tirozinaz ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyonu aktivitelerine bakmıştır. En aktif bulunan C. creticus ekstresinden çeşitli kromatografik yöntemlerle izolasyon ve fraksiyonlama çalışmaları yapmıştır. İzole edilen bu bileşiklerin yapı tayinleri, spektroskopik yöntemler (1D NMR) kullanmıştır. Çalışmada, enzim inhibisyon reaksiyonlarında tüm

Cistus ekstreleri her üç enzim üzerine oldukça aktif bulmuştur. *C. creticus* ekstresi tirozinaz, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon deneyleri sonucunda referans bileşiklere sırası ile; (Kojik asit, $IC_{50}=4.62\pm0.04$ $\mu\text{g/mL}$) 44.6 kat ($IC_{50}=206$ $\mu\text{g/mL}$); (Galantamin, $IC_{50}=0.23\pm0.01$ $\mu\text{g/mL}$) 713 kat ($IC_{50}=164$ $\mu\text{g/mL}$); (Galantamin, $IC_{50}=2.29\pm0.07$ $\mu\text{g/mL}$) 8.3 kat ($IC_{50}=19$ $\mu\text{g/mL}$) yaklaşarak en güçlü etkiyi göstermiştir. Farklı polaritede fraksiyonlama çalışmaları ile elde edilen CCE (*Cistus creticus* etil asetat) ekstresi tirozinaz, asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz enzim inhibisyon deneyleri sonucunda referans bileşiklere sırasıyla; 37 kat ($IC_{50}=171\pm1.73$ $\mu\text{g/mL}$), 521 kat ($IC_{50}=120\pm10.38$ $\mu\text{g/mL}$) ve 37 kat ($IC_{50}=85\pm1.73$ $\mu\text{g/mL}$) yaklaşarak en güçlü etkiyi göstermiştir. CCE ekstresiyle elde edilen Fr. 12 tirozinaz; Fr. 11 asetilkolinesteraz; Fr. 1, Fr. 2 ve Fr. 11 bütirilkolinesteraz üzerine en yüksek enzim inhibisyonu yapmıştır. Fakat bu fraksiyonlardan izolasyon gerçekleştirilememiştir. En etkili *Cistus* ekstresindeki moleküllerin tespitine yönelik çalışmada, *C. creticus*'tan İzokersitrin ve Tilirozit bileşikleri izole edilmiştir. İzokersitrin referans bileşiğe 52.8 kat yaklaşarak bütirilkolinesteraz enzimi üzerine inhibisyon yapmıştır ($IC_{50}=120.83\pm5.37$ $\mu\text{g/mL}$).

2.4. Doksorubisin ile İlgili Yapılan Çalışmalar

1- Özbay ve Avcı (2018) yaptıkları çalışmada, Doksorubisin ile indüklenmiş overyan toksisitede visnagin koruyucu etkisini araştırmışlardır. Tez çalışmasında eşey hücrelerine zararlı etkisi bilinen doksorubisinin, ovaryumda folliküler kaybı ve doku hasarını azaltmak, ovaryum rezervini korumak amacıyla visnagin tedavisinin yararlı sonuçlar gösterdiğini laboratuvarında görmüşlerdir. Çalışma, doksorubisin kemoterapisi sonucunda oluşan ovaryum toksisitede visnagin koruyucu olduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir. Fertiliteyi korumak amacıyla diğer bir tedavi seçeneği olacağı öngörülmüştür. Kemoterapi sonrası verilecek visnagin tedavisinin gelişmekte olan folliküllerini ve primordiyal follikülleri korumakta etkili olduğunu saptamışlardır.

2. Kaldır, (2002) yaptığı çalışmada, Doksorubisin'e bağlı kardiyotoksisite ile ilgili araştırma yapmıştır. Araştırma neticesinde doksorubisin antitümör etkinliği açısından vazgeçilmez bir ilaç olduğu sonucuna varmıştır. Fakat yan etki olarak geliştirdiği KKY ve DBKMP hala bir sorun teşkil edildiği için Doksorubisin'e bağlı gelişen mortaliteyi önlemede eksojen veya endojen antioksidanların etkinliği

incelenmesi gereken yeni bir tedavi protokollerine ve bu konuda yeni çalışmalara gereksinim duyulacağını vurgulamıştır.

3. Sakallı, (2022) yaptığı çalışmada, Doksorubisin ile deneysel hepatotoksisite oluşturulmuş sıçanlarda Kurkumin'in koruyucu etkisinin ışık, elektron mikroskopik düzeyini araştırmıştır. Çalışmada 28 albino Wistar cinsi sıçan 4 gruba ayrılarak deney modülü oluşturmuştur. Bulguların sonucunda Doksorubisin uygulanan grupta belirgin bir kilo kaybı ile birlikte SOD aktivitesinde düşme, ALT ve AST düzeylerinde artış, MDA aktivitesinde artış gözlemlenirken doksorubisin ve kurkuminin birlikte uygulandığı grupta ise tüm bu değerlerin kontrol gruplarındaki değerlere yakın olduğunu görmüştür. Ayrıca doksorubisin grubunda Kaspaz-3 ve TNF- α immünohistokimyasal ifadelerinin oldukça arttığını; doksorubisin+kurkumin uygulanan gruptaysa bu ifadelerin anlamlı bir şekilde azaldığını görmüştür. Doksorubisin kullanımı sonucunda sıçanlarda görülen karaciğer enzimlerinin seviyelerindeki değişiklikler ve kilo kaybı ile birlikte hepatositlerde nekroptozis ve apoptozis şekillendiğini ve fibrozisin geliştiğini saptamıştır. Doksorubisin ile birlikte kurkumin uygulanan grupta apoptozis ve nekroptozisin azalıp; fibrozisin olmadığını saptamıştır. Bu sebeple Doksorubisin ile oluşturulan hepatotoksisitede kurkumin kullanımının hepatositler üzerinde koruyucu ve tedavi edici etkilerinin varlığına kanaat getirmiştir.

4. Bayram, (2019) yaptığı çalışmada, deneysel meme tümör modelinde DOX'un değişik formlarının topoizomerez, vimentin ve antioksidan enzim ekspresyonları üzerine etkilerini incelemiştir. Çalışma kapsamında tümör dokuları, gen ekspresyon çalışmaları ve ışık mikroskobu çalışmaları için almıştır. Vimentin, Topoizomerez 2A immün reaktiviteleri belirlenerek plazma MDA düzeyleri DOX'un lipoze ve pegile lipoze yapılarının, tümör hücrelerinde ki antioksidan kapasite üzerine etkisini saptamıştır. DOX tümör grubu ile kıyaslandığında Süperoksit dismutaz, Glutatyon ve Katalaz ekspresyon düzeylerinde artış görmüştür ($p<0.01$). Vimentin'in ekspresyon seviyesi azalmış, Topoizomerez 2A ekspresyon düzeyinin ise artarak nekrotik hücre harabiyetine neden olmuştur ($p<0.01$). Bu gruplarda plazma MDA seviyeleri hem Doksorubisin-Tümör grubundan hem de meme tümör grubundan daha düşük olduğunu saptamıştır.

2.5. Kafeik Asit ile İlgili Yapılan Çalışmalar

1. Özbalcı, (2007) yaptığı çalışmada, ratlarda etanol ile uyarılmış Gastritin önleniminde Kafeik Asit Fenetil Esterin etkinliğini araştırmıştır. Çalışma sonucuna göre, etanolle uyarılan gastrit, mide mukozasında makroskopik olarak hemoraji ve erozyon, mikroskopik olarak ise mukozal inflamasyon, mukoza hücrelerinde dökülme, vazodilatasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödeme seyreden patolojik bir durum olduğunu ve etanol gastritinde, sitokinler ile oluşmuş apoptozis yoluyla hücre kaybı ve serbest radikal oluştuğunu bildirmiştir. Etanolün uyardığı gastritin önlenmesi amacıyla antioksidan özelliği bulunan birçok farklı ajan kullanmış ve etkili bulmuştur. Sıçanlarda etanol ile uyarılan akut gastrit modelinde daha önce kafeik asitin etkinliği daha önce araştırılmamıştır. Bu nedenle çalışmada, etanolle uyarılan deneysel gastrit modelinde CAPE'nin apoptozisi kontrol edici ve antioksidan özelliklerini araştırmıştır. Çalışma sonucunda deneylerde kullanılan CAPE ön tedavisinin, absölü etanolün uyardığı mide mukoza lezyonlarını önlemediğini ve bunun nedenlerinin apoptozisi potansiyalize etmesi veya kullanılan dozun yetersiz geldiği kanısına varmıştır.

2. Altundaş, (2018) yaptığı çalışmada, ratlarda amfoterisin B nefrotoksisitesinde oksidatif stresin rolünün ve olası oksidatif stres üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in (CAPE) etkisini araştırmıştır. Çalışmada antioksidan olduğu bilinen CAPE'nin uygulanması ile, AmfB'nin sebep olduğu oksidatif stres sonucunda oluşan nefrotoksisitenin ele alınıp değerlendirilmesindeki histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerde düzelmeler yaptığını fakat mortalite üzerinde etkisinin bulunmadığını tespit etmiştir. Bununla birlikte gözlenen bu yararlı etkinin klinik ve geniş katılımlı çalışmalarda değerlendirilmesine ihtiyacın olduğu vurgulamıştır.

3. Persil, (2017) yaptığı çalışmada, İsoproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulan sıçanlarda CAPE'nin arginin metabolizmasına etkisini incelemiştir. Albino wistar cinsi erkek ratlar; kontrol grubu, kafeik asit fenetil ester, isoproterenol ve isoproterenol+kafeik asit fenetil ester olmak üzere eşit sayılı gelişigüzel dört gruba ayırmıştır. % 0.5 dimetil sülfoksitin içinde CAPE (10 mikromol/kg/gün) çözülerek, CAPE ve isoproterenol+CAPE gruplarına 7 gün süresince intraperitoneal olarak vermiştir. Miyokart infarktüsü yapabilmek amacıyla isoproterenol ve isoproterenol+CAPE gruplarına 6. Ve 7. günlerde isoproterenol (150 mg/kg/gün) İ.P

olarak uygulamıştır. Tüm ratların isoproterenol enjeksiyonunu takiben 24 saat sonra intrakardiyak kan örnekleri alınıp sakrifikasyonla kalpleri çıkarmıştır. Troponin I, Nitrik oksit, ornitin düzeyleri, serum arginaz aktivitesini ölçmüştür. Nitrik oksit/ornitin ve Asimetrik dimetilarginin/nitrik oksit oranlarını hesaplamıştır. Hastalık belirtisi olmayan sıçanlara isoproterenol verilışı troponin I, serum arginaz aktivitesi, asimetrik dimetilarginin, nitrik oksit düzeyleri ve nitrik oksit/ornitin oranında anlamlı bir artış göstermiştir. İsooproterenol aracılığıyla miyokart infarktüsü oluşturulan sıçanlara CAPE verilışı ise asimetrik dimetilarginin düzeyleri ve serum arginaz aktivitesinin artmasını anlamlı düzeyde önlemiştir. Çalışma CAPE'nin, isoproterenol ile uyarılmış miyokart infarktüsünde, asimetrik dimetilarginin ve serum arginaz aktivite seviyesinin artmasını önleyici bir etkide olduğunu göstermiştir. Sonuca bakıldığında, asimetrik dimetilargin ve arginazın yüksekliğinin ateroskleroz patogeneziyle alakalı olması ve miyokart infarktüsü için bir risk teşkil etmesi nedeniyle, CAPE'nin kardiyoprotektif tedavide önemli bir rolünün olacağı kanısına varmıştır.

4. Yağmurkaya, (2013) yaptığı çalışmada, Hepatik rezeksiyon modelinde CAPE'nin karaciğer rejenerasyonuna etkisini araştırmıştır. Çalışmada deneysel olarak oluşturulan karaciğer rezeksiyonundan sonra ilk 24 ve 72 saatlerde ki kafeik asit fenetil esterinin rejenerasyona etkisini incelemiştir. Çalışmada 40 albino Wistar cinsi yetişkin ratlar kullanmış ve gelişigüzel toplam 5 gruba ayırmıştır. Karaciğer rezeksiyonu oluşturabilmek için denek hayvanlara üst orta hat insizyon ile laparotomi yöntemi uygulanmıştır. Parsiyel hepatektomi sonrası 24. ve 72. saatlerde CAPE verilen ve serum fizyolojik verilen grupların karaciğerleri incelemek için alınmıştır. CAPE verilen gruplar da ilk 72 saatte sinüzoidal dilatasyonun ciddi bir biçimde arttığı ve bununla birlikte vakuolizasyonun da kontrol gruplarına göre azalış gösterdiğini tespit etmiştir. Apoptotik indeks seviyeleri açısından bakıldığında CAPE verilen gruplarda özellikle ilk 24 saatte normal karaciğer dokusunda olan apoptoz seviyelerine yaklaştırdığını ve rejenerasyon için olumlu etkisinin var olduğu saptamıştır. Prolifere hücre nükleer antijeniyle boyanmanın sonucunda hesaplanan proliferasyon indeks seviyelerine bakıldığında; proliferasyon CAPE verilen gruplarda özellikle ilk 24 saatte belirgin bir biçimde yükselerek rejenerasyona olumlu etkisi olduğu sonucuna varmıştır.

5. Erdoğan, (2010) yaptığı çalışmada, Akustik travmada CAPE tedavisinin işitme kaybı üzerine etki düzeylerini incelemiştir. Akustik travması ile oluşan işitme kaybının önlem ve tedavisinde henüz etkinliği kesinleşen bir yöntem veya ajan görülememiştir. Antioksidanlar ise bu amaçla kullanmıştır. Çalışmada toplamda 20 rat kullanmıştır. Çalışmadan önce deneklerin otoakustik emisyonları ölçmüştür. Otoakustik emisyon ölçümleri yapılan tüm deneklerin 40'ar dakikalık süreyle, 4 kHz frekansında 120 dB saf ton sese maruz bırakılmıştır. Deneklerin 24. saatte otoakustik emisyonlarının tekrarlanan ölçümler sonucunda akustik travma oluştuğunu tespit etmiştir. CAPE tedavisi akustik travmadan 24 saat sonra uygulamıştır. CAPE uygulamasından sonra 1, 3, 5, 7. günlerde tüm sıçanların otoakustik emisyonları ölçmüştür. Çalışmada uygulanan akustik travma modelinde istatistiksel olarak anlamlı akustik travma oluştuğu belirlemiştir. CAPE tedavisi sonrası 1., 3., 5. ve 7. gün emisyon ölçümleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görmemiştir. Daha sonra akustik travma üzerinden 24 saat geçtiğinde tek doz uygulanan CAPE tedavisinin akustik travmaya bağlı işitme kayıplarında etkisinin olmadığını düşünmüştür. CAPE'nin 24. saatte uygulanımı geç kalınmış bir uygulamadır. Akustik travma oluştuktan sonra uygulanan CAPE'nin tedavide varlığını bulmamıştır. Fakat proflakside etkinliğinin saptanımı için yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu kanısına varmıştır.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. 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 ise Van YYÜ Deney Hayvanları ünitesinden temini yapılmıştır.

3.2. Kullanılan kimyasallar

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

3.3. Kullanılan alet ve cihazlar

Ultra turrax: Ultra Turrax-T25

pH metre: Mettler Toledo

Soğutmalı Santrifüj: Nüve N1000R

Manyetik karıştırıcı: Wise Stir-MSH -20A

Spektrofotometre: Cary 60 UV- Vis

Hassas terazi: Radwag

Saf su cihazı: RiOs™ 8

Kronometre: Hanhard, ElectronischeDigital-Stoppuhr

Karıştırıcı (Vortex): Wizelmix vm-10

Nanodrop: Maestro

Buzdolapları: Arçelik

Saf su tankı: Millipore

3.4. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

3.4.1. Asetilkolin Esteraz Enzimi'nin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması

1M Tris-HCl 5mM EDTA pH:8:30,27 g Tris tartıldı, 5 mM'lık 0,370 g EDTA 200 ml distile suda çözülmüştür. pH metre aracılığıyla 1N HCl ile pH=8'e oluncaya kadar HCl ve daha sonra toplam hacim distile suyla 250ml'ye tamamlanmıştır.

2. 10mM'lık 0.290g 50 ml asetiltiyokolin iyodat: 0,145gram asetil tiyokolin iyodat alınarak distile suyla 50 ml'e tamamlanmıştır.

3. 10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit)) Çözeltisi: 0.2 g DTNB ve 1 g sodyum sitrat alınıp önce bir miktar asetonda çözüldükten sonra distile su ile 100 mL'e tamamlanmıştır. DTNB (enzimin aktivite tayini için kullanıldı).

3.4.2. Glutasyon S-transferaz (GST) Enzimi'nin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması

1. 0,1 M KH_2PO_4 (pH:6,5): 0,68 g KH_2PO_4 ve 0,014 g EDTA tartılarak 30 mL saf sunun içinde çözülp pH:6,5'a ayarlanmıştır. Toplam hacim saf su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır.

2. 20 mM GSH Çözeltisi: 0,03 g indirgenmiş glutasyon alınarak bir miktar saf suda çözülp saf su ile 5 mL'ye tamamlanmıştır.

3.25 mM CDNB Çözeltisi: 0,025 g 1-kloro 2,4 dinitrobenzen alınarak bir miktar %95'lik etanol çözeltisi içerisinde çözülmüş ve hacmi etanolla 5 mL'ye tamamlanmıştır.

3.4.3. Bütirilkolin Esteraz Enzimi'nin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması

1. 1 M'lık Tris-HCl Tampon çözelti: 30,27 gramlık Tris alınmış ve 5 mM'lık 0,370 g EDTA 200mL distile suda çözülerek pH metre kullanılıp pH:8 e ayarlanmıştır. Toplam hacim 250 mL'ye distile suyla tamamlanmıştır.

2. 5 mM'lık Bütirilkolin iyodat Çözeltisinin Hazırlanımı: 0,14 g Bütirilkolinyodat alınıp 100 mL distile su içerisinde çözülmüştür.

3. 10 mM'lık DTNB (5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik asit)) Çözeltisi Hazırlanımı: 3,4 mg DTNB alınmış ve 25 mL distile su içerisinde çözülmüştür.

3.5. Deney hayvanlarının hazırlanması

Çalışma sonunda 50 mg/kg ketamin+20 mg/kg ksilazin ile anestezi altında sıçanların karın bölgeleri açılmıştır. Yaklaşık 200 mg kas dokusu üzerine 1,8 ml 50 mM, Ph: 7.4'lük fosfat tamponu ilave edilmiştir. 30 saniye boyunca ultra turrax cihazı ile homojenize edilmiştir. 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra üstte ki fazda kalan süpernatant başka bir eppendorf tüpe aktarılarak çalışma gününe kadar -80 °C de muhafaza edilmiştir.

3.6. Metod

Bu tez çalışmasında, ağırlıkları 250-350 gr arasında ve yaşları 2-3 ay arasında değişen toplam 40 advbino Wistar cinsi sıçan kullanılmıştır. Ratlar çalışma 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 vd., (2018)'nın kullandığı etken doz ve süresi dikkate alınarak uygulanmıştır. Kafeik Asit'in etkin dozları için ise Costa vd., (2017) ile Liu vd., (2017)'nin kullandığı etken doz miktarları kısmen modifiye edilerek uygulanmıştır. Gruplar aşağıdaki gibi oluşturulmuştur.

Tablo 3.1. DOX ve kafeik asit uygulanan deney hayvanlarında gruplandırma ve sıçan sayısı

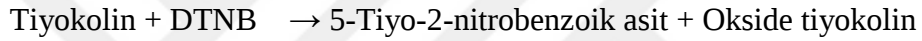
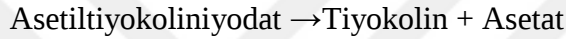
Grup Adı	Sıçan Sayısı	Uygulama ve Tedavi şekli	Kafeik Asit (CAPE)	Doksorubisin(DOX)
Sham	8	Periton bölgesine boş enjektör batırılıp çıkarılmıştır.	Yok	Yok
İzotonik	8	21 gün boyunca günde tek doz (200 µL) intraperitoneal olarak DMSO verilmiştir.	Yok	Yok
DOX	8	DMSO içinde çözünmüş 3 mg/kg dozda doksorubisin 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

3.7. Enzim Aktivite Ölçüm Yöntemleri

3.7.1. Asetilkolin Esteraz Enzimi'nin 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 renginde anyonun oluşum oranı 412 nanometrede ölçümler yapılmıştır (Ellman vd., 1961).



Genel olarak aşağıdaki formül kullanılarak aktivite ölçümlerinde enzim ünitesi hesaplanmaktadır (Asetiltiyokolin yodat için molar Absorbtivite kat sayısı 13,6).
$$\text{EÜ/mL} = \Delta\text{OD}/13,6 \times \text{VC}/\text{VE} \times \text{SF}$$

$$\text{EÜ} = \text{mL başına enzim ünitesi}$$

$$\Delta\text{OD} = 412 \text{ nm'de optik dansitenin dakika başına değişimi}$$

$$\text{VC} = \text{Küvet hacmi}$$

$$\text{VE} = \text{Küvetteki saf enzim çözeltisi hacmi}$$

$$f = \text{Seyreltme faktörü}$$

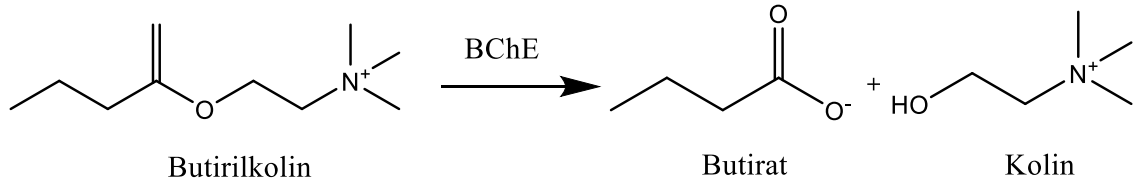
13.6 = 412 nm'lik dalga boyunda ve 37° C' de 3m Asetiltiyokolin yodür'ün indirgenmesi sonucu okunan OD, sabit değeridir (Porcelli vd.,1999)

Tablo 3.2. AChE enziminin aktivite ölçümü için gereken kimyasal ve miktarları

Kullanılacak Çözeltiler	Kontrol Tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris-HCl	100	100
DTNB	50	50
AChI	50	50
Saf su	770	760
Örnek	-	10
Enzim Çözeltisi	30	30

3.7.2. Bütirilkolin Esteraz Enzimi'nin Aktivite Ölçümü

BChE, memelilerde bilinen biyolojik substratı bulunmayan bir enzimdir. Fakat bütiriltiyokolin, propiyoniltiyokolin, BCh, propiyonilkolin ve farmakolojik açıdan önemli bir yeri olan süksinilkolin gibi kolin esterlerini hidroliz etmektedir (Kutty and Payne, 1994).



$$E\ddot{U}/\text{mL} = \Delta\text{OD}/13,6 \times \text{VC}/\text{VE} \times \text{SF}$$

$$\text{EU} = \text{mL başına enzim ünitesi}$$

$$\Delta\text{OD} = 412 \text{ nm'de optik dansitenin dakika başına değişimi}$$

$$\text{VC} = \text{Küvet hacmi}$$

$$\text{VE} = \text{Küvetteki saf enzim çözeltisi hacmi}$$

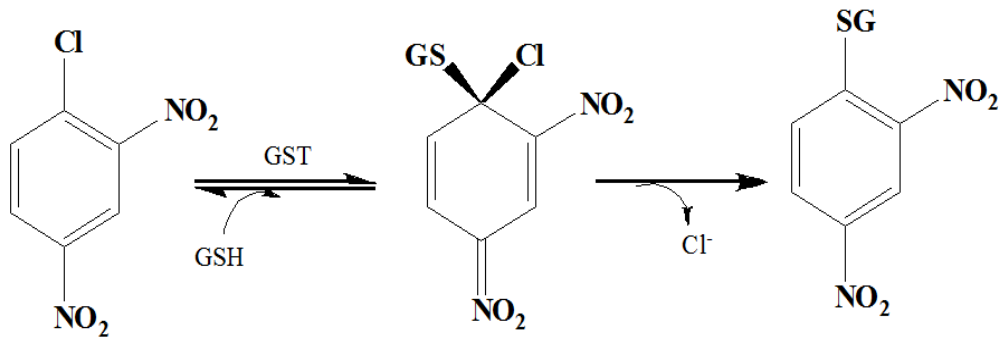
$$f = \text{Seyreltme faktörü}$$

Tablo 3.3. 13.6 = 412 nm’de ve 37°C de 3 Mm asetiltiyokoliniyodür’ün indirgenmesi sonucu okunan OD, sabit değeridir (Porcelli vd., 1999)

Kullanılacak Çözeltiler	Kontrol Tüpü (µL)	Numune Tüpü (µL)
Tris HCl	100	100
Saf su	790	780
Örnek	-	10
DTNB	50	50
Enzim çözeltisi	50	50
Bütirilkoliniyodür	50	50

3.7.3. Glutasyon S-transferaz Enzimi’nin Aktivite Tayini

GST enzimi aromatik elektrofil ile bir glutasyon molekülünün konjugasyonunu katalizlemektedir. En çok kullanılan aromatik elektrofil CDNB’dir. CDNB substratının kullanımıyla oluşan dinitrobenzen S-glutasyon (DNB-SG) ürünü 340 nanometrelik dalga boyunda maksimum absorbands değerini göstermektedir. Bunun sonucunda dalga boyundaki absorbands artış değerinden faydalanılarak aktivite ölçümü yapılabilmektedir. Çalışmamızda bu ölçüm metodu kullanılmıştır.



Şekil 3.1. GST enziminin aktivitesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesinde kullanılan ürünün oluşum mekanizması (Habdous vd., 2002)

CDNB, GSH'ın yokluğunda hızlı bir şekilde glutatyon 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 vd.,1974).

Enzim ünitesi hesaplanırken aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$E\ddot{U} = (\Delta OD/9,6) \times (VT/VE) \times SF$$

EÜ: 1 mL'deki enzim ünitesi

ΔOD : Bir dakikadaki absorbans değişimi

9,6: Ekstinksiyon katsayısı (1 mM DNB-SG'nin oluşturduğu absorbans değeri)

VT: Ölçümün yapıldığı küvetin toplam hacmi

VE: Ölçüm yapılan küvete ilave edilen enzim numunesinin hacmi

SF: Seyreltme faktörü (seyreltilen örnekler için kullanılır)

Tablo 3.4. GST enziminin aktivite ölçümü için gereken kimyasallar ve miktarları

Kullanılacak Çözeltiler	Kontrol Tüpü (μ L)	Numune Tüpü (μ L)
Fosfat Tamponu	200	200
Saf su	730	680
GSH	50	50
Enzim çözeltisi	-	50
CDNB	20	20

3.8. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Potasyum fosfat (KH_2PO_4) çözeltisinden 0,5 mikrolitre alınıp blank referans alındı. Nanodropta OD_{250} dalga boyunda örnekler 0,5 mikrolitre kullanılarak konsantrasyonu ölçülmüştür. 3 tekerrürlü ölçüm yapılarak toplamda bu sonuçların ortalaması BSA cinsinden hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. İstatistiksel Analiz

Gruplara ait tanımlayıcı istatistikler standart ve ortalama sapma olarak sunulmuştur. Verilerin normal dağılıp dağılmadığına ise Shapiro-Wilk testi ile bakılmıştır. Aynı parametre için gruplar arasında farkların anlamlı olup olmadığı Kruskal-Wallis Testi ile değerlendirilerek farkların hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için post hoc analizi (Dunnett T3 çoklu karşılaştırma testi) yapılmış olup 0.05 ve daha küçük p değerine sahip sonuçlar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4.2. Bulgular

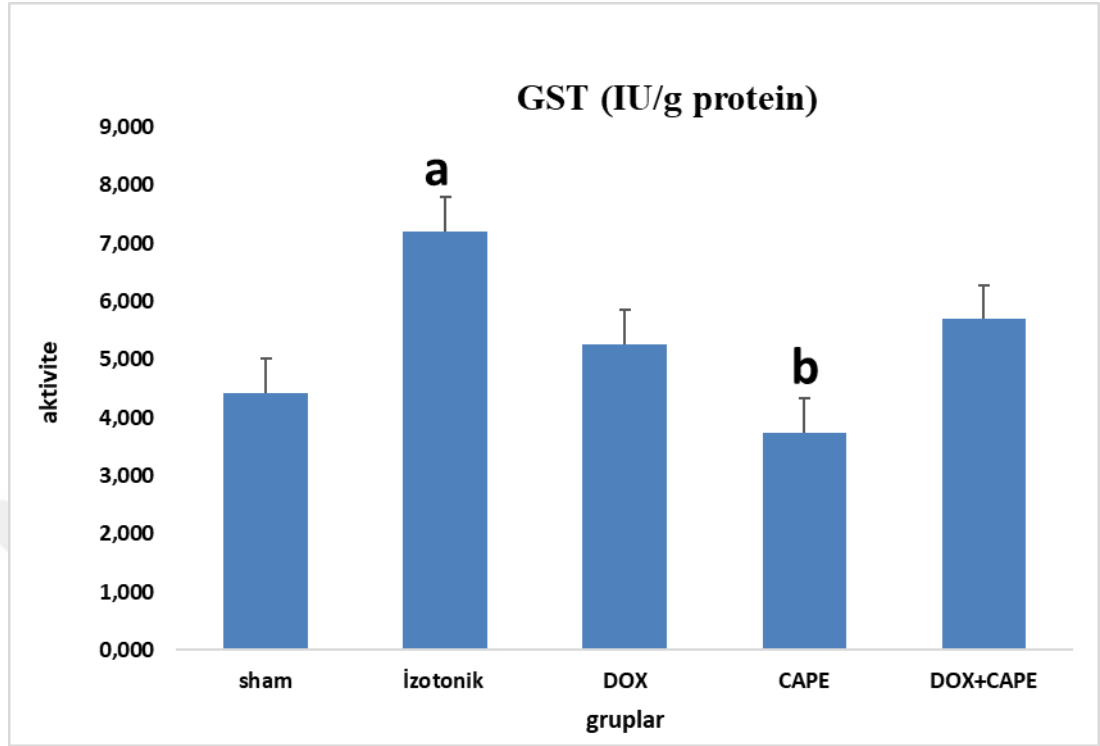
Kas dokusuna ait GST değerleri incelendiğinde, İzotonik grubunun GST aktivitesi diğer gruplara göre yüksek çıkmıştır. GST aktivitesi sadece izotonik ve CAPE arasında anlamlı bir fark bulundu ve bu anlamlı farkta CAPE ye göre GST aktivitesi, izotonik grupta daha yüksek bulunmuştur (p=0.032). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Diğer ayrıntılı sonuçlar Tablo1 ve Şekil 1’de görülmektedir.

Tablo 4.1. GST, AChE ve BChE seviyelerine ait sonuçların ortalama ve standart sapma değerleri

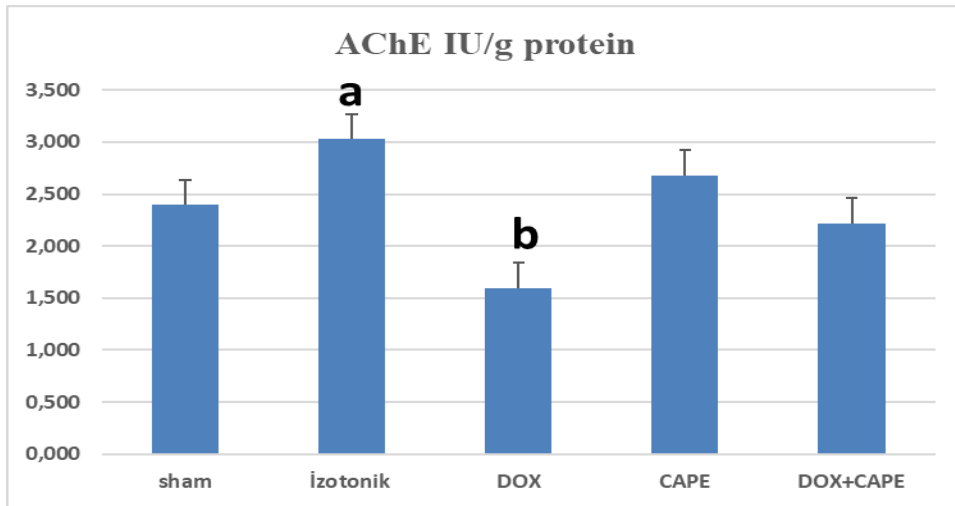
	GST (IU/g protein)	AChE (IU/g protein)	BChE (IU/g protein)
Sahm	4.424±0,920	2,396±0,505	1,037±0,226
İzotonik	7,202±0,894 ^a	3,031±0,446 ^a	1,539±0,199 ^b
DOX	5,257±1,169	1,600±0,175 ^b	1,108±0,213
CAPE	3,743±0,592 ^b	2,682±0,203	0,888±0,072 ^a
DOX+CAPE	5,695±1,142	2,22±0,737	1,015±0,202
P Değeri	=0.032	=0.012	<0.05

p: diğer gruplara göre anlamıdır (p=0.001), ^{**}p: sahm ve izotonik grubuna göre anlamlı (p=0.001),

[#]p: sahm, izotonik ve DOX gruplarına göre anlamlı (p=0.001).

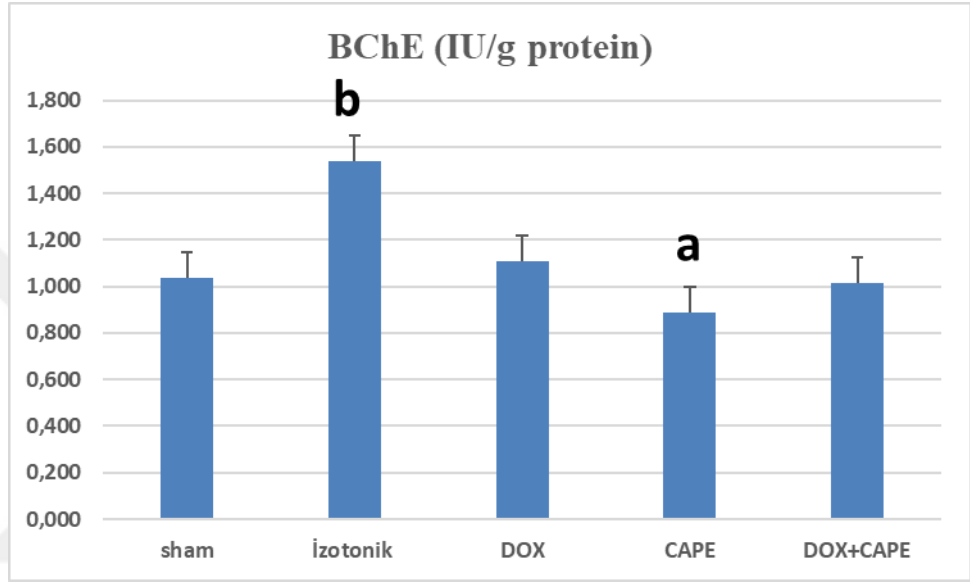


Şekil 4.1. Kas dokusuna ait GST değerlerinin karşılaştırılmasında; aynı sütunda farklı harf alan değerler birbirine göre anlamlıdır (İzotonik ve CAPE, $p=0.032$)



Şekil 4.2. Kas dokusuna ait AChE değerlerinin karşılaştırılmasında; aynı sütunda farklı harf alan değerler birbirine göre anlamlıdır (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 ($p<0.05$). Diğer ayrıntılı sonuçlar Tablo1 ve Şekil 2’de görülmektedir.



Şekil 4.3. Kas dokusuna ait BChE değerlerinin karşılaştırılmasında; aynı sütunda farklı harf alan değerler birbirine göre anlamlıdır (İzotonik ve CAPE, $p=0.032$)

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, diğer gruplarda BChE aktivitesinde istatistiksel bir fark

belirlenmemiştir. Diğer ayrıntılı sonuçlar Tablo 4.1 ve Şekil 4.3’de görülmektedir.

4.3. Tartışma

Temel, (2018) Kolinesteraz metabolizmasındaki değişiklikleri ve bozulmaları Alzheimer hastalığı ile ilişkilendirmiştir. Bu hastalıkta semptomatik tedavilerde genellikle acetylcholiesterase inhibitörleri reaktif oksijen moleküllerinin toksik

durumlarından hücrelere bariyer görevi yaparak antioksidan üretimini desteklediğine dair çalışmaların bulunduğunu bildirmiştir. Bu tez çalışmasında üç aylık süre zarfında rivastigmin ve donepezil tedavisi alan Alzheimer hastalarında kolinesteraz inhibisyonu ile oksidatif strese ne gibi değişimler olduğunu 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 başlanmıştır. Kontrol grubuna ise 17 sağlıklı 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, glutatyon peroksidaz, katalaz aktivitesi ölçülmüştür. Kısaca mental sağlıklarını inceleyerek, kognitif bunama evrelendirilmesi yapmış ve günlük yaşamda ki becerilerinin ne olduğunu saptamıştır. Çalışma sonucunda donepezil ve rivastigmin tedavisi alan Alzheimer tanısı almış grupların artış gösterdiği saptamış malondialdehit seviyelerini ise anlamlı bir düzeyde azalttığını bulmuştur. Alzheimer tanısı alan hastalarda azaldığı tespit edilen eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesini donepezil ve rivastigmin ilaçları anlamlı bir seviyede artış gösterdiğini bildirmiştir. Rivastigmin ilacıyla olan tedavide plazma bütirilkolinesteraz aktivitesi; donepezil ilacı alanlarda ise eritrosit asetilkolinesteraz aktivitelerini anlamlı seviyelerde azalttığını bulmuştur. Rivastigmin ilacını kullanan hastaların günlük yaşamda ki beceri ve aktivitelerinde olumlu sonuçlar verdiğini bildirmiştir. Çalışmada ki elde ettiği sonuçlarda donepezil ve rivastigmini alarak tedavi olan Alzheimer'lı bireylerin semptomatik tedavisinde asetilkolin düzeylerini arttırarak kolinerjik iletimin düzenleneceğine yardımcı olabilecek potansiyelinin varlığına ve aynı zamanda oksidatif strese olumlu etkiler sağlayacağını saptamıştır. Bizim çalışmamızda ratlarda doksorubisin ile oluşturulan toksikasyonda önemli enzim seviyelerine bakıldığı zaman CAPE uygulanmasıyla GST'nin antioksidan özelliği ortaya bir kez daha çıkmıştır. GST aktivitesi en yüksek izotonik grubunda olmuştur.

Özalp vd., (2020) yapmış olduğu çalışmada, son evrede olan *Galleria mellonella* larvalarına arka bacakları üzerinden ZnO NP 30 mg/l ve 30 µg/mL'lik enjeksiyonu uygulanmışlardır. Enjeksiyon uygulaması sonrası deneme ve kontrol gruplarıyla izole ettikleri yağ dokusundaki oksidatif stres seviyesini AChE enzim aktivitesinin tespitiyle

belirlemişlerdir. Elde olan verilerde ZnO NP'ye uzunca maruz kalan *Galleria mellonella* larvalarının yağ dokularında ki AChE aktivitesinde kontrol gruplarına göre her 2 uygulama grubunda da istatistiksel olarak belirgin yükselme ve azalışlar görmüşlerdir. Öneri olarak ise elde edilen veriler doğrultusunda yeni yapılacak immünolojik ve fizyolojik çalışmaların daha ayrıntılı sonuçlar vereceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda kas dokusunda ki 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 vd., (2011) yapmış oldukları çalışmada sıçanlara akut malathion (MAL) vererek zehirlenme yaparak onların böbrek, karaciğer ve akciğer dokularında oluşan nitrik oksit (NO) , malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) aktiviteleri üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE)'nin ve elajik asitin (EA) ne gibi etkiler yaptığını incelemişlerdir. Çalışmalarında 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) ayrılmışlardır. Sonuca bakıldığında 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. Bizim çalışmamızda kas dokusunda ki 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 vd., (2015) yapmış olduğu bir çalışmada pestisit bir madde olan klorprifos-etil (CPF) ile akut zehirlenme yapılarak; kafeik asit fenetil esterin oksidatif stres indeksi (OSİ), total oksidan (TOS) düzeyleri, paraoksonaz (PON1) aktivitesi ve total antioksidan (TAS) üzerine ne gibi etkiler yaptığı araştırmışlardır. Her biri 25-30 gram ağırlıklı, *Mus musculus* türü 32 tane erkek sıçanı gelişigüzel 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 örnekleri sonucunda CPF uygulamaları yapılan sıçanlarda, PON1 seviyesi 189.21 ± 22.31 U/L; TAS seviyesi 1.03 ± 0.13 mmol Trolox eşivalen/L; TOS 7.10 ± 0.69 µmol H₂O₂ equiv./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. 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 vd., (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 artırdığını, asprosin seviyelerini düşürdüğünü, tedavi edici olarak verilen D

vitamininin toplam oksidan seviyesini ve TUNEL pozitifliğini düşürdüğünü, asprosin düzeyininse değişmediğini gözlemlemişlerdir. DOX'un asprosinini azaltarak doku hasarı mekanizmasında etkisinden söz edilebileceği ve tedavide vitamin D'nin iyileştirici etkisinin var olduğu fakat bu etkinin asprosininden bağımsız bir düzenek ile sağlandığı bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda DOX uygulananımı ile detoksifikasyon merkezinde aşırı salgılanıp savunma sistemini güçlendirmiş. Aktiviteye bakıldığında sham grubuna göre artış vardır. CAPE uygulananımı ile GST'nin antioksidan özelliğine olan ihtiyacı azaltmıştır. Bu da CAPE'nin antioksidan özelliğini ortaya koymaktadır.



SONUÇ ve ÖNERİLER

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 üzerinde ki 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.

KAYNAKÇA

- Ağırçöl, B.A., Yılmaz, U., İşleten, F., Semerci, E., Kutsal, C., (2008). *Serum Bütirilkolinesteraz Aktivitesinin Ameliyat Öncesi Anksiyete ve Lipit Düzeyleriyle İlişkisi*. Türk Biyokimya Dergisi, 33(1), 9-13.
- Akdağ, S., (2021). *Doksorubisin Uygulamasının Karbonik Anhidraz, Glutasyon S-Transferaz Ve Glutasyon Redüktaz Enzim Aktiviteleri İle İlişkisi: Kurkumin'in Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Iğdır.
- Akıncıoğlu, H. and Gülçin, İ., (2020). *Potent acetylcholinesterase inhibitors: potential drugs for Alzheimer's disease*. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 20 (8), 703-715.
- Akkuş, İ., (1995). *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, 38(5), 1-12.
- Alaşehirli, B., (2005). *Kolinesteraz İnhibitörleri*. Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi, 1(18), 47-57.
- Allam, A. R., Sridhar, G. R., Das, U. N. (2007). *Elevated butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease*. Med. Hypothesis, 69: 1272-1276.
- 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.
- Altuntaş, A., (2008). *Sıçanlarda Deneyisel Amfoterisin B Nefrotoksisitesinde Oksidatif Stresin Rolünün ve Olası Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Etkisinin Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta. 58.

Anonim:<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.fikir.gen.tr%2Fenzimler-enzimlerin-yapisi-enzimlerin-genel-ozellikleri%2F&psig=AOvVaw0VGQP0O3vUdSP35cz6g3qy&ust=1673910367154000&source=images&cd=vfe&ved=0CBEQjhXqFwoTCJjEqZjYyvwCFQAAAAAdAAAAABAE>(15.03.2022)

Anonim:https://www.google.com/search?q=Asetilkolinesteraz+Enzimin+%C3%9C%C3%A7+Boyutlu+Yap%C4%B1s%C4%B1&sxsrf=ALiCzsa59941S_0fGCD45cIGHtrxqqrFSA:1672264582344&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKWwjNqJqDp538AhWCcfEDHSUjA94Q_AUoAXoECAEQAw&biw=1920&bih=937&dpr=1#imgsrc=d9V-ktroeCqqhM (18.03.2022)

Anonim:https://www.google.com/search?q=b%C3%BCtirilkolinesteraz+enzimi&sxsrf=ALiCzsbkcH285FBqWs6WS2DkOxn3Xqbjw:1672270509586&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjqusSNvZ38AhVIRPEDHdbmB5UQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1920&bih=880&dpr=1#imgsrc=9uXI4v6Nu0V6zM (26.04.2022)

Anonim:https://www.google.com/search?q=b%C3%BCtirilkolinesteraz+enzimi&sxsrf=ALiCzsbkcH285FBqWs6WS2DkOxn3Xqbjw:1672270509586&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjqusSNvZ38AhVIRPEDHdbmB5UQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1920&bih=880&dpr=1#imgsrc=5L7FLD0n2sHHdM (05.05.2022)

Anonim:https://www.google.com/search?q=gst+enzimi+3+boyutlu+yAPISI&sxsrf=ALiCzsbEqF9aGPIGLXtxiMx3ZnQ63wZfw:1672272035133&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwjKwfkwp38AhVVX_EDHfLiAbwQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1920&bih=880&dpr=1#imgsrc=IlV0YfAg-cle3M&imgdii=_Ci5Pk7Uj_eFNM (08.05.2022)

Anonim:<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fdrhakangercekoglu.com%2Fgenel%2Fantioksidanlar-ve-kalp-sagligi.html&psig=AOvVaw3vpcL6Gj4B4b40T6QUEFgE&ust=167382223236000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhXqFwoTCJDCyuuPyPwCFQAAAAAdAAAAABAR> (10.06.2022)

Anonim:<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.istockphoto.com%2Ftr%2Fvekt%25C3%25B6r%2Fkafeik-asit-c9h8o4-molek%25C3%25BCI%25C3%25BC-antioksidan-anti-inflamatuar-antineoplastik-gm1207090681-348384625&psig=AOvVaw3UVtij03KySFdMGrIllaW4&ust=1673826440924000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxFwoTCOiy3sqfyPwCFQAAAAdAAAAABBN> (12.06.2022)

Anonim:<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.slideserve.com%2Fjasia%2Fvitamin-ve-mineraller&psig=AOvVaw3LGzZ99qBgx94pkasM0y7&ust=1673820582623000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjhxFwoTCPC209yJyPwCFQAAAAdAAAAABAa> (02.06.2022)

Anonim:<https://www.ilactr.com/ilac/doxorubicin.html> (01.06.2022)

Anonim:<https://www.medicalpark.com.tr/antioksidan-nedir/hg-2687> (15.06.2022)

Arabacı, B., (2015). *Kapsaisin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi Ve İnsan Karbonik Anhidraz İzoenzimleri (Hca I Ve Hca II) İle Asetilkolin Esteraz Enzimi Üzerine İnhibisyon Etkisinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Erzurum.140.

Aras, A., Türkan, F., Yildiko, U., Atalar, M.N., Kılıç, Ö., Alma, M.H., Bursal, E., (2021). *Biochemical constituent, enzyme inhibitory activity, and molecular docking analysis of an endemic plant species, Thymus migricus*. Chemical Papers, 75(3), 1133-1146.

Arslan, D.Ö., Korkmaz, G., Gözüaçık, D., (2011). *Otofaji: Bir Hücrel Stres Yanıtı ve Ölüm Mekanizması*. Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,2(4).

Barta, C., Sasvari-Szekely, M., Devai, A., Kovacs, E., Staub, M., Enyed, i.P., (2001). *Analysis of mutations in the plasma cholinesterase gene of patients with a history of prolonged neuromuscular block during anesthesia*. Molecular Genetics and Metabolism. 484-8

- Baykara, O., (2016). ***Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar***. Balıkesir sağlık bilimleri dergisi,5(3), 155-156.
- Bayram, E., (2019). ***Doksorubisinin farklı formlarının vimentin, topoizomerez ve antioksidan enzim ekspresyonları üzerine etkilerinin deneysel meme tümör modelinde araştırılması***. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Nanoteknoloji Ana Bilim Dalı, Edirne. 94.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L.,(2012). ***Biochemistry***. W.H. Freeman and Company, 1515p, New York, USA.
- Bhimani, R.S, Troll, W., Grunberger, D., Frenkel, K., (1993). ***Inhibition of oxidative stress in HeLa cells by chemopreventive agents***. Cancer Res. 53, 4528-33
- Bingöl, Z., (2022). ***Resveratrol Ve Türevleri: Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi Ve Bazı Metabolik Enzimler Üzerinde İnhibisyon Etkilerinin Araştırılması***. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Erzurum.122.
- Borrelli, F., Izzo, A.A., Di Carlo, G., Maffia, P., Russo, A., Maiello, F.M., Capasso,F., Mascolo, N., (2002). ***Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon***. Pub Med, 73, 38-S43.
- Brown, S., Glasner, A., (1999). ***Assessment Matters in Higher Education: Choosing and Using Diverse Approaches***. The Society for Research into Higher Education and Open University Press, Buckingham, 1-13.
- Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.T., (1987). ***Oxygen radicals and human disease***. Ann Intern Med, 107, 526-45.
- Davidson, G.P., Decker, T.R., (2009). ***Chemopreventive role of fruits and vegetables in oropharyngeal cancer***. Nutrition in Clinical Practice, 24(2):250-60
- Demirci, G., (2013). ***Moleküler Damgalama Yöntemi İle Asetilkolin Esteraz Enziminin (Ache) İmmobilizasyonu***. Yüksek Lisans Tezi.MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ ,Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Muğla.67.

- Deveci, H.A., Karapehlivan, M., Kaya, İ., Kükürt, A., Alpay, M., (2015). ***Akut klorprifos-etil zehirlenmesine karşı kafeik asit fenetil ester'in koruyucu etkisi.*** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 62, 255-260
- Duran, G., (2019). ***Siraz (Capoeta umbla)'ın karaciğer dokusundan glutatyon s-transferaz enziminin saflaştırılması, karakterizasyonu ve bazı kimyasalların enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi.*** Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, Ağrı.104.
- Durmaz L., (2015). ***Bazı kumarin türevleri: antioksidan kapasiteleri ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hCA I ve II) ile asetilkolinesteraz enzimi üzerine etkileri.*** Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, Erzurum.160.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., (1961). ***A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.*** Biochemical Pharmacology, 7(2), 88-90.
- Erdoğan, O., (2010). ***Akustik travmada kafeik asit fenil esteri tedavisinin işitme kaybı üzerine etkisi.*** Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz ve Baş-Boyun Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Isparta. 51.
- Eyigor, S., Eyigor, C., Uslu, R., (2010). ***Assessment of pain, fatigue, sleep and quality of life (QoL) in elderly hospitalized cancer patients.*** Archives of Gerontology and Geriatrics, 51(3), 57–61.
- Feltcher, M.E., Braunstein, M., (2012). ***Emerging themes in SecA2-mediated protein export.*** Nature reviews. Microbiology, 10(11), 779–789.
- Futreal, P.A., Kasprzyk, A., Birney, E., Mullikin. J.C., Wooster, R., Stratton, M., (2001). ***Cancer and genomics.*** Nature ,6822: 850-2.

- Göçer, H., (2014). *Sinefrin ve fenilefrin: antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi ve insan karbonik anhidraz izoenzimleri (hca ı ve hca u) ile asetilkolinesteraz enzimi üzerine etkilerinin araştırılması*. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Erzurum.182.
- Güven, A., (2000). *Asetilkolinesterazın önemi ve inhibitörleri*. Kafkas Üniversitesi. Veteriner Fakültesi Dergisi. 145-151.
- Güven, N., (2020). *Eşkina balığından Glutasyon S-transferaz enziminin karakterizasyonu ve metal inhibisyonunun incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Samsun.64.
- Gyamfi, M.A., Ohtani, I.I., Shinno, E., Aniya, Y., (2004). *Inhibition Of Glutathionestransferases By Thonningianin A, Isolated From The African Medicinal Herb, Thonningia Sanguinea, In Vitro*. Food And Chemical Toxicology, 42, (9) 1401-1418.
- 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), 131-42.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., (1974). *Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation*. Journal of Biological Chemistry, 249(22), 7130-7139.
- Hanahan, D., Weinberg, R.A., (2011). *Hallmarks of cancer: the next generation*. Pub Med,144(5), 646-674.
- Hepşen, I.F., Tilgen, F., Er, H., (1996). *Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı*. Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi, 3, 386-91.
- Hilmi, Ş., (1994). *Oksidanlar ve antioksidanlar*.Türk Hastane Tıp Dergisi, 48 (1-2), 44-9.
- Hofman, M., Ryan, J.L., Figueroa-Moseley, C.D., Jean-Pierre, P., Morrow, G.R., (2007). *Cancer related fatigue: The scale of the problem*. The Oncologist, 12(1), 4-10.

- Hurst, R., bao, Y., Jemth, P., Mannerv1, B., Williamson, G., (1997). ***Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase Activity of Rat Class Theta Glutathione Transferase T2-2***. Biochem. Soc. Trans, 25, S559.
- Jornot, L., Petersen, H., Junod, A.F., (1998). ***Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions***. Biochem Journal, 335, 85-94.
- Kaldır, H.M., Tatlı, E., Turgut, B., Vural, Ö., (2002). ***Doksorubisin'e Bağlı Kardiyotoksisite***. Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi, 15(6), 416-21.
- Karabulut, H., Gülay. M.Ş., (2016). ***Serbest Radikaller***. MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1), 50-59.
- Kav, S., Hanoğlu, Z., Algier, L., (2008). ***Türkiyede Kanserli Hastalarda Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi Yöntemlerinin Kullanımı: Literatür Taraması***. International Journal of Hematology and Oncology,1(18),32-33.
- Kidd, P.M., (1999). ***Glutathione: Systemic Protectant Against Oxidative and Free Radical Damage***. Ph.D. Alternative Medicine Review.2(3).
- Koçancı, F.G., Aslım, B., (2016). ***Asetilkolinesterazın Yapısı ve İşlevleri ve Bitkilerin Asetilkolinesteraz İnhibitör Aktivitesi***. Manas Ziraat Veterinerlik ve Yaşam Bilimleri Dergisi, 6 (1),19-35.
- Koleini, N., Kardami, E., (2017). ***Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin- induced cardiotoxicity***. Oncotarget. 8(28), 46663-46680.
- Kuloğlu, T., Kocaman, N., Artaş, G., (2022). ***Doksorubisin'in Sıçan Böbrek Dokularında Yaptığı Hasar Üzerine Vitamin D'nin Etkilerinin ve Asprosin ile İlişkisinin İncelenmesi***. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi, 36(1), 13-18.
- Kumaran, K.S., Prince, P.S., (2010). ***Protective effect of caffeic acid on cardiac markers and lipid peroxide metabolism in cardiotoxic rats: an in vivo and in vitro study***. National Institutes of Health, 59(8), 1172-80.
- Kurt, S., Unsar, S., (2011). ***Assessment of symptom control in patients with cancer in Northwestern Turkey***. Eur J OncolNurs. 15(2), 137-44.

- Kutty, K.M., Annanpurna, V., Prabhakaran, V., (1989). ***Pseudocholinesterase: A protein with functions unrelated to its name***. Biochemical Society Transactions, 7, 555–556.
- Kutty, K.M., Payne, R.H., (1994). ***Serum pseudocholinesterase and very-low-density lipoprotein metabolism***. Journal of Clinical Laboratory Analysis. 8(4), 247-250.
- Küçükkılınç, T.T., (2014). ***Organofosfat Zehirlenmelerinde Asetilkolinesterazın Biyotemizleyici Olarak Kullanılma Olasılığı***. Türk Biyokimya Dergisi, 39(2), 126-131.
- Layer, P. G., Allebrandt, K., Andermann, P., Bodur, E., Boopathy, R., Bytyqi, A. H., Paraoanu, L. E., (2005). ***On the multifunctionality of cholinesterases***. Chem.-Biol. Interact., 37 (41): 157-158.
- Lolak, N., Akocak, S., Türkeş, C., Taslimi, P., Işık, M., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., Durgun, M., (2020). ***Synthesis, characterization, inhibition effects, and molecular docking studies as acetylcholinesterase, α -glycosidase, and carbonic anhydrase inhibitors of novel benzenesulfonamides incorporating 1,3,5-triazine structural motifs***. Bioorganic Chemistry, 100, 103897.
- Lotti, M., (1995). ***Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation***. Clinical Chemistry, 41, 1814-1818.
- Michaluart, P., Masferrer, J.L., Carothers, A.M., Subbaramaiah, K., Zweifel, B.S., Koboldt, C., (1999). ***Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation***. Cancer Res 59(10), 2347–52.
- Mills, E.M., Takeda, K., Yu, Z.X., Ferrans, V., Katagiri, Y., Jiang, H., Lavigne, M.C., Leto, T.L., Guroff, G., (1998). ***Nerve growth factor treatment prevents the increase in superoxide produced by epidermal growth factor in PC 12 cells***. J Biol Chem, 273(35), 22165-8.

- Momparler, R.L., Karon, M., Siegel, S.E., Avila, F., (1976). *Effect of Adriamycin on DNA, RNA and Protein Synthesis in Cell-Free Systems and Intact Cells*. Cancer Research, 36, 2891 – 2895.
- Nelson, D.L., and Cox, M.M., (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry*, W.H. Freeman and Company, 1130p, New York, USA.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., (2004). *Lehninger Principles of Biochemistry*, Chapter 6. W. H. Freeman, Fourth Edition. New York, USA.
- Oakeshott, J.G., Claudianos, C., Russell, R.J., Robin, G.C., (1999). *Carboxyl/cholinesterases: a case study of the evolution of a successful multigene family. BioEssays, 1031–1042. of antioxidant activity of clove (Eugenia caryophyllata Thunb) buds and lavender (Lavandula stoechas L.). Food Chemistry, 87, 393-400. of antioxidant activity of clove (Eugenia caryophyllata Thunb) buds and lavender (Lavandula stoechas L.). Food Chemistry, 393-400.*
- Önal, F.N., (2021). *Türkiye'de yayılış gösteren Cistus L. türlerinin kolinesteraz ve tirozinaz enzim inhibitör potansiyelinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Ana Bilim Dalı, İzmir.90.
- Özalp, P., Tunçsoy, B., Meşe, Y., (2020). Çinko Oksit Nanopartikülünün Galleria mellonella (Lepidoptera:Pyralidae) (L.) Larvalarında Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciens*, 3(1), 213-216.
- Özbalcı, D., (2007). *Sıçanlarda Etanol İle Uyarılan Gastritin Önlenmesinde Kafeik Asit Fenetil Esterin Etkinliğinin Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta. 54.
- Özbay, A., Avcı, B., (2018). Doksorubisin ile İndüklenmiş Ovaryan Toksisitede Visnagin Koruyucu Etkisi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 44(3)143-151.

- Özdoğan, M., (2020). *Türkiye Kanser İstatistikleri* 2020. <https://www.drozdogan.com/turkiye-kanser-istatistikleri-2020/>
- Pavese, J.M., R.L. Farmer, Bergan, R.C., (2010). *Inhibition of cancer cell invasion and metastasis by genistein*. Cancer and Metastasis Reviews, 29(3), 465-482.
- Persil, B., (2017). *İsoproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulan sıçanlarda kafeik asit fenetil esterinin arginin metabolizmasına etkisinin incelenmesi*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Edirne. 68.
- Renu, K., VG, A., Pichiah PB, T., P, Arunachalam, S., (2018). *Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy - An update*. Eur J Pharmacol. 5(818), 241-253.
- Sakallı E., (2022). *Doksorubisin ile deneysel hepatotoksisite oluşturulmuş sıçanlarda Kurkumin'in koruyucu etkisinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde araştırılması*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Adana. 97.
- Savir, Y., Tlustý, T., (2007). *Conformational Proofreading: The Impact of Conformational Changes on the Specificity of Molecular Recognition*, PLoS One, 5:468
- Sayın, Y., (2022). *Glutasyon s -transferaz enziminin kaz (anser anser domesticus) karaciğerinden saflaştırılması, karakterizasyonu, bazı kimyasalların ve metallerin enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Ağrı.86.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V.M., Dowd, Ca., (2001). *Structure, Function And Evolution Of Glutathione Transferases: Implications For Classification Of Nonmammalian members Of An Ancient Enzyme Superfamily*. Biochem J, 360, 116
- Singal, P.K., Iliskovic, N., Kumar, D., (1997). *Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention*. Faseb J. 11, 931-6.

- Songbo, M., Lang, H., Xinyong, C., Bin, X., Ping, Z., Liang, S., (2019). ***Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity***. Toxicol Lett, 1(307), 41-48.
- Sorin, E.J., Alvarado, W., Cao, S., Radcliffe, A., La, P., An, Y.,(2017). ***Ensemble molecular dynamics of a protein-ligand complex: residual inhibitor entropy enhances drug potency in butyrylcholinesterase***. Bioenergetics, 6:1.
- Suyundıkov, M., (2020). ***Eber sarısı bitkisinin α -amilaz, α -glukozidaz, tirozinaz, asetilkolinesteraz enzimlerini inhibe edici özellikleri ile esansiyel yağ asidi içeriğinin belirlenmesi***. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Afyon.80.
- Şahin, S., (2016). ***Sıçanlarda monosodyum glutamat'ın neden olduğu oksidatif strese eritrosit ve karaciğer dokusundaki değişiklikler; melatoninin koruyucu rolü***. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.87.
- Şener, G., Yeğen, B.Ç., (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. ***Klinik Gelişim Dergisi***. 22, 5-13.
- Şentürk, E., Şentürk, M., (2018). ***Gül Ekstresinin Kolinesteraz İnhibisyon Potansiyelinin Belirlenmesi***. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 33(3), 237-240.
- Taner, G., (2005). ***Serbest Radikallere Karşı Antioksidan Savunma***, Bilim Teknik, Ağustos 113,453.
- Taslimi P., Akıncıoğlu H., Gülçin Ğ., (2017). ***Synephrine and phenylephrine act as α -amylase, α -glycosidase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and carbonicanhydrase enzymes inhibitors***.Pub Med. 31(11), e21973.
- Tatsumura, Y., Maskarinec, G., Shumay, D.M., Kakai, H., (2003). ***Religious and spiritual resources, CAM, and conventional treatment in the lives of cancer patients***. Altern Ther Health Med 2003;9(3):64-71.

- Tekeli, H., (2012). *Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Karaciğer Hasarında Glutasyon(GSH) Ve Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesi Üzerine N-Asetil Sisteinin Etkisi*,Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın. 70.
- Temel, H.E., (2008). *Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi*. Doktora tezi, Eskişehir OsmanGazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir. 87.
- Türkan, F., (2015). *Karayemiş meyvesinden (prunus laurocerasus L.) Glutasyon s-transferaz enziminin saflaştırılması, karakterizasyonu ve kinetik özelliklerinin incelenmesi*. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, Erzurum.145.
- Türkan, F., Atalar, M.N., (2018). Glutasyon S-Transferaz Enzim Aktivitesi Üzerine Amoksilin ve Vankomisin Hidroklorid Hidratın Etkisi: Bir in vitro çalışma. *Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 141-148.
- Valko , M., Leibfritz , D., Moncol , J., Cronin , M., Mazur , M., and Telser , J. (2007). *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 44-84.
- Weiss, R.B., (1992). "Antrasiklinler: Daha iyi bir doksorubisin bulabilecek miyiz?". *Onkoloji Seminerleri*. 19(6), 670–86.
- Whalen, R., Boyer, T.D., (1998). *Human glutathione S-transferases*. Pub Med,18(4),345-58.
- Yağmurkaya, O., (2013). *Deneyisel hepatik rezeksiyon modelinde kafeik asit fenetil esterinin karaciğer rejenerasyonuna etkisi*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı, Edirne. 66.
- Yeşilbalkan, U.Ö., Akyol, D.A., Çetinkaya, Y., (2005). *Kemoterapi tedavisi alan hastaların tedaviye bağlı yaşadıkları semptomlar ve yaşam kalitesine olan etkisinin incelenmesi*. Ege Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi, 21(1), 13-31.

- Yılmaz, A., (2019). *İnci kefalı balığının böbrek dokusunda glutatyon s-transferaz enziminin saflaştırılması ve enzimin aktivitesi üzerine bazı kimyasalların etkilerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Ağrı.91.
- Yılmaz, İ., (2010). Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17 (2) 143-153.
- Yılmaz, M.A., (2020). *Alzheimer hastalığı'nda adamTS4, adam9 proteinlerinin rolü ve asetilkolinesteraz aktivitesi ile ilişkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (Tıp) Ana Bilim Dalı, Çanakkale.82.
- Yokuş, B., Çakır, D.Ü., (2012). Kanser Biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1(2),7-18.