

Elif SARIYILDIZ

FARMASÖTİK BİLİMLER ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

2025



**T.C.
ERZİNCAN BİNALI YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HİDROJEN PEROKSİT İLE OKSİDATİF
HASARIN İNDÜKLENDİĞİ L929 FARE
FİBROBLAST HÜCRELERİNDE
ENGELETİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif SARIYILDIZ

**Danışman: Doç. Dr. Gül ÇETİN
İkinci Danışman: Doç. Dr. Büşra DİNCER**

**FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Temmuz 2025
Her Hakkı Saklıdır.**

**T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HİDROJEN PEROKSİT İLE OKSİDATİF HASARIN
İNDÜKLENDİĞİ L929 FARE FİBROBLAST
HÜCRELERİNDE ENGELETİNİN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif SARIYILDIZ

**Danışman: Doç. Dr. Gül ÇETİN
İkinci Danışman: Doç. Dr. Büşra DİNCER**

**FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Temmuz 2025
Her Hakkı Saklıdır.**



T.C
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ KABUL VE ONAY



Bilimsel Etiğe Uygunluk

“Hidrojen Peroksit ile Oksidatif Hasarın İndüklendiği L929 Fare Fibroblast Hücrelerinde Engeletinın Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması” isimli “Yüksek Lisans” tezım tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiğı gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 04/07/2025

(İmza)

Elif SARIYILDIZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HİDROJEN PEROKSİT İLE OKSİDATİF HASARIN İNDÜKLENDİĞİ L929 FARE FİBROBLAST HÜCRELERİNDE ENGELETİNİN OLASI KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Elif SARIYILDIZ

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik
Bilimler Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gül ÇETİN
İkinci Danışman: Doç. Dr. Büşra DİNCER

Amaç: Bu çalışmanın amacı, oksidatif stres modeli olarak H_2O_2 ile hasar oluşturulan L929 fare fibroblast hücrelerinde doğal bir flavonoid olan ENG'nin potansiyel koruyucu etkilerini araştırmaktır. Antioksidan savunma, inflamatuvar yanıt ve hücre canlılığı üzerindeki etkiler değerlendirilmiştir. Çalışmada L929 hücre hattı kullanılarak in vitro model oluşturulmuştur.

Materyal ve Metot: Oksidatif stres indüklemek için hücrelere belirli dozlarda H_2O_2 uygulanmıştır. Sonrasında farklı dozlardaki ENG ile tedavi grupları oluşturulmuştur. GSH, MDA ve SOD düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle ölçülmüş; TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyonları qRT-PCR ile analiz edilmiştir. Hücre canlılığı MTT yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Bulgular: H_2O_2 uygulamasıyla oksidatif stress oluşturulan grupta GSH ve SOD seviyeleri azalırken, MDA düzeyleri arttı. ENG tedavisi, özellikle 20 ve 40 μM dozlarında bu değişiklikleri anlamlı şekilde düzeltti. TNF- α ve IL-1 β mRNA düzeylerinde gözlenen artış, engeletin ile azaldı; 40 μM dozda IL-1 β seviyesi anlamlı şekilde düştü. MTT sonuçlarına göre, düşük ve orta dozlarda hücre canlılığı korunurken, 60 ve 80 μM dozlarında belirgin sitotoksik etki gözlemlendi.

Sonuç: ENG uygulaması, H_2O_2 'nin neden olduğu oksidatif stresin etkilerini hafifletmiştir. GSH ve SOD düzeyleri anlamlı şekilde artarken, MDA konsantrasyonu azalmıştır. Ayrıca TNF- α ve IL-1 β ekspresyon seviyelerinde belirgin düşüş gözlemlenmiş, hücre canlılığı düşük ve orta dozlarda önemli ölçüde korunmuştur. Bu sonuçlar, engeletin antioksidan, antiinflamatuvar ve sitoprotektif özelliklere sahip olduğunu ve oksidatif stres kaynaklı hücresel hasarı azaltmada etkili bir ajan olabileceğini göstermektedir.

2025, 57 Sayfa

Anahtar Kelimeler: “Antioksidan, Engeletin, Fare Fibroblast, Hidrojen Peroksit, Oksidatif Stres”

ABSTRACT

MSc Thesis

INVESTIGATION OF THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF ENGELETIN ON L929 MOUSE FIBROBLAST CELLS OXIDATIVE DAMAGE INDUCED BY HYDROGEN PEROXIDE

Elif SARIYILDIZ

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Health Sciences
Department of Pharmaceutical Sciences

Supervisor: Assoc. Dr. Gül CETİN
Second Supervisor: Assoc. Dr. Büşra DINCER

Aim: This study aimed to investigate the potential protective effects of ENG, a natural flavonoid compound, on oxidative stress-induced cellular damage in L929 mouse fibroblast cells. The effects of ENG on antioxidant defense, inflammatory response, and cell viability were evaluated following H₂O₂ exposure.

Material and Method: L929 fibroblast cells were cultured and exposed to H₂O₂ to establish an oxidative stress model. Cells were subsequently treated with various doses of ENG. Intracellular levels of GSH, MDA, and SOD were determined using spectrophotometric assays. The mRNA expression of pro-inflammatory cytokines (TNF- α and IL-1 β) was assessed using quantitative real-time PCR. Cell viability was measured via the MTT assay.

Results: In the H₂O₂ group, GSH and SOD levels decreased, while MDA increased significantly. ENG treatment, especially at 20 and 40 μ M, reversed these changes. The elevated mRNA levels of TNF- α and IL-1 β were reduced by ENG; IL-1 β significantly decreased at 40 μ M. According to MTT results, cell viability was preserved at lower doses, whereas 60 and 80 μ M ENG caused significant cytotoxicity.

Conclusion: ENG treatment significantly mitigated oxidative damage caused by H₂O₂. Increased levels of GSH and SOD and decreased levels of MDA were observed, indicating enhanced antioxidant capacity. Additionally ENG downregulated the mRNA expression of TNF- α and IL-1 β , demonstrating anti-inflammatory potential. Cell viability was notably preserved at low and moderate doses of ENG. These findings suggest that engeletin exerts antioxidant, anti-inflammatory, and cytoprotective effects and may serve as a promising agent in managing oxidative stress-induced cellular injury.

2025, 57 Pages

Keywords: “Antioxidant , Engeletin, Hydrogen Peroxide, Mouse Fibroblast, Oxidative Stress,”

TEŞEKKÜR

Bu çalışmamda bana destek veren yol gösteren değerli danışmanlarım Doç. Dr. Gül ÇETİN'e ve Doç. Dr. Büşra DİNCER'e hayatım boyunca yanımda olan her türlü desteği sağlayan aileme ve her daim yanımda olan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Elif SARIYILDIZ

Temmuz,2025



İÇİNDEKİLER

Sayfa

Tez Kabul ve Onay.....	i
Bilimsel Etiğe Uygunluk.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Reaktif Oksijen Türleri	3
2.2. Oksidanlar	4
2.2.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Endojen Kaynakları	4
2.2.2. Reaktif Oksijen Türlerinin Eksojen Kaynakları.....	6
2.3. Antioksidanlar	8
2.3.1. Endojen Antioksidanlar	8
2.3.2. Eksojen Antioksidanlar	9
2.4. Engeletin	11
2.4.1. Kimyasal Yapısı	11
2.4.2. Engeletin Kaynakları.....	11
2.4.3. Biyolojik Aktivite Mekanizmaları.....	12
3. MATERYAL VE METOT.....	19
3.1. Hücre Kültürü	19
3.2. Hücre Canlılık Testi (MTT)	19
3.3. Hidrojen Peroksit ile İndüklenmiş Oksidatif Stres Modelinin Oluşturulması	19
3.4. Antioksidan Parametrelerin (SOD, MDA ve GSH) Tayini	20
3.5. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi	20
3.6. Total GSH Tayini:	21
3.7. Malondialdehit Tayini:	23

3.8. L929 Hücre Hattında Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi	24
3.9. İstatistiksel Analizler.....	24
4. BULGULAR.....	26
4.1. Hücre Proliferasyon Sonuçları.....	26
4.2. Engeletin Oksidatif Stres Belirteçleri Üzerindeki Etkileri	27
4.3. Engeletin İnflamasyon Belirteçleri Üzerindeki Etkileri	28
5.TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Engeletin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 4.1. H ₂ O ₂ 'nin farklı dozlarının(0,3 µM -0,9 µM) hücre canlılığı üzerindeki etkileri.	26
Şekil 4.2. Engeletin'in L929 fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi.....	27
Şekil 4.3. Engeletin'in H ₂ O ₂ kaynaklı toksisitede antioksidan belirteçleri üzerine etkisi ...	28
Şekil 4.4. Engeletin'in H ₂ O ₂ kaynaklı toksisitede inflamasyon belirteç düzeylerine etkisi..	29

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Serbest Radikal Kaynakları.....	3
Tablo 2.2. Serbest Radikal Kaynaklı Hastalıklar.....	4



SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde sembolü
μM	Mikromolar
$^{\circ}C$	Santigrat derece
$\mu g/Ml$	Mikrogram / mililitre
μl	Mikrolitre
cm^2	Santimetrekare
g/L	Gram / litre
M	Molar
Ml	Mililitre
Mm	Milimolar
nm	Nanometre
U/Ml	Ünite / mililitre

Kısaltmalar

$(NH_4)_2SO_4$	Amonyum Sülfat
[NAD(P)H]	Nikotin adenin dinükleotit fosfat
$\bullet OH$	Hidroksil radikali
ALI	Akut akciğer hasarı
AP-1	Aktivatör protein-1
AR	Aldoz redüktaz enzimi
AS	Ateroskleroz
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenozin trifosfatı
BSA	Bovine Serum Albumine
CAT	Katalaz
COX-2	Siklooksijenaz-2
Cu	Bakır
DM	Diabetes mellitus

DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DTNB	Ditiyobis Nitrobenzoik Asit
ECM	Dış matriks
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EMT	Epitelyal-mezenkimal dönüşüm
ENG	Engeletin
ERK1/2	Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz 1 ve 2
Fe	Demir
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
GST	Glutasyon-S-transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipokloröz asit
IDD	İntervertebral disk dejenerasyonu
IL-1 β	İnterlökin-1 beta
IRI	Serebral iskemi-reperfüzyon
JNK	c-Jun N-terminal kinaz
KCl	Potasyum klorür
Keap1	Kelch-like ECH-associated protein 1
KEGG	Kyoto Genom ve Gen Yolları Ansiklopedisi
LDLR	Lipoprotein reseptörü
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
MPO	Miyeloperoksidaz
MTT	Hücre canlılık testi
Na ₂ CO ₃ ,	Sodyum karbonat
NF-kB	Nükleer faktör-kB
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
NTB	Nitro blue tetrazolium
O ₂ ⁻	Süperoksit anyonu
OA	Osteoartrit

PUMA	p53 upregulated modulator of apoptosis
ROS	Reaktif oksijen türleri
-SH	sülfhidril
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbütirik asit
TNF- α	Tumor Necrosis Factor-alpha
Tris-HCl	Tris-Hidroklorikasit
UVA	Ultraviyole A
XO	Xanthine oksidaz



1. GİRİŞ

Oksidatif stres, hücre içinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin bozulması sonucunda oluşur ve hücresel hasar, inflamasyon ve apoptoz gibi süreçlerin tetiklenmesine neden olur (Liguori ve ark., 2018). Bu süreç, yaşlanma ve birçok kronik hastalıkla (kanser, diyabet, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar) yakından ilişkilidir (Sies ve ark., 2017). Oksidatif stresin laboratuvar koşullarında modellenmesinde genellikle hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılır. H_2O_2 , hücre zarından geçebilen bir ROS olup, lipid peroksidasyonu, deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı ve mitokondriyal disfonksiyon gibi etkiler oluşturarak deneysel olarak kontrollü hücresel hasar oluşturmak için kullanılır (Lin ve ark., 2021).

Antioksidan bileşikler, bu zararlı etkileri azaltmak veya önlemek amacıyla sıklıkla araştırılmaktadır. Flavonoidler, bitkisel kökenli doğal antioksidanlar arasında yer alır ve ROS'u doğrudan etkisiz hale getirebilir veya endojen antioksidan enzimlerin aktivitesini artırabilir (Panche ve ark., 2016). Engeletin (ENG), özellikle *Engelhardia roxburghiana* bitkisinden elde edilen bir flavanon türevidir olup, son yıllarda antioksidan, antiinflamatuvar ve antitümör özellikleriyle dikkat çekmektedir (Zhao ve ark., 2022). Yapılan in vitro çalışmalar, ENG'nin Nrf2/Keap1 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2/Kelch-like ECH-associated protein 1) ve NF- κ B gibi oksidatif stresle ilişkili sinyal yollarını düzenleyerek hücresel hasarı hafiflettiğini ortaya koymuştur (Li ve ark., 2023).

Bununla birlikte, ENG'nin oksidatif stres altında fibroblast hücrelerinde gösterdiği etki mekanizması henüz yeterince aydınlatılamamıştır. L929 fare fibroblast hücreleri, toksisite, inflamasyon ve antioksidan savunma çalışmalarında yaygın olarak kullanılan iyi tanımlanmış bir hücre modelidir. Bu nedenle ENG'nin H_2O_2 ile indüklenen oksidatif stres altındaki L929 hücreleri üzerindeki etkilerinin araştırılması, olası terapötik faydalarının anlaşılması açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın temel amacı, H₂O₂ ile oksidatif stres oluşturulan L929 fare fibroblast hücrelerinde ENG'nin olası antioksidan, antiinflamatuvar ve sitoprotektif etkilerini incelemektir. Bu kapsamda glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan parametreler, TNF- α (Tumor Necrosis Factor-alpha) ve IL-1 β (Interlökin-1 beta) gibi inflamatuvar belirteçlerin gen ekspresyonları ve hücre canlılığı analiz edilmiştir. Çalışma, ENG'nin oksidatif hasarı önlemedeki potansiyelini ortaya koyarak, bu flavonoidin biyolojik etkinliğini hücresel düzeyde değerlendirmeyi amaçlamaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Normal hücre metabolizmasının bir sonucu olarak canlılarda üretilen ROS, düşük seviyelerde hücre fonksiyonları için önemli roller üstlenir. Ancak, dozları arttığında hücrenin temel yapı taşları olan yağlar, proteinler ve DNA üzerinde olumsuz etkilere yol açabilirler (Valko ve ark., 2006). Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda ve oksidanların baskın hale geldiği bu durum "oksidatif stres" olarak tanımlanır. Oksidatif stresin başta kanser, nörolojik bozukluk, ateroskleroz (AS), hipertansiyon, iskemi-reperfüzyon hasarı, diyabet, akut solunum sıkıntısı sendromu, idiyopatik pulmoner fibrozis, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve astım gibi çeşitli hastalıkların gelişiminde önemli bir payı bulunmaktadır (Jenner, 2003). Oksijen kullanan canlılar, ROS'un zararlı etkilerine karşı koymak için enzimatik ve enzimatik olmayan çeşitli antioksidan mekanizmalarını içeren karmaşık savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Hastalık süreçlerinde bu savunma mekanizmaları yetersiz kalabilir. Burada sağlıklı ve hastalıklı koşullarda hücrelerdeki oksidan ve antioksidan sistemlerini ve redoks dengesinin nasıl düzenlendiği genel hatlarıyla ele alınacaktır. Tablo 2.1.'de serbest radikal kaynaklarından bahsedilmiştir.

Tablo 2.1. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest Radikal Kaynakları
Aşırı alkol tüketimi
Sigara kullanımı
Elektromanyetik radyasyon
Güneş ışınları(UV)
Aşırı demir yüklemesi
Yaşlanma
Doğum kontrol hapları
Aşırı fiziksel egzersiz
Kronik inflamasyonlar

Tablo 2.2.'de ise serbest radikal kaynaklı hastalıklara yer verilmiştir.

Tablo 2.2. Serbest Radikal Kaynaklı Hastalıklar

Serbest Radikal Kaynaklı Hastalıklar	
Kalp hastalıkları	Akut renal yetmezlik
Ateroskleroz	Akciğer hastalıkları
Kanser	Amfizem
Serebrovasküler hastalıklar	Bronşit
Diyabet	Nörodejeneratif bozukluklar

2.2. Oksidanlar

2.2.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Endojen Kaynakları

Hücrelerin normal işleyişi sırasında gerçekleşen metabolik süreçler, moleküler oksijeni kullanarak ROS adı verilen moleküllerin oluşumuna neden olur. ROS'lar, kimyasal yapılarına göre serbest radikaller ve serbest radikal olmayan moleküller olmak üzere iki ana kategoriye ayrılabilir. Serbest radikaller, yapılarında bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron bulunduran ve bu özellikleri nedeniyle yüksek reaktivite gösteren moleküllerdir. İki serbest radikal eşleşmemiş elektronlarını bir araya getirdiğinde ise daha kararlı, serbest radikal özelliği taşımayan moleküller meydana gelir. Fizyolojik açıdan en dikkat çekici üç ROS, süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\bullet OH$) ve H_2O_2 'dir.

O_2^- , bir elektronun oksijen molekülüne katılmasıyla oluşur (Miller ve ark., 1990). Bu reaksiyon, nikotin adenin dinükleotit fosfat [NAD(P)H] oksidaz, ksantin oksidaz enzimleri veya mitokondriyal elektron taşıma sistemi tarafından katalizlenir. O_2^- 'nin başlıca üretim merkezi, hücrenin temel enerji kaynağı olan adenosin trifosfatı (ATP) sentezleyen mitokondrilerdir. Normal şartlarda, mitokondriyal elektron taşıma zinciri aracılığıyla elektronlar oksijenin suya indirgenmesi için transfer edilirken, bu sistemden sızan elektronların yaklaşık %1 ila %3'ü O_2^- oluşumuna katkıda bulunur. NAD(P)H oksidaz enzimi ise özellikle bağışıklık hücreleri olan polimorfonükleer lökositlerde, monositlerde ve makrofajlarda bulunur ve bu hücreler fagositoz sırasında bakterisidal aktiviteye yardımcı olan bir O_2^- salınımı gerçekleştirirler. O_2^- , SOD enzimleri sayesinde H_2O_2 'e dönüştürülür. H_2O_2 , hücre zarından kolayca geçebilen bir moleküldür. Ayrıca ksantin oksidaz, amino asit oksidaz ve NAD(P)H oksidaz enzimleri de H_2O_2 üretimine

katkıda bulunur (Dupuy ve ark., 1991). Peroksizomlarda ise metabolik reaksiyonlar sırasında moleküler oksijenin tüketilmesiyle H_2O_2 oluşur (Granger, 1988). H_2O_2 , demir (Fe) veya bakır (Cu) gibi geçiş metallerinin varlığında H_2O_2 , Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları olarak bilinen bir dizi kimyasal tepkime sonucunda oldukça reaktif olan $\bullet OH$ 'ye ayrışabilir (Fenton, 1984).

O_2^- , H_2O_2 ile tepkimeye girerek oldukça reaktif olan $\bullet OH$ meydana getirebilir. En tehlikeli ROS'lardan biri olan $\bullet OH$, hücredeki protein, yağ, karbonhidrat ve DNA gibi önemli moleküllere zarar verebilir. Ayrıca, doymamış yağ asitlerinden elektron alarak lipid peroksidasyon sürecini başlatabilir.

Granülosit adı verilen bağışıklık hücrelerinin enzimleri, özellikle eozinofil peroksidaz ve miyeloperoksidaz (MPO), H_2O_2 'in reaktivitesini artırır. Aktifleşmiş nötrofillerde MPO enzimi H_2O_2 'yi kullanır ve klorür iyonlarının varlığında onu hipokloröz asidine (HOCl) dönüştürür. Güçlü bir oksitleyici olan HOCl, solunum yollarındaki mikropların öldürülmesinde kritik bir rol oynar (Klebanoff, 2005). Ancak HOCl aynı zamanda DNA ile etkileşime girerek DNA-protein bağlantılarına, pirimidin bazlarının oksitlenmesine ve DNA bazlarına klor eklenmesine neden olabilir (Whiteman ve ark., 1997). Eozinofil peroksidaz ve MPO enzimleri de proteinlerin halojenlenmesi, nitrasyonu ve tirozin radikalleri aracılığıyla proteinler arasında çapraz bağlar oluşturarak oksidatif stres oluştururlar (Brennan ve ark., 2002).

Peroksil radikalleri de oksijen türevli serbest radikallerdir. Bunların en basit formu olan hidroperoksil radikali, yağ asitlerinin peroksidasyonunda rol oynar. Serbest radikaller, yağ asitlerinin yapısındaki metilen karbonlarından hidrojen atomu kopararak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatabilirler. Bu lipid radikali oksijenle birleşerek peroksil radikalini oluşturur. Peroksil radikali, çoklu doymamış yağ asitlerini kararsız yapılar olan lipid hidroperoksitlerine dönüştüren bir zincirleme reaksiyonu tetikler. Lipid hidroperoksitleri kolayca parçalanarak aldehitler (örneğin 4-hidroksi-2,3-nonenal) ve MDA'lar gibi ikincil ürünleri oluştururlar. İzoprostanlar ise araşidonik asidin oksidasyonu sonucu oluşan ve astım hastalarının kan plazması ve nefes örneklerinde yüksek seviyelerde tespit edilen başka bir lipid peroksidasyon ürünleri grubudur (Wood ve ark., 2000). Lipitlerin peroksidasyonu, hücre zarlarının yapısını bozarak membran bütünlüğünü tehlikeye atar.

H₂O₂, O₂⁻, okside glutatyon (GSSG), MDA'lar, izoprostanlar, karbonil bileşikleri ve nitrotirozin gibi oksidasyonun belirteçleri, standart laboratuvar testleriyle plazma, kan veya bronkoalveolar lavaj örneklerinden kolaylıkla ölçülebilir.

2.2.2. Reaktif Oksijen Türlerinin Eksojen Kaynakları

Sigara dumanı

Sigara dumanı, O₂⁻ ve nitrik oksit gibi çeşitli oksitleyici maddeler, serbest radikaller ve organik bileşikler içermektedir. Dahası, sigara dumanının solunması akciğerlerde nötrofil ve makrofajların birikimi gibi bazı içsel mekanizmaları harekete geçirerek oksidatif hasarı daha da şiddetlendirmektedir.

Ozon maruziyeti

Ozon gazına maruz kalmak, lipid peroksidasyonuna yol açabilir ve hava yolu epiteline nötrofillerin akın etmesine neden olabilir. Kısa süreli ozon teması bile MPO, eozinofil katyonik proteinleri, laktat dehidrojenaz ve albümin gibi inflamatuvar medyatör salınımına neden olur. Sağlıklı bireylerde dahi ozon solunumu, akciğer fonksiyonlarında azalmaya yol açar. Havadaki katı parçacıklar ve sıvı damlacıklarının karışımı olan partikül maddenin oksijenin indirgenmesini hızlandırmaktadır.

Hiperoksi

Hiperoksi, akciğerlerde veya diğer vücut dokularında normalin üzerindeki oksijen basıncı durumlarını ifade etmektedir. Bu durum, ROS ve nitrojen türlerinin aşırı üretimine zemin hazırlar.

İyonlaştırıcı radyasyon

İyonlaştırıcı radyasyon, oksijenin varlığında •OH'yi, O₂⁻'yi ve organik radikalleri H₂O₂ ve organik hidroperoksitlere dönüştürmektedir. Bu hidroperoksitler, Fe ve Cu gibi redoks aktif metal iyonlarıyla Fenton reaksiyonları üzerinden etkileşime girerek oksidatif stresi tetiklemektedir (Biaglow ve ark.,1992). Alfa parçacıklarına maruz kalan fibroblast hücrelerinde plazma zarına bağlı NADPH oksidaz enzimi aracılığıyla hücre içi O₂⁻ ve H₂O₂ üretiminde belirgin artışlar gözlemlenmiştir (Narayanan ve ark.,1997).

Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz 1 ve 2 (ERK1/2), c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve p38 gibi sinyal iletim molekülleri ile aktivatör protein-1 (AP-1), nükleer faktör-kB (NF-kB) ve p53 gibi transkripsiyon faktörleri aktive olarak radyasyon yanıtıyla ilişkili genlerin ekspresyonunu başlatırlar (Tuttle, 1992). Ultraviyole A (UVA) ışınları, porfirinler, NADPH oksidaz ve riboflavinler gibi hücre içi ışığa duyarlı molekülleri uyarak oksidatif reaksiyonları tetikler. 8-okso-7,8-dihidroguanin, temel olarak guanin ile reaksiyona giren $\bullet\text{OH}$, tek elektron oksitleyiciler ve singlet oksijenin etkisiyle oluşan başlıca UVA kaynaklı DNA oksidasyon ürünüdür (Cadet ve ark., 2003). İzole DNA'da guanin radikal katyonunun oluşumunun, iyonlaştırıcı radyasyonun doğrudan etkisiyle verimli bir şekilde gerçekleştiği gösterilmiştir (Yokoya ve ark., 2002). İyonlaştırıcı radyasyona maruz kalındıktan sonra ise hücre içi GSH seviyesi kısa bir süre düşer ve sonra tekrar yükselir (Iwanaga ve ark., 1998).

Ağır metal iyonları

Fe, Cu, kadmiyum, cıva, nikel, arsenik ve kurşun gibi ağır metal iyonları, reaktif radikal oluşumunu tetikleyebilmektedir. Lipitlerin peroksidasyonu ile nükleer proteinler ve DNA ile etkileşime girerek enzim aktivitelerini azaltıp hücre hasarına neden olabilmektedir (Stohs ve Bagchi, 1995).

Metallerin neden olduğu serbest radikal oluşumunun en önemli mekanizmalarından biri Fenton tipi reaksiyonlardır. O_2^- ve H_2O_2 , Fe ve Cu gibi geçiş metalleriyle metal katalizli Haber-Weiss/Fenton reaksiyonları yoluyla etkileşime girerek $\bullet\text{OH}$ oluşturabilmektedirler.

Fenton tipi ve Haber-Weiss tipi mekanizmaların yanı sıra, bazı metal iyonları tiyol radikalleri gibi serbest radikalleri doğrudan oluşturmak veya hücre sinyal yollarını aktive etmek için doğrudan hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. Bu radikaller ayrıca O_2^- oluşturmak için diğer tiyol molekülleri ile reaksiyona girebilmektedirler. O_2^- 'yi H_2O_2 'ye dönüştürerek ek oksijen radikali oluşumuna yol açar. Arsenit gibi bazı metaller, hücrelerde radikal üreten sistemleri aktive ederek dolaylı yoldan ROS oluşumunu tetiklerler (Leonard ve ark., 2004).

Arsenik, O_2^- , singlet oksijen, peroksil radikali, nitrik oksit, H_2O_2 ve dimetilsinik peroksil radikalleri gibi çeşitli ROS üreten oldukça zehirli bir elementtir (Shi ve ark.,2004). Arsenik (III) bileşikleri, sülfhidril (-SH) gruplarına bağlanırlar ve glutatyon-S-transferazlar (GST), glutatyon peroksidaz(GPx) ve GSH redüktaz gibi GSH bağımlı antioksidan enzimleri özellikle inhibe edebilirler(Waalkes ve ark., 2004).

Kurşun, lipidlerin peroksidasyonunu artırmaktadır (Monterio ve ark., 1991). Kurşun maruziyeti sonrasında dokulardaki SOD ve beyindeki GPx enzimlerinin aktivitelerinde önemli düşüşler rapor edilmiştir (Tripathi ve ark., 2001). Birçok enzim için kofaktör olan çinkonun kurşunla yer değiştirmesi, bu enzimlerin işlevsiz hale gelmesine neden olmaktadır. Kurşun maruziyeti, doku tiyollerini etkileyerek GST enziminin inhibisyonuna yol açabilmektedirler.

Metal katalizli reaksiyonlarla oluşan ROS, DNA bazlarını değiştirebilmektedir. Fe, Cu ve nikel gibi metal iyonlarının neden olduğu oksidatif hasar sonucu üç farklı baz değişimi (G/C, G/T ve C/T) meydana gelebilmektedir. Reid ve arkadaşları, Fe tarafından G/C değişiminin, Cu ve nikel tarafından C/T değişiminin oluşturulduğunu göstermiştir.

2.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar, oksidatif stresin organizma üzerindeki zararlı etkilerini azaltmak veya tamamen ortadan kaldırmak amacıyla işlev gören moleküllerdir. Serbest radikallerin aşırı üretimi, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı, protein denatürasyonu gibi biyolojik süreçlere yol açarak, birçok kronik hastalığın temelinde yer alabilir. Antioksidan sistemler bu süreci kontrol altına alarak organizmanın homeostatik dengesini korur. Antioksidanlar, biyokimyasal işlevlerine, kaynaklarına ve bulundukları hücresel lokalizasyona göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Bu bağlamda, özellikle antioksidanların hücre içi ve hücre dışı düzeyde işlev görmeleri, onların moleküler çeşitliliğini ve etki mekanizmalarını anlamada kilit rol oynamaktadır. Antioksidanlar, endojen ve eksojen antioksidan olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.3.1. Endojen Antioksidanlar

Hücre içi antioksidanlar doğrudan hücre içinde sentezlenen veya hücre içi mekanizmalarda aktif olarak görev alan moleküllerdir. Bu grup, enzimatik ve enzimatik

olmayan bileşiklerden oluşur.

Enzimatik endojen antioksidanlar

Bu grup, spesifik enzimler aracılığıyla ROS'u nötralize eden sistemlerden oluşur:

- Süperoksid dismutaz: O_2^- 'yi H_2O_2 'ye dönüştürür. Sitozolda, mitokondride ve ekstrasellüler alanda üç farklı izoformu bulunur.
- Katalaz (CAT): H_2O_2 'yi suya ve oksijene dönüştürerek özellikle karaciğer, böbrek ve eritrositlerde koruyucu rol oynar.
- Glutasyon peroksidaz (GPx): H_2O_2 ve lipid peroksidleri, GSH yardımıyla detoksifiye eder. Bu işlemde GSH substrat olarak kullanılır.
- Glutasyon redüktaz (GR): GSSG'yi tekrar indirgenmiş formuna çevirerek antioksidan döngünün devamlılığını sağlar.

Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar, hücre içinde bulunan ve genellikle küçük molekül yapısındaki bileşiklerdir. Doğrudan serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz hâle getirirler:

- Glutasyon: Hücre içindeki en bol tiol içerikli antioksidandır. Radikal süpürücü olarak görev yapar ve ayrıca diğer antioksidanların rejenerasyonunda da rol alır.
- Koenzim Q10 (Ubiquinol): Mitokondri içindeki elektron taşıma zincirinin parçasıdır ve aynı zamanda güçlü bir lipofilik antioksidandır.
- Ürik Asit ve bilirubin: Metabolik yan ürünler olarak oluşan bu bileşikler, hücre içinde serbest radikallere karşı tampon görevi görebilir

2.3.2. Eksojen Antioksidanlar

Hücre dışı antioksidanlar, sistemik dolaşımda ya da hücre dışında etkili olan, genellikle dışarıdan alınan veya dolaşımda taşınan bileşiklerden oluşur. Bu grup; vitamin yapılı, ilaç yapılı ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak üç alt sınıfta incelenebilir.

Vitamin yapılı antioksidanlar

- Vitamin C (Askorbik Asit): Suda çözünebilen güçlü bir antioksidandır. Serbest radikalleri doğrudan nötralize eder ve E vitamininin yeniden aktivasyonuna katkı sağlar.
- Vitamin E (Tokoferoller): Yağda çözünebilen yapısıyla hücre zarlarında yer alır. Lipid peroksidasyon zincirini kırarak hücre zarlarını oksidatif hasardan korur (Ipek, 2025).
- Vitamin A (Retinoidler) ve Karotenoidler: Singlet oksijen temizleyici özelliğe sahiptir ve özellikle göz, deri gibi oksidatif strese açık dokularda aktiftir.

İlaç yapılı antioksidanlar

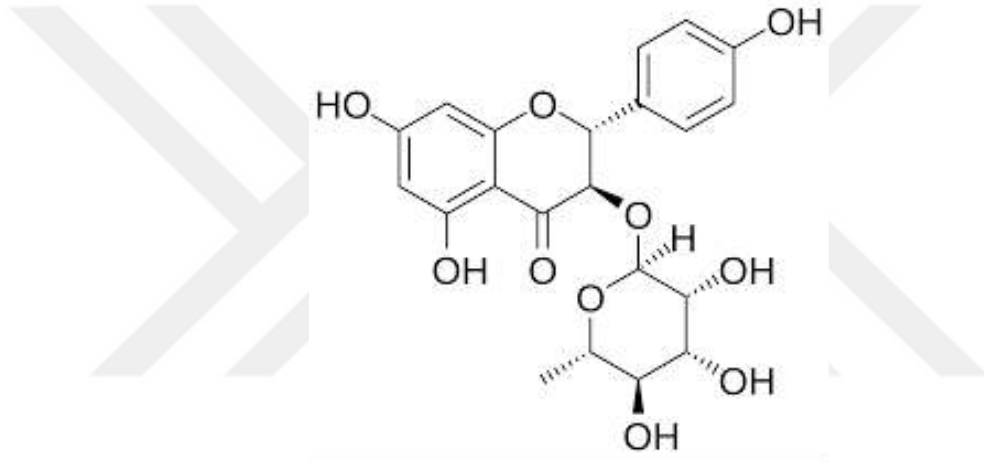
- N-Asetilsistein: GSH sentezine öncülük eder ve hem doğrudan antioksidan etki gösterir hem de dolaylı olarak hücresel savunma sistemlerini uyarır.
- Allopurinol: Ürik asit sentezini inhibe ederken serbest radikal oluşumunu da sınırlar, özellikle kardiyovasküler sistemde sekonder antioksidan etkileri bulunmaktadır.
- Melatonin: Nörohormonal bir ajan olmasının yanı sıra, serbest radikaller üzerinde hem doğrudan süpürücü etki hem de enzimatik sistemleri uyaran bir rol üstlenir.

Gıda kaynaklı antioksidanlar

- Polifenoller: Bitkisel kaynaklı bu bileşikler çay, kahve, kakao, zeytinyağı gibi gıdalarda bulunur. Flavonoid ve fenolik asit alt gruplarına ayrılır. ENG de bu gruptadır.
- Likopen, Lutein, Zeaksantin: Karotenoidler grubundadır. Domates, havuç ve ıspanak gibi renkli sebzelerde bulunur. Hücre zarlarını ve lipofilik ortamları korumada etkilidir.
- Selenyum: Temel bir eser element olup antioksidan enzimlerin kofaktörüdür. Gıdalarla alınır ve GPx aktivitesi için gereklidir.

2.4. Engeletin

Engeletin, flavanol sınıfına ait doğal bir fenolik bileşiktir ve bilimsel literatürde (2R,3R)-4',5,7-trihydroxy-3-(α -L-rhamnopyranosyloxy)flavan-4-one olarak tanımlanmaktadır (Wikipedia, 2024). Moleküler formülü $C_{21}H_{22}O_{10}$ olan bu bileşik, bitki sekonder metabolitleri arasında yer almakta ve özellikle glikozidik yapısı sayesinde farmakolojik olarak aktif hale gelmektedir (Zhong ve ark., 2023). Flavonoid türevleri arasında önemli bir yer tutan ENG; antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser gibi geniş biyolojik etki spektrumuna sahiptir (Li ve ark., 2025). Şekil 2.1.'de ENG'nin kimyasal yapısı eklenmiştir.



Şekil 2.1. Engeletin kimyasal yapısı

2.4.1. Kimyasal Yapısı

Kimyasal açıdan ENG, dihidrokaempferol iskeletine α -L-rhamnoz biriminin glikozidik bağ ile bağlanması sonucu oluşur. Bu yapı, bileşiğin hem lipofilik hem de hidrofilik özellik göstermesini sağlar ve biyoyararlanım potansiyelini artırır. Molekölün fenolik halkaları radikal süpürücü özellik kazandırırken, şeker zinciri çözünürlüğü desteklemektedir.

2.4.2. Engeletin Kaynakları

Engeletin; başta *Smilax glabra* Roxb. olmak üzere *Hymenaea martiana*, *Engelhardia roxburghiana* ve bazı *Artocarpus* türlerinde doğal olarak bulunmaktadır (Zhong ve ark.,

2023). Bu bitkilerin kök, yaprak ve kabuk kısımlarında yoğun olarak bulunabilen ENG, şarap kabuğu gibi bazı besinlerde de izlenmiştir. Yüksek antioksidan kapasiteye sahip olan bu bileşik, geleneksel Çin tıbbında da bazı preparatların bileşiminde yer almaktadır.

2.4.3. Biyolojik Aktivite Mekanizmaları

Engeletin en iyi tanımlanmış etkilerinden biri antioksidan kapasitesidir. ABTS ve DPPH gibi radikal süpürme testlerinde yüksek etki göstermiştir. Bu etki, moleküldeki hidroksil gruplarının serbest radikallerle etkileşerek onları nötralize etmesinden kaynaklanmaktadır (Zhong ve ark., 2023). Ayrıca, ENG NF- κ B ve MAPK gibi inflamatuvar yolları inhibe ederek IL-1 β , TNF- α ve Siklooksijenaz-2(COX-2) gibi proinflamatuvar mediatörlerin üretimini azaltır (Li ve ark., 2025). Bunun yanında, AMPK/SIRT1/PGC-1 α eksenini üzerinden mitokondriyal biyogenezi teşvik eder ve enerji metabolizmasını destekler (Li ve ark., 2025). Nöronal hücrelerde ve inflamatuvar bağırsak hastalığı modellerinde bu etkilerin hücre koruyucu olduğu gösterilmektedir.

Engeletin ve motor sistem

Osteoartrit (OA) ve intervertebral disk dejenerasyonu (IDD), benzer patogenezi mekanizmaları gösteren dejeneratif hastalıklardır. OA'nın karakteristik özelliği eklem kıkırdığının bozulması olup, bu süreçte ROS dış matriks (ECM) proteinlerinin ekspresyonunu baskıladığı; buna karşın ECM'yi parçalayan enzimlerin üretimini artırdığı, mitokondri zar potansiyelini bozarak kondrositlerde apoptozu tetiklediği ve böylece kıkırdak bütünlüğünü zayıflattığı bildirilmektedir (Wang ve ark., 2021). IDD'de ise benzer şekilde, nucleus pulposus bölgesindeki hücre kaybı ve apoptozun yanı sıra inflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi, dejeneratif süreci hızlandırmaktadır (Li ve ark., 2022). Hem in vitro hem de in vivo modellemelere dayanan bulgular, ENG adlı doğal flavonoidin ROS üretimini ve ECM bozulmasını inhibe ettiğini; kondrosit apoptozunu ve mitokondriyal disfonksiyonu azalttığını, ayrıca NF- κ B ve MAPK gibi inflamasyonla ilişkili sinyal yollarının fosforilasyonunu engelleyerek OA ilerlemesini baskıladığını göstermektedir (Wang ve ark., 2021). Benzer şekilde, ENG'nin IDD modellerinde de inflamatuvar yanıtı hafiflettiği ve yukarıda belirtilen sinyal yollarını bloke ederek sitokin salınımını azalttığı rapor edilmiştir (Li ve ark., 2022). Bu doğrultuda, anti-inflamatuvar,

anti-apoptotik ve antioksidan etkileri nedeniyle ENG, hem OA hem de IDD gibi kas-iskelet sistemi hastalıklarında potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilmektedir.

Engeletin ve kardiyovasküler sistem

Son yıllarda ENG üzerine yapılan çalışmalar çoğunlukla nöroinflamasyon, OA ve IDD gibi alanlara odaklanmış olsa da, kardiyovasküler sistem üzerine etkilerine ilişkin veriler henüz sınırlıdır. Ancak mevcut preklinik bulgular, ENG'nin anti-inflamatuar ve antifibrotik özellikleri sayesinde AS ve kardiyak yeniden yapılanma süreçlerinde umut vadeden bir ajan olduğunu ortaya koymaktadır (Wei ve ark., 2023). AS; dislipidemi, endotelial disfonksiyon, inflamasyon ve oksidatif stresin birlikte rol oynadığı karmaşık bir patofizyolojik süreç olup, halen dünya genelinde ölümlerin önde gelen nedenidir (World Health Organization, 2022). Kyoto Genom ve Gen Yolları Ansiklopedisi (KEGG) analizlerine ve hayvan deneylerine dayanan çalışmalarda, ENG'nin NF- κ B yolaklarında p65, TNF- α , VCAM-1 ve IL-1 β gibi inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu baskılayarak damar içi inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (Wei ve ark., 2023). Ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörü (LDLR) ile doğrudan etkileşerek APOB, APOE ve LDLR gibi kolesterol metabolizmasına katılan genleri hedef alarak lipid düzeylerini düşürdüğü belirlenmiştir. Bunlara ek olarak, ENG insülin sinyal yoluna bağlı diyabet ilişkili hedef genlerin ekspresyonunu inhibe ederek antioksidan etki de göstermektedir. Bu bulgular ENG'nin, yalnızca inflamasyon ve lipid metabolizması değil, aynı zamanda metabolik hastalıklarla ilişkili gen yollarında da düzenleyici etkileri olduğunu ortaya koymaktadır (Wei ve ark., 2023). Öte yandan, isoproterenol kaynaklı miyokardiyal fibrozis, elektriksel yeniden yapılanma, iyon kanal disfonksiyonu gibi durumlarda da ENG'nin kardiyak yeniden yapılanma sürecini iyileştirdiği ve ventriküler fibrilasyon eğilimini azalttığı gözlemlenmiştir (Zhao ve ark., 2023). Bununla birlikte, serebral iskemi-reperfüzyon (IRI) üzerine etkileri gösterilmiş olsa da, kardiyak IRI üzerindeki rolü hâlâ netlik kazanmamış olup ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Engeletin ve sinir sistemi

Sinir sistemi açısından değerlendirildiğinde, ENG ; serebral iskemi sonrası damar rejenerasyonunu teşvik eden, oksidatif stres düzeylerini düşüren, nöronal inflamasyonu baskılayan ve sinirsel fonksiyonların korunmasına katkı sağlayan bir doğal bileşik olarak

ön plana çıkmaktadır (Zhang ve ark., 2022). İnme, merkezi sinir sisteminde vasküler olaylara bağlı olarak gelişen fokal hasarın en sık görülen formudur ve bu süreçte IRI, kalıcı nörolojik sekellerin temel nedenlerinden biridir (World Stroke Organization, 2021). Liu ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde gerçekleştirdiği bir çalışmada, IRI modeli oluşturularak ENG'nin VEGF/vasohibin sinyal yolunu aktive ederek in vivo ve in vitro ortamda anjiyogenezi desteklediği ve aynı zamanda angiopoietin-1/Tie-2 eksenini aracılığıyla yeni damarların stabilizasyonunu sağladığı tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2023). Bu bulgular, ENG'nin serebral dokunun yeniden kanlandırılmasında etkili olabileceğini ve hücresel düzeyde metabolik aktiviteleri destekleyerek IRI sırasında organ fonksiyonlarının korunmasına katkı sunduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, çalışmanın bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Özellikle ENG'nin farmakokinetik ve farmakodinamik ilişkisi ayrıntılı olarak ele alınmamış; ayrıca IRI gibi çok yönlü bir patofizyolojik sürecin yalnızca damar oluşumu boyutuna odaklanılmış, sinirsel fonksiyonel koruma üzerindeki mekanizmalar ise kapsam dışında bırakılmıştır (Liu ve ark., 2023). Bu nedenle, ENG'nin nöroprotektif potansiyelini tam olarak anlayabilmek için ileri düzey farmakolojik ve fonksiyonel analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Engeletin ve karaciğer hasarı

Karaciğer, organizmanın en önemli detoksifikasyon organı olup, virüsler, bakteriler, parazitler, ilaçlar, alkol ve otoimmün faktörler gibi pek çok etkenin neden olduğu karaciğer hasarına karşı ilk savunma hattını oluşturur. Karaciğer hasarları genellikle erken evrede inflamatuvar lezyonlarla kendini gösterir. Bu nedenle, inflamatuvar sinyal yollarının inhibisyonu, karaciğer hasarının ilerlemesini yavaşlatmak için etkili bir tedavi yaklaşımı olarak değerlendirilmektedir (Tian ve ark., 2019). ENG adlı doğal flavonoidin karaciğer üzerindeki koruyucu etkileri ilk olarak Chen ve ark.(1998) tarafından rapor edilmiş; bu çalışmada ENG'nin, immün kaynaklı karaciğer hasarı sırasında hepatositlerin infiltrasyonunu rhamnoz yapısındaki düzensizlik yoluyla engellediği belirtilmiştir. Daha yakın tarihli bir çalışmada ise LPS ile indüklenen fare karaciğer hasarı modelinde ENG'nin PPAR- γ ekspresyonunu artırarak NF- κ B inflamatuvar yolunu bloke ettiği, böylece karaciğer dokusundaki patolojik değişimleri ve serumda gözlemlenen transaminaz düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (Tian ve ark., 2019). Bu sonuçlar, ENG'nin sadece inflamasyonu baskılamakla kalmayıp, hepatoprotektif etkileri de

olduğunu desteklemektedir. Kronik karaciğer hasarlarının uzun vadede fibroza ve tedavi edilmezse geri dönüşü olmayan siroza yol açabileceği düşünüldüğünde, antifibrotik özellikler gösterdiği kanıtlanan ENG'nin karaciğer fibrozunun tedavisinde de değerlendirilebilir bir aday molekül olduğu söylenebilir. Ancak bu potansiyel etkinin doğrulanabilmesi için ileri faz prelinik ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Engeletin antitümör etkisi

Engeletin, antitümör etkilerini çok yönlü biyolojik mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiği çeşitli prelinik çalışmalarla ortaya konmuştur. Bu mekanizmaların başında proteinlerin post-transkripsiyonel düzeyde regülasyonu, tümör hücrelerinde ototofajinin uyarılması ve apoptozun indüklenmesi gelmektedir (Huang ve ark., 2011; Wang ve ark., 2020). İlk olarak Huang ve ark.(2011) tarafından çalışmada *Engelhardtia roxburghiana* yapraklarından izole ettikleri ENG'nin prostat kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği bildirilmiş; ancak mekanistik düzeyde bir değerlendirme yapılmamıştır. Daha yakın tarihli bir çalışmada, ENG'nin akciğer kanseri hücrelerinde SMAC/XIAP sinyal yolu üzerinden apoptozu tetiklediği ve ubiquitin-proteazom sistemi aracılığıyla anti-apoptotik protein XIAP'in ubiquitinasyonunu artırarak yıkımını hızlandırdığı gösterilmiştir (Wang ve ark., 2020). Bu süreçte pro-apoptotik moleküller olan t-BID ve p53 upregulated modulator of apoptosis (PUMA) düzeylerinde de anlamlı artış gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, LC3B ve ATG5 gibi ototofaji belirteçlerinin ekspresyonunun da ENG tarafından uyarıldığı, böylece mitokondriyal disfonksiyon yoluyla tümör büyümesinin baskılandığı anlaşılmıştır (Wang ve ark., 2020). Serviks kanseri üzerine yapılan bir başka çalışmada ise, ENG'nin NF- κ B sinyal yolunu inhibe ederek, epitelyal-mezenkimal dönüşüm (EMT) sürecini, VEGFA ve CCL2 ekspresyonunu baskıladığı ve bu sayede tümör invazyonu, anjiyogenez ve metastatik yayılımı önlediği bildirilmiştir (Bai ve ark., 2021). Tüm bu bulgular, ENG'nin sadece hücre proliferasyonunu durdurmakla kalmayıp, aynı zamanda metastatik progresyon ve inflamatuvar mikroçevreyi baskılayarak çok yönlü bir antitümör ajan olarak potansiyel taşıdığını göstermektedir. Ancak bu veriler halen prelinik düzeyde olup, ENG'nin klinik kullanımı için farmakokinetik, toksikolojik ve faz I/II insan çalışmaları ile desteklenmesi gerekmektedir.

Engeletin ve obezite

Obezite, diyabet, koroner AS, hiperürisemi ve benzeri birçok metabolik hastalık için önemli bir risk faktörüdür (Kong ve ark., 2022). Yağ metabolizmasını düzenlemenin etkili yollarından biri, kahverengi yağ dokusunun aktivasyonu ve termogenezin artırılmasıdır. Kahverengi adipositlerin aktif hale gelmesi, lipid birikimini azaltmakta ve enerji tüketimini artırmaktadır. Bu bağlamda yapılan son çalışmalarda, ENG'nin mitokondri aktivasyonunu teşvik ederek kahverengi yağ dokusunu uyardığı belirlenmiştir (Kong ve ark., 2022). ENG, (β 3-AR) aracılığıyla AMPK yolunu aktive etmekte; bu sayede lipoliz ve oksidasyonla ilişkili genlerin ekspresyonunu artırmakta, beyaz yağ hücrelerinin bej veya kahverengi benzeri adipositlere dönüşümünü desteklemektedir. Bu dönüşüm süreci, metabolizmanın hızlanması ve yağ depolanmasının azalması ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca, ilgili çalışmada ENG'nin yağ dokusu dönüşümünü destekleyici etkisinin ilk kez rapor edildiği vurgulanmakta; bu bulgunun obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisi için yeni bir farmakolojik hedef sunabileceği belirtilmektedir (Kong ve ark., 2022).

Engeletin ve diyabet

Diabetes mellitus (DM) ve buna bağlı gelişen komplikasyonlar, küresel ölçekte insan sağlığını tehdit eden başlıca kronik hastalıklardan biridir. Diyabet tedavisinde temel hedef, kan glukoz düzeylerinin kontrol altına alınmasıdır. Nguyen (2023) tarafından yapılan çalışmaya göre, Smilax glabra ve lotus gibi bitkilerden elde edilen ENG, doğrudan insülin salınımını uyarıcı etki göstermemekle birlikte, hem hücre kültürlerinde hem de hayvan modellerinde kan şekeri düzeylerini düşürücü etki ortaya koymuştur. Ancak bu etkinin altında yatan biyokimyasal mekanizmalar henüz net olarak aydınlatılamamıştır. Diyabetin kronik komplikasyonları genellikle uzun süreli hiperglisemiye bağlı olarak gelişmekte ve bu süreçte vücuttaki fazla glukoz, aldoz redüktaz (AR) enzimi aracılığıyla sorbitole dönüştürülmektedir. Bu dönüşüm sonucu biriken sorbitol, özellikle küçük damarlar, sinir uçları, retina ve böbrek gibi organlarda hiperozmolar etki oluşturarak doku hasarını hızlandırır (Wirasathien, 2020). AR enzimi, glukozun sorbitole dönüşümünde hız kısıtlayıcı basamak olup, bu enzimin inhibisyonu, diyabetik komplikasyonların önlenmesinde terapötik bir hedef haline gelmiştir. Bu kapsamda yapılan bir çalışmada, karnabahardan izole edilen ENG'nin en yüksek AR

inhibisyon aktivitesine sahip olduğu; bu etkiyi ise enzim–substrat–inhibitör kompleksi oluşturarak, enzimi non-kompetitif yolla inhibe ederek gerçekleştirdiği gösterilmiştir (Wirasathien, 2020). Böylece ENG, sorbitol birikimini azaltmakta ve diyabetik komplikasyonların ilerlemesini yavaşlatmaktadır. Bu etkileriyle ENG, antidiabetik stratejilerde tamamlayıcı bir ajan olarak öne çıkmaktadır.

Engeletin ve oksidatif stres

Engeletin, flavonoid yapılı doğal bir bileşik olup son yıllarda oksidatif stresle ilişkili biyolojik süreçlerde öne çıkmıştır. Bu molekül, özellikle ROS'un aşırı üretimi sonucu oluşan hücresel hasarı azaltma kapasitesiyle dikkat çekmektedir (Huang ve ark., 2023). Hücresel redoks dengesinin bozulduğu durumlarda, yani oksidatif stres koşullarında ENG hem doğrudan hem de dolaylı yollardan koruyucu etki göstermektedir. Bu etkiler, bir yandan ROS'u doğrudan nötralize etme kapasitesine dayanırken, diğer yandan hücrenin endojen savunma sistemlerini aktive etme yeteneğini kapsamaktadır (Li ve ark., 2025).

Moleküler düzeyde ENG'nin en önemli etkilerinden biri, Nrf2 yolunu aktive etmesidir. Normal şartlarda bu yol baskı altında tutulurken, oksidatif stres altında ENG'nin etkisiyle Nrf2'nin nükleusa taşınması kolaylaşır. Nrf2 çekirdeğe ulaştığında, başta HO-1, NQO1 ve GPx gibi antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu artırır (Huang ve ark., 2020). Bu durum hücrenin kendi antioksidan kapasitesini artırmasına ve oksidatif hasarın sınırlandırılmasına yardımcı olur. Özellikle beyin hücreleri ve bağırsak epitel hücrelerinde yapılan deneysel çalışmalar, bu mekanizmanın ENG aracılığıyla etkili şekilde aktive edildiğini göstermektedir (Li ve ark., 2025).

ENG ayrıca mitokondriyal fonksiyonların korunmasında da önemli bir rol oynar. Mitokondriler, hücresel enerji üretiminin merkezidir ancak aynı zamanda ROS'un ana kaynaklarıdır. ENG, mitokondriyal membran potansiyelini koruyarak ve ATP üretimini destekleyerek bu organelin oksidatif yük altında fonksiyonlarını sürdürebilmesine yardımcı olur (Huang ve ark., 2023). Bununla birlikte, mitokondrinin oksidatif hasara karşı dayanıklılığını artırarak hücre ölümü süreçlerini (özellikle ferroptoz ve apoptoz) engelleyebileceği düşünülmektedir.

Bazı alışmalar, ENG'nin sadece oksidatif stresin neden olduğu hasarı azaltmakla kalmayıp aynı zamanda bu stresin tetiklediği inflamatuvar süreçleri de bastırabildiğini göstermiştir. Özellikle TNF- α ve IL-1 β gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu düşürdüğü gözlemlenmiştir (Huang ve ark., 2020). Oksidatif stresin inflamasyonla olan çift yönlü ilişkisi göz önüne alındığında, bu zellik ENG'yi çok yönlü bir koruyucu ajan haline getirir.

Laboratuvar ortamında yapılan deneysel çalışmaların çoğu, ENG uygulamasının ardından hücre kültürlerinde ROS ve MDA gibi oksidatif hasar belirteçlerinin azaldığını, buna karşılık SOD, CAT ve GSH-Px gibi endojen antioksidan enzimlerin aktivitesinin arttığını ortaya koymaktadır (Li ve ark., 2025; Huang ve ark., 2023). Bu biyokimyasal değişiklikler, ENG'in oksidatif stresle savaşta etkili bir ajan olduğunu doğrulamaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hücre Kültürü

Bu çalışmada, American Type Culture Collection (ATCC, USA)'dan temin edilen L929 (fare fibroblast hücresi) hücre hattı kullanıldı. Hücreler %10 FBS (Life Technologies Inc.), 100 U/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco®, Grand Island, NY, USA) besiyerinde, %5 CO₂ içeren nemli bir atmosferde, 37 C°de 75 cm² olan flasklarda inkübe edildi.

3.2. Hücre Canlılık Testi (MTT)

75 cm² olan flasklarda inkübe edilen L929 hücreleri 48 saat sonra tripsin edta ile muamele edilerek toplandı. Her bir kuyucukta 2×10^5 hücre olacak şekilde hücre sayımı yapılarak 96 kuyucuklu pleyte ekildi ve 48 saat boyunca %10 FBS içeren DMEM'de %5 CO₂ içeren nemli bir atmosferde, 37 C°de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda H₂O₂ ve ENG'nin uygun dozlarını belirlemek amacı ile hücreler 24 saat farklı dozlarda hazırlanan H₂O₂ (0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 mM) ve ENG (5, 10, 20, 40, 60, 80 µM) ile muamele edildi. Her bir doz üç tekrarlı olarak uygulandı. 24 saatlik inkübasyondan sonra hazırlanan MTT solüsyonu karanlık bir ortamda her bir kuyucuğa ilave edildi. 4 saatlik inkübasyondan sonra mor formazan kristallerini çözmek için her kuyucuğa 100 µL DMSO eklendi ve tam çözünmeyi sağlamak amacı ile 10 dakika çalkalandı. 540 nm'de spektrofotometrik absorbansta mikrolept okuyucu ELİSA reader'da (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek, USA) absorbanlar tespit edildi. Canlılık oranları kontrol kuyucukları ile karşılaştırılarak analiz edildi.

3.3. Hidrojen Peroksit ile İndüklenmiş Oksidatif Stres Modelinin Oluşturulması

H₂O₂ ile indüklenen oksidatif stres, MTT yöntemi ile hücre canlılığı ölçülerek belirlendi (Sudsai, Wattanapiromsakul, and Tewtrakul, 2016). H₂O₂ ve ENG'nin MTT ile uygun dozları belirlendikten sonra, L929 hücreleri, %10 FBS içeren DMEM

ortamında 96 kuyucuklu pleytlere (2×10^5 hücre/ml) ekildi ve inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonra hücreler belirlenen uygun dozlarda ENG ile muamele edilecek ve üç saat sonra H_2O_2 (0,5 mM) ortama ilave edilerek, 24, 48, 72 saatlik inkübasyonların sonunda hücre canlılığı MTT testi ile belirlendi.

3.4. Antioksidan Parametrelerin (SOD, MDA ve GSH) Tayini

Hücreler 6-kuyucuklu plaklara 2×10^5 /well ekildi (SOD, MDA ve GSH için ayrı ayrı) ve $37^\circ C$ de %5 CO_2 içeren nemli ortamda inkübe edildiler. Hücreler kazıma yöntemi ile 6'lık well playtlerden kaldırılarak $-80^\circ C$ 'de saklandı. Her gruptan yaklaşık 100 mg hücre lisatı spesifik homojenat tamponunda, buz üzerinde Tissue Lyser ile homojenize edildi. Daha sonra kitteki direktiflere göre santrifüj edildi. Biyokimyasal çalışmalar için her süpernatanttan SOD, MDA seviyeleri ve GSH seviyeleri manuel ölçüm metotlarıyla ölçüldü.

Protein tayini: Protein konsantrasyonları ticari protein standartları kullanılarak Lowry metodu ile tespit edildi. (Sigma Aldrich, Total protein kit-TP0300-1KT-ABD).

3.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Homojenat Tamponu: Fosfat Tamponu (50 pH 7.8, + 10 mM EDTA) veya PBS Ölçüm karışımı: Xantine (0.3 mM, 40 ml), EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) (0.6 mM, 20 ml), NTB (Nitro blue tetrazolium) (150 μM 0.00015 M, 20 ml), Na_2CO_3 (0.4M, 12 ml), BSA (Bovine Serum Albumine) (1.2 g/L), XO (Xanthine oksidaz) (167 U/L), $(NH_4)_2SO_4$ (Amonyum Sülfat) (2M, 2 ml) ve SOD Standartları.

Deneyin prensibi: Bu metotta, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen O_2^- Tetrazolium'u indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Bu kompleks 560 nm'de maksimum absorbands verir. Enzimin olmadığı ortamda meydana gelen indirgenme mavi-mor renk oluşturmaktadır. Ortamda SOD olduğunda ise Tetrazolium indirgenmesi tam olmayıp enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmakta, buradan aktivite hesabı yapılabilir.

Deneyin yapılışı:

1. Hücrelerin PBS ile yıkandı,

2. homojenat tamponu ile karıştırıldı,
3. 10 µl Triton X-100 ilave ederek homojenizatörde 30 sn boyunca homojenize edildi,
4. 12000 rpm'de 15 dakika 40°C'de santrifüjlendi,
5. Süpernatant (üstte kalan berrak kısım) enzim çözeltisi olarak kullanıldı.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Her kuyuya ölçüm karışımından 200'er µl eklendi,
3. Standartlar hazırlanarak 50 µl standartlar kendi sırasına eklendi,
4. Numune çözeltilerinden uygun kuyucuklara 50'şer µl eklendi,
5. Kör kuyusuna 50 µl homojenat tamponu eklendi,
6. Oda sıcaklığında her bir kuyucuğa 5'er µl XO eklendi,
7. İlk kuyucuğa XO eklendikten 20 dakika geçtikten sonra 560 nm dalga boyunda absorban ölçümü yapıldı (Sun ve ark., 1988).

SOD aktivitesinin hesaplanması: Oluşan mavi-mor rengindeki formazon boyasındaki azalmanın absorban miktarları 560 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okunacak ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan SOD stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin SOD aktivitesi, U/mg protein olarak tarif edildi. Her bir grup faktörünün etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

3.6. Total GSH Tayini

Homojenat Tamponu: Tris-HCl (Tris-Hidroklorikasit) (50 mM, pH 7.4) veya PBS

Ölçüm Tamponu: Tris-HCl (200 mM pH 8.2 + 0.2 mM EDTA)

DTNB (Ditiyobis Nitrobenzoik Asit) (10 mM)

GSH Standartları

GSH miktarının ölçülmesi ve prensibi: Sedlak ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem esas alınarak gerçekleştirilir. Ölçüm ortamındaki DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) disülfid bir kromojendir ve -SH gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenir. Meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülebilir (Sedlak and Lindsay, 1968).

Deneyin yapılışı:

Hücre homojenizasyonu;

1. Hücre PBS ile yıkandı,
2. 4.5 ml homojenat tamponu ilave edilerek homojenize edildi,
3. Homojenatlar, 12000 g ve 4°C'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,
2. Ölçüm tamponundan her kuyuya 150'şer µl eklendi,
3. DTNB'den her kuyuya 10'ar µl eklendi,
4. Numunelerden 50'şer µl uygun kuyulara eklendi ve biraz vortekslendi,
5. Standartlar uygun kuyulara 50'şer µl eklendi,
6. Kör kuyusuna 50 µl homojenat tamponu eklendi,
7. 30 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve
8. 412 nm dalga boyunda absorbans okundu (Sedlak and Lindsay, 1968).

GSH miktarının hesaplanması: Oluşan sarı renk miktarları 412 nm’de 96’lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin GSH miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi.

3.7. Malondialdehit Tayini

Homojenat Tamponu: %10’luk KCl (potasyum klorür) veya PBS

Ölçüm Tamponu:

%8 Sodyum dodesil sülfat

%0.08 TBA (Tiyobarbütirik asit)

%20 Asetik asit

Saf su

MDA Standartları 1,1,3,3-Tetraetoksipropen

MDA miktarının ölçülmesi ve prensibi: Asidik ortamdaki TBA ile 90-95°C’de reaksiyona giren MDA, pembe renkli kromojen meydana getirir. 15 dakika kaynatıldıktan sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm’de spektrofotometrik olarak okunur.

Deneyin yapılışı:

Hücre homojenizasyonu;

1. Hücreler PBS ile yıkandı,
2. Hücre numuneler yaklaşık 100 mg tartıldı,
3. 0.1 g doku üzerine 1 ml homojenat tamponu ilave edilerek tissue lyser’da homojenize edildi,

Çalışma prosedürü:

1. Çalışmada 96 kuyucuklu plate kullanıldı,

2. Tüm kuyulara 10 µl Sodyum Dodesil Sülfat, 75 µl asetik asit, 75 µl TBA ve 20 µl saf su eklendi,
3. Numune kuyularına 20'şer µl uygun numunelerden eklendi,
4. Kör kuyusuna 20 µl homojenat tamponu eklendi,
5. Standartlar uygun kuyulara 20'şer µl eklendi,
6. Pipetlemeler yapıldıktan sonra plate, 105°C'de 90 dk inkübe edildi,
7. İnkübasyon sonunda plate, 4000 rpm de, 4°C'de, 15 dakika santrifüjlendi,
8. Süpernatant MDA çözeltisi olarak kullanıldı,
9. 532 nm dalga boyunda absorbans okundu (Ohkawa ve ark., 1979).

MDA miktarının hesaplanması: Oluşan pembe renk miktarları 532 nm'de 96'lık well plate kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi ile oluşturulan standart grafikten yararlanarak ölçümler hesaplandı. Numunelerin MDA miktarları, nmol/mg protein olarak tarif edildi. Her bir grup etkisi 2 kez tekrar yapılarak belirlendi.

3.8. L929 Hücre Hattında Gen Ekspresyonlarının Belirlenmesi

Hücreler, 2×10^5 hücre/göz oranında 6 oyuklu plakalara ekildi ve %5 CO₂ içeren nemli bir ortamda 37°C'de inkübe edildi. Hücreler daha sonra tripsinize edildi, 6 gözlü plakalardan kaldırıldı ve ardından bir Tissue Lyser II (Qiagen) cihazında homojenleştirildi (1×10^5 hücreye 350 uL RLT tamponu eklendi). RNA numuneleri, daha önce tarif edildiği gibi yüksek kapasiteli bir cDNA ters transkripsiyon kiti (Applied Biosystems) kullanılarak tamamlayıcı DNA'ya ters kopyalandı (Dincer ve ark., 2022).

3.9. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 9 kullanıldı ve elde edilen sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Normallik analizi için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Veri

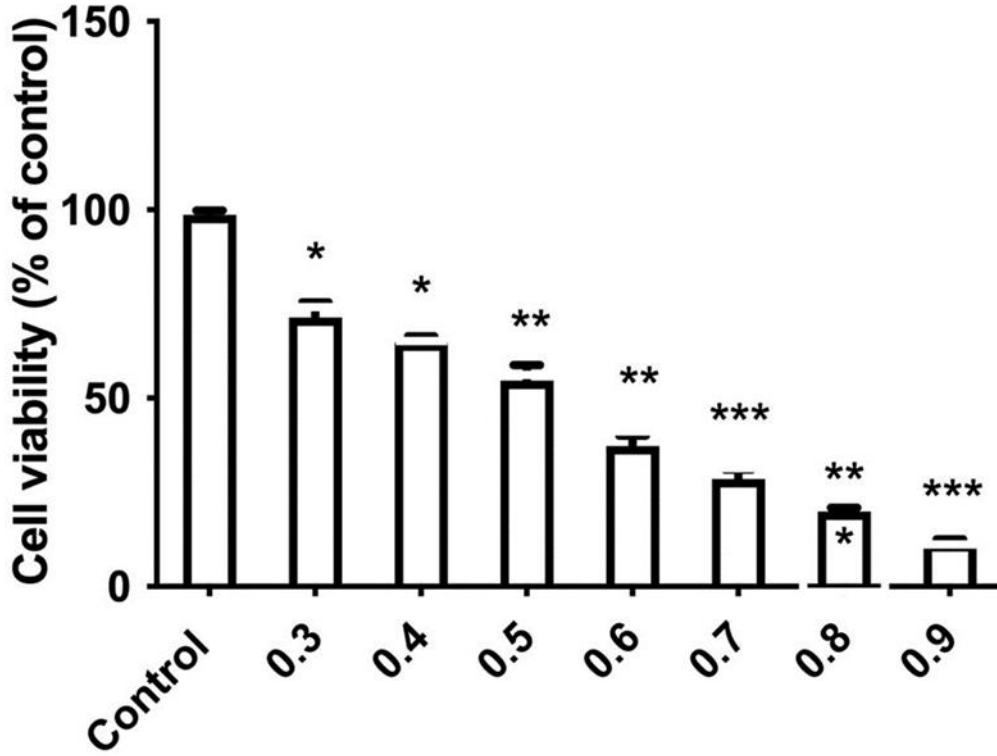
analizi, tek yönlü varyans analizi (ANOVA), ardından Tukey ile yapıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edilecek.



4. BULGULAR

4.1. Hücre Proliferasyon Sonuçları

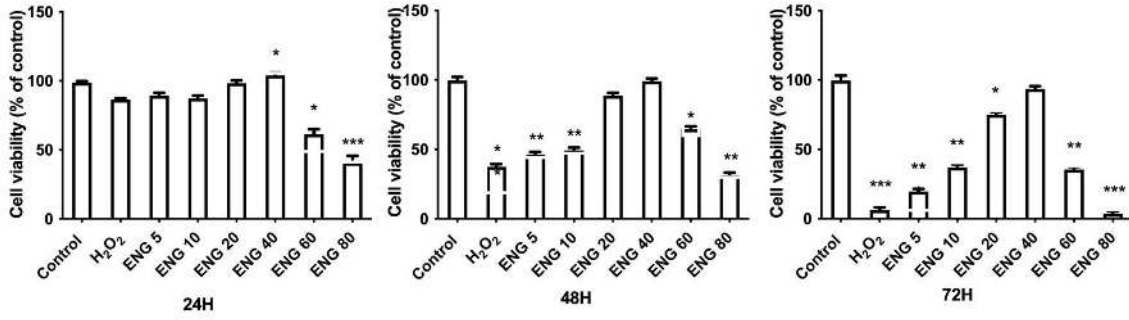
L929 fare fibroblast hücrelerine H_2O_2 'in farklı dozları (0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 μM) uygulanmıştır. Şekil 4.1.'de artan H_2O_2 dozunun hücre canlılığını azalttığını ortaya koymaktadır. 0.7 μM ve üzeri dozlarda belirgin sitotoksikite oluşmuş olup en uygun olan 0,5 μM doz seçilip devam edilmiştir (Çınar, 2020).



Şekil 4.1. H_2O_2 'nin farklı dozlarının (0,3 μM -0,9 μM) hücre canlılığı üzerindeki etkileri

ENG'nin farklı dozlarda ve zamanlarda hücre canlılığı üzerindeki etkilerini göstermektedir. MTT yöntemi ile belirlenmiştir (Şekil 4.2.). 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarda, 5–40 μM aralığındaki dozlar hücre yaşamını korurken, 60 ve 80 μM gibi yüksek dozlar belirgin sitotoksik etki göstermiştir ($p < 0.001$).

Özellikle 72. saatte 80 μ M ENG uygulamasında hücre yaşam oranı %20'nin altına düşmüştür. Bu bulgu, ENG'nin doz bağımlı bir yanıt oluşturduğunu ve yüksek dozlarda apoptotik ya da nekrotik hücre ölümünü tetikleyebileceğini göstermektedir. Deney için en uygun doz olan ENG 20 ve ENG 40 seçilerek devam edilmiştir.

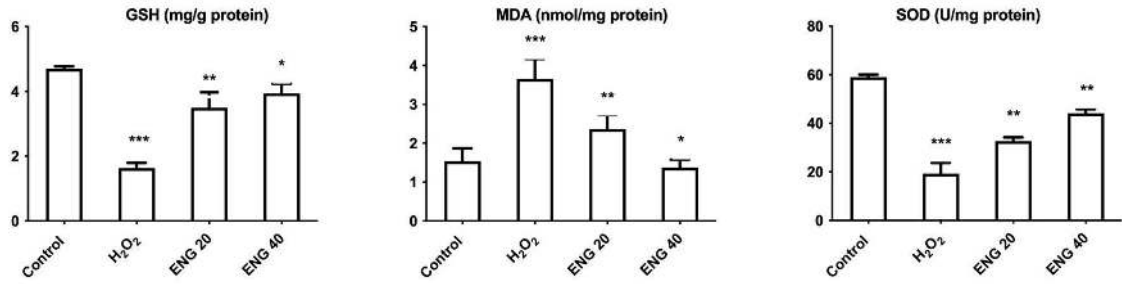


Şekil 4.2. Engeletin'in L929 fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisi. Sütunlar ortalama $\pm$ SD olarak gösterilmiştir. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ işaretleri kontrol grubuyla karşılaştırılmada kullanıldı.

4.2. Engeletin Oksidatif Stres Belirteçleri Üzerindeki Etkileri

Şekil 4.3.'te görülen GSH, MDA ve SOD seviyeleri, ENG'nin antioksidan savunma sistemlerine katkısını göstermektedir. GSH seviyesi, H₂O₂ uygulamasıyla anlamlı düzeyde düşerken, ENG tedavisi bu düşüşü tersine çevirmiştir. Özellikle 20 ve 40 μ M dozlarında uygulanan ENG, GSH düzeylerini anlamlı biçimde artırmıştır ($p<0.01$, $p<0.05$). Bu durum, ENG'nin serbest radikalleri nötralize ederek endojen antioksidan kapasiteyi desteklediğini göstermektedir.

Malondialdehit düzeyleri, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. H₂O₂ ile indüklenen stres altında artış gösteren MDA düzeyi, ENG uygulamasıyla düşüş göstermiştir. Bu sonuç, ENG'nin hücre zarlarını oksidatif hasardan koruduğunu ve lipid peroksidasyonunu azalttığını ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, SOD aktivitesindeki artış da ENG'nin oksidatif stresle başa çıkmada etkili olduğunu desteklemektedir.

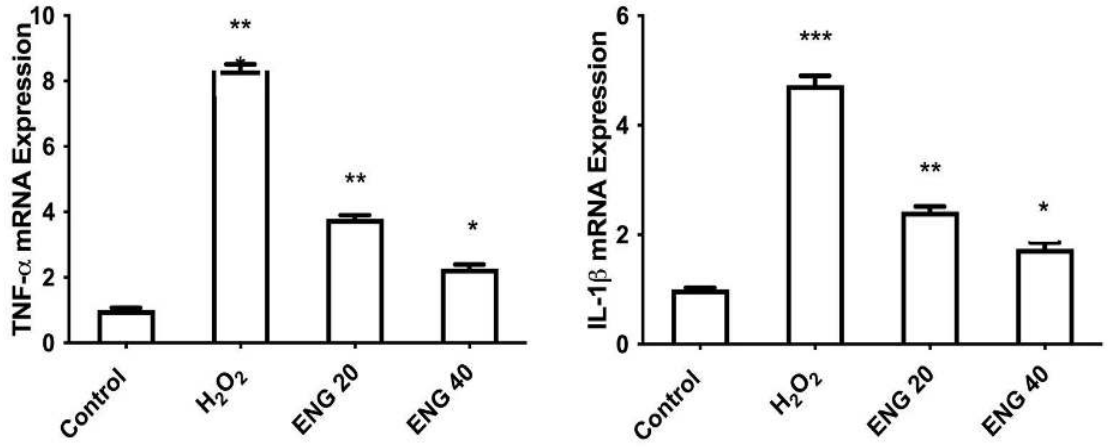


Şekil 4.3. Engeletin'in H₂O₂ kaynaklı toksisitede antioksidan belirteçlerine etkisi. Sütunlar ortalama±SD olarak gösterilmiştir. p<0,05*, **p<0,01 ve ***p<0,001 işaretleri kontrol grubuyla karşılaştırılmada kullanıldı. ENG: Engeletin.

4.3. Engeletin İnflamasyon Belirteçleri Üzerindeki Etkileri

TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyon seviyeleri, farklı dozlardaki ENG'nin L929 hücrelerindeki H₂O₂ kaynaklı oksidatif hasarı hafifletip hafifletmediğini belirlemek için gerçek zamanlı PCR kullanılarak incelendi (Şekil 4.4.). TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyon seviyelerinin H₂O₂ kaynaklı oksidatif hasar nedeniyle önemli ölçüde arttığı gösterildi. Ancak 20 ve 40 μ M uygulama ile ENG, TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyonunu H₂O₂ grubuna kıyasla önemli ölçüde azalttı. Özellikle 40 μ M ENG uygulaması, kontrol grubuyla benzer şekilde TNF- α ve IL-1 β mRNA ekspresyon seviyesini önemli ölçüde azalttığı gözlemlendi. Bu bulgu, ENG'nin inflamasyonla ilişkili sinyal yollarını inhibe ederek inflamatuvar yanıtı azalttığını göstermektedir.

Bu sonuçlar doğrultusunda, ENG'nin inflamasyon kaynaklı doku hasarı, otoimmün süreçler ve dejeneratif hastalıklar gibi durumlarda terapötik potansiyel taşıdığı söylenebilir.



Şekil 4.4. Engeletin'in H₂O₂ kaynaklı toksisitede inflamasyon belirteçlerine etkisi. Sütunlar ortalama±SD olarak gösterilmiştir. p<0,05*, **p<0,01 ve ***p<0,001 işaretleri kontrol grubuyla karşılaştırılmada kullanıldı. ENG: Engeletin

5. TARTIŞMA

İnsan derisi, günlük yaşamda ultraviyole ışını, kimyasallar, çeşitli toksik ajanlar ve mikroorganizmalar olmak üzere birçok zararlı etkene maruz kalmaktadır. Dolayısı ile deride çeşitli zararlı dış etkenlere bağlı olarak ödem, kırıxıklık, iltihaplanma ve yara iyileşmesinde gecikme gibi durumlar çok sık görölmektedir (Parihar ve ark., 2008).

Günümüzde küresel ısınmaya bağılı olarak ultraviyole ışınlar maruziyetin cilt sorunlarını arttırması ve yara iyileşmesini geciktirmesi ve ayrıca artan yaşlı popölasyon ile birlikte iyileşmeyen cilt yarası riskinin de artması ciddi bir klinik yüke yol açmaktadır (Velnar ve ark., 2009). Bu nedenle yara iyileşmesini destekleyen yeni ve etkili tedavilerin geliştirilmesi için yatırımların yapılması devletlerin ekonomisine katkı sağlamakla birlikte sağık sistemlerindeki yükü de azaltacaktır.

Yara, fiziksel, kimyasal veya mekanik ajanların neden olduğı cilt bütönlüğünün bozulması ve cildin işlevinin kaybolması olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi, bozulmuş doku bütönlüğünü onarmayı amaçlayan bir dizi moleküler ve hücreyel olayla karakterizedir. Yaralanmanın ciddiyetine bağılı olarak hasarlı dokunun kısmen veya tamamen onarımı; inflamatuvar faz (hemostaz ve inflamasyondan oluşur), proliferatif faz (granölasyon, kasılma ve epitelizasyondan oluşur) ve artan gerilme mukavemetine sahip yapıların düzenlendiğı yeniden şekillenme fazını içeren bir süreçten oluşmaktadır. Bu iyileşme fazlarında moleküler ve biyolojik düzensizliğinin görölmesi ve iyileşme sürecindeki tıkanıklıklar sıklıkla yaranın kronikleşmesine ve iyileşmenin gecikmesine neden olur. Genellikle gecikmiş yara iyileşmesi ROS'un aşırı üretimini tetiklemekte ve bu durum oksidatif hasar ile sonuçlanmakta. Oksidatif hasar ile meydana gelen uzun süreli inflamasyon yaralı bölgedeki fibroblast hücrelerinin migrasyonunu engellemektedir (Gonzalez ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalarda bitkisel kaynaklı doğal antioksidanların yara iyileşmesinde önemli rolleri olduğu gözlenmiştir (ÇINAR, 2020; Melguizo-Rodríguez ve ark., 2021; Zhou ve ark., 2021). Bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlardan olan flavonoidlerin, serbest radikallerin neden olduğu hastalıkları önleyebildiği veya iyileştirebildiği bilinmektedir ve flavonoid içeren çeşitli bitkilerin yara iyileşme çalışmalarında yer aldığı görülmektedir (Valko ve ark., 2006). ENG (dihidrokaempferol 3-rhamnoside;), *Engelhardia roxburghiana*'nın yapraklarından izole edilen bir flavonol glikozittir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, ENG'nin antiinflamatuvar, antikanserojenik ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Huang ve ark., 2020; Jiang ve ark., 2018a; Liu ve ark., 2020). Antiinflamatuvar etkisi nedeniyle son yıllarda artan ilgi görmüştür. ENG'nin, farelerde lipopolisakkarit (LPS)- ve D-galaktozamin kaynaklı karaciğer hasarını inhibe ettiği belirtilmiştir (Tian ve ark., 2019). ENG önemli ölçüde azalmış MPO aktivitesi, akciğer ıslak/kuru oranı ve bronkoalveolar lavaj sıvısında azalmış inflamatuvar sitokin seviyeleri ile kanıtlandığı gibi, LPS'nin neden olduğu akut akciğer hasarını (ALI) baskılamıştır (Jiang ve ark., 2018b). ENG, LPS ile indüklenen endometrit fare modellerinde geçiş ücreti benzeri reseptör 4 aracılı nükleer faktör-κB aktivasyonunu inhibe ederek güçlü anti-inflamatuvar aktivite sergilediği gösterilmiştir (Wu ve ark., 2016). Güçlü bir flavon olan ENG'nin, anti-oksidan ve anti-inflamatuvar etkileri ile yara iyileşme sürecindeki oksidatif hasarı düzeltebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada, H₂O₂ ile indüklenen oksidatif stres modeli kullanılarak L929 fare fibroblast hücrelerinde doğal bir flavonoid olan ENG potansiyel koruyucu etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, ENG'nin antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiğini, inflamatuvar yanıtı azalttığını ve hücre canlılığını doz bağımlı olarak etkilediğini göstermiştir.

Oksidatif stres, hücre metabolizmasında dengesizlik yaratan ve serbest radikallerin aşırı üretimi ile tanımlanan bir durumdur. GSH ve SOD gibi endojen antioksidanlar bu zararlı molekülleri etkisiz hale getirmeye çalışırken; MDA gibi lipid peroksidasyon ürünleri, hücre hasarın biyokimyasal göstergesi olarak kabul edilir (Sies ve ark., 2017). H₂O₂, hücre metabolizma sırasında doğal olarak oluşan bir ROS'tur. Ancak yüksek dozlarda dışarıdan uygulandığında, hücre içi redoks dengesini bozar ve bir oksidatif stres durumu oluşturur. İşte bu maruziyet hücrelerin yapay olarak strese sokulması anlamına gelir. Bu

model sayesinde ENG gibi bir ajanın, oksidatif hasarı azaltıp azaltmadığı, inflamasyonu baskılayıp baskılamadığı veya antiapoptotik etkiler gösterip göstermediği net biçimde ortaya konabilir. Bu çalışmada H₂O₂ maruziyeti sonrası GSH ve SOD düzeylerinde anlamlı düşüş, MDA düzeylerinde ise artış gözlenmiştir; ENG tedavisiyle bu parametreler normale yakın değerlere ulaşmıştır. Özellikle 20 ve 40 µM dozlarında bu etki daha belirgindir. Bu sonuçlar, Zhao ve ark. (2022) tarafından yapılan bir çalışmayla paralellik göstermektedir. Bahsi geçen çalışmada ENG, H₂O₂ ile streslenen hücrelerde Nrf2/Keap1 yolunu aktive ederek antioksidan genlerin ekspresyonunu artırmış ve hücre içi redoks dengesini korumuştur. MTT analizi ile değerlendirilen hücre canlılığı bulguları, ENG'nin düşük ve orta dozlarda sitoprotektif özellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak 60 ve 80 µM gibi yüksek dozlarda anlamlı düzeyde hücre ölümü gözlenmiştir. Nitekim Huang ve ark. (2011), ENG'nin yüksek dozlarının p53, SMAC ve XIAP gibi apoptozla ilişkili proteinleri etkileyerek programlı hücre ölümünü tetiklediğini raporlamıştır. Bu çalışmada da 80 µM dozunda hücre canlılığının %20'nin altına düşmesi, potansiyel antitümör etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Huang ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada ENG'nin hücrel antioksidan cevabını destekleyici etkileri, özellikle SOD enzim aktivitesindeki artışla net biçimde ortaya konmuştur. Mikroglial BV-2 hücrelerinde Alzheimer modeli olarak kullanılan Aβ₁₋₄₂ uyarısı sonucunda ROS ve MDA seviyeleri yükselir. ENG uygulamasıyla bu parametreler azalırken, SOD ve GPx enzim aktiviteleri anlamlı derecede yükselmiştir; bu durum ENG'nin Keap1/Nrf2 yolunu aktive ederek antioksidan savunmayı güçlendirdiğini düşündürür.

Huang ve ark.(2023) tarafından yapılan çalışmada kemik iliği mesankimal kök hücrelerinde erastin ile indüklenen ferroptoz modelinde de benzer biçimde SOD aktivitesinin yükseldiği gözlenmiştir. ENG tedavi gruplarında SOD aktivitesinde kayda değer artış rapor edilmiş, aynı zamanda ROS ve lipid peroksidasyon ürünleri olan MDA seviyelerinde anlamlı düşüş saptanmıştır.

Li ve ark. (2025) tarafından yapılan çalışmada ise ENG'nin, dekstran sülfat sodyum (DSS) ile indüklenen kolitli fareler ve kolon organoid modellerinde terapötik etkileri araştırılmıştır. Uygulama sonrasında MDA düzeylerinde anlamlı azalma sağlanırken,

SOD ve GSH aktivitelerinde belirgin artışlar görüldü. Bu bulgular, ENG'nin mitokondriyal stabiliteyi koruyan ve oksidatif stres belirteçlerini baskılayan bir etki sergilediğini desteklemektedir.

Tokuy ve ark. (2025) tarafından yapılan çalışmada insülin direnci oluşturulan HepG2 hücrelerinde, MDA düzeylerinde belirgin artış saptanmıştır. ENG uygulaması sonucunda bu MDA artışı tersine çevrildi; aynı zamanda GSH ve SOD seviyeleri de yükselmiştir. Bu veriler, ENG oksidatif stresin tetiklediği lipid peroksidatif hasarı detaylı şekilde önlediğini göstermektedir.

Yao ve ark.(2025) tarafından yapılan deneyde H9c2 (rat kalp kası kökenli) hücreleri, 2 saat hipoksi ve ardından 4 saat re-oksjenasyona tabi tutuldu. Bu stresle birlikte ROS ve MDA düzeylerinde belirgin bir artış gözlemlendi. ENG uygulaması, ROS üretimini anlamlı oranda azaltırken, MDA seviyelerinde de istatistiksel olarak önemli düşüş sağladı. Aynı zamanda SOD ve GSH düzeylerinde artış kaydedildi. Bu, ENG'nin lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücrel membran hasarını sınırladığı güçlü bir göstergedir.

ENG'nin tüm bu modellerde ortak biyokimyasal etkisi, SOD aktivitesindeki yükselme ile antioksidan savunma sisteminin güçlenmesidir. Bu artış, hem ROS nötralizasyonunu sağlayarak oksidatif hasarı engellemekte hem de hücrel savunma sistemini desteklemektedir. Böylece ENG, Nrf2 yolunu aktive ederek hem enzimatik hem hücrel düzeyde antioksidan mekanizmaları etkin hale getirmektedir.

Oksidatif stres, hücre içinde ROS birikmesiyle oluşur ve bu birikim yalnızca hücrel yapılarda hasara yol açmakla kalmaz, aynı zamanda inflamatuvar sinyal yollarını da aktive eder. Bu bağlamda çalışmada TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin değerlendirilmesi yapılmıştır. Çalışmada TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin mRNA düzeylerinde de H₂O₂ uygulaması sonrası artış olduğu görülmüştür. ENG uygulamasıyla bu sitokinlerin ekspresyon düzeylerinde anlamlı düşüş gözlemlenmiş, özellikle 40 μ M dozunda IL-1 β ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Bu bulgular, ENG'nin NF- κ B ve MAPK sinyal yollarını inhibe ederek inflamatuvar süreci baskıladığını bildiren Wang ve ark. (2023) ile Li ve ark. (2021) çalışmalarını desteklemektedir. Aynı zamanda, antiinflamatuvar etkilerinin sitokin

düzeylerinde doğrudan baskılama yönünde değil, upstream sinyal yollarının modülasyonu yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir.

Tian ve ark.(2019) tarafından ENG, LPS uyarılı RAW264.7 makrofajlarında ve TNBS ile oluşturulan kolit modelinde TNF- α , IL-1 β ve IL-6 ekspresyonunu hem mRNA hem de protein düzeyinde güçlü biçimde baskılamıştır. Bu etki, TLR4-NF- κ B yolunun inhibisyonuna bağlanmaktadır; ENG ayrıca M1 makrofaj polarizasyonunu da engelleyerek inflamatuvar süreçleri azaltmıştır.

Li ve ark.(2025) tarafından yapılan çalışmada DSS uygulanan farelerde ENG tedavisi (20 mg/kg), kolon dokusunda TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-17A düzeylerinde belirgin düşüşe neden olurken, aynı zamanda NF- κ B aktivasyonunu (p65 fosforilasyonu) da azaltmıştır. Bu durum, intestinal bakım bariyer (ZO-1, Claudin-1) proteinlerinin korunmasıyla birlikte gözlemlenmiştir.

Jiang ve ark.(2018) tarafından yapılan akut ALI modelinde ENG, BALF (bronkoalveolar lavaj sıvısı) içinde TNF- α , IL-6 ve IL-1 β seviyelerini anlamlı olarak düşürmüş, NF- κ B p65 çekirdek translokasyonunu tersine çevirmiştir.

Wang ve ark. (2021) tarafından BV-2 mikrogliyal hücrelerinde yapılan çalışmalar, ENG'nin Nrf2 aktivasyonunu artırıp NF- κ B ve MAPK sinyal yollarını baskılayarak IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ekspresyonunu düşürdüğünü göstermiştir. Bu, hem antioksidan hem antienflamatuvar etkilerin kombinasyonunu ortaya koymaktadır

Li ve ark.(2022) tarafından yapılan intervertebral disk modelinde (NP hücreleri), ENG, TNF- α kaynaklı inflamatuvar uyarıda iNOS, IL-1 β , IL-6 ve COX-2 ekspresyonunu hem mRNA hem protein seviyesinde baskılamıştır. Bu baskı mekanizması NF- κ B ve MAPK yollarının inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir.

Engeletin, hem in vitro hem in vivo modellerde TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-17A gibi başlıca pro-inflamatuvar sitokinleri baskılayarak etkili anti-inflamatuvar ajan olduğunu net bir şekilde göstermiştir. Bu baskı, başta TLR4/NF- κ B ve MAPK sinyal yolları olmak üzere, inflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunun inhibisyonu ile sağlanmaktadır. Ayrıca, ENG'nin makrofaj polarizasyonu ve bağırsak bariyer proteinleri

üzerindeki koruyucu etkileri, çok yönlü bir anti-inflamatuar biyolojik ortam yarattığını gösteriyor.

Ek olarak, fibroblast hücreleri üzerine yapılan bu araştırma, yalnızca oksidatif stresin temel mekanizmalarını anlamakla kalmayıp, aynı zamanda yara iyileşmesi, doku onarımı gibi klinik süreçler için de önemli bilgiler sunmaktadır. Çünkü fibroblastlar, ekstrasellüler matriks üretimi ve sitokin salgısı gibi işlevlerle doku bütünlüğünün korunmasında kritik rol oynar (Liguori ve ark., 2018). ENG'nin bu hücrelerde inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltıcı etkileri, ileride doku hasarı, yaşlanma ve yara iyileşme süreçlerinde potansiyel farmakolojik ajan olarak değerlendirilmesini mümkün kılmaktadır.

Zhang ve ark.(2020) tarafından L929 fibroblast hücrelerinde gerçekleştirilen TGF- β 1 uyarılı fibrotik modelde ENG, hücre proliferasyonu, göçü ve kolajen I/III, vimentin, α -SMA gibi lifleşme (fibrotik) belirteçleri büyük ölçüde azaltmıştır. Bu, yara iyileşmesi sürecinin özellikle proliferasyon ve remodeling aşamalarında kritik olan fibroblast aktivasyonunu normalleştiriyor.

Ancak bu çalışmanın bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. Öncelikle yalnızca L929 hücre hattı ile çalışılmış olup, farklı hücre tiplerinde ENG'nin etkilerinin test edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, bu çalışmada yalnızca kısa süreli (24–72 saatlik) etkiler incelenmiş, uzun vadeli etkiler veya geri dönüşümlülük değerlendirilmemiştir. Ek olarak in vivo doğrulamalar yapılmadan klinik geçerlilikten bahsetmek sınırlı olacaktır.

ENG ile muamele edilen deneyler sonucunda antioksidan parametrelerden SOD, GSH artış göstermiş, MDA azalış göstermiştir. TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar genlerin ekspresyonunu azalış göstermiştir. Özellikle düşük ve orta dozlarda antioksidan savunmayı güçlendirdiği proinflamatuvar yanıtı baskıladığı görülmüştür. Bu sonuçlara bakılarak yara iyileşmesinde ENG'den faydalanabileceğimiz ortaya çıkmıştır. Yara iyileşmesi kullanılan maliyetlerde düşüş gerçekleşip ekonomiye katkı sağlanabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, H₂O₂ ile oksidatif stres oluşturulan L929 fare fibroblast hücrelerinde ENG adlı doğal flavonoidin potansiyel koruyucu etkilerini ortaya koymayı amaçlamıştır. Bulgular, ENG'nin özellikle düşük ve orta dozlarda antioksidan savunmayı güçlendirdiğini, proinflamatuvar yanıtı baskıladığını ve hücre canlılığını koruyabildiğini göstermiştir. GSH ve SOD seviyelerinin artması, MDA düzeylerinin düşmesi, TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar genlerin ekspresyonunun azalması, ENG'nin çok yönlü hücresel koruma sağladığını desteklemektedir.

Çalışmada kullanılan 5–40 μ M ENG dozları, hücre sağlığını desteklerken, doz-bağımlı bir etki gösterdiğine işaret etmekte olup, ileride yapılacak doz-optimizasyon çalışmalarının önemini ortaya koymaktadır.

Öneriler

Farklı hücre hatları ve stres modelleri kullanılarak ENG'nin geniş biyolojik spektrumu araştırılmalıdır. Özellikle insan hücre hatlarında benzer etkiler gösterip göstermediği değerlendirilmelidir.

İn vivo hayvan çalışmalarıyla ENG'nin biyoyararlanımı, farmakokinetiği ve doku düzeylerindeki etkileri ayrıntılı biçimde analiz edilmelidir (Wang ve ark., 2023).

Bu çalışmada akut oksidatif stres yanıtı incelenmiştir; uzun dönem etkileri ve geri dönüşümlülüğü üzerine daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.

Engletin potansiyel antitümör veya antifibrotik etkileri, ileri prelinik deneylerle detaylandırılarak sağlık alanında farmasötik formülasyonlara aday hale getirilmelidir (Huang ve ark., 2011; Bai ve ark., 2020).

Sonuç olarak, bu tez kapsamında elde edilen veriler, ENG'nin oksidatif stres kaynaklı hücresel hasarı önlemede etkili olabileceğini göstermekte olup, ileride doğal antioksidan temelli tedavi yaklaşımları içinde değerlendirilebileceğini göstermektedir. Ancak bu etkinin klinik uygulamalara yansıtılabilmesi için daha ileri düzey moleküler ve hayvan modeli çalışmaları ile desteklenmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Bai, X., Liu, Y., Chen, Y., and Zhao, W. (2021). Engeletin suppresses cervical cancer cell metastasis by inhibiting NF- κ B pathway and VEGFA/CCL2 expression. *Cancer Cell International*, 21(1), 112.
- Biaglow, J. E., Mitchell, B. J., and Held, K. (1992). The importance of peroxide and superoxide in the X-ray response. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 22, 665–669.
- Brennan, M. L., Wu, W., Fu, X., Shen, Z., Song, W., and Lusis, A. (2002). A tale of two controversies: defining both the role of peroxidases in nitrotyrosine formation in vivo using eosinophil peroxidase and myeloperoxidase-deficient mice, and the nature of peroxidase-generated reactive nitrogen species. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 17415–17427.
- Cadet, J., Douki, T., Gasparutto, D., and Ravanat, J. L. (2003). Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features. *Mutation Research*, 531, 5–23.
- Chen, Q., Zhang, X. and Zhao, L. (1998). Rhamnose-dependent regulation of immune liver injury: Protective role of engeletin. *Chinese Journal of Immunology*, 14(3), 177–180.
- Çınar, İ. (2020). Gossypin'in L929 fibroblast hücrelerindeki hidrojen peroksit hasarına karşı koruyucu etkilerinin değerlendirilmesi. *Kafkas Journal of Medical Sciences*, 10(1), 15–23
- Dincer, B., Cinar, I., Yayla, M. and Toktay, E. (2022). Evaluation of the protective effects of gossypin for ischemia/reperfusion injury in ovary tissue. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 48(3), 748–756.
- Dincer, B., Halici, Z. and Cadirci, E. (2021). Investigation of the role of stimulation and blockade of 5-HT7 receptors in ketamine anesthesia. *Journal of Molecular Neuroscience*, 71, 1095–1111.
- Dupuy, C., Virion, A., Ohayon, R., Kaniewski, J., Dème, D. and Pommier, J. (1991). Mechanism of hydrogen peroxide formation catalyzed by NADPH oxidase in thyroid plasma membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 266, 3739–3743.
- Fenton, H. J. H. (1984). Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *Journal of the Chemical Society*, 65, 899–910.
- Gonzalez, A. C. d. O., Costa, T. F., Andrade, Z. d. A. and Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound healing-A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91, 614–620.
- Granger, D. N. (1988). Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology*, 255, H1269–H1275.
- Huang, L., Wang, M., Xu, Y., Zhang, Y., Yang, H. and Jiang, Y. (2023). Engeletin alleviates erastin-induced oxidative stress and protects against ferroptosis via Nrf2/Keap1 pathway in bone marrow mesenchymal stem cells. *Tissue and Cell*, 82, 102040.

- Huang, M., Zhao, L., Xu, J. and Li, X. (2011). Antiproliferative effects of engeletin extracted from *Engelhardia roxburghiana* leaves on human prostate cancer cells. *Phytomedicine Research*, 25(3), 325–330.
- Huang, W. C., Lin, C. I. and Hsu, Y. C. (2011). Engeletin inhibits the proliferation of prostate cancer cells via mitochondrial dysfunction. *Phytotherapy Research*, 25(11), 1585–1592.
- Huang, Z., Ji, H., Shi, J., Zhu, X. and Zhi, Z. (2020). Engeletin attenuates A β 1–42-induced oxidative stress and neuroinflammation by Keap1/Nrf2 pathway. *Inflammation*.
- Ipek, A. (2025). Antioksidanların sınıflandırması: kuramsal bir bakış. *Istanbul University Journal*, 3(1), 64-72.
- Iwanaga, M., Mori, K., Iida, T., Urata, Y., and Matsuo, T. (1998). Nuclear factor kappa B dependent induction of gamma glutamylcysteine synthetase by ionizing radiation in T98G human glioblastoma cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 24, 1256–1268.
- Jenner, P. (2003). Oxidative stress in Parkinson's disease. *Annals of Neurology*, 53, S26–S36.
- Jiang, X., Chen, L. J., Zhang, Z., Sun, Y. H., Wang, X. B., and Wei, J. C. (2018). Protective and Therapeutic Effects of Engeletin on LPS-Induced Acute Lung Injury. *Inflammation*, 41(4), 1259-1265. doi:10.1007/s10753-018-0773-z
- Jiang, X., Chen, L. J., Zhang, Z., Sun, Y. H., Wang, X. B., and Wei, J. C. (2018b). Protective and Therapeutic Effects of Engeletin on LPS-Induced Acute Lung Injury. *Inflammation*, 41(4), 1259-1265. doi:10.1007/s10753-018-0773-z
- Jiang, X., Chen, L., Zhang, Z., Sun, Y., Wang, X., and Wei, J. (2018a). Protective and Therapeutic Effects of Engeletin on LPS-Induced Acute Lung Injury. *Inflammation*, 41(4), 1259-1265. doi:10.1007/s10753-018-0773-z
- Klebanoff, S. J. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 77, 598–625.
- Kong, Y., Wang, H., Zhang, X., and Li, R. (2022). Engeletin activates brown adipose tissue via β 3-AR/AMPK signaling and promotes white-to-brown adipocyte transition. *Metabolism Research*, 81(4), 223–230.
- Leonard, S. S., Harris, G. K., and Shi, X. (2004). Metal-induced oxidative stress and signal transduction. *Free Radical Biology and Medicine*, 37, 1921–1942.
- Li, B., Yang, X., Zhang, P., Guo, J., Rong, K., Wang, X., Cao, X., Zhou, T., and Zhao, J. (2022). Engeletin Alleviates the Inflammation and Apoptosis in Intervertebral Disc Degeneration via Inhibiting the NF- κ B and MAPK Pathways. *Journal of Inflammation Research*, 15, 5767–5783.
- Li, J., Geng, Z., Yin, L., Huang, J., Niu, M., Zhang, K., Song, X., Wang, Y., Zuo, L., and Hu, J. (2025). Engeletin targets mitochondrial dysfunction to attenuate oxidative stress and experimental colitis in intestinal epithelial cells through AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling. *Antioxidants*, 14(5), 524.

- Li, J., Geng, Z., Yin, L., Zhang, L., and Wei, Y. (2025). Engeletin targets mitochondrial dysfunction to attenuate oxidative stress and experimental colitis in intestinal epithelial cells through AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling. *Antioxidants*, 14(3), 524.
- Li, X., Chen, Z., and Huang, J. (2023). Antioxidant and anti-inflammatory potential of engeletin in H₂O₂-induced oxidative stress models. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, Article ID 123456.
- Li, Y., Zhang, Y., and Zhao, H. (2021). Engeletin attenuates inflammation and oxidative stress via NF- κ B and MAPK pathway inhibition. *Free Radical Biology and Medicine*, 167, 44–56.
- Li, Y., Zhu, H., Deng, Y., Liu, J., and Song, Y. (2022). Engeletin alleviates intervertebral disc degeneration by regulating inflammatory signaling pathways in vitro and in vivo. *International Immunopharmacology*, 100, 108133.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., ... and Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757–772.
- Lin, L., Zhang, Y., Chen, J. and Li, W. (2021). Hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and mitochondrial dysfunction in fibroblasts: Protective role of natural antioxidants. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 135, 111230.
- Liu, H., Zhang, C., Wu, Y., Chen, X. and Gao, J. (2023). Engeletin enhances post-ischemic angiogenesis through VEGF/vasohibin and Ang-1/Tie-2 signaling pathways in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury. *Neuropharmacology*, 221, 109321.
- Liu, T., Li, Y., Sun, J., Tian, G. and Shi, Z. (2020). Engeletin suppresses lung cancer progression by inducing apoptotic cell death through modulating the XIAP signaling pathway: A molecular mechanism involving ER stress. *Biomed Pharmacother*, 128, 110221. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110221>
- Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*, 25(4), 402–408.
- Melguizo-Rodríguez, L., de Luna-Bertos, E., Ramos-Torrecillas, J., Illescas-Montesa, R., Costela-Ruiz, V. J. and García-Martínez, O. (2021). Potential effects of phenolic compounds that can be found in olive oil on wound healing. *Foods*, 10(7), 1642.
- Miller, D. M., Buettner, G. R. and Aust, S. D. (1990). Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radic Biol Med*, 8, 95–108.
- Monterio, H. P., Bechara, E. J. H. and Abdalla, D. S. P. (1991). Free radicals involvement in neurological porphyrias and lead poisoning. *Mol Cell Biochem*, 103, 73–83.
- Narayanan, P. K., Goodwin, E. H. and Lehnert, B. E. (1997). Alpha particles initiate biological production of superoxide anions and hydrogen peroxide in human cells. *Cancer Res*, 57, 3963–3971.
- Nguyen, T. L. (2023). Engeletin's potential in blood glucose regulation: Evidence from animal and cellular models. *Asian Journal of Natural Products*, 17(1), 42–49.

- Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95(2), 351–358.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- Parihar, A., Parihar, M. S., Milner, S., and Bhat, S. (2008). Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns*, 34(1), 6–17.
- Reid, T. M., Feig, D. I., and Loeb, L. A. (1994). Mutagenesis by metal-induced oxygen radicals. *Environmental Health Perspectives*, 102(Suppl 3), 57–61.
- Sedlak, J., and Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25(1), 192–205.
- Shi, H., Shi, X., and Liu, K. J. (2004). Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 255, 67–78.
- Sies, H., Berndt, C., and Jones, D. P. (2017). Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86, 715–748.
- Stohs, S. J., and Bagchi, D. (1995). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology and Medicine*, 18, 321–336.
- Sudsai, T., Wattanapiromsakul, C., and Tewtrakul, S. (2016). Wound healing property of isolated compounds from Boesenbergia kingii rhizomes. *Journal of Ethnopharmacology*, 184, 42–48.
- Sun, Y., Oberley, L. W., and Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497–500.
- Tian, Q., Wang, G. J., Zhang, Y. M., Zhang, F. B., Yang, L., Liu, Z. R., and Shen, Z. Y. (2019). Engeletin inhibits Lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced liver injury in mice through activating PPAR- γ . *Journal of Pharmacological Sciences*, 140(3), 218–222. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2019.06.011>
- Tian, W., Yang, H., Li, J., and Liu, Y. (2019). Engeletin alleviates LPS-induced hepatic injury through PPAR- γ -mediated inhibition of NF- κ B signaling pathway. *International Immunopharmacology*, 75, 105795.
- Toktay, E., Parlak, S. N., Kavas, T., Un, H., Ugan, R. A., and Yayla, M. (2025). The Effects of Engeletin on Insulin Resistance Induced in Human HepG2 Liver Cells. *Current Issues in Molecular Biology*, 47(7), 535. <https://doi.org/10.3390/cimb47070535>
- Tripathi, R. M., Raghunath, R., and Mahapatra, S. (2001). Blood lead and its effect on Cd, Cu, Zn, Fe and hemoglobin levels of children. *Science of the Total Environment*, 277, 161–168.
- Tuttle, S. W., Varnes, M. E., Mitchell, J. B., and Biaglow, J. E. (1992). Sensitivity to chemical oxidants and radiation in CHO cell lines deficient in oxidative pentose cycle activity. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 22, 671–675.

- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1–40.
- Velnar, T., Bailey, T., and Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542.
- Waalkes, M. P., Liu, J., Ward, J. M., and Diwan, L. A. (2004). Mechanisms underlying arsenic carcinogenesis: hypersensitivity of mice exposed to inorganic arsenic during gestation. *Toxicology*, 198, 31–38.
- Wang, H., Jiang, Z., Pang, Z., Qi, G., Hua, B., Yan, Z., and Yuan, H. (2021). Engeletin protects against TNF- α -induced apoptosis and reactive oxygen species generation in chondrocytes and alleviates osteoarthritis in vivo. *Journal of Inflammation Research*, 14, 745–760. <https://doi.org/10.2147/JIR.S297166>
- Wang, J., Wang, Z., and Xu, Q. (2023). Engeletin alleviates joint inflammation by modulating NF- κ B/MAPK pathways. *International Immunopharmacology*, 117, 109944.
- Wang, T., Zhang, D., Liu, Z., and Jiang, Q. (2020). Engeletin induces apoptosis and autophagy in lung cancer cells by modulating XIAP/SMAC signaling and ubiquitination processes. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 54(4), 553–566.
- Wang, X., Zhang, J., Chen, Y., Liu, X., and Liu, H. (2021). Engeletin attenuates osteoarthritis by suppressing NF- κ B and MAPK signaling pathways and mitochondrial dysfunction. *Journal of Orthopaedic Research*, 39(5), 1021–1031.
- Wei, Y., Liu, C., Sun, Y., and Zhang, H. (2023). Engeletin alleviates atherosclerosis via inhibition of NF- κ B signaling, lipid metabolism modulation, and insulin pathway interaction. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10, 122456.
- Whiteman, M., Jenner, A., and Halliwell, B. (1997). Hypochlorous acid-induced base modifications in isolated calf thymus DNA. *Chemical Research in Toxicology*, 10, 1240–1246.
- Wikipedia. (2024). *Engeletin*. Erişim: 03 Temmuz 2025, <https://en.wikipedia.org/wiki/Engeletin>
- Wirasathien, L. (2020). Inhibitory effects of engeletin from cauliflower on aldose reductase: Non-competitive inhibition mechanism. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(4), 123–130.
- Wood, L. G., Fitzgerald, D. A., Gibson, P. G., Cooper, D. M., and Garg, M. L. (2000). Lipid peroxidation as determined by plasma isoprostanes is related to disease severity in mild asthma. *Lipids*, 35(9), 967–974.
- World Health Organization. (2022). *Cardiovascular diseases (CVDs)*. Erişim: 02 Temmuz 2025, [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- World Stroke Organization. (2021). *Global stroke facts and statistics*. Erişim: 02 Temmuz 2025, <https://www.world-stroke.org/>

- Wu, H. C., Zhao, G., Jiang, K. F., Li, C. Y., Qiu, C. W., and Deng, G. Z. (2016). Engeletin alleviates lipopolysaccharide-induced endometritis in mice by inhibiting TLR4-mediated NF- κ B activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(31), 6171–6178. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02304>
- Yao, Y., Ling, J., and Wang, X. (2025). Engeletin inhibits inflammation and ferroptosis and attenuates cardiomyocyte injury induced by hypoxia-reoxygenation. *Acta Cardiologica Sinica*, 41(3), 361–371.
- Yokoya, A., Cunniffe, S. M., and O'Neill, P. (2002). Effect of hydration on the induction of strand breaks and base lesions in plasmid DNA films by gamma radiation. *Journal of the American Chemical Society*, 124(30), 8859–8866.
- Zhang J., Chen X., Chen H., Li R., Xu P., Lv C., Liu B., Song X. (2020). Engeletin ameliorates pulmonary fibrosis through endoplasmic reticulum stress depending on Inc949-mediated TGF- β 1-Smad2/3 and JNK signalling pathways. *Pharmaceutical Biology*, 58(1), 1105–1114.
- Zhang, F., Liu, Q., and Chen, Y. (2022). Engeletin: A potential natural compound in neurological diseases. *Journal of Natural Neurotherapeutics*, 4(2), 85–92.
- Zhao, Q., Li, F., and Tang, Y. (2023). Engeletin prevents myocardial fibrosis and electrical remodeling via antioxidant and antifibrotic mechanisms in isoproterenol-induced heart injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 176, 35–48.
- Zhao, Q., Li, W., and Zhang, H. (2022). Anti-inflammatory role of engeletin through suppression of pro-inflammatory cytokines in microglia. *Neurochemical Research*, 47(2), 300–310.
- Zhong, Y., Lei, Y., and. (2023). A review on the pharmacological aspects of engeletin as natural flavonoid: sources, mechanisms, and therapeutic potential. *Drug Design, Development and Therapy*.
- Zhou, X., Ruan, Q., Ye, Z., Chu, Z., Xi, M., Li, M., and Xie, W. (2021). Resveratrol accelerates wound healing by attenuating oxidative stress-induced impairment of cell proliferation and migration. *Burns*, 47(1), 133–139.

ÖZGEÇMİŞ

İlk ve ortaöğrenimini Sivas ilinde tamamlamıştır. Lise eğitimini Sivas Fen Lisesi'nde tamamladıktan sonra Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden 2022 yılında mezun olmuştur. Aynı zamanda Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi'nden İşletme lisansını alarak 2023 yılında mezun olmuştur.

Lisans eğitiminin ardından kamu eczacısı olarak görev yapmaya başlamıştır. Yüksek lisans eğitimine ise Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde başlamış olup “Hidrojen Peroksit İle Oksidatif Hasarın İndüklendiği L929 Fare Fibroblast Hücrelerinde Engeletinın Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması” konusunda çalışma yürütmüştür.