

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KENEVİR (*Cannabis sativa*) ve BROKOLİ (*Brassica oleracea* var. *italica*)
TÜREVLİ EKSOZOM BENZERİ NANOPARTİKÜLLERİN HACaT HÜCRE
HATTI ÜZERİNDEKİ YARA İYİLEŞTİRME POTANSİYELİ

Zeynep Yasmin BAĞDATLI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI

ANKARA
2025

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KENEVİR (*Cannabis sativa*) ve BROKOLİ (*Brassica oleracea* var. *italica*) TÜREVLİ EKSOZOM BENZERİ NANOPARTİKÜLLERİN HACAT HÜCRE HATTI ÜZERİNDEKİ YARA İYİLEŞTİRME POTANSİYELİ

Zeynep Yasmin BAĞDATLI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. İlker BÜYÜK

Bu çalışma, *Cannabis sativa* (kenevir) ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin (pEV'ler) HaCaT keratinositleri ve insan dermal fibroblastlar (HDF) üzerindeki yara iyileşme potansiyelini araştırmayı amaçlamaktadır. pEV'ler hem tek başlarına hem de kombinasyon halinde uygulanarak olası sinerjetik etkileri değerlendirilecektir. Yara iyileşmesi sürecine ilişkin mekanistik çıkarımlar, TGF- β , VEGF, PDGF, FGF, MMP, Col1A1, Col1A2, EGF, IL-6 ve TNF- α gibi kritik genlerin ekspresyon analizleriyle ortaya konacaktır. Buna ek olarak, bu nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri incelenmiş, böylece cilt bariyerini destekleyici potansiyelleri değerlendirilmiştir. Ayrıca, pEV'lerin hücre yaşlanması ve senesens üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Bu yaklaşım, hem yara iyileşme süreçlerinde hem de cilt sağlığını koruyucu uygulamalarda bitkisel eksozomların potansiyel rolünü bütüncül şekilde ortaya koymayı hedeflemektedir. Çalışma, bitkisel kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin moleküler ve hücresel düzeydeki etkilerini sistematik olarak inceleyerek, modern kozmetik ve rejeneratif tıp alanlarında uygulanabilir bilimsel veriler sunmayı amaçlamaktadır. Elde edilecek sonuçlar, pEV'lerin yara iyileşmesini hızlandırıcı, inflamasyonu düzenleyici ve hücresel fonksiyonları destekleyici etkilerini ortaya koyarak, gelecekte yenilikçi bitkisel terapötik stratejilerin geliştirilmesine temel oluşturacaktır.

Kasım 2025, 133 sayfa

Anahtar Kelimeler : Antimikrobiyal etki, Hücresel yaşlanma, Kenevir, Brokoli, Bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküller (pEV'ler), Yara iyileşmesi

ABSTRACT

Master Thesis

THE WOUND HEALING POTENTIAL OF EXOSOME-LIKE NANOPARTICLES DERIVED FROM CANNABIS (*Cannabis sativa*) AND BROCCOLI (*Brassica oleraceae* var. *italica*) ON THE HACAT CELL LINE

Zeynep Yasmin BAĞDATLI

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. İlker BÜYÜK

This study aims to investigate the wound healing potential of exosome-like nanoparticles (pEVs) derived from *Cannabis sativa* and *Brassica oleracea* L. var. *italica* in HaCaT keratinocytes and human dermal fibroblasts (HDFs). pEVs will be applied both individually and in combination to evaluate potential synergistic effects. Mechanistic insights into the wound healing process will be obtained through expression analyses of key genes, including TGF- β , VEGF, PDGF, FGF, MMPs, Col1A1, Col1A2, EGF, IL-6, and TNF- α . Furthermore, the antimicrobial and antifungal activities of these nanoparticles will be assessed to determine their potential in supporting skin barrier function. The effects of pEVs on cellular senescence are also investigated, providing a comprehensive evaluation of their impact on skin health and regenerative processes. This work aims to systematically examine the molecular and cellular effects of plant-derived exosome-like nanoparticles, generating scientific evidence for their potential applications in modern cosmetic and regenerative medicine. The findings are expected to reveal that pEVs can accelerate wound healing, modulate inflammation, and support cellular functions, thereby laying the groundwork for the development of innovative plant-based therapeutic strategies.

November 2025, 133 pages

Key Words: Antimicrobial activity, Cellular senescence, Cannabis , Broccoli, Plant-derived exosome-like nanovesicles (pEVs), Wound healing

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yürütülmesi ve tamamlanmasında bilgi, deneyim ve rehberlikleriyle katkıda bulunan değerli danışmanım Prof. Dr. İlker BÜYÜK'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Araştırmanın farklı aşamalarında yol gösterici olan ve bilimsel bakış açılarıyla çalışmamın ilerlemesine önemli katkılarda bulunan Prof. Dr. Sümer ARAS'a saygılarımı ifade ederim. Çalışmalarımıza bilgisi ve tecrübesi ile ışık tutan Doç. Dr. Başar KARACA'ya, akademik desteği ve yönlendirmeleri için teşekkür ederim. Ayrıca, tez sürecimde bilgi ve önerileriyle katkı sağlayan Öğr. Gör. Dr. Hakan ESKİZENGİN'e ve Doç. Dr. Burak DERKUŞ ile ekibine teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreç boyunca her koşulda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen aileme, anneme, babama ve kardeşime, güvenleri, motivasyonları ve sürekli destekleri için minnettarım; bugün ulaştığım noktada onların katkısı benim için çok değerlidir.

Zeynep Yasmin BAĞDATLI
Ankara, Kasım 2025

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜRLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1 Eksozomlar ve Bitki Kaynaklı Eksozom Benzeri Nanopartiküller (pEV'ler)	3
2.1.1 Eksozomların yapısı ve biyolojik fonksiyonları	4
2.1.2 Eksozomların biyogenezi (Oluşum süreci).....	5
2.1.3 pEV'lerin bileşimi	7
2.2 Bitki Kaynaklı Eksozom Benzeri Nanopartiküllerin Tıbbi ve Terapötik Uygulamaları	11
2.3 Kenevir (<i>Cannabis sativa</i>)	16
2.3.1 Kenevirin botanik özellikleri.....	17
2.3.2 Kenevirin kimyasal içeriği.....	18
2.4 Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>)	24
2.4.1 Brokolinin botanik özellikleri	24
2.4.2 Brokolinin kimyasal içeriği	25
2.5 Yara İyileşmesi Sürecine Genel Bakış.....	34
2.5.1 Deri katmanları	35
2.5.2 Yara sınıflandırması	39
2.5.3 Yara iyileşmesinin biyolojik aşamaları	39
2.5.4 Fibroblastlar ve fonksiyonları.....	43
2.5.5 Keratinositler ve fonksiyonları	47
2.5.6 Yara iyileşmesini düzenleyen temel sinyal yolları.....	49
2.5.7 Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri	51
2.5.8 Kenevirin yara iyileşmesindeki rolü.....	56
2.5.9 Brokolinin yara iyileşmesindeki rolü	57

2.6 Hücresel Senesens ve Mekanizmaları	58
2.6.1 Senesensin fizyolojik roller	59
2.6.2 Kenevirin senesens üzerine etkisi	60
2.6.3 Brokolinin senesens üzerine etkisi	60
2.7 Antimikrobiyal Aktivite: Tanım ve Temel İlkeler	61
2.7.1 Gram pozitif ve gram negatif bakteriler arasındaki yapısal farklılıklar	62
2.8 Antifungal Direnç ve Candida albicans	63
3. MATERYAL VE YÖNTEM	64
3.1 Materyal	64
3.1.1 Bitkisel materyaller	64
3.1.2 Kimyasal maddeler ve çözeltiler	64
3.1.3 Biyolojik materyaller	65
3.1.4 Cihaz ve laboratuvar ekipmanları	65
3.1.5 Moleküler biyoloji reaktifleri	66
3.2 Yöntem	66
3.2.1 Bitki materyali temini	66
3.2.2 Eksozom izolasyonu	67
3.2.3 Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre kullanılarak protein miktarı belirlenmesi	68
3.2.4 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile eksozom morfoloji ve boyutunun incelenmesi	68
3.2.5 Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile boyut dağılımının belirlenmesi	68
3.2.6 GC-MS analizi ve veri işleme	68
3.2.7 Hücre kültürü koşulları	69
3.2.8 Hücrelere eksozomların uygulanması	69
3.2.9 RNA izolasyonu ve cDNA sentezi	70
3.2.10 Primer tasarımı	70
3.2.11 qPCR analizi	71
3.2.12 Wound-Healing tahlili	71
3.2.13 Hücre Yaşlanması analizi	72
3.2.14 Antibakteriyel ve antifungal aktivitenin belirlenmesinde modülasyon yöntemi	72
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	74
4.1 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) İle Eksozom Morfoloji ve Boyutunun İncelenmesi	74

4.2 Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile Boyut Dağılımının Belirlenmesi	74
4.3 Protein Miktarının Belirlenmesi (Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre Analizi)	75
4.4 GC-MS Tabanlı Metabolomik Profilleme ile pEV'lerin Biyoaktif İçeriklerinin Belirlenmesi.....	76
4.5 Hücre Canlılığı ve EC ₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi	77
4.6 Yara İyileşmesi Analizi (HaCaT Hücre Hattı)	79
4.6.1 Kenevir pEV'leri	79
4.6.2 Brokoli pEV'leri.....	79
4.6.3 Kombinasyon (Kenevir + Brokoli) pEV'leri	79
4.7 Yara İyileşmesi Analizi (HDF Hücre Hattı)	80
4.7.1 Kenevir pEV'leri	80
4.7.2 Brokoli pEV'leri.....	80
4.7.3 Kombinasyon (Kenevir + Brokoli) pEV'leri	80
4.8 Hücre Senesens (Yaşlanma) Analizi	82
4.9 Bitkisel Eksozomal Vezikül (pEV) Uygulamalarının Toplam Oksidan Seviyesi (TOS) Üzerine Etkisi	83
4.10 Bitkisel Eksozomal Vezikül (pEV) Uygulamalarının Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS) Üzerine Etkisi	85
4.11 Bitkisel Eksozomal Vezikül (pEV) Uygulamalarının Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Üzerine Etkisi.....	86
4.12 RNA İzolasyonu ve Saflık Analizi.....	87
4.13 cDNA Sentezi	88
4.14 Gen İfadesi Analizi (qPCR).....	88
4.15 Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite Analizi	90
4.15.1 C-EVs uygulamalarının antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi	90
4.15.2 B-EVs uygulamalarının antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi.....	91
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	93
KAYNAKLAR	97
ÖZGEÇMİŞ.....	133

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde ifadesi
°C	Santigrat derece
µL / mL	Mikrolitre / mililitre
µg	Mikrogram
g	Gram
nm	Nanometre
cm	Santimetre
rpm	Dakikadaki devir sayısı (santrifüj hızı)
OD	Optik yoğunluk
CO ₂	Karbondioksit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
2 ⁻ ΔΔCT	Karşılaştırmalı Ct yöntemi (gen ekspresyon analizi hesaplama yöntemi)

Kısaltmalar

ADAM	Metaloproteinaz içeren adezyon molekülü
Akt	Protein Kinaz B
ALT	Alanin aminotransferaz
Ang-1	Anjiyopoietin-1
ANG II	Anjiyotensin II
AHR / AhR	Aril hidrokarbon reseptörü / Aromatik Hidrokarbon Reseptörü
AMP	Antimikrobiyal peptit
ANOVA	Varyans Analizi
ARE	Antioksidan yanıt elementi
ATP	Adenozin Trifosfat
ATPase VpS4p/SKD1	Adenozin trifosfataz enzimi (membran daralması için enerji sağlar)
AST	Aspartat aminotransferaz
AYBÜ	Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
β-gal	Beta-Galaktozidaz
CB	Kannabinoidler
CB1R	Kannabinoid Reseptörü Tip 1
CB2R	Kannabinoid Reseptörü Tip 2
CBD	Kannabidiol
CBDV	Non-psikoaktif fitokannabinoid, antiepileptik potansiyelli
CBDA	CBD'nin asidik öncül formu
CBGA	THC, CBD ve CBC'nin biyosentetik öncül bileşiği
CBG	Kannabigerol
CBC	Anti-inflamatuvar ve antibakteriyel etkili fitokannabinoid
CBCA	CBC'nin asidik öncülü
CBN	Kannabinol
CBNDA	CBN'nin karboksilik asidi formu

CBE	Minör (küçük) fitokannabinoid
CBT	Minör (küçük) fitokannabinoid
CC	CC Motifli Kemokin Ligandı
CCL2	CC Motifli Kemokin Ligandı 2
CFU/mL	Mililitre başına koloni oluşturan birim
CHMP	Yüklü çok veziküllü cisim proteini
CoA	Asetil ve asil gruplarının taşınmasında görevli koenzim
COL1A1	Tip I Kollajen Alfa 1 Zinciri
COL1A2	Tip I Kollajen Alfa 2 Zinciri
COL1A1 / COL1A2	Tip I Kollajen Alfa 1/2 Zincirini kodlayan gen
CO ₂	Karbondioksit
CS	Kondroitin Sülfat
CX3CL1	CX3C Motifli Kemokin Ligandı 1
CXCL1	CXC Motifli Kemokin Ligandı 1
cDNA	Tamamlayıcı DNA
DAMPs	Hasarla İlişkili Moleküler Paternler
ddH ₂ O	Çift Distile Su
DEN	Dietilnitrozamin
DETC	Dendritik Epidermal T Hücresi
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
DMAPP	Terpen biyosentezinde öncül izopren birimi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DOM	Hücre dışı matris
E-Cadherin	Epitelyal Kaderin
ECM	Hücre Dışı Matris / Hücre dışı matriks
ECM Remodeling	Hücre Dışı Matrisin Yeniden Şekillenmesi
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EGFR	EGF Reseptörü
EMT	Epitelyal-Mezenkimal Geçiş
ERK	Hücre dışı sinyal düzenleyici kinaz
ERK1/2	Hücre Dışı Sinyal Düzenleyici Kinaz 1/2
ESCRT	Taşıma için gerekli endozomal sıralama kompleksi
ETc.	Etanol
EXPO	Ekzosist-pozitif organel
F3H	Flavonol sentezinde görevli enzim
F3'H	Kaempferol ve kuersetin sentezinde görevli enzim
FAF	Fibrozis İlişkili Fibroblast
FBS	Fetal Sığır Serum
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
FGFR	FGF Reseptörü
GAG	Glikozaminoglikan
GAP	GTPaz Aktive Edici Protein
GDI	GDP Ayrışma İnhibitörü
GFN	Glukorafanın
GPCR	G Proteine Bağlı Reseptör

GPP	Monoterpenlerin biyosentetik öncülü
GRB2	Büyüme Faktörü Reseptörüne Bağlı Protein 2
HaCaT	İnsan Keratinosit Hücre Hattı
HCA	p-Hidroksisinamik asit
HB-EGF	Heparin Bağlayıcı EGF Benzeri Büyüme Faktörü
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H9C2	Sıçan kardiyomiyoblast hücre hattı
HDF	İnsan Dermal Fibroblast Hücre Hattı
HGF	Hepatosit (Karaciğer Hücresi) Büyüme Faktörü
HO-1	Hem oksijenaz-1
HP	Heparin
HS	Heparan Sülfat
HUVEC	İnsan göbek veni endotelial hücresi
ICAM1	Hücreler Arası Adezyon Molekülü 1
IGF	İnsüline benzer büyüme faktörü
IL	İnterlökin
IL-1	İnterlökin-1
IL-1 β	İnterlökin-1 beta
IL-6	İnterlökin-6
IL-10	İnterlökin-10
IL-12	İnterlökin-12
IL-17A	İnterlökin-17A
IL-22	İnterlökin-22
IL-33	İnterlökin-33
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
ITC	İzotiyosiyanat
KGF	Keratinosit Büyüme Faktörü
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
KS	Keratan Sülfat
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein (kötü kolesterol)
LELN	Limon kaynaklı eksozom benzeri nanopartikül
LTBP / LAP	Latent TGF- β Bağlayıcı Protein / Latentlik İlişkili Peptid
MAPK	Mitogen ile aktive edilen protein kinaz
MEP	Plastid lokalize terpen biyosentez yolu
MEP yolu	Plastidlerde gerçekleşen terpenoid sentez yolu
MET	Hepatosit Büyüme Faktörü Reseptörü (Met Reseptörü)
miRNA	MikroRNA
MMP	Matriks Metalloproteinaz
MPP	Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü
MVA	Sitoplazmik terpen biyosentez yolu
MVA yolu	Terpenoid biyosentezinde kullanılan sitoplazmik yol
MSC	Mezenkimal Kök Hücre
MRSA	Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus
mRNA	Haberci ribonükleik asit
NET	Nötrofil Ekstraselüler Tuzak
NETosis	Nötrofil Ekstraselüler Tuzak Oluşum Süreci

NF-κB	Nükleer Faktör kappa-B
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
Nrf2	Eritroid 2 ile ilişkili nükleer faktör 2
NO	Nitrik Oksit
OD ₆₀₀	600 nm dalga boyunda optik yoğunluk
OSI	Oksidatif Stres İndeksi
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PCA	Temel Bileşen Analizi
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
pEV	Bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartikül

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Memeli ve bitki hücrelerinde eksozomların biyogenezi.....	7
Şekil 2.2 Bitki eksozomlarının potansiyel terapötik uygulamaları	12
Şekil 2.3 Kronik yara iyileşmesinde bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin rolü.....	15
Şekil 2.4 Kenevir bitkisinin genel morfolojik görünümü	17
Şekil 2.5 Brokolinin morfolojik özellikleri ve yapısı	25
Şekil 2.6 Epidermisin katmanları.....	36
Şekil 2.7 Yara iyileşmesinin evreleri: hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, remodelling.....	42
Şekil 3.1 Bitki örneklerinden eksozom benzeri nanopartiküllerin izolasyonu	67
Şekil 4.1 TEM ile pEV morfolojisinin incelenmesi	74
Şekil 4.2 pEV'lerin boyut dağılımı ve yoğunluk profilleri (DLS analizi)	75
Şekil 4.3 B-EV metabolom profili ısı haritası.....	77
Şekil 4.4 pEV uygulamalarının hücre canlılığı üzerine etkisi.....	78
Şekil 4.5 pEV uygulamalarının hücre göçü ve yara iyileşmesine etkisi	81
Şekil 4.6 β -galaktozidaz boyaması ile hücre yaşlanma ve pEV etkisi (HACAT ve HDF).....	83
Şekil 4.7 β -galaktozidaz aktivitesi ve pEV uygulamasının etkisi (HACAT ve HDF)....	83
Şekil 4.8 pEV uygulamalarının toplam oksidan seviyesi (TOS) üzerine etkisi.....	84
Şekil 4.9 pEV uygulamalarının toplam antioksidan seviyesi (TAS) üzerine etkisi	86
Şekil 4.10 pEV uygulamalarının oksidatif stres indeksi (OSI) üzerine etkisi	87
Şekil 4.11 HACAT ve HDF hücrelerinde C-EV ve B-EV uygulamalarının yara iyileşmesi ile ilişkili gen ekspresyonları	90
Şekil 4.12 C-EV uygulamalarının üç mikroorganizma üzerindeki etkisi (büyüme ölçümü)	91
Şekil 4.13 B-EV uygulamalarının üç mikroorganizma üzerindeki etkisi (büyüme ölçümü)	92

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Primerler, ileri (F) ve geri (R) diziler 5'→3' yönünde verilmiş ve özgüllükleri doğrulanmıştır	71
--	----

1. GİRİŞ

Biyoteknoloji, son yıllarda moleküler düzeydeki yenilikçi yaklaşımlarla sağlık ve kozmetik alanlarında önemli bir dönüşüm yaratmaktadır. Bu gelişmelerin merkezinde, hücreler arası iletişimi düzenleyen biyolojik yapılar arasında yer alan eksozomlar bulunmaktadır. Eksozomlar, 30–150 nm boyutunda, lipid zarfla çevrili nano veziküller olup proteinler, lipidler, nükleik asitler ve metabolitler gibi biyolojik bilgi taşıyıcıları içerir. Hücrelerden salınan bu yapılar, hedef hücrelere içeriklerini aktararak proliferasyon, migrasyon, farklılaşma ve metabolik süreçlerin düzenlenmesinde kritik rol oynar. Dolayısıyla, eksozomlar hücreler arası iletişimin yanı sıra doku rejenerasyonu ve hastalıkların tedavisine yönelik potansiyel uygulamalarıyla dikkat çekmektedir. Cilt, vücudun en büyük organı olarak yalnızca dışsal faktörlere karşı fiziksel bir bariyer görevi üstlenmekle kalmaz; aynı zamanda homeostazın korunması, immün yanıtın düzenlenmesi ve patojenlere karşı savunma gibi yaşamsal işlevlere sahiptir. Cilt bütünlüğü bozulduğunda devreye giren yara iyileşmesi süreci, proliferasyon, doku yeniden yapılanması ve hücreler arası iletişim gibi karmaşık moleküler olayları içerir. Bu süreçte keratinositler ve dermal fibroblastlar merkezi bir rol oynamakta olup, iletişim mekanizmaları arasında eksozomlar da önemli bir araçtır. Son yıllarda, bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküller (Plant Derived Exosome Like Nanoparticles, pEV'ler), kozmetik ve rejeneratif tıp alanlarında yenilikçi bir biyoteknolojik araç olarak öne çıkmaktadır. pEV'ler, doğal içerikleriyle yalnızca hücresel proliferasyonu ve metabolik aktiviteleri desteklemekle kalmaz; aynı zamanda oksidatif stresin azaltılması, antimikrobiyal etki gösterilmesi ve senesens süreçlerinin düzenlenmesi gibi biyolojik işlevlerde de rol oynayabilmektedir. *Cannabis sativa* (kenevir) kaynaklı pEV'ler, kanabinoidler, fenolik bileşikler, flavonoidler ve yağ asitleri açısından zengindir. Bu bileşenler, hücre proliferasyonunu destekleyerek doku yenilenmesine katkı sağlamakta; ayrıca antimikrobiyal ve antifungal etkileriyle yara iyileşme sürecini olumlu yönde etkileyebilmektedir. Bununla birlikte, fenolik bileşikler ve kanabinoidlerin senesens üzerinde düzenleyici potansiyeli de rapor edilmiştir. *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) kaynaklı pEV'ler ise glukosinolatlar, sulforafan ve fenolik bileşikler bakımından öne çıkmaktadır. Özellikle sulforafan ve fenolik bileşiklerin, hücre farklılaşmasını ve yara iyileşmesini destekleyici etkileri bilinmektedir. Ayrıca bu

bileşenler, oksidatif stresin azaltılmasına ve senesens süreçlerinin modülasyonuna katkı sağlayarak hücre sağlığının korunmasına aracılık etmektedir. Glukosinolat türevlerinin antimikrobiyal etkileri ise yara iyileşmesinde ek bir avantaj sunmaktadır. Bu çalışma, *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* kaynaklı pEV'lerin HaCaT keratinositleri ve insan dermal fibroblastlar üzerindeki yara iyileşme, antimikrobiyal, antifungal ve senesens düzenleyici etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemeyi hedeflemektedir. Elde edilecek bulgular, bitkisel eksozomların moleküler ve hücresel düzeydeki rollerini ortaya koyarak modern kozmetik ve rejeneratif uygulamalara yönelik bilimsel bir temel sunacaktır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Eksozomlar ve Bitki Kaynaklı Eksozom Benzeri Nanopartiküller (pEV)

Eksozomlar, tüm hücre tipleri tarafından çeşitli (pato)fizyolojik durumlarda salgılanabilen hücre dışı veziküllerdir (extracellular vesicle, EV). Bu veziküller, hücrelerin yakın veya uzak diğer hücrelerle iletişim kurmasını sağlayan transmembran proteinler, sitozolik proteinler ve RNA içeren lipid çift tabakasından oluşan nano- ile mikro boyutlu heterojen yapılardır (Tkach ve Théry, 2016; Willms vd., 2018). EV'ler biyofiziksel özellikleri ve biyogenez mekanizmalarına dayanarak üç ana grupta incelenmektedir: eksozomlar, mikroveziküller ve apoptotik cisimcikler (Pugholm vd., 2015; Willms vd., 2018). Özellikle eksozomlar, endositoz sürecinde erken endozom membranlarında meydana gelen içe doğru invajinasyonlar sonucu oluşan multiveziküler cisimciklerin plazma membranı ile kaynaşmasıyla hücre dışına salınır (Bozkurt, 2018; Denzer vd., 2000). İlk olarak 1983 yılında Pan ve Johnstone tarafından gözlemlenen bu yapılar, retikulositler üzerinde işaretlenmiş transferrin reseptörlerinin veziküllere paketlenmesi ile tanımlanmış ve 1989 yılında “eksozom” olarak adlandırılmıştır (Edgar, 2016; Li vd., 2018; Zhang vd., 2015). Eksozomlar, vücuttaki hemen tüm hücreler tarafından hem normal hem de patolojik koşullarda üretilebilir ve kan, idrar, beyin-omurilik sıvısı, anne sütü, serum, plazma, safra, eklem sıvısı ve ağız içi salgılar gibi birçok biyolojik sıvıda bulunabilir (Zerlinger vd., 2015).

Bitki ve hayvan kaynaklı eksozomlar, yapısal ve fonksiyonel olarak önemli benzerlikler taşıırken, bazı temel farklılıklar da göstermektedir. Özellikle yenilebilir bitkilerden elde edilen bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküller (plant-derived exosome-like nanoparticles, pEV), 2009 yılında başarılı şekilde izole edilmiştir (Regente ve ark., 2009). pEV'ler, yenilebilir özellikleri sayesinde oral yolla uygulanabilme avantajı taşımakta ve türler arası hedefleme yoluyla gen ekspresyonunun düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, hücreler arası biyomolekül taşınımını kolaylaştırmakta, sinyal iletimini desteklemekte ve RNA işlenmesine aracılık etmektedir (Théry vd., 2018; Van Niel vd., 2018). Hayvan hücrelerinden elde edilen eksozomlar genellikle büyük ölçekli hücre kültürü gerektirmekte, düşük verim sunmakta ve bazı izoformlarının immünojenik

özellikler taşıdığı bilinmektedir (Shen ve Lane, 2023; Zhao vd., 2021). Buna karşılık, pEV'ler yüksek verim, kısa izolasyon süresi, geniş biyolojik erişilebilirlik ve düşük immünojenite gibi avantajlar sergilemektedir (Dad vd., 2021). Ayrıca, bazı hayvan hücre eksozomlarının lizozomlar tarafından hızla degradasyona uğramasına karşın, pEV'ler sağlıklı dokularda daha düşük sitotoksik etki göstermekte ve özgül endositoz mekanizmaları sayesinde hedef dokulara etkin biçimde yönlendirilebilmektedir (Umezu vd., 2021). Bu özellikler, pEV'leri biyoyumlu ve stabil yapılar olarak tanımlamakla kalmaz; aynı zamanda temel biyolojik süreçlerde ve terapötik uygulamalarda incelenmesi önemli adaylar hâline getirir. Bu nedenle, bitki kaynaklı ELN'lerin biyolojik işlevleri, moleküler taşıma kapasiteleri ve potansiyel uygulamaları üzerine sistematik araştırmaların artırılması, hem bilimsel bilgi birikimi hem de endüstriyel uygulamalar açısından kritik bir gereklilik olarak öne çıkmaktadır (Regente vd., 2009).

2.1.1 Eksozomların yapısı ve biyolojik fonksiyonları

Eksozomlar, küçük endozomal kaynaklı membran mikrovezikülleri olarak tanımlanmakta ve son yıllarda hem temel biyoloji hem de terapötik uygulamalar açısından artan bir ilgi görmektedir (Johnstone vd., 1987). İlk olarak 1980'lerin sonlarında ekstraselüler alanda varlıkları tespit edilen eksozomlar, başlangıçta hücre hasarının bir sonucu olarak ortaya çıkan atık ürünler veya hücre homeostazının yan ürünleri olarak düşünülmüş ve komşu hücreler üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı kabul edilmiştir (Johnstone vd., 1987). Ancak günümüzde, eksozomların proteinler (Simpson vd., 2009), lipidler (Vidal vd., 1989) ve nükleik asitler (Simpson vd., 2009; Valadi vd., 2007; Waldenström vd., 2012) gibi karmaşık biyolojik içerikleri taşıyarak, karşılaştıkları hedef hücreleri yeniden programlayabilecek fonksiyonel araçlar olduğu anlaşılmıştır. Bu özellikleri ile eksozomlar, immün yanıt (Greening vd., 2015), sinyal iletimi (Gangoda vd., 2015) ve antijen sunumu (Mittelbrunn vd., 2011) gibi birçok hücresel süreçte yeni bir hücreler arası iletişim mekanizması olarak görev alır. Eksozomlar pratikte tüm ökaryotik hücreler tarafından salgılanabildiğinden, kargo içerikleri orijinal hücre tipine ve hücresel durumuna (ör. dönüşmüş, farklılaşmış, uyarılmış veya stres altında) bağlı olarak farklılık gösterebilir. Bu nedenle eksozomlar, kronik inflamasyon (Lässer vd., 2012), kardiyovasküler ve böbrek hastalıkları (Kishore vd., 2016; Mittelbrunn vd., 2011),

nörodejeneratif hastalıklar (Howitt ve Hill, 2016), lipid metabolizma bozuklukları (Record vd., 2011) ve tümörler gibi birçok patolojik durumda prognostik bilgi sağlayabilir. Geleneksel olarak hücreler, doğrudan hücre–hücre teması veya hormon ve sitokinler gibi salgılanan çözünür faktörler yoluyla iletişim kurarken, eksozomlar artık hücreye özgü protein, lipid ve nükleik asit içerikleri ile yeni bir iletişim mekanizması sağlamaktadır (Camussi vd., 2010; Simons ve Raposo, 2009). Eksozomlar, hedef hücreler ile etkileşime girerek davranış ve fenotip özelliklerini etkileyebilir; bu etki reseptör–ligand etkileşimleri, membran füzyonu veya endositoz yoluyla internalizasyon aracılığıyla gerçekleşir (Tian vd., 2010). İçerikleri endozomlarla kaynaştığında, protein, lipid ve RNA’lar hedef hücre sitoplazmasına taşınarak epigenetik ve gen ekspresyon düzeyinde düzenleyici roller üstlenebilir (Khalyfa ve Gozal, 2014). Eksozomlar, kendilerine özgü biyolojik olarak aktif kargoyu taşıyan membran ile çevrili “sinyalozomlar” olarak düşünülebilir. Özellikle bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküller, proteinler, lipitler, mikroRNA’lar (miRNA) ve sekonder metabolitler içerir; her bir bitki türüne özgü bu içerik, hem hücresel alım ve hedefleme mekanizmalarını hem de gen ekspresyonunun düzenlenmesini etkileyerek biyolojik aktivitelerini belirler (Subha vd., 2023). Dolayısıyla, eksozomlar ve bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküller, yapı ve fonksiyonel içerikleri sayesinde hücresel süreçlerin yeniden düzenlenmesinde önemli bir rol üstlenmektedir.

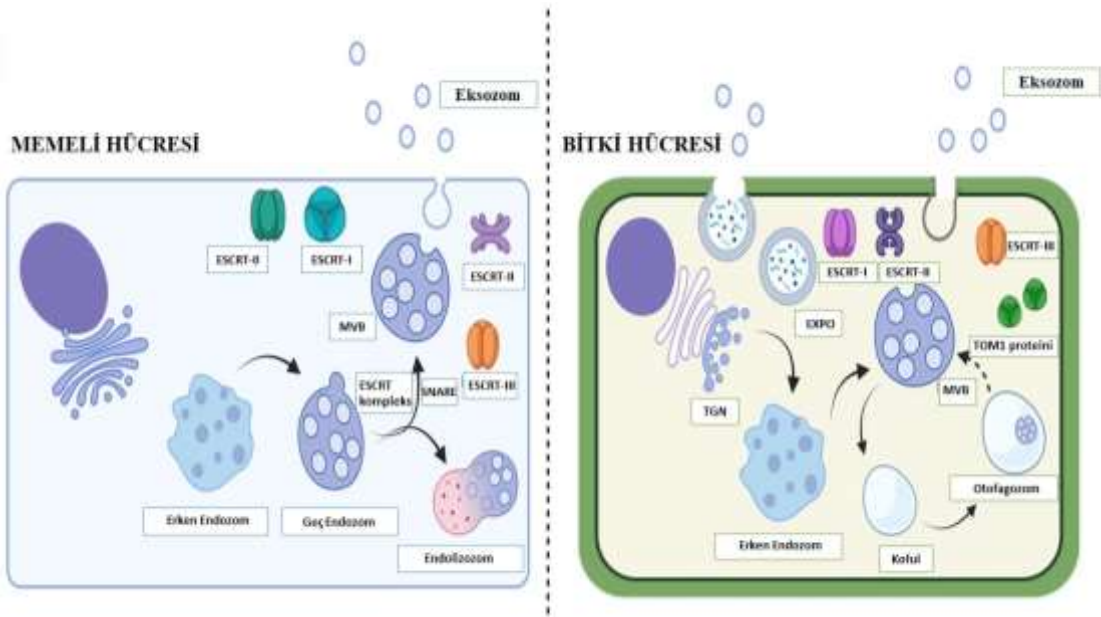
2.1.2 Eksozomların biyogenezi (Oluşum süreci)

Eksozomlar, lipid membranla çevrili ve çeşitli biyolojik olarak aktif bileşenler taşıyan nanoparçacıklar olup, ekstraselüler veziküllerin özel bir türünü oluşturur. Bu yapılar, endositik yollardan kaynaklanmakta ve geç endositoz sırasında membran invajinasyonu ile Multiveziküler Cisimler (MVB’ler) içinde intraluminal veziküller (ILV’ler) oluşmaktadır (Zhang ve Lyden, 2019) (Şekil 2.1). Erken endozom membranları ile bütünleşerek üretilen ILV’ler, MVB’ler içinde paketlenir ve daha sonra plazma membranı ile kaynaşarak içeriklerini hücre dışına salar (Pegtel ve Gould, 2019). ILV’lere yüklenen protein ve diğer moleküller sıkı bir düzenlemeye tabidir; örneğin proteinlerin çoğu ubiquitinasyon gibi post-translasyonel modifikasyonlar taşır (Joshi vd., 2020; Sahu vd., 2011). Memeli hücrelerinde eksozom biyogenezi yoğun biçimde incelenmiş ve bu

süreçte ESCRT (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) sistemi kritik bir rol üstlenmiştir (Colombo vd., 2013; Gurung vd., 2021). ESCRT, dört alt kompleksten (ESCRT-0, -I, -II ve -III) oluşur ve her biri çok sayıda proteinden meydana gelir. ESCRT-0, ubiquitin ile işaretlenmiş proteinleri tanır ve plazma membranı üzerinde kümeler; Hrs ve STAM alt birimleri bu süreçte kargoyu tanır ve ESCRT-1'in TSG101 proteini ile etkileşime girerek kargonun MVB'lere taşınmasını sağlar. ESCRT-I, kargo yoğunlaşmasını yönetirken, ESCRT-II heterotetramerik yapısı ile süreci destekler. Son olarak ESCRT-III, CHMP oligomerleri ve ATPaz VpS4p/SKD1 ile işbirliği yaparak membran boyun bölgesinin daralmasını ve vezikülün kopmasını sağlar; böylece eksozom salınımı için gerekli enerji temin edilmiş olur. Salınan eksozomlar, belirli SNARE proteinleri aracılığıyla hücre dışına taşınır (Colombo vd., 2013; Gurung vd., 2021). Bitki hücrelerinde endositik yolak memeliler kadar detaylı bilinmemekle birlikte, benzer mekanizmalar gözlemlenmektedir. Plazma membranından içeri alınan proteinler Erken Endozomlar (EE) üzerinden Trans Golgi Ağı'na (TGN) yönlendirilir; TGN'nin bir alt birimi MVB'lere olgunlaşır (An et al., 2007). Bitki hücrelerinde ESCRT-0 bulunmaz, ancak TOM-1 benzeri proteinler (TOL) N-terminal VHS domainleri ile erken endozomal yapılara lokalize olarak ESCRT-0 fonksiyonunu üstlenebilir. FREE-1 proteini ise MVB'lerde ESCRT-I ile etkileşerek kargonun olgun MVB'lere dahil edilmesini sağlar ve ubiquitin bağlanabilirliği sayesinde biyogenezde ek rol oynar (Cui vd., 2016). Genel olarak, bitki eksozom biyogenezi memelilerle benzer temel mekanizmalara sahiptir ve MVB'lerin sıralanması ve olgunlaşması büyük ölçüde ESCRT komplekslerinin aktivitelerine bağlıdır (Colombo vd., 2014; Kowal vd., 2014). Bununla birlikte, bitkiler eksozom üretimi için memelilerden farklı bir yolak da kullanır. Arabidopsis ve *Nicotiana tabacum*'da tanımlanan Ekzosist Pozitif Organeller (EXPO), otofagozomlara benzeyen çift membranlı yapılar olup endositik yolak üzerinden ilerlemez ve lizozomal bileşenlerle kaynaşmaz. Bunun yerine plazma membranı ile kaynaşarak hücre duvarına tek membranlı veziküller salar (Wang vd., 2010). Ayrıca pEV'ler üç klasik yoldan köken almaktadır: vakuoler yol, çok veziküllü cisimcikler (MVB'ler) ve EXPO yolları. Vakuoler yol, vakuollerin plazma zarı ile kaynaşmasını içerir ve bu süreç, hücreyi patojenik tehditlere karşı korumaya katkıda bulunan hidrolitik enzimler ile savunma ile ilişkili bileşenlerin salınımına yol açar (He vd., 2022). MVB yolu, endositoz yoluyla sitoplazmik zarın tomurcuklanması ve erken endozomların oluşumu ile başlar; protein,

lipid, metabolit ve küçük molekülleri içselleştirir. Erken endozomların organellerle kaynaşması, çeşitli kargoların kazanılmasını kolaylaştırır. Sonrasında, erken endozomlar MVB'lere olgunlaşır ve ya lizozomlarla kaynaşarak yıkıma uğrar ya da plazma zarıyla

birleşerek apoplastik alana pEV'ler şeklinde salınır (Colombo vd., 2014; Hanson ve Cashikar, 2012). EXPO yolu, bitkilerde endozomal ve otofagozomal sistemlerden bağımsız işleyen geleneksel olmayan bir salgı yolunu temsil eder. Sitoplazmik taşıyımı aracılık eden otofagozom benzeri çift zar yapıları, plazma zarı ile kaynaşarak hücresel kargo içeren tek zarla çevrili vezikülleri apoplastik alana salar. Merkezi vakuollerin MVB'lerin küçük vakuollere (SV'ler) dönüşmesi ve ardından bu SV'lerin kaynaşmasıyla ortaya çıkmıştır (Wang vd., 2010). Bu bulgu, pEV biyogenezinde rol alan çeşitli salgı yolları arasında potansiyel bir bağlantıya işaret etmektedir.



Şekil 2.1 Memeli hücrelerinde ve bitki hücrelerinde eksozomların biyogenez (Subha vd., 2023)

2.1.3 pEV'lerin bileşimi

pEV'ler, proteinler, lipidler, nükleik asitler (DNA, mRNA, miRNA gibi) ve ikincil metabolitler de dahil olmak üzere son derece heterojen biyomoleküler bileşenlerden oluşur ve bu bileşenler farklı fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynar (Lian vd.,

2022; Teng vd., 2018). pEV'lerin moleküler yapısının bitki türü ve dokusuna bağlı olarak büyük farklılık göstermesi, doğru bir bileşimsel profilin çıkarılmasını kalite kontrol ve sonraki uygulamalar açısından kritik hale getirmektedir (Modani vd., 2021).

Proteinler, pEV'lerin en baskın bileşenlerinden biridir. Bu fraksiyon, aktin ve proteazlar gibi sitozolik proteinleri ve taşıma ile sinyal iletiminde görev alan membran ilişkili proteinleri içerir. Memeli kaynaklı eksozomlarda, eksozomların antikor temelli yöntemlerle tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan TSG101, CD9, CD63, CD81 ve CD82 gibi protein belirteçleri ile aktin, syntenin, moesin ve albümin gibi yapısal proteinler bulunmaktadır (Modani vd., 2021). Ancak bu belirteçlerin pEV'ler için geçerli olup olmadığı belirsizdir ve bu durum, bitkiye özgü belirteçlerin tanımlanıp doğrulanmasını gerekli kılmaktadır. En önemli zorluklardan biri, bitkilere özgü antikorların sınırlı sayıda olmasıdır. Bu eksiklik, memeli sistemlerinde yaygın kullanılan doğrulama tekniklerinin pEV çalışmalarına aktarılmasını engellemektedir. Ayrıca bitki türleri arasındaki heterojenlik ve pEV bileşimindeki çeşitlilik, evrensel belirteçlerin tanımlanmasını daha da karmaşık hale getirmektedir. Bu sorunun aşılması için farklı bitki türleri üzerinde yapılacak proteomik çalışmalar, korunmuş ve bol bulunan membran proteinlerinin belirlenmesine katkı sağlayabilir. Bu proteinler üzerinden bitkiye özgü monoklonal ya da rekombinant antikorlar üretilebilir. Böylece, pEV'ler için standart belirteç panelleri ve ortak protein veri tabanlarının oluşturulması, bu alandaki çalışmaların doğrulanmasını ve karşılaştırılabilirliğini kolaylaştıracaktır. Olası adaylardan biri olan tetraspaninler (TETs), pEV'lerde zengin olarak bulunur ve membran organizasyonu, vezikül taşıması ve moleküler tanıma süreçlerinde önemli rol oynar (Jimenez-Jimenez vd., 2019). Ayrıca pEV'lerde, hücre duvarı biyogenezi ve yeniden şekillenmesinde işlev gören ve fungal patojenlere karşı dirençte kritik olan bitkiye özgü sekretuar proteinlerden syntaxin pEV1 tanımlanmıştır (Assaad vd., 2004; Waghmare vd., 2018). Bunun yanı sıra, pEV'lerde Ras ilişkili Rab GTPazlar ile pEV1'in oluşturduğu kompleksler, membran füzyonunu kolaylaştırmakta ve vezikül taşımasını düzenlemektedir (Nielsen ve ark., 2012). Ayrıca, kitinazlar, peroksidazlar ve β -glukosidazlar gibi savunma ile ilişkili proteinler de pEV'lerde tanımlanmıştır (Samuel ve ark., 2015).

pEV'lerin lipid bileşimi, memeli kaynaklı eksozomlardan belirgin şekilde farklılık göstermektedir. Memeli eksozomları genellikle kolesterol, sfingolipitler, seramidler, fosfolipitler (fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin, fosfatidilinozitol) ve GM3 gibi glikosfingolipitler açısından zengindir (Skotland ve ark., 2017; Nishio ve ark., 2020; Record ve ark., 2014). Buna karşılık, pEV'lerde fosfatidik asit (PA), fosfatidilkolin (PC), digalaktosil-diasilgliserol (DGDG) ve monogalaktozil-diasilgliserol (MGDG) gibi lipidler baskın olarak bulunur (Teng ve ark., 2018; Karamanidou & Tsouknidas, 2022). Kaynağa bağlı olarak da bileşim değişmektedir: örneğin zencefil ve üzümde elde edilen pEV'lerde PA, greyfurt ve sarımsak kaynaklı olanlarda ise PE ve PC daha baskındır (Zhang ve ark., 2016; Wang ve ark., 2014). pEV'lerde en bol bulunan lipid olan PA, hücreler arası iletişimin düzenlenmesinde kritik rol üstlenmektedir (Regente ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017). Bir diğer çalışmada ise *Lactobacillus rhamnosus*'un GiNV'leri hücre içine alımının PA varlığına bağlı olduğu rapor edilmiştir. Bu bulgular, PA'nın mikrobiyal etkileşimlerde kilit bir düzenleyici olduğunu ortaya koymaktadır (Teng ve ark., 2018).

pEV'ler DNA, mRNA, miRNA ve küçük RNA'ları (sRNA) içermektedir. Bitki miRNA'ları, 3' uçlarında doğal bir 2'-O-metilasyon modifikasyonuna sahiptir; bu özellik, enzimatik yıkıma karşı koruma sağlayarak stabilitelerini artırır (Chin vd., 2016). pEV'lerde tanımlanan birçok miRNA, memeli hücreleri tarafından alınıp farklı fizyolojik ve patolojik süreçlerde terapötik etki gösterebilmektedir (Zhu vd., 2021). Xiao vd. tarafından yapılan çalışmada (2018), 11 farklı yenilebilir meyve ve sebzeden (yaban mersini, hindistancevizi, zencefil, greyfurt, hami kavunu, kivi, portakal, bezelye, armut, soya fasulyesi ve domates) elde edilen pEV'lerin miRNA profilleri analiz edilmiştir (Xiao vd., 2018). Bulgular, türlere özgü farklılıklar olduğunu ve ifade seviyelerinin değiştiğini ortaya koymuştur. Hedef tahmin analizleri, yüksek düzeyde ifade edilen miRNA'ların özellikle inflamasyon ve kanserle ilişkili sinyal yolları ile bağlantılı olduğunu göstermiştir. Örneğin, soya fasulyesi kaynaklı miRNA-5781 IL17A'yı, portakal kaynaklı miRNA-398b ise IL1'i hedeflemekte olup, her ikisi de bağışıklık yanıtında rol oynayan önemli proinflamatuvar sitokinlerdir. Qiu vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada, *Rehmanniae Radix* kaynaklı pEV'lerde yer alan miR-7972'nin proinflamatuvar mediatörleri, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve nitrik oksidi (NO) azalttığını; M2

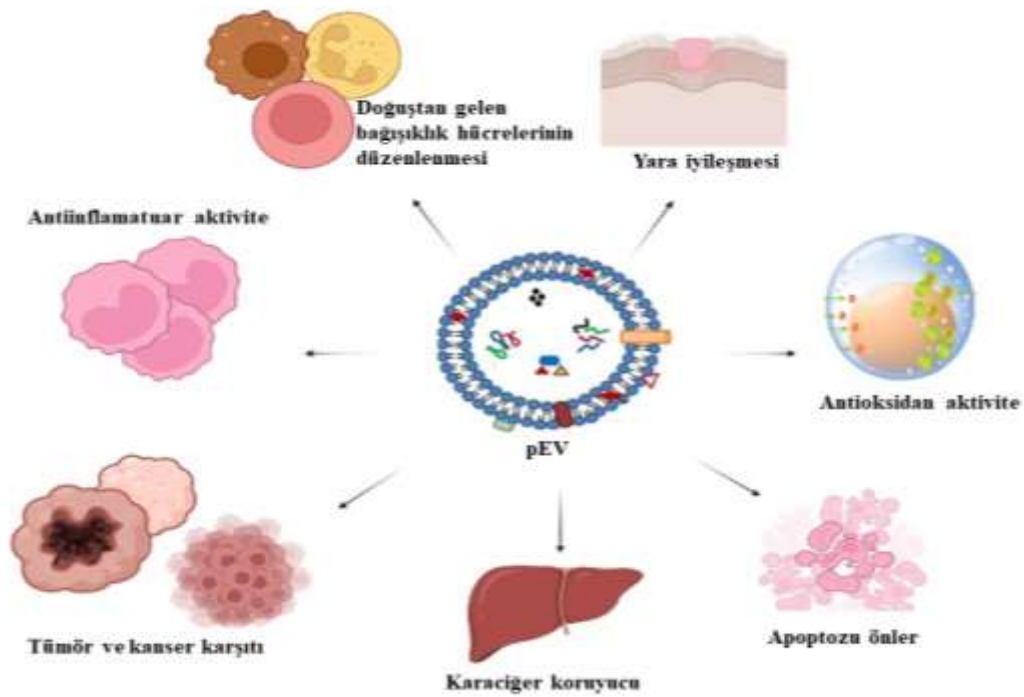
makrofaj polarizasyonunu indüklediğini; GPR161-Hedgehog sinyal yolunu modüle ettiğini rapor etmiştir (Qiu vd., 2023). Bu etkilerin yanı sıra, bağırsak mikrobiyota homeostazının yeniden sağlanmasına da katkıda bulunmuştur. Benzer şekilde, *Moringa oleifera* kaynaklı miRNA-166i inflamasyonun düzenlenmesinde işlev görmektedir (Pirò vd., 2016). Aquilano vd. tarafından yapılan çalışmada (2019), kuruyemiş kaynaklı miR-159a ve miR-156c'nin makrofaj ve adipositlerde TNF- α sinyalini baskılayarak antiinflamatuvar etki gösterdiğini ortaya koyulmuştur (Aquilano vd., 2019). Ayrıca, artan kanıtlar bitki kaynaklı miRNA'ların antitümör potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir. Chin vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, Batı toplumlarından alınan serum örneklerinde yüksek miR159 seviyelerinin meme kanseri insidansı ve ilerlemesi ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir. Bu durum, söz konusu miRNA'nın tümör baskılayıcı rol üstlenebileceğini düşündürmektedir (Chin vd., 2016). Dolayısıyla, pEV'ler bitkilerin miRNA'ları hayvanlara aktarabilmesi için potansiyel bir yol sağlayabilir.

pEV'ler ayrıca, kaynaklandıkları bitkilere özgü karotenoidler, flavonoidler, saponinler ve glukosinolatlar gibi çeşitli ikincil metabolitler açısından da zengindir (Xiao vd., 2018). Örneğin, brokoliden elde edilen pEV'lerde, güçlü antioksidan ve antikanser özellikleriyle bilinen bir izotiyosiyanat olan sülfarofan yüksek miktarlarda rapor edilmiştir. Benzer şekilde, zencefil kaynaklı pEV'lerde antiinflamatuvar etkileri ile bilinen 6-gingerol ve 6-shogaol bileşikler tanımlanmıştır (Chen vd., 2019). Bak vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, 6-shogaol bakımından zengin zencefil ekstraktının Nrf2/ARE sinyal yolunu aktive ederek HO-1 enziminin ekspresyonunu p38 MAPK yoluyla artırdığını, böylece antioksidan etki gösterdiğini bildirilmiştir (Bak vd., 2012). Ayrıca bu bileşik, diethylnitrosamine (DEN) kaynaklı karaciğer hasarında AST, ALT ve lipid peroksidasyonundaki artışları baskılayarak hepatoprotektif özellik göstermiştir. Lei vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada, limon kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerde (LELNs) bulunan galakturonik asit açısından zengin pektin tipi polisakkaritlerin, *Lactobacillus rhamnosus* GG'nin safra direncini artırdığını ortaya koymuştur (Lei vd., 2021).

2.2 Bitki Kaynaklı Eksozom Benzeri Nanopartiküllerin Tıbbi ve Terapötik Uygulamaları

Taze bitki materyalleri, örneğin otlar, tohumlar, sebzeler, meyveler ve bunların ekstraktları, vitaminler, mineraller, lif, proteinler ve diğer besin maddeleri açısından zengin olup, insan sağlığı için faydalı çok yönlü ve besleyici bileşenler içerir. Ayrıca, kanser, kronik hastalıklar ve inflamasyon riskini azaltırlar. Bu nedenle, bitkilerin biyomolekülleri, sağlığı iyileştirme ve çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlama potansiyelleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), dünyada 50.000'den fazla terapötik bitki bulunduğunu belirtmiştir (Ramalingum ve Mahomoodally, 2014; Sasidharan vd., 2011) ve tıbbi bitkiler, modern ilaç keşfi için umut verici doğal kaynaklar sağlamaktadır (Anand vd., 2019; Isah, 2015; Katiyar vd., 2012; Malmir vd., 2018; Palombo, 2011; Salmerón-Manzano vd., 2020). Tıbbi bitkilerden elde edilen birçok doğal biyoaktif bileşik, çeşitli hastalıkların klinik tedavisinde büyük önem göstermiş ve birçok kimyasal ilaç doğal bileşiklerden türetilmiştir. Ancak, bitkilerden ilaç geliştirilmesi, karmaşık bileşimleri ve klinik olarak doğrulanmış kalite standartlarının eksikliği nedeniyle çeşitli zorluklarla ilişkilidir. Bitkilerin terapötik etkinliği, bitkinin birçok bileşenine bağlı olarak bilinmekle birlikte, çoğu bitkinin aktif bileşenleri belirlenmemiş ve değerlendirilmemiştir (Miller, 2001). Bu nedenle, bitki kaynaklı ürünlerin tüm olası aktif bileşenleri içerdiğinden emin olmak, ürünlerin etkinliğini artırmak ve düşük dozlar ile tutarlı kaliteyi sağlamak açısından önemlidir. Bitkisel bileşenler genellikle antioksidan, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, anti-tümörijenik, onarıcı ve rejeneratif etkiler göstererek, doku bütünlüğünün korunması ve kronik yara iyileşmesinin desteklenmesinde önemli rol oynarlar. Bu çok yönlü biyolojik aktiviteler, bitkilerden türetilen biyoaktif moleküllerin yalnızca koruyucu değil, aynı zamanda terapötik ajanlar olarak da değerlendirilebileceğini göstermektedir. pEV'ler doğal olarak oluşur ve ebeveyn hücrelerinden zararsız bileşenler taşır; bunların bazıları terapötik etkileri kanıtlanmış bileşenlerdir. Ayrıca, bu veziküller antioksidan, antiinflamatuar ve doku onarıcı etkiler gösteren molekülleri doğal olarak taşıyabilirler. pEV'ler hedef dokularda lokalize olabilmek özelliğine sahiptir; bu, hedeflenmiş taşıma sisteminin en önemli özelliklerinden biridir. Ancak, pEV'ler nanomedisinde yeni bir kavramdır ve tüm yönleri henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Yenilebilir pEV'lerin terapötik potansiyeli, son zamanlarda çeşitli hastalık modellerinde gösterilmiştir (Şekil 2.2). Antioksidan

savunma, hücresel yenilenme ve antimikrobiyal koruma gibi etkileri, farklı bitkilerden izole edilen pEV'lerin biyolojik aktivitelerinde belirgin şekilde ortaya konmuştur. Çeşitli bitki kaynaklı eksozomlar, belirli hastalıkları tedavi etmek veya vücudun sağlıklı işlevlerini sürdürmek için yeni ilaçların geliştirilmesinde geniş ölçüde uygulanmıştır. Terapötik olarak etkili eksozomların izole edildiği çok çeşitli yenilebilir bitkiler kullanılmıştır.



Şekil 2.2 Bitki eksozomlarının farklı terapötik potansiyellerinin şematik gösterimi (Subha vd., 2023)

Bitkisel eksozomların terapötik etkileri arasında özellikle antioksidan özellikler dikkat çekmektedir. Oksidatif stres, serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkar ve diyabet, nörodejeneratif hastalıklar gibi pek çok patolojinin etiyolojisinde rol oynar. Bitkiler, antioksidan bileşikler açısından zengin olduklarından, pEV'ler bu özellikleri hedef hücrelere taşıyabilir. Havuç köklerinden elde edilen *Carex* preparatı, H_2O_2 ile stres altındaki kardiyomyoblast (H9C2) ve nöroblastoma hücrelerinde ROS artışını önlemiş ve apoptozu doza bağlı olarak inhibe etmiştir (Kim ve Rhee, 2021). Benzer şekilde, yaban mersini ve çilekten elde

edilen eksozomlar, hepatosit ve mezenkimal stromal hücrelerde oksidatif stresi anlamlı ölçüde azaltmıştır (Perut vd., 2021; Zhao vd., 2022). *Citrus limon* kaynaklı eksozomlar, hücrelerin H₂O₂ kaynaklı ölümünü önleyerek ROS üretimini azaltmış ve yüksek miktarda C vitamini taşınmasını sağlamıştır (Baldini vd., 2018).

Ayrıca, antioksidan aktivitelerinin yanı sıra bitki kaynaklı eksozomlar bazı çalışmalarla anti-tümörijenik potansiyelleri açısından da dikkat çekmektedir. Bitki kaynaklı eksozomlar, malign hücrelerde seçici sitotoksikite göstererek kanser tedavisinde potansiyel bir yaklaşım sunmaktadır. Çay çiçeği (*Camellia sinensis*) ve *Dendropanax morbifera* öz suyundan elde edilen eksozomlar, meme ve deri kanseri hücrelerinde ROS üretimini artırarak mitokondriyal hasar ve hücre döngüsü durmasına yol açmıştır (Chen vd., 2022; Kim, Jung, vd., 2020; Kim, Yoo, vd., 2020). Greyfurt ve *Citrus limon* eksozomları, hücre döngüsü inhibitörlerini artırırken pro-apoptotik genleri yukarı regüle ederek tümör büyümesini ve metastazı azaltmıştır (Raimondo vd., 2015; Stanly vd., 2020). Zencefil kaynaklı nanopartiküller ise kolorektal kanser modellerinde tümör boyutunu küçültmüş, apoptozu indüklemiş ve inflamasyonu azaltmıştır (Zhang vd., 2016). Bu çalışmalar, pEV'in malign hücrelerde seçici etki gösterdiğini ve normal hücreleri koruduğunu ortaya koymaktadır.

Bunun yanı sıra, bitki kaynaklı eksozomların rejeneratif ve doku onarımını destekleyici etkileri de çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. *Citrus limon* ve *Aloe vera* kaynaklı nanoveziküller, kollajen sentezini artırarak ve Nrf2 yolunu aktive ederek hücrelerin antioksidan savunmasını güçlendirmiştir (Baldini vd., 2018; Kim ve Rhee, 2021). Bu eksozomlar, keratinosit ve fibroblastların yara bölgesine göçünü teşvik ederek *in vitro* yara iyileşmesini desteklemiştir. Buğday çimi kaynaklı eksozomlar ise HUVEC, HaCaT ve HDF hücrelerinde proliferatif ve migrasyonel etkiler göstermiştir (Şahin vd., 2019).

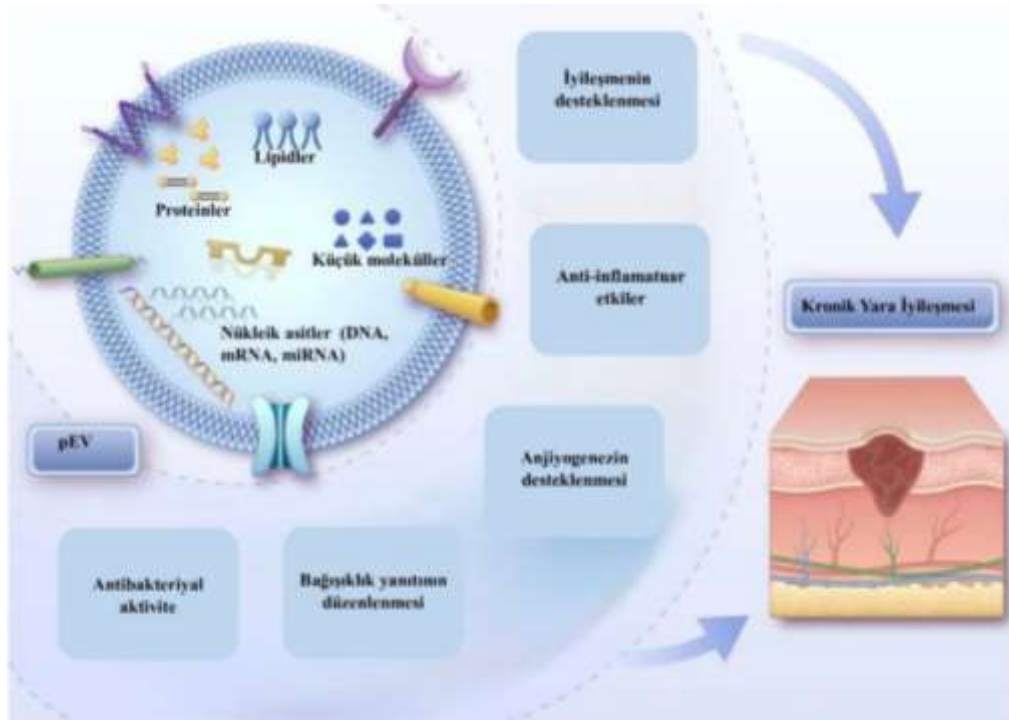
Ayrıca, bitki kaynaklı eksozomların inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesinde önemli roller üstlendiği bildirilmektedir. pEV, pro-inflamatuvar sitokinleri (TNF- α , IL-6, IL-1 β) baskılamak, anti-inflamatuvar sitokinleri (IL-10, IL-22) artırarak inflamasyonu dengelemektedir (Zhang vd., 2016). Üzüm, brokoli ve dut kaynaklı eksozomlar, bağırsak epitel hücrelerinin proliferasyonunu ve immün toleransını destekleyerek kronik

inflamasyonu azaltmıştır (Deng vd., 2017; Ju vd., 2013; Sriwastva vd., 2022). Ayrıca, zencefil kaynaklı eksozomların SARS-CoV-2 kaynaklı akciğer inflamasyonunu hafifletebildiği gösterilmiştir (Teng vd., 2021).

Benzer şekilde, bitki kaynaklı eksozomlar mikrobiyal enfeksiyonlara karşı da koruyucu bir etki göstermektedir. pEV, patojen bakterilere karşı doğrudan ve dolaylı mekanizmalarla etki eder. Zencefil eksozomları, *Porphyromonas gingivalis*'in virülansını azaltırken; Hindistan cevizi suyu eksozomları *E. coli* ve *Lactobacillus plantarum*'u hedef almıştır (Sundaram vd., 2019; Yu vd., 2019). Limon ve greyfurt eksozomları, bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek probiyotik canlılığını artırmış ve patojenlerin büyümesini sınırlamıştır (Lei vd., 2020; Teng vd., 2018). Ayrıca, bal eksozomları *Streptococcus mutans*'ın büyümesini ve biyofilm oluşumunu engelleyerek belirgin antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Deglovic vd., 2022; Leiva-Sabadini vd., 2021; Schuh vd., 2019).

Benzer biçimde, bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin (pEV'lerin) kronik yara iyileşmesi süreçlerinde de önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Şekil 2.3) Kronik yaralar; diyabetik ayak ülserleri, venöz ve arteriyel bacak ülserleri, radyasyon ülserleri, basınç ülserleri ve alerjik egzama ülserleri gibi çeşitli nedenlerle ortaya çıkmaktadır. Diyabetik hastalarda nöropati, zayıf kan dolaşımı ve enfeksiyonlar nedeniyle ayak ülserleri kolayca kronikleşebilir (Burgess vd., 2021; Chen vd., 2024). Venöz yetmezlik, alt ekstremitelerde doku iskemi ve hipoksiye yol açarak iyileşmesi zor venöz bacak ülserlerine neden olur (Raffetto vd., 2020). Arteriyel bacak ülserleri ise yetersiz kan akımı ve nekroz ile ilişkilidir (Hafner vd., 2000). Radyoterapi gören kanser hastalarında, yatakta uzun süre kalan veya tekerlekli sandalyeye bağımlı bireylerde basınç ülserleri ve alerjik egzama ülserleri kronikleşebilir (Mervis ve Phillips, 2019; Pünchera vd., 2025). Kronik yara iyileşmesi; hücre proliferasyonu ve migrasyonu, inflamatuvar yanıt, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu, ekstraselüler matriks depolanması ve yeniden şekillenme gibi sıkı biçimde koordine edilen biyolojik süreçleri içerir (Pastar vd., 2023; Veith vd., 2019; Wilkinson ve Hardman, 2020). Mevcut çalışmalar, pEV'lerin bu süreçleri destekleyebileceğini göstermektedir. pEV'ler, hücre proliferasyonu ve migrasyonunu artırabilir, inflamatuvar yanıtı düzenleyebilir, anjiyogenezi teşvik edebilir ve ekstraselüler matriks oluşumunu kolaylaştırabilir (Wu vd., 2024). pEV'lerin içerdiği

proteinler, lipidler ve nükleik asitler; hücre proliferasyonu, göçü ve diferansiyasyonunu destekleyerek yeni dokunun oluşumunu kolaylaştırır ve kronik yara iyileşme sürecini hızlandırır. Örneğin, *Physalis peruviana* meyvesinden elde edilen pEV'ler, insan deri fibroblastlarının proliferasyonunu ve göçünü artırmış, Tip I kolajen ekspresyonunu yükselterek yara iyileşmesini desteklemiştir (Natania vd., 2025). *Aloe vera* kabuğundan izole edilen pEV'ler, insan keratinositleri ve fibroblastlarının proliferasyon ve göçünü artırmış, reaktif oksijen türlerini (ROS) azaltarak antioksidan etki göstermiştir (Kim vd., 2021). *Solanum lycopersicum* (domates) kaynaklı pEV'ler, insan keratinositleri ve fare fibroblastlarında hücre göçünü indükleyerek yara iyileşmesini teşvik etmiş ve kronik yara tedavisinde terapötik potansiyelini ortaya koymuştur (Daniello vd., 2024). Son olarak, greyfurt kaynaklı pEV'ler, insan epidermal keratinositlerinde hücre canlılığını ve migrasyonu artırarak kronik yara iyileşmesini desteklemiştir (Savcı vd., 2021).



Şekil 2.3 Kronik yara iyileşmesinde bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin (pEV) rolü (Wu vd., 2024)

2.3 Kenevir (*Cannabis sativa*)

Cannabis sativa L., en eski kültüre alınmış bitki türlerinden biridir ve tarih boyunca insan toplumları tarafından çeşitli kullanım alanları nedeniyle değer görmüştür (Şekil 2.4). Genellikle marijuana veya kenevir olarak adlandırılan bu bitki, farklı kültürler ve bölgelerde birçok isimle bilinmektedir. Terapötik kullanımı binlerce yıl öncesine dayanmakta olup, Geleneksel Çin Tıbbı, Ayurveda ve Avrupa ile Arap medikal uygulamalarında faydaları belgelenmiştir. Yaklaşık 5000 yıl önce, Çin’de kenevir tohumları yorgunluk, sıtma ve iltihapların tedavisinde kullanılmıştır. Asur ve Mısır toplumlarında, bitki ruh hâlini iyileştirici ve analjezik özellikleri nedeniyle değer görmüştür. İlginç bir şekilde, Avrupa’nın bazı bölgelerinde kenevir, aristokratlar arasında tatlılarda bir statü sembolü olarak kullanılırken, aynı zamanda kilise tarafından büyücülükle ilişkilendirilmesi sebebiyle yasaklanmıştır. Buna karşılık, Arap toplumlarında kullanımı alt sınıflar arasında daha yaygındı (Bonini vd., 2018; Kopustinskiene vd., 2022). Uzun geçmişine rağmen, *C. sativa* günümüzde hâlâ birçok bölgede kontrollü madde olarak sınıflandırılmaktadır. On yıllar boyunca yasal kısıtlamalar, bilimsel araştırmaları engellemiş ve bu bitkinin terapötik potansiyeli ile olası riskleri hakkında kapsamlı bir anlayışın gelişmesini geciktirmiştir. Ancak son zamanlarda, dünya genelinde artan yasallaştırma ve suç olmaktan çıkarma hareketleri, bitkinin yetiştiriciliği, farmakolojisi ve tıbbi kullanımları üzerine araştırmaların yeniden canlanmasını sağlamıştır (Simiyu vd., 2022). Psikoaktif etkilerinin ötesinde, Cannabis, çeşitli sağlık durumlarının tedavisinde umut verici özellikler gösteren biyolojik olarak aktif bileşikler içermektedir. Bunlar arasında beslenme bozuklukları, diyabet, kronik ağrı, multipl skleroz kaynaklı rahatsızlıklar, inflamasyon ve Parkinson, Alzheimer, Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklar, epilepsi ve kanserle ilişkili ağrı yer almaktadır (Namdar vd., 2018).



Şekil 2.4 Kenevir bitkisi (Xu vd., 2022)

2.3.1 Kenevirin botanik özellikleri

Cannabis sativa L. (Cannabaceae), tek yıllık ve ayrı eşeyli (dioecious) çiçek açan bir bitkidir. Kenevirin kökeni yaklaşık MÖ 5000 civarında Orta Asya'ya dayanmaktadır ve binlerce yıl boyunca lif, yağ üretimi ve çeşitli geleneksel amaçlarla değerlendirilmiştir. Bitki, kannabinoidler, terpenoidler, flavonoidler, alkaloidler ve diğer birçok biyolojik olarak aktif bileşik içermektedir. Kannabinoidler, bitkiye özgü terpenofenolik bileşikler olup esas olarak trikomların boşluklarında birikirler ve *Cannabis sativa*'dan 80'den fazla farklı kannabinoid izole edilmiştir; bunlar arasında en önemli psikoaktif bileşik Δ^9 -tetrahidrokannabinoldür (THC) ve tıbbi etkileri iyi bilinmektedir. Günümüzde araştırma ve farmasötik amaçlar dışında, kenevir yetiştiriciliği çoğu ülkede yasaklanmıştır (Appendino vd., 2011; Brenneisen, 2007; Elbatsh vd., 2012; Elsohly ve Slade, 2005; Elsohly vd., 1978; Kim ve Mahlberg, 1997; Ross ve ElSohly, 1996; Vanhoenacker vd., 2002). Kenevir bitkileri hem tohumla (cinsel üreme; açık alan) hem de gövde çelikleriyle (aseksüel üreme; kapalı alan) çoğaltılabilir ve her iki yöntemin avantajları ve dezavantajları vardır (Williamson, 2004). Bitki, güçlü bir ana kök sistemi ve dik gövdelere sahiptir; gövdeleri açılı, oluklu ve dallıdır, bazen nodlarda boşluklar bulunur. Boyları 1 ila 6 metre arasında değişir ve dallanma karşılıklı veya tek sıra şeklindedir. Kökler genellikle 30-60 cm derinliktedir, gevşek topraklarda 2,5 metreye kadar inebilir. Yapraklar yeşil ve el ayası şeklinde olup yedi lobludur; yaprakçıkların boyut ve şekli

genetik kökene bağlı olarak değişiklik gösterir. Yaprak dizilimi karşılıklı, tek sıra veya spiral olabilir; yaprakçıklar 6-11 cm uzunluğunda ve 2-15 mm genişliğindedir, kenarları kaba dişlidir. Yaprak yüzeyleri yeşil olup seyrek reçineli trikomlarla kaplıdır. Çiçek salkımları, her yaprak koltuğundan çıkan uzun saplarda çok sayıda çiçek başından oluşur. Erkek çiçekler 2,5-4 mm uzunluğunda, açık yeşil ve tüylüdür; 5 sepal ve 5 sarkık stameni bulunur. Dişi çiçekler neredeyse saplıdır ve çiftler halinde dizilir. Meyve (tohum) aken tipindedir; sert bir kabuğa sahip olup ovaryum duvarıyla sıkıca sarılmıştır. Tohumlar ellipsoid, hafif basık, pürüzsüz ve genellikle kahverengimsi benekli olup 2-5 mm uzunluğundadır (Fleming ve Clarke, 1998). Mikroskopik olarak, Kenevir trikomları bezli (glandüler) ve bezsiz olmak üzere farklı türler içerir. Dişi bitkilerde glandüler trikomlar baloncuklu, sessil ve saplı kapitat tipte bulunurken, erkek bitkilerde anter bezli dördüncü bir tip gözlemlenmiştir. Bu trikomlar, salgı hücreleri ve sap hücrelerinden oluşan işlevsel hücre dizileriyle farklı biyolojik roller üstlenir (Kim ve Mahlberg, 1997). Taksonomik açıdan, *Cannabis* cinsi tek türden oluşur ve bu tür *Cannabis sativa* olarak kabul edilmektedir. Tarihsel olarak *C. indica* ve *C. ruderalis* alt türleri de tanımlanmıştır; ancak modern sınıflandırmalarda genel kabul, Kenevir'in monotipik yani tek türden oluştuğudur. Bitki, geçmişten günümüze farklı yetiştirme ve seleksiyonlarla çeşitlendirilmiş olup, lif keneviri, yağ tohumu keneviri ve uyuşturucu kenevir gibi kullanım amaçlarına göre ayrılmıştır. (Beutler ve Marderosian, 1978; Small, 1978).

2.3.2 Kenevirin kimyasal içeriği

Kenevir, farklı biyolojik ve kullanım amaçlarına göre çeşitlenen bir bitki olup, en yaygın olarak kenevir (hemp) ve esrar (marijuana) türleri ile temsil edilir. Kenevir türleri, uzun boyları ve hızlı büyüme özellikleri ile öne çıkarken, esrar çeşitleri yüksek miktarda psikoaktif tetrahidrokannabinol (THC) ve kannabidiol (CBD) içerir ve tıbbi ya da rekreasyonel kullanım için tercih edilir. Bitkinin tür çeşitliliği, saf *Cannabis* cinsi (*C. sativa*, *C. indica*, *C. ruderalis*) veya melez formlar üzerinden de sınıflandırılabilir. Kemotaksonomik yaklaşımlar, kenevirin özellikle THC ve CBD içeriklerine göre ayrımını sağlar (de Meijer vd., 2003; Small ve Cronquist, 1976). Kenevirde bulunan kannabinoidler, bitkiye özgü terpen-fenolik bileşiklerdir ve biyolojik olarak aktif en önemli bileşen grubunu oluştururlar. Bu bileşiklerin büyük kısmı fitokannabinoidler

olarak adlandırılır; yani bitkisel kaynaklı doğal kannabinoidlerdir. Günümüzde kenevirin 320'den fazla fitokimyasal bileşik içerdiği bilinmektedir; bunların 125'i kannabinoid, 198'i ise kannabinoid dışı bileşiklerdir (Radwan vd., 2021). Fitokannabinoidler arasında özel bileşikler olarak kannabigerol (CBG), kannabikromen (CBC), kannabidivarin (CBDV) ve tetrahidrokannabivarin (THCV) yer alır. Bu bileşikler, bitkinin biyosentetik yollarında öncül veya türev formda bulunarak çeşitli fizyolojik etkiler gösterir. THC ve CBD, sırasıyla psikoaktif ve non-psikoaktif fitokannabinoidlerin en bilinen temsilcileridir. THC, merkezi sinir sistemi üzerinde etki gösteren psikoaktif fitokannabinoidler grubuna dâhilken; CBD, antiinflamatuvar ve nöroprotektif özellikleriyle öne çıkan non-psikoaktif fitokannabinoidler arasında yer alır. Bu bileşiklerin tümü, bitkinin bezeli tüylerinde (trikomalarda) sentezlenir ve kannabigerolik asitten (CBGA) türetilir (Fellermeier vd., 2001). Asidik öncül formları (THCA, CBDA ve CBCA), ısı veya ışık etkisiyle dekarboksilasyona uğrayarak aktif hâle gelir. Kannabinoidlerin çözünürlük, biyoyararlanım ve farmakokinetik özelliklerini artırmak amacıyla çeşitli formülasyon stratejileri geliştirilmiştir (Abd-Elsalam vd., 2019; Bruni vd., 2018; Stella vd., 2021). Ayrıca, kenevirde 42 fenolik bileşik, 34 flavonoid ve çok sayıda terpen bulunmakta olup, bu bileşikler antioksidan, antiinflamatuvar ve nöroprotektif aktiviteler göstermektedir (Bautista vd., 2021; Pollastro vd., 2018; Radwan vd., 2021). Alkaloidler ise çoğunlukla köklerde sınırlı miktarda tespit edilmiştir ve iltihap ve ağrı yönetiminde etnobotanik öneme sahiptir (Elsohly vd., 1978; Ryz vd., 2017).

Kannabinoidler, kenevirin en dikkat çekici ve araştırılan kimyasal bileşik grubunu oluşturur. Yapısal olarak terpenofenolik iskelete sahip olan bu moleküller, insan vücudundaki endokannabinoid sistemi üzerinde önemli bir rol oynar. Endokannabinoid sistemin ana reseptörleri olan CB1 ve CB2, kannabinoidlerin bağlandığı başlıca hedeflerdir. CB1 reseptörleri özellikle merkezi sinir sistemi ve beyinde yoğunlaşırken, CB2 reseptörleri daha çok bağışıklık sistemi hücrelerinde bulunur ve immün yanıtın düzenlenmesinde görev alır (Morales ve Reggio, 2017).

Fitokannabinoidler, Kenevir bitkisinde yoğun olarak bulunan C21 veya karboksile formları için C22 terpenofenolik bileşikler grubunu oluşturur. Kenevir dışında bazı bitkilerde de düşük düzeylerde bulunabilmelerine rağmen, bu konuya dair bilgiler halen

sınırlıdır (Gertsch ve ark., 2010). Literatürde 90'dan fazla farklı kannabinoid tanımlanmış olup, bunların bir kısmı bozunma ürünlerinden oluşmaktadır (Brenneisen, 2007; Elsohly ve Slade, 2005). Kannabinoidler, yapı ve fonksiyonlarına göre 10 alt sınıfa ayrılmaktadır (Brenneisen, 2007). En yaygın olanlar arasında THCA, CBDA, CBNA, CBGA, CBCA ve CBNDA yer alır (ElSohly ve Slade, 2005). THCA, psikoaktif kenevir çeşitlerinde baskın kannabinoid iken, CBDA lif amaçlı kenevirde ön plana çıkar. CBCA ise genç bitkilerde yüksek seviyelerde bulunur ve olgunlaşma süreciyle birlikte azalır (Meijer ve ark., 2009). Fitokannabinoid asitler, bitki içinde veya hasat sonrası ısı etkisi ile nötral formlarına, yani dekarboksile hallere dönüşür (Flores-Sanchez vd., 2009). Bu bileşikler, bitkinin glandüler trikomlarının salgı boşluklarında, özellikle dişi çiçeklerde ve bitkinin hava ile temas eden kısımlarında yoğunlaşır. Tohum, kök ve polen ise fitokannabinoid açısından daha düşük içerik gösterir (Ross vd., 2000; Stout vd., 2012). Kannabinoid seviyeleri, bitki dokusu, yaşı, çeşidi, yetiştirme koşulları, hasat zamanı ve depolama koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Tohum içeriğinde THC ve CBD çok düşük olmalıdır; ancak dış kabukta kontaminasyon olabilmektedir (Petrović vd., 2015; Ross vd., 2000). Yapraklarda kannabinoid içerikleri yaşla birlikte azalırken, üst yapraklarda en yüksek seviyeye ulaşır (Pacifico vd., 2008). Saplarda ise genel olarak düşük seviyelerde bulunur (Cappelletto vd., 2001; Kortekaas vd., 1995).

Kenevirde bulunan fitokannabinoidler, psikoaktif ve non-psikoaktif türler olarak sınıflandırılır ve farklı farmakolojik özellikler gösterir. Kenevirde en yaygın ve bilinen psikoaktif fitokannabinoid $\Delta 9$ -tetrahidrokannabinol ($\Delta 9$ -THC)'dür. CB1 reseptörlerine bağlanarak merkezi sinir sistemi üzerinde psikoaktif etkiler gösterir ve analjezik, antikonvülzan, kas gevşetici, antiemetik ve iştah artırıcı özellikleri ile hem klinik hem de prelinik çalışmalarda odak noktası olmuştur (Mechoulam vd., 1970) (Pertwee, 1972). $\Delta 9$ -THC, kronik ağrı yönetiminde opioid kullanımını azaltma ve PTSD hastalarında uyku kalitesini iyileştirme gibi etkileriyle klinik olarak desteklenmiştir (Abrams ve ark., 2011; Babson ve ark., 2017). Ayrıca nörodejeneratif hastalıklarda motor fonksiyonları iyileştirme ve hastalık ilerlemesini yavaşlatma gibi etkiler de rapor edilmiştir (van Vliet vd., 2008). Bununla birlikte $\Delta 9$ -THC'nin anksiyete üzerindeki etkisi dozla ilişkilidir; düşük dozlarda rahatlatıcı etki sağlarken, yüksek dozlarda anksiyete ve paranoya gibi yan etkiler ortaya çıkabilir (Hill ve Gorzalka, 2004).

Diğer psikoaktif türevler arasında $\Delta 8$ -THC, THCA ve THCV yer alır. $\Delta 8$ -THC, $\Delta 9$ -THC'ye göre daha hafif psikoaktif etkiye sahiptir ve kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmanın tedavisinde kullanılmıştır (Abrahamov vd., 1995). THCA, psikoaktif olmayan asidik formu ile öne çıkar ve ısı ile $\Delta 9$ -THC'ye dönüşür; kemoterapiye bağlı bulantı ve kusmayı $\Delta 9$ -THC'den daha etkili şekilde azaltabilir (Rock vd., 2013). THCV ise CB1 reseptöründe doz bağımlı antagonist veya agonist olarak işlev gösterebilir; düşük dozlarda iştahı azaltırken, yüksek dozlarda bulantı ve anksiyete semptomlarını hafifletme potansiyeline sahiptir (Thomas vd., 2005). Ayrıca FDA onaylı sentetik kannabinoidler olan nabilone ve dronabinol, özellikle ağrı ve bulantı tedavisinde yaygın biçimde kullanılmaktadır (EINHORN vd., 1981), nabiximols (Sativex®) ise hem $\Delta 9$ -THC hem de CBD içererek multipl skleroz ve kanser ağrılarında etkinliği kanıtlanmıştır (Mechoulam vd., 2002).

Non-psikoaktif fitokannabinoidler arasında başta kannabidiol (CBD) ve asidik öncülü kannabidiolik asit (CBDA) bulunur. CBD, psikoaktif etkisi olmamasına rağmen nöroprotektif, antiinflamatuvar, anksiyolitik, antiepileptik ve antipsikotik özellikler gösterir (Crippa vd., 2018). CBDA ise bulantı ve kusma üzerinde CBD'den daha güçlü etkiler sergiler ve kanser hücrelerinin göçünü engelleyebilme potansiyeli ile araştırmalarda umut vaat etmektedir (Bolognini vd., 2013; Takeda vd., 2012). Diğer non-psikoaktif fitokannabinoidler arasında kannabigerol (CBG) ve kannabidivarin (CBDV) yer alır. CBG, anti-inflamatuar, nöroprotektif, iştah artırıcı ve bulantı önleyici etkileri ile dikkat çeker (Borrelli vd., 2013; Izzo vd., 2009). CBDV ise nörogelişimsel bozukluklar ve epilepsi alanında antiepileptik özellikleri ile öne çıkar ve klinik çalışmaları halen devam etmektedir (Hill vd., 2013). Bu grubun diğer temsilcileri CBC, CBN, CBE ve CBT gibi küçük fitokannabinoidlerdir. CBC, antiinflamatuvar, sedatif, analjezik, antibakteriyel ve antifungal etkiler gösterirken (Davis ve Hatoum, 1983; DeLong vd., 2010), CBN THC'nin bozunma ürünü olarak yaşlanmış kenevir örneklerinde daha fazla bulunur ve immün sistem hücrelerini hedef alır (McPartland ve Russo, 2001). CBE, CBT ve diğer küçük fitokannabinoidler ise nöroprotektif özellikleri ve diğer farmakolojik potansiyelleri ile dikkat çekmektedir.

Kenevir, kannabinoidlerin yanı sıra çok sayıda non-kannabinoid biyoaktif bileşik içerir. Bu bileşikler fenolikler, flavonoidler, terpenler ve alkaloidler gibi farklı kimyasal sınıflara ayrılır ve bitkinin farmakolojik profilinde önemli rol oynar (Radwan vd., 2021). *Cannabis sativa*'dan toplam 34 flavonoid izole edilmiş olup, bunlar metillenmiş, glikozillenmiş (C- veya O-glikozitler), prenillenmiş veya geranillenmiş yedi temel kimyasal iskelet altında sınıflandırılabilir (Radwan vd., 2021). Bu flavonoid aglikonlarının başlıcaları orientin, vitexin, isovitexin, apigenin, luteolin, kaempferol ve kuersetindir. Flavonoid biyosentezi p-kumaroil CoA ve malonil-CoA'nın kondensasyonu ile başlar. Chalcone izomeraz (CHI) enzimi naringenin şalkonunu naringenine dönüştürür; flavan-3-hidroksilaz (F3H) ve flavonoid 3'-hidroksilaz (F3'H) enzimleri dihidroflavonoller aracılığıyla kaempferol ve kuersetin gibi flavonollerin üretimini sağlar. Alternatif olarak, naringenin flavon sentaz (FNS) tarafından apigenine dönüştürülebilir ve apigenin, flavonoid 3'-hidroksilaz tarafından luteolin oluşumuna aracılık eder (Flores-Sanchez ve Verpoorte, 2008). Kenevir flavonoidleri çeşitli biyolojik etkilere sahiptir. Örneğin apigenin anksiyolitik ve östrojenik özellikler gösterirken, özel cannflavin A ve B bileşikleri prostaglandin E2 ve 5-lipoksijenaz inhibisyonu yoluyla güçlü anti-inflamatuar etki gösterir (Werz vd., 2014)

Terpenler, kenevir bitkisinin uçucu ve lipofilik bileşiklerini oluşturur ve bitkinin karakteristik aroma ile lezzet özelliklerinden sorumludur. Kenevirde 100'den fazla terpen tanımlanmış olup, her örnekte ortalama 40 civarında terpen bulunur (Brenneisen, 2007; Mediavilla, 1998). Bu bileşikler, kannabinoidlerle sinerjik etkileşim göstererek "entourage effect" olarak bilinen fenomeni ortaya çıkarır ve bitkinin farmakolojik profilinde önemli bir rol oynar (Russo, 2011). Terpenler, izopren birimlerinin tekrarına göre 10 karbonlu monoterpenler, 15 karbonlu seskiterpenler ve 30 karbonlu triterpenler olarak sınıflandırılır. Mono ve seskiterpenler çiçek, kök ve yapraklarda üretilirken, triterpenler kök, lif ve tohum yağında bulunur (Gutiérrez ve del Río, 2005; Montserrat-de la Paz vd., 2014; Slatkin vd., 1971). Terpenlerin biyosentezinde iki ana yol rol oynar: sitoplazmik mevalonik asit (MVA) yolu ve plastid lokalize metil-erytritol fosfat (MEP) yolu (Bouvier vd., 2005). MVA yolu seskiterpen ve triterpenlerin üretiminden, MEP yolu ise mono-, di- ve tetraterpenlerin üretiminden sorumludur; izoPEVtenil difosfat (IPP) ve dimetilallyl difosfat (DMAPP) bu yolların son ürünleri olup, GPP ve FPP sentezi için temel öncülleri oluşturur (Kempinski vd., 2015). Kenevirde öne çıkan terpenler arasında

D-limonen, antioksidan, anksiyolitik, bağışıklık uyarıcı ve antikanser özellikleri ile dikkat çekerken (Komori vd., 1995; Uemura vd., 1997; Yun, 2014), β -mircen analjezik, antiinflamatuvar ve antibakteriyel etkiler gösterir (De Cássia da Silveira e Sá vd., 2017; Russo, 2011). α -Pinen antiinflamatuvar özelliklerinin yanı sıra asetilkolinesteraz inhibitörü olarak bilişsel fonksiyonları destekler (Kennedy vd., 2011; Kim vd., 2015) ve β -karofilen ise CB2 reseptörüne bağlanabilen bir seskiterpen olarak hem antiinflamatuvar hem de nöroprotektif etkiler gösterir (Bahi vd., 2014; Gertsch vd., 2008; Singh ve Sharma, 2015).

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ikincil metabolitlerdir ve flavonoidler, stilbenler, lignanlar ile benzoik asit türevleri gibi farklı alt sınıfları içerir (Andre vd., 2010). Kenevirde yaklaşık 42 farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır (Flores-Sanchez ve Verpoorte, 2008). Bu bileşikler, fenilpropanoid yolağı üzerinden sentezlenir; fenilalanin-amonyak liyaz (PAL), sinamat 4-hidroksilaz (C4H) ve 4-kumarat-CoA ligaz (4CL) enzimleri aracılığıyla oluşan p-kumaroil CoA, flavonoid, lignan ve stilbenlerin öncüsü olarak görev yapar (André vd., 2009; Docimo vd., 2013). Fenolik bileşikler bitkilerde antioksidan olarak işlev görerek oksidatif strese karşı koruma sağlar; insanlarda ise diyetle alınan fenolik miktarı ile bazı kronik hastalıkların azalması arasında olumlu ilişkiler gözlenmiştir (Arts ve Hollman, 2005). Kenevirde bulunan flavon ve flavonoller, terpenler ve cannflavinler ise anti-inflamatuvar, anti-kanser ve nöro-koruyucu etkiler gösterir (Andre vd., 2010; Werz vd., 2014).

Alkaloidler, en az bir azot atomu içeren ve genellikle bazik özellik gösteren biyoaktif moleküllerdir. Kenevir bitkisinde piperidin, piridin, pirrolidin ve spermidin alkaloidleri ile feniletilaminler ve tersiyer/katernery aminler bulunur (Heinrich vd., 2021). Bu bileşikler, aminoasit veya aminoasit benzeri öncülerden biyosentezlenir; örneğin tirozin tetrahidroizokinolin alkaloidlerine, triptofan indol alkaloidlerine ve ornitin pirrolizidin alkaloidlerine dönüşür (Barrett vd., 1986). Bunun yanında aminoasit olmayan öncüler, örneğin antranilik asit, bazı alkaloidlerin sentezinde rol oynar. Steroid ve terpenoid alkaloidler ise pseudoalkaloid olarak sınıflandırılır. Alkaloidler bitkilerin savunma mekanizmalarında önemli bir rol oynayabilir ve biyolojik aktivite açısından değerli özellikler sergileyebilir; ancak kenevirdeki tam işlevleri hâlen tam olarak aydınlatılmamıştır (Bhambhani vd., 2021; Heinrich vd., 2021).

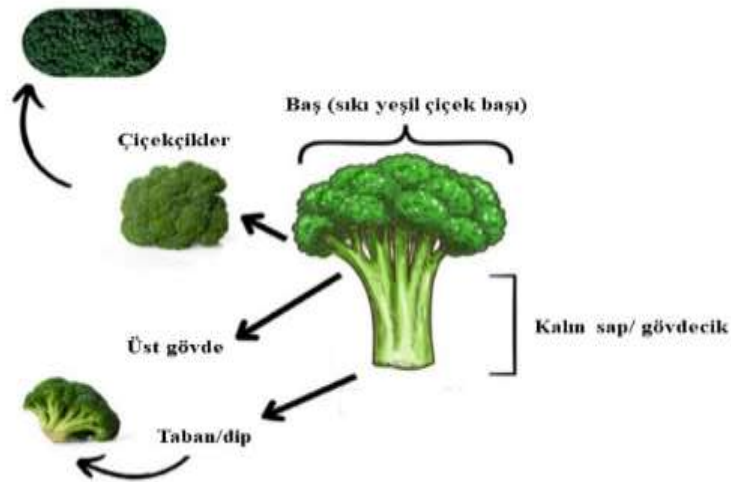
2.4 Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*)

Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), Brassicaceae (Cruciferae) familyasına ait tek yıllık bir sebzedir ve tarihsel süreçte hem besin kaynağı hem de tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır (Pacheco-Cano vd., 2020). Bitkinin kökeni Akdeniz bölgesine dayanmakta olup, tarih boyunca özellikle Avrupa’da yaygın olarak yetiştirilmiştir. Brokoli, “cole” grubuna dahil olup, “broccoli” terimi İtalyanca “broccolo” kelimesinden türemiştir; bu kelime lahana çiçeği tepe kısmı anlamına gelir. Genel olarak *Brassica* cinsi altında sınıflandırılan brokoli, Brassicaceae familyasının önemli bir üyesidir ve dünya genelinde çeşitli iklim ve toprak koşullarına adapte olabilen dayanıklı bir sebze türüdür (Basalirwa vd., 2020).

2.4.1 Brokolinin botanik özellikleri

Brassica cinsi, altı diploid ve allotetraploid türü içermektedir; bunlar arasında *Brassica rapa* L., *Brassica oleracea* L., *Brassica napus* L., *Brassica nigra* (L.) K. Koch, *Brassica carinata* A. Braun ve *Brassica juncea* (L.) Czern. sayılabilir. Brokoli, *Brassica oleracea* türünün *italica* varyetesi olarak sınıflandırılır ve aynı tür içinde lahana (var. *capitata*), karnabahar (var. *botrytis*), Brüksel lahanası (var. *gemmifera*) gibi farklı varyetelerle genetik yakınlık gösterir (Chanbisana ve Banik, 2019). Brokoli bitkisi, ortalama 60-90 cm boyunda, dik gövde yapısına sahip olup, kalın ve sert bir gövdeyle desteklenir. Gövdenin üst kısmında yoğun yeşil renkte kompakt çiçek tomurcukları (florete) bulunur. Bitkinin yaprakları rozet formunda ve yeşil renklidir; gövde, kök ve yapraklar bitkinin diğer önemli kısımlarını oluşturur (Aguilar-Camacho vd., 2019; Pizato vd., 2020). Bitkinin yenilen kısmı esas olarak çiçek tomurcuklarından meydana gelen başcıklardır (curd) ve bunlar birbirine sıkıca bağlı küçük florete’lerden oluşur (Singh vd., 2021) (Şekil 2.5). Brokoli üç ana sınıfa ayrılır: yeşil, beyaz ve mor brokoli (Sardar vd., 2024). Mor brokoli antosiyanin pigmentlerinden dolayı morumsu bir renge sahiptir ve yeşil brokoliye yapısal olarak benzer (Atal vd., 2019; Shakeel vd., 2019). Bitkinin optimum büyüme sıcaklığı 18-23 °C aralığında olup, serin iklimlerde kış sezonunda iyi gelişim gösterir (Meena vd., 2020). Brokoli, farklı toprak tiplerine uyum sağlamakla birlikte, en iyi verimi iyi drene edilmiş, organik maddece zengin topraklarda verir (Al-Hussainy ve Manea,

2019; Meena vd., 2020). Tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde geniş coğrafi yayılım göstermektedir (Choudhury vd., 2022). Seralarda ve açık tarım alanlarında yetiştirilebilir; farklı ekim dönemlerinde hasat zamanları çeşitlilik gösterebilir (Kibar vd., 2024). Brokolinin yapısal özelliklerine bakıldığında; kökler bitkinin su ve mineral alımını sağlar, gövde bitkiyi dik tutar ve yapraklarla çiçek salkımlarına destek olur. Yapraklar fotosentezin gerçekleştiği ana organlardır ve besin üretiminde rol oynar (Saha vd., 2020). Çiçek salkımları ise insan tüketimi için en değerli kısmı oluşturur. Bitkinin genetik çeşitliliği, yetiştirme teknikleri ve melezleme çalışmaları sayesinde farklı aroma, renk ve yapısal özelliklere sahip çeşitler geliştirilmiştir (Saha vd., 2020). Brokoli ayrıca, tarımsal üretimde önemli bir yere sahip olan ve farklı mevsimlerde hasat edilebilen, çiftçiye ekonomik katkı sağlayan bir sebze türüdür. Dünya genelinde Çin, Hindistan, İtalya, ABD ve İspanya gibi ülkelerde yoğun olarak yetiştirilmektedir (Atal vd., 2019).



Şekil 2.5 Brokolinin morfolojik özellikleri (Mittal vd., 2025).

2.4.2 Brokolinin kimyasal içeriği

Brokolinin kimyasal bileşimi, sağlık açısından taşıdığı önemli faydaların temelini oluşturur. Bitki; vitaminler, mineraller, biyoaktif fitokimyasallar ve lif açısından zengin, kompleks bir yapıya sahiptir. Brokoli özellikle C vitamini, A vitamini, K vitamini, B kompleks vitaminleri, kalsiyum, potasyum, demir ve fosfor gibi mineraller bakımından oldukça zengindir. Yapılan analizlere göre brokoli, lahanası ve karnabahara kıyasla çok

daha yüksek oranda vitamin içermektedir; örneğin A vitamini içeriği lahanaya göre yaklaşık 130 kat, karnabahara göre ise 22 kat daha fazladır. K vitamini düzeyi ise havuç, ıspanak ve lahanaya kıyasla %85 daha yüksektir (Sammulia vd., 2020; Shraddha vd., 2024). Bitkinin farklı organları arasında kimyasal içerikte çeşitlilik gözlenir; yapraklar fenolik bileşikler açısından zengin iken, saplar E vitamini ve askorbik asit (C vitamini) bakımından daha yüksek içerik sunar (Kisko vd., 2021). Çiçek tomurcukları ise glukozinolatlar ve şekerler açısından yoğunluk gösterir.

Brokoli, başta glukozinolatlar (GSL), sülforafan ve diğer izotiyosiyanatlar, indol-3-karbinol (I3C), flavonoidler, polifenoller, karotenoidler, tokoferoller, fitosteroller ve antimikrobiyal peptitler (AMP) olmak üzere çok sayıda biyoaktif bileşik içermektedir. Bu bileşikler; antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve hücre koruyucu özellikleriyle brokolinin fonksiyonel ve terapötik değerini artırmaktadır.

Glukozinolatlar (GSL'ler), Brassicales takımına ait bitkiler tarafından sentezlenen sülfür içeren ikincil metabolitlerdir. Özellikle Brassicaceae (hardalgiller) familyasında yaygın olarak bulunurlar. Bu familya içinde yer alan ve insan beslenmesinde önemli yere sahip brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), lahana (*B. oleracea* var. *capitata* f. *alba*), karnabahar (*B. oleracea* var. *botritis*), kolrabi (*B. oleracea* var. *gongylodes*), kara lahana (*B. oleracea* var. *sabellica*), hardal türleri (*Brassica nigra*, *Brassica juncea*) ve yaban turpu (*Armoracia rusticana*) gibi sebzelerin yanı sıra tarlada yetişen yağlık bitkiler (örneğin *Brassica rapa*, *Brassica napus*, *Brassica carinata*) da GSL bileşenleri içerir (Melrose, 2019; Vig vd., 2009). Glukozinolatların kimyasal yapısı, S-β-D-glukopiranoz birimi ile tiyoglikozidik bağ aracılığıyla O-sülfatlanmış thiohydroximate olarak adlandırılan aglikon kısmından oluşur (Nguyen vd., 2020). Bu temel yapıdan farklı olarak yan zincirler amino asitlerden türetilir; örneğin metiyonin, fenilalanin ve triptofan gibi. Yan zincir yapısındaki farklılıklar, glukozinolatların biyolojik çeşitliliği ve aktivitesi açısından belirleyici rol oynar (Blažević vd., 2020; Ishida vd., 2014). Glukozinolatlar genel olarak alifatik, aromatik ve indolik türlerde sınıflandırılırken, bu sınıflandırmalar biyolojik fonksiyonlarını da yansıtabilecek şekilde giderek detaylandırılmaktadır (Nguyen vd., 2020). Brokolide en yoğun olarak bulunan glukozinolatlar arasında glukorafanin, glukobrassisin ve diğer türevler yer alır. Glukorafanin, sülforafan öncülü olarak bilinir ve

brokoli kesildiğinde veya ezildiğinde miyrozinaz enzimi aracılığıyla biyolojik olarak aktif izotiyosiyanata dönüşür. Bitki dokusu bütünlüğü korunduğu sürece glukozinolatlar inert yapıdadır; ancak hücre zedelenmesi durumunda (kesilme, ezilme, sindirim gibi) miyrozinaz enzimi devreye girerek hidroliz gerçekleştirir. Bu enzimatik reaksiyon sonucunda glukozinolatlar izotiyosiyanatlar (ITC), nitriller, tiosiyanatlar ve indoller gibi çeşitli biyoaktif ürünlere dönüşür. Bu dönüşüm, pH, kofaktörlerin varlığı (örneğin askorbik asit) ve bitkideki spesifik proteinler (specifier proteinler) tarafından modüle edilir (Prieto vd., 2019). Glukozinolatların biyolojik olarak en önemli dönüşüm ürünleri olan izotiyosiyanatlar, özellikle kanser karşıtı aktiviteleri ile öne çıkar. Bunlar, hücre proliferasyonunu engelleme, apoptozu indüklemeye ve inflamatuvar yanıtları düzenleme gibi mekanizmalarla etki gösterirler. Glukozinolatlar aynı zamanda bitkide zararlılara ve mikroorganizmalara karşı savunma rolü üstlenir. "Hardal yağı bombası" olarak adlandırılan bu mekanizma, bitkinin savunmasını sağlayan kimyasal reaksiyonun adıdır. Brokolide glukozinolatların dağılımı farklı organlarda değişiklik gösterir: yapraklarda fenolik bileşikler daha yoğunken, saplarda askorbik asit ve E vitamini seviyeleri yüksektir; çiçek tomurcukları ise glukozinolatlar ve şekerler bakımından zengindir. Bu çeşitlilik, brokolinin fonksiyonel özelliklerinin farklı dokularda nasıl ortaya çıktığını açıklar. Son olarak, glukozinolatların farmakolojik etkilerinin tam olarak ortaya konması için biyoyararlanımları, metabolizma ve eliminasyon süreçlerinin anlaşılması gerekir. Glukozinolatların doğrudan değil, hidroliz ürünleri aracılığıyla aktif olmaları nedeniyle, bu dönüşüm süreci terapötik uygulamalarda kritik öneme sahiptir. İnsan mikrobiyotasının miyrozinaz benzeri aktivitesi de bu süreçte rol oynar.

İzotiyosiyanatlar (ITC'ler), glukozinolatların miyrozinaz enzimi aracılığıyla hidrolize olması sonucunda açığa çıkan biyolojik olarak aktif bileşiklerdir. Brokolideki en önemli izotiyosiyanatlardan biri sülforafandır (SFN), güçlü antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser ve antimikrobiyal özellikleri ile dikkat çeker (Coutinho vd., 2023; Liu vd., 2021). Sülforafan, glukorafanın (GFN) isimli glukozinolatın miyrozinaz tarafından hidroliz edilmesiyle oluşur. GFN brokolide özellikle tohumlarda ve çiçek tomurcuklarında yoğun bulunur. SFN, güçlü bir elektrofilik yapıya sahip olup, kanser hücrelerinde apoptozu tetikleyen, hücre döngüsünü durduran ve tümör gelişimini destekleyen sinyal yollarını bloke eden mekanizmalarla etkili olur. SFN'nin

farmakokinetiği üzerine yapılan çalışmalar, bu bileşiğin hem in vivo hem de klinik ortamda yüksek biyoyararlanıma sahip olduğunu göstermektedir. Myrosinase enzimi ile birlikte tüketildiğinde, SFN biyoyararlanımı önemli ölçüde artar. Ayrıca SFN, vücutta erusin gibi diğer izotiyosiyanat formlarına da dönüştürülebilir. Hayvan çalışmalarında, SFN'nin nöroprotektif etkileri; Alzheimer, Parkinson ve travmatik beyin hasarının tedavisinde umut vadettiği görülmüştür. Otizmlı hastalarda sosyal davranış ve iletişim becerilerinde iyileşme sağladığına dair veriler mevcuttur. SFN, inflamasyonu azaltarak alerji, kolit, astım ve KOAH gibi kronik inflamatuvar hastalıkların önlenmesine katkıda bulunmuştur (Fernandez-Prades vd., 2023). SFN ayrıca detoksifikasyon süreçlerinde rol oynar; C vitamini, kükürt ve amino asitlerle birlikte vücuttaki zararlı maddelerin atılmasını kolaylaştırır. Bununla birlikte, SFN ve brokoli tüketiminin aşırıya kaçması bazı yan etkilere yol açabilir. Ayrıca brokoli, potasyum ve K vitamini içerdiği için aşırı tüketimde hipotansiyon ve kan pıhtılaşması sorunları gelişebilir. Sonuç olarak, sülforafan brokolinin en değerli biyoaktif bileşenlerinden biridir ve kanser önleyici etkileri nedeniyle yüksek ilgi görmektedir. Klinik çalışmalarda SFN'nin güvenliği, dozajı ve etkinliği üzerine araştırmalar devam etmektedir. SFN, konvansiyonel kemoterapiye kıyasla daha az yan etki ile kemoprevansiyon sağlayan düşük maliyetli ve kolay erişilebilir bir alternatif olarak değerlendirilmektedir.

Brokolideki glukobrassisin, myrosinaz enzimi aracılığıyla metabolize olarak 3-metenil-3-karbinol (I3C) oluşumuna yol açar (Abdel-Massih vd., 2023). Bu ara ürün, kardiyoprotektif, antioksidan, antiinflamatuvar, antianjiyogenik ve antimikrobiyal özellikler taşır ve tümör hücrelerinde apoptozu teşvik ederek potansiyel terapötik kullanım imkânı sunar (Li vd., 2022; Prado vd., 2022). İn vivo koşullarda I3C'nin %20–40'ı asidik ortamda kondenzasyon reaksiyonu ile 3,3'-diindolimetan (DIM)'e dönüşür (Xue vd., 2008). I3C, Nrf2-ARE sinyal yolunu uyararak sitoprotektif genlerin ekspresyonunu artırır ve oksidatif hasarı azaltırken (Singh vd., 2024), DIM NF- κ B sinyal yolunu inhibe ederek TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini düşürür (Takada vd., 2005). I3C ayrıca IL-1 β ve IL-6'yı baskımlarken IL-4 ve IL-10'un artışını destekleyerek genel antiinflamatuvar etkisini güçlendirir. Bu bileşikler mikrogliya üzerinde de etkili olup, aktive mikrogliya sayısını azaltırken M2 tipi antiinflamatuvar mikrogliaların sayısını artırır (Peng vd., 2024). Kanser kemopreventif etkileri açısından ise I3C ve DIM,

aril hidrokarbon reseptör (AHR) sinyalleme, östrojen ve androjen reseptör yolları, epigenetik düzenlemeler ile DNA ve histon modifikasyonlarını etkileyerek kanser gelişimini önleyici rol oynarlar (Reyes-Hernández vd., 2023; Safe vd., 2000). Bu çoklu mekanizmalar, I3C ve DIM'in inflamasyonu azaltma ve kanser gelişimini önlemede umut verici bileşikler olduğunu göstermektedir.

Flavonoidler, bitkilerde doğal olarak bulunan ikincil metabolitler sınıfına ait bileşiklerdir ve fenilpropanoid yolu aracılığıyla sentezlenirler. Bitkilerde geniş ölçüde dağılmış olup, büyüme ve gelişme süreçlerinde birçok önemli görevi yerine getirirler (Alomari vd., 2018; Falcone Ferreyra vd., 2012). Kimyasal yapılarına göre flavonoidler çeşitli alt sınıflara ayrılır. Flavonoller, 3-hidroksiflavon iskeletine sahip bir flavonoid alt grubunu oluşturur ve bitkisel gıdalarda en yaygın ve bol bulunan flavonoidlerdendir. Kaempferol ve kersetin, bu grubun en çok çalışılmış iki temsilcisidir ve antikanserojenik, antimikrobiyal, antidiyabetik ve antiinflamatuvar özellikleriyle tanınırlar (Chen ve Chen, 2013; Li vd., 2016). Epidemiyolojik çalışmalar, kaempferol ve kersetin açısından zengin besinlerin tüketilmesinin, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi kronik hastalıkların riskini azalttığını göstermektedir (Chen ve Chen, 2013; Imran vd., 2019). Flavonoidler, özellikle flavonoller, antioksidan aktivitenin temel bileşenlerindendir. Bu bileşikler serbest radikal oluşumunu baskılama, mevcut radikalleri temizleme ve antioksidan sistemleri koruma veya düzenleme yeteneğine sahiptir (Kumar ve Pandey, 2013). Ayrıca, serbest radikal üretiminde rol oynayan enzimleri inhibe eder, lipid peroksidasyonunu azaltır ve metal iyonlarını şelatlayarak oksidatif hasarı önler (Leopoldini vd., 2006). Bitkilerde flavonoidler, toplam antioksidan kapasiteye önemli ölçüde katkı sağlar (Gu ve ark., 2019). Örneğin, kersetin sebzelerde yüksek antioksidan aktiviteyle ilişkilendirilmiştir (Fronde ve ark., 2019). Kaempferol ise antioksidan enzimleri aktive etme yeteneğine sahiptir (Doronicheva vd., 2007).Yapı-aktivite ilişkisi açısından, galloyl grubu içeren flavonoller genellikle daha yüksek antioksidan aktivite gösterir; ayrıca B halkasında 3',4',5'-trihidroksil grubu bulunması etkinliği artırır (Wolfe ve Liu, 2008). Brokoli, flavonoller dahil olmak üzere çok sayıda besin ve fitokimyasal madde içeren bir Cruciferae (turpgiller) üyesidir (Vasanthi vd., 2009). Brokolinin düzenli tüketimi, içerdiği sağlık açısından yararlı bileşikler nedeniyle her yıl artmaktadır (Herr & Buchler, 2010; Kaczmarek ve ark., 2019). Brokoli, diyetimizdeki başlıca flavonol kaynaklarından biridir.

Özellikle kaempferol ve kersetin, glikozit formlarında bulunur ve bu bileşiklerin büyüme koşulları ve depolama süreçlerine karşı stabiliteyi incelenmiştir (Gliszczyńska-Świąto vd., 2007; Vallejo vd., 2004). Ayrıca farklı brokoli genotiplerinin flavonol biriktirme kapasitesi, toplam flavonoid miktarı ve antioksidan aktiviteyle ilişkisi tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu nedenle yapılan çalışmalar, kaempferol ve kersetin biyosentezinde görev alan genlerin ekspresyonunu da incelemektedir.

Brokoli, fenolik bileşikler açısından zengindir ve bu bileşikler bitkinin savunmasında, antioksidan kapasitesinde ve insan sağlığında önemli rol oynar (Ahmad vd., 2010). Brokoli flavonoidleri arasında quercetin, kaempferol ve isorhamnetin türevleri bulunur; çoğunlukla C3 pozisyonunda glikozilasyon görülür (Koh vd., 2009; Vallejo vd., 2004). Bu bileşikler oksidatif stresi azaltarak hem bitki hem de insan sağlığı için önemlidir (Cartea vd., 2010; Moreno vd., 2006). Flavonoid dışı fenolikler arasında sinapik, klorojenik, p-kumarik ve ferulik asit gibi hidroksisinamik asitler yer alır (Afnan vd., 2022; Vallejo vd., 2004). Örneğin, p-hidroksisinamik asit (HCA), meme kanseri hücrelerinde proliferasyonu baskılar, apoptozu tetikler ve metastazı engeller (Yamaguchi vd., 2015). Bu etkiler, NF- κ B, ERK, PI3K ve kaspaz-3 gibi çoklu sinyal yolları aracılığıyla gerçekleşir. Ayrıca antioksidan özellikleri de kanser önleyici etkilerine katkı sağlar.

Karotenoidler, brokolide β -karoten, lutein ve neoksantin şeklinde bulunur ve güçlü lipofilik antioksidanlardır (Anbualakan vd., 2022; Bian vd., 2012; Kapusta-Duch vd., 2014; Saini vd., 2015). Lutein ve zeaksantin, retinayı UV kaynaklı oksidatif stresten korurken, β -karoten A vitamininin öncüsüdür (Grune vd., 2010). Karotenoidlerin dağılımı çiçek ve yapraklarda yüksek, saplarda ise daha düşüktür (Jeffery vd., 2003). Brokoli yaprakları, β -karoten açısından en zengin kısımlardır ve yan ürün olarak besin değeri yüksek katkı sağlayabilir (Krupa-Kozak vd., 2021).

Brokolide E vitamini formu olarak tokoferoller bulunur. α -tokoferol toplamın %78.5'ini oluşturur ve en biyolojik olarak aktif formdur; γ -tokoferol %19.3, δ -tokoferol ise %2.2 oranındadır (Jiang vd., 2022; Shahidi ve De Camargo, 2016). Tokoferoller, hücre zarlarını

oksidatif hasardan koruyarak brokolinin antioksidan kapasitesini güçlendirir. Bu bileşikler, sebze için diyet için değerli bir kaynak yapar ve antioksidan çeşitliliği artırır.

Bitkilerde doğal olarak bulunan fitosteroller, anti-inflamatuar özellikleri ile bilinir ve özellikle kardiyovasküler sağlık üzerinde olumlu etkileri vardır. Fitosterollerin kalp hastalıkları ve kalp krizleri riskini azalttığı, kan kolesterol seviyelerinin sağlıklı seviyelerde tutulmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (AbuMweis vd., 2014). Shi ve arkadaşlarının 2024'te gerçekleştirdiği bir çalışmada, brokoli başlarında organ boyutları ve yetiştirme sezonları dikkate alınarak bioaktif bileşiklerin bileşimi incelenmiştir (Shi vd., 2024). Bu çalışmada brokoli başlarında beta-sitosterol, stigmasterol, kampesterol, beta-sitosterol asetat, lanosterol ve kolesterol olmak üzere altı fitosterol belirlenmiştir. Bu fitosteroller arasında en bol bulunan beta-sitosterol olup, brokoli başında 5.67 ila 20.78 mg/100 g arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir. Kampesterol 0.7-6.37 mg/100 g, stigmasterol ise 0.48-2.38 mg/100 g arasında bulunmuştur. Beta-sitosterol asetat, lanosterol ve kolesterol ise çok düşük miktarlarda olup neredeyse tespit edilememiştir (Shi vd., 2024). Beta-sitosterol başta olmak üzere bu fitosterollerin varlığı, brokolinin sağlık üzerindeki faydalarına katkı sağlar. Fitosterollerin LDL kolesterol seviyelerini düşürmede etkili olduğu gösterilmiş ve günlük 2 g fitosterol tüketiminin LDL kolesterolü %10'a kadar azaltabileceği önerilmiştir (Armah vd., 2015). Brokolideki fitosterol içeriği, yetiştirme koşulları, bitkinin farklı bölümleri ve hazırlanma yöntemlerine bağlı olarak değişebilir. Örneğin pişirilmiş brokolide fitosterol seviyeleri çiğ brokoliden farklı olabilir. Bu veriler, brokolinin diyet için değerli bir fitosterol kaynağı olduğunu ve kardiyovasküler sağlığın korunması ve kolesterol seviyelerinin yönetiminde önemli katkılar sağlayabileceğini göstermektedir (Ağagündüz vd., 2022).

Brokoli kaynaklı antimikrobiyal peptitler (AMP'ler), mikrobiyal enfeksiyonlarla mücadelede doğal ve etkili çözümler sunan biyolojik moleküller olarak dikkat çekmektedir (Le vd., 2019; Pacheco-Cano vd., 2020). Küçük protein yapısındaki bu peptitler, bakteri, mantar ve mayalara karşı geniş spektrumlu aktivite göstererek terapötik uygulamalar için değerli adaylar oluşturmaktadır (Pacheco-Cano vd., 2020). Brokolinin tohum, sap, yaprak ve fermente ekstraktları dahil olmak üzere çeşitli kısımlarında farklı AMP'ler bulunmakta olup, bu peptitler bitkinin mikrobiyal saldırılara karşı savunmasında

kritik rol oynarken aynı zamanda insan sağlığı için de önemli bir terapötik potansiyel taşımaktadır (Chen vd., 2020). Son yıllarda yapılan araştırmalar, brokolinin farklı kısımlarından izole edilen peptitlerin her birinin benzersiz özelliklere ve farklı etki mekanizmalarına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Üstelik bu biyolojik aktiviteler yalnızca antimikrobiyal etkilerle sınırlı kalmayıp, anti-inflamatuar, antioksidan ve enzim inhibitör özellikleri de içermektedir. Nitekim Pacheco-Cano ve arkadaşları (2020), brokoli tohumlarından izole ettikleri I. sınıf defensinler (BraDef) ile güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiş, bu küçük sistein zengini peptitlerin bitki savunmasında kritik görevler üstlenirken insan sağlığı açısından da değerli biyomoleküller olduğunu vurgulamıştır (Pacheco-Cano vd., 2020). Nicolas-Espinosa ve arkadaşları (2022), brokoli saplarından yara iyileşmesini hızlandıran ve keratinosit proliferasyonunu artıran biyolojik aktif peptitleri araştırmış ve saplardan 1256 farklı peptit dizisi tespit ederek genellikle göz ardı edilen bu kısmın zengin bir biyolojik bileşik kaynağı olduğunu ortaya koymuştur (Nicolas-Espinosa vd., 2022). Benzer şekilde Chen ve arkadaşları (2020), brokoli sap ve yapraklarından elde edilen peptitlerin antioksidan ve hipolipidemik etkilerini incelemiş, bu bileşiklerin oksidatif stresin azaltılması ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde kullanılabileceğini göstermiştir (Chen vd., 2020). Favela-González ve arkadaşları da brokoli dahil olmak üzere turpgillerden izole edilen peptitlerin antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirerek, bu doğal moleküllerin sentetik antimikrobiyalere sürdürülebilir bir alternatif olabileceğini raporlamıştır (Favela-González vd., 2020). Ayrıca Li ve arkadaşları (2023), *Lactobacillus* suşları ile fermente edilmiş brokoliden anti-inflamatuar peptitler tanımlamış ve sanal tarama ile moleküler dokulama yöntemlerini kullanarak yeni biyoaktif bileşiklerin keşfi için potansiyel yollar açmıştır (Yao Li vd., 2023). Etki mekanizmaları incelendiğinde, brokoli kaynaklı AMP'lerin bakteri zarları, enzimler, oksidatif stres yolları ve inflamatuar medyatörleri hedef alarak çok yönlü bir etki profili sergilediği görülmektedir. Örneğin, Pacheco-Cano ve arkadaşlarının (2020) tanımladığı ARFEELNMDLFR gibi brokoli sap peptitleri, bakteri hücre zarında gözenekler oluşturarak iyon sızıntısına ve hücre lizisine yol açmakta; bu mekanizma özellikle gram-negatif bakterilerden *Escherichia coli* üzerinde etkili olmaktadır (Pacheco-Cano vd., 2020). Bunun yanında brokolideki sülforafan (SFN), *Helicobacter pylori* gibi patojenlerde biyofilm oluşumunu engelleyerek mikrobiyal yapışmayı önlemekte ve antimikrobiyal etkinliği artırmaktadır (Fahey vd., 2002). Enzim

inhibisyonu da brokoli kaynaklı peptitlerin önemli bir özelliği olup, SIWYGPDRP adlı anti-inflamatuar peptidin indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ile bağlanarak makrofajlarda NO üretimini azalttığı ve böylece anti-inflamatuar özellikler sağladığı bildirilmiştir. Li ve arkadaşlarının (2023) izole ettiği RFR peptidi ise TNF- α salınımını %75 oranında engelleyerek kronik inflamasyonun yönetimi için önemli bir potansiyel sunmuştur (Yao Li vd., 2023). Ayrıca bazı AMP'lerin patojenlerin DNA ve proteinlerine doğrudan bağlanarak çoğalmayı engellediği de bilinmekte, ancak bu mekanizmanın brokoli kaynaklı peptitlerdeki ayrıntıları halen araştırılmaktadır (K vd., 2024). Bu özellikler AMP'lerin gıda, tarım, sağlık ve kozmetik sektörlerinde çeşitli uygulamalar için değerli adaylar olduğunu göstermektedir. Gıda endüstrisinde, brokoli ekstraktlarının doğal koruyucu olarak kullanılmasıyla *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* gibi gıda kaynaklı patojenlerin çoğalması engellenebilmekte ve raf ömrü uzatılabilmektedir (Nicolas-Espinosa vd., 2022; Taniguchi ve Ochiai, 2017). Brokoli tohum defansinlerinin *Bacillus cereus*'u etkili biçimde baskıladığı bildirilmiştir (Pacheco-Cano vd., 2020). Ayrıca peptitlerin yenilebilir ambalajlara entegre edilmesiyle aktif paketleme teknolojileri geliştirilmekte, böylece sentetik katkı maddelerine gerek kalmadan gıda güvenliği artırılmaktadır (Agrillo vd., 2019). Tarım alanında ise AMP'ler, kimyasal pestisitlere çevreci bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Nicolas-Espinosa ve arkadaşları (2022), brokoli sap peptitlerinin domates ve turunçgillerde ürün kaybına yol açan *Aspergillus niger* ve *Colletotrichum gloeosporioides* gibi fitopatojen mantarları baskıladığını raporlamış, bu biyobozunur yapıların çevreye daha az zarar verdiğini ve toprak kirliliğini azalttığını vurgulamıştır (Fahey vd., 2002; Favela-González vd., 2020; K vd., 2024; Nicolas-Espinosa vd., 2022; Taniguchi ve Ochiai, 2017; Thery vd., 2020) (Agrillo vd., 2019; Ghanbarzadeh vd., 2024). Sağlık alanında, brokoli AMP'lerinin hem antimikrobiyal hem de yenileyici özellikleri ön plana çıkmaktadır. Fermente brokoli sap peptitlerinin fare modellerinde keratinosit göçünü hızlandırarak yaraların %40 daha hızlı kapanmasını sağladığı görülmüştür (Nicolas-Espinosa vd., 2022). Ayrıca SFN, antibiyotik direnci gelişmiş MRSA ve *Helicobacter pylori* gibi patojenlere karşı umut verici bir seçenek olarak değerlendirilmektedir. Li ve arkadaşlarının (2023) tanımladığı SIWYGPDRP peptidi, nitrik oksit üretimini %52 oranında inhibe ederek kronik inflamasyon ve otoimmün hastalıkların tedavisinde potansiyel sunmaktadır (Yao Li vd., 2023). Kozmetik uygulamalarda ise brokoli peptitlerinin cilt bakımında anti-aging amaçlı

kullanıldığı, saptalardan elde edilen peptit karışımlarının kolajen sentezini artırarak UV kaynaklı oksidatif strese karşı koruma sağladığı rapor edilmiştir. Chen ve arkadaşlarının (2020) çalışmaları, brokoli yaprak peptitlerinin hipolipidemik etkilerini ortaya koyarak metabolik sendrom hedefli fonksiyonel gıda uygulamalarına da destek vermektedir (Chen vd., 2020). Brokoli ekstraktlarının aynı zamanda anti-fotoaging ajan olarak değerlendirilebileceği de bildirilmektedir (Mechchate vd., 2022). Bütün bu bulgular, brokoli kaynaklı antimikrobiyal peptitlerin yalnızca bitki savunma sisteminde değil, aynı zamanda insan sağlığı, gıda teknolojisi, tarım ve kozmetik gibi çok çeşitli alanlarda yenilikçi ve sürdürülebilir stratejiler geliştirilmesinde önemli rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır.

2.5 Yara İyileşmesi Sürecine Genel Bakış

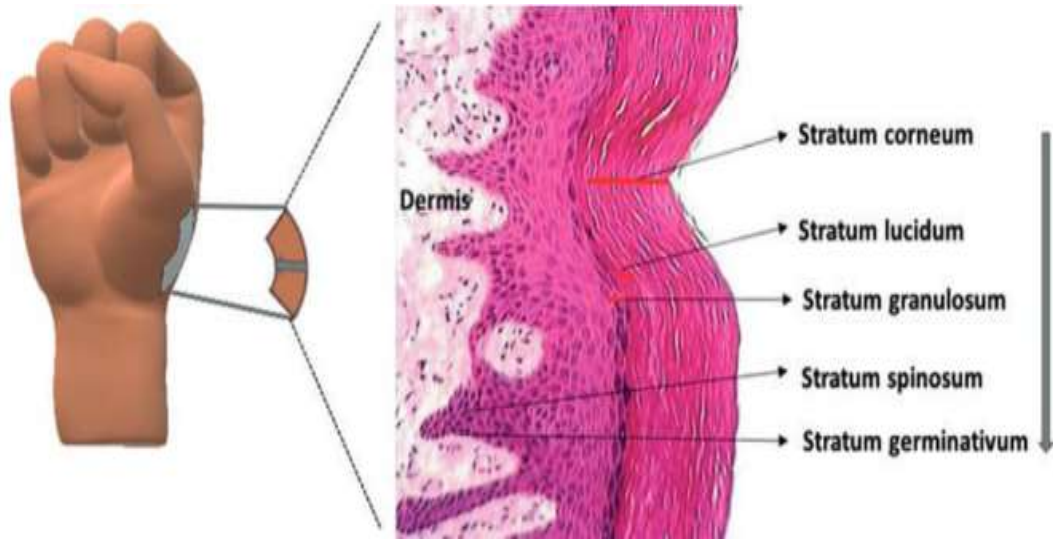
Tüm canlı organizmalar, kaza veya yaralanma sonrası hücre ve doku onarımı için stratejiler geliştirmiştir. Klinik önemi nedeniyle, yara iyileşmesi yüz yılı aşkın süredir kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Günümüzde, hücre ve doku hareketlerinin karmaşık etkileşimini yöneten hücresel ve moleküler mekanizmalar hakkında önemli ölçüde bilgi sahibiyiz. Deri; mekanik koruma sağlar, su kaybını önler ve sıcaklık düzenlemesi, dış uyaranları algılama ile bağışıklık düzenlemesinde önemli roller oynar. Memeli derisi, hipodermis ve daha derindeki fasyanın üzerinde yer alan iki ana tabakadan epidermis ve dermis oluşur. Epidermis, esas olarak keratinositlerden oluşur ve yüzeyinde kıl folikülleri ile ter ve yağ bezlerinin kanalları bulunur. Bu ek yapılar dermise kadar uzanır. Dermis, kollajen matriksi sentezleyen ve yara iyileşmesinde anahtar rol oynayan heterojen fibroblast popülasyonunu içerir. Ayrıca dermis, onarım sürecinde yoğun şekilde filizlenen ve hipodermise kadar uzanan damar ağını barındırır. Hipodermis ise yağ dokusundan zengindir. Bir deri yarasının iyileşmesi için, öncelikle bariyer tabakasındaki hasar bir pıhtı ile kapatılmalıdır. Daha sonra, bu geçici “kalkan” altında, derinin farklı katmanlarındaki hücreler yara kenarlarından göç ederek boşluğu doldurur. Yara kenarları birleştiğinde pıhtı veya kabuk dökülür. Derinin tüm hücre soylarının onarım sürecine katkıda bulunması gerekir ve bu orkestralı hücresel davranışlar çeşitli mekanik ve kimyasal sinyallerle tetiklenir. Bu sinyallerin birçoğu, hasar sinyalleri ve patojen kaynaklı sinyaller ile yaraya çekilen inflamatuvar hücrelerden gelir. Onarım sürecinin bazı

unsurları geçici ve geri dönüşümlüdür; örneğin, anjiyogenez yanıtı. Ancak skar dokusunun oluşumu gibi bazı unsurlar kalıcıdır ve yara iyileşmesinin patolojisinin bir parçasıdır. Yara iyileşmesi çalışmalarındaki uzun vadeli hedef; yara skarını önleyebilecek ve kronik, iyileşmeyen yaraları yeniden iyileşme sürecine sokabilecek yeni tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlayacak hücrel ve moleküler mekanizmalar hakkında yeterli bilgi edinmektir (Peña ve Martin, 2024).

2.5.1 Deri katmanları

Deri, aynı zamanda integument sistemi olarak da bilinir ve vücudumuzdaki en büyük organ olarak tüm dış yüzeyi kaplar. Ortalama bir yetişkinde yaklaşık 2 m² alanı kapsar ve 4,5–5 kg ağırlığındadır. Bu, toplam yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %12–15'ine karşılık gelir. Deri, dış ortamdan korunmamızı sağlayan ilk fiziksel bariyer görevini üstlenir. Üç ana katmandan oluşur: en dıştaki katman epidermis, onun altında yer alan dermis ve dermisin altındaki subkutanöz doku (Lopez-Ojeda vd., 2025). Bu katmanların anatomisi, yapısı ve bileşimi, üstlendikleri fonksiyonlara bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Yadav vd., 2019). Bu katmanlardan epidermis, derinin en dış tabakasını oluşturur ve dış etkenlere karşı koruma sağlayan en önemli bariyerdur. Yapısı, farklılaşma evrelerindeki keratinositlerden oluşan çok katmanlı bir düzen sergiler. Epidermis; stratum korneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum ve stratum bazale (stratum germinativum) olmak üzere beş ana tabakadan meydana gelir (Şekil 2.6). Her tabaka, hücrel içerik, keratinizasyon düzeyi ve fizyolojik fonksiyon bakımından farklı özellikler taşır. Epidermisin hemen altında yer alan bazal membran, epidermis ile dermis arasında geçişi sağlayarak hücrel yapının bütünlüğünü korur. Daha derinde bulunan dermis, bağ dokusu, damarlar, sinir uçları ve kıl foliküllerini barındırarak yapısal destek, elastikiyet ve besin iletimi sağlar. En altta yer alan hipodermis (subkutanöz tabaka) ise yağ dokusu içeriği sayesinde mekanik travmalara karşı koruma sağlarken ısı yalıtımı görevini üstlenir.

Epidermis, yaklaşık 0,5–1,5 mm kalınlığındadır ve vücut bölgesine bağlı olarak değişir; göz kapaklarında 0,5 mm, avuç içi ve ayak tabanında ise 1,5 mm kalınlıktadır. Epidermis avaskülerdir, yani kan damarına sahip değildir ve keratinleşmiş, çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur (Biga vd., 2019; Narasimha Murthy ve Shivakumar, 2010). Avuç içi, ayak tabanı ve parmak uçlarındaki deri “kalın deri” olarak adlandırılırken, vücudun diğer bölgelerindeki deri “ince deri” olarak sınıflandırılır (Narasimha Murthy ve Shivakumar, 2010). İnce deride epidermis dört katmandan oluşur: stratum korneum, stratum granulosum, stratum spinosum (dikenli katman) ve stratum germinativum (bazal katman) . Kalın deride ise epidermis beş katmandan oluşur: stratum korneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum ve stratum germinativum (Honari, 2017). Epidermis esas olarak keratinositler ve melanositlerden oluşur; daha az sayıda Langerhans ve Merkel hücresi bulunur (Gilaberte vd., 2016).



Şekil 2.6 Epidermin katmanları (Dwivedi vd., 2019)

Stratum korneum, epidermin en üst ve en kalın bölümüdür ve 25–30 katmandan oluşur (Şekil 2.6). Ana hücre tipi çekirdeksiz, büyük ve yassı keratinositlerdir. Bu hücrelerdeki keratin ve diğer yapısal proteinler sıkı bir şekilde çapraz bağlıdır ve sert, geçirimsiz bir katman oluşturur. pH değeri 4–6,5 arasındadır; pH’daki değişiklikler bakteriyel veya mantar enfeksiyonlarına yol açabilir (Cowin ve Waters, 2014; Sussman ve Bates-Jensen, 2012). Stratum korneum sürekli yenilenir ve yaklaşık dört haftalık bir döngü ile yeni

keratinositlerle değiştirilir (Biga vd., 2019). Yaşlı deride keratinositlerin yenilenme hızı azalır ve bazal tabakadan epidermise göç süresi %50'ye kadar uzar (Bonham vd., 2020). Ayrıca yaşlanmayla birlikte bu katman kalınlaşır; bunun vücudun UV ışınlarına karşı korunma mekanizmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (Bonham vd., 2020).

Stratum lucidum, 2–3 katmandan oluşur ve avuç içi, ayak tabanı ve parmak uçları gibi kalın deri bölgelerinde bulunur (Şekil 2.6). Bu katmanın şeffaf yapısı, şeffaf keratinositlerden kaynaklanır (Lopez-Ojeda vd., 2025).

Stratum granulosum, adından da anlaşılacağı gibi, 3–5 hücre katmanından oluşur ve spinöz tabakadan farklılaşmış granüler hücreleri içerir (Şekil 2.6). Bu hücreler keratohiyalin veya lameller granüller içerir; keratohiyalin granüller keratin öncüllerini barındırırken, lameller granüller hücreleri bir arada tutan ve hidrofobik özellik kazandıran glikolipidler içerir (Lopez-Ojeda vd., 2025). Bu katmandaki hücreler bazal membrana paralel olarak dizilmiş olup, stratum korneuma ulaşan epidermal hücrelerin olgunlaşmasına katkıda bulunur.

Stratum spinosum, bazal katmanın hemen üzerinde yer alır ve 8–10 hücre katmanı kalınlığındadır (Şekil 2.6). Desmozomlarla komşu hücrelerle bağlantı sağlayan sitoplazmik çıkıntılara sahip çok yüzlü keratinositlerden oluşur (“dikenler”). Keratinositler bu katmanda farklılaşmaya devam eder ve stratum korneum hücrelerini oluşturur. Ayrıca dendritik hücreler de bulunur (Lopez-Ojeda vd., 2025). Yaş ilerledikçe stratum spinosum inceler (Bonham vd., 2020).

Stratum bazale / Stratum germinativum, epidermisin en derin katmanıdır ve tek katmanlı, farklılaşmamış keratinositlerden (bazal hücreler) oluşur (Şekil 2.6). Bazal hücreler keratinosit öncülüdür ve mitotik olarak aktiftir; sürekli olarak yeni keratinositler üretir (Cowin ve Waters, 2014; Tortora ve Derrickson, 2018). Bu katmanda ayrıca melanositler de bulunur ve cilt rengini belirleyerek UV koruması sağlar (Cowin ve Waters, 2014; Lopez-Ojeda vd., 2025). Bazal katman, epidermisi dermisten ayıran bazal membran (bazal lamina) ile ayrılır ve hemidesmozomlarla membrana bağlanır (Lopez-Ojeda vd., 2025).

Bazal membran, dermisi epidermisten ayırır ve epidermisen altına yerleşmiştir (Cowin ve Waters, 2014). Her iki tarafında bulunan ekstraselüler matriks molekülleri, epidermis ve dermis arasında sıkı bir bağlantı sağlayan yapışkan bir ortam oluşturur. Yaşlanmayla birlikte bazal membran atrofiye olur, dermo-epidermal bağlantı düzleşir, epidermal adezyon azalır ve protein bileşimi değişir; bunun sonucunda dermis ve epidermis arasındaki yapışkanlık azalır (Bonham vd., 2020).

Dermis, epidermisten (epi=üstünde) ve hipodermisten (hypo=altında) farklı olarak, dermis integument sisteminin “çekirdeği” olarak kabul edilir (Biga vd., 2019). Damarlar ve sinirler içeren kalın bir yapıya sahiptir ve epidermisi besleyip destekler (Sussman ve Bates-Jensen, 2012). Dermis iki bölgeye ayrılır: yüzeysel papiller dermis ve derin retiküler dermis. Yüzeysel papiller dermis, epidermis bağ dokusuyla temas eden ince bağ dokusundan oluşur ve ekstraselüler matriks ve fibroblastlardan zengindir. Fibroblastlar fibronectin ve hyaluronik asit salgılar; bunlar yara iyileşmesinde kritik rol oynar. Bu bölgede ayrıca kan damarları, lenfatikler, epitel hücreler, küçük kaslar ve nöronlar bulunur (Sussman ve Bates-Jensen, 2012). Derin retiküler dermis daha kalın ve daha az hücrelidir; yoğun bağ dokusundan oluşur ve cilde çekme dayanıklılığı sağlayan geniş kollajen ve elastik lif ağı içerir. Bu katmanda fibro-elastik bağ dokusu ve fibroblastlar bulunur. Yaşlanmayla birlikte dermiste ekstraselüler matriks birikimi ve doku yeniden şekillendirmesinden sorumlu hücre sayısı azalır; organize kollajen ve elastin birikimi azalır ve cilt zayıf ve esnekliğini kaybetmiş hale gelir (Sgonc ve Gruber, 2013).

Hipodermis, subkutanöz katman veya yüzeysel fasya olarak da bilinir ve dermisen altında yer alır. Deriyi kas veya kemiği çevreleyen alttaki fasya üzerine sabitler (Monteiro-Riviere, 2010). Hipodermis esas olarak yağ dokusundan oluşur; yağ depolama, yastıklama ve izolasyon görevleri vardır. Ayrıca iyi damarlanmış, gevşek ve areolar bağ dokusu içerir (Biga vd., 2019). Derinin esnekliği ve altındaki yapılara serbest hareketi, kollajen ve elastik liflerin gevşek düzenlenmesine bağlıdır (Monteiro-Riviere, 2010). Hipodermisin yağ depolama ve yastıklama fonksiyonu yaşlanmayla birlikte azalır (Bonham vd., 2020).

2.5.2 Yara sınıflandırması

Yaralar genellikle iyileşme sürelerine göre akut ve kronik olarak sınıflandırılır. Akut yaralar söz konusu olduğunda, iyileşme süreci çoğunlukla normal şekilde ve zamanında (sadece birkaç hafta) tanımlanmış sıralama çerçevesinde ve komplikasyonsuz ilerler. Bu yaralar kendiliğinden iyileşir ve bakım, yalnızca enfeksiyondan koruma ve örtme ile sınırlıdır (Baranoski ve Ayello, 2015). Fizyolojik süreçlerdeki hücresel ve moleküler olaylardaki bozulmalar ve aksaklıklar iyileşmeyi geciktirir ve kronik yaraların oluşmasına yol açar; 12 haftadan sonra yara iyileşmemiş olarak kabul edilir. Diyabetik ayak ülserleri, venöz bacak ülserleri ve bası yaraları genellikle kronik yara olarak değerlendirilir. Bu tür yaralarda ileri düzey bakım ihtiyacı daha fazladır (Sgonc ve Gruber, 2013). Yanık yaraları, iyileşme süresine göre sınıflandırılan akut ve kronik yaralardan farklı olarak, eschar (yanık kabuğu) derinliğine göre kategorize edilir: yüzeysel veya epidermal yanıklar (birinci derece), yüzeysel kısmi kalınlık (ikinci derece), derin kısmi kalınlık (üçüncü derece) ve tam kalınlık (dördüncü derece). Yüzeysel yanıklar yalnızca epidermisi etkilerken, yüzeysel kısmi kalınlık yanıklar hem epidermisi hem de dermisin yüzeysel kısmını (papiller dermis) etkiler. Derin kısmi kalınlık yanıklarda dermisin daha derin kısmı (retiküler dermis) de etkilenir. Tam kalınlık yanıklarında, en şiddetli yanık türünde, tüm deri katmanları ve daha derin dokular kaybedilir (Monteiro-Riviere, 2010).

2.5.3 Yara iyileşmesinin biyolojik aşamaları

Yara, herhangi bir anatomik yapıda işlev kaybına yol açan ve doku bütünlüğünü bozan bir durum olarak tanımlanabilir. Doku, organ veya vücutta hasar meydana gelir gelmez, bir dizi birbirine bağlı ve eş zamanlı biyolojik süreç aktive olur. Bu süreçler, doğru sırayla ve uygun zamanda işlevlerini yerine getirerek yara iyileşmesini sağlar (Gurtner vd., 2008; Singer ve Clark, 1999). Yara iyileşmesi, farklı hücre tiplerinin ve mediyatörlerin karmaşık bir sinyal kaskadı içinde koordineli şekilde çalıştığı dinamik bir süreçtir. Hasar bölgesine nötrofiller, monositler, Langerhans hücreleri, $\gamma\delta$ T hücreleri ve resident memory T hücreleri yönlendirilir; inflammatuar denge bu hücreler aracılığıyla sağlanır (Hunt vd., 2000; Rodrigues vd., 2019). Yara iyileşmesi genellikle hemostaz, inflamasyon,

proliferasyon–granülasyon, yeniden epitelizasyon ve doku remodelasyonu olmak üzere beş evreden oluşur (Şekil 2.7). Bu evreler birbirini takip etmekle birlikte bazı süreçler örtüşebilir ve herhangi bir aksamaya, iyileşmenin gecikmesine veya komplikasyonlara yol açabilir.

Yara iyileşmesinin ilk adımı, damar duvarı hasarı sonrası başlatılan hemostazdır. Hemostaz, primer ve sekonder olmak üzere iki aşamada gerçekleşir. Primer hemostazda trombositler hasarlı bölgeye yapışır ve agregasyonla geçici bir tıkaç oluşturur (Tennent vd., 2007). Bu süreç, damar duvarındaki kollajen açığa çıkmasıyla ve G-protein reseptörleri aracılığıyla tetiklenir (Pradhan vd., 2017). Aynı zamanda damar düz kas hücrelerinin hızlı vazokonstriksiyonu, kan kaybını azaltır ve hasar bölgesinde geçici bir tampon etkisi yaratır. Ancak vazokonstriksiyon birkaç dakika sonra etkisini kaybeder; bu noktada doku hipoksisi ve asidoz oluşur ve pasif vazodilatasyon meydana gelir. Sekonder hemostaz, trombositlerin saldıgı büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde pıhtının stabilizasyonunu sağlar ve sonraki yara iyileşme fazlarını başlatır. Bu faktörler arasında EGF, TGF- α ve β , IGF, IL-1 ve PDGF yer alır. Trombosit aktivasyonu sonrası bu mediyatörlerin salımı, ilk bir saatte yoğun olarak gerçekleşir; ancak trombositler bu faktörleri 7 güne kadar salmaya devam ederek yara bölgesinde hücrelerin aktivitesini sürdürür (Senzel vd., 2009).

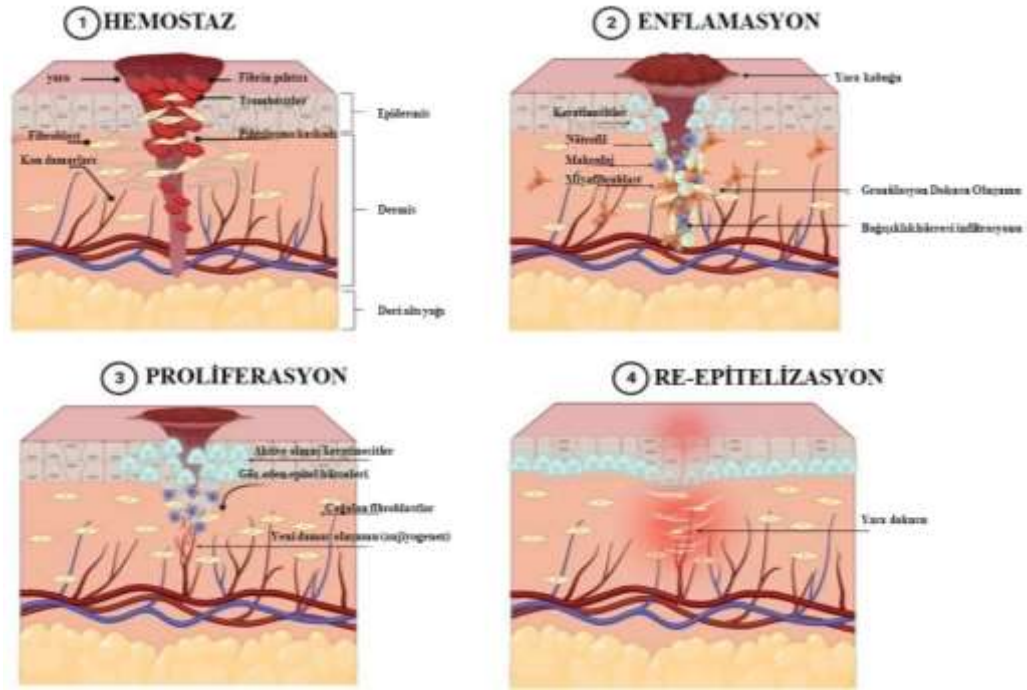
Hemostazın ardından inflamatuvar faz başlar. Bu faz, nekrotik doku, yabancı maddeler ve mikroorganizmaların temizlenmesini sağlar ve bir sonraki evre olan proliferasyon fazının zeminini oluşturur. Yara bölgesi, Ca^{2+} dalgaları, reaktif oksijen türleri (ROS) ve purinerjik moleküller aracılığıyla nötrofilleri aktive eder. İlk dakikalar içinde yara kenarındaki Ca^{2+} konsantrasyonu maksimum seviyeye çıkar ve yara merkezine doğru yayılır (Lansdown, 2002). Yaralanmış hücreler, nötrofillerin göçünü yönlendiren DAMPs, H_2O_2 , lipid mediyatörleri ve kemokinleri salgılar. Nötrofiller, lizozim, elastaz ve kathepsin gibi proteolitik enzimler içeren granüller salgılayarak mikropları temizler. Ayrıca nötrofiller ekstraselüler tuzaklar (NETs) oluşturarak patojenleri yakalar ve parçalar. NETosis süreci, hem nötrofil ölümü ile (suicidal NETosis) hem de nötrofillerin canlı kalmasıyla (vital NETosis) gerçekleşebilir (Jorch ve Kubes, 2017; Yipp ve Kubes, 2013). Bu mekanizmalar, yara savunması ve rejenerasyonu için kritik öneme sahiptir.

Nötrofillerin görevini tamamlamasının ardından makrofajlar devreye girer. Makrofajlar, pro-inflamatuar M1 formundan anti-inflamatuar M2 formuna geçerek doku onarımını destekler. M1 makrofajlar mikropları öldürür ve pro-anjiyojenik sitokinler salgılar; M2 makrofajlar ise damar remodelasyonu ve doku yenilenmesinde rol oynar (Fantin vd., 2010; Gurevich vd., 2018; Kim vd., 2019; Outtz vd., 2011). Ayrıca DETC'ler keratinosit büyüme faktörleri salgılayarak epitelizasyonu başlatır.

Proliferasyon fazında yara, fibroblastlar aracılığıyla yeni bir ECM ve stroma oluşturur, kolajen sentezi artar ve yara kontraksiyonu başlar. Bu süreç, granülasyon dokusu oluşumu olarak da adlandırılır. Granülasyon dokusu, histolojik olarak yeni dokunun granular görünümünden adını alır ve yara onarımında merkezi bir rol oynar. Bu fazda anjiyogenez, düşük oksijen seviyelerinin VEGF ve PDGF gibi büyüme faktörleri ile algılanması sonucu başlar. Endotel hücreleri tip ve stalk hücreleri olarak ECM boyunca tomurcuklanır ve yeni kapillerler oluşur. Başlangıçta sızıntılı olan bu damarlar, perisitler aracılığıyla stabilize olur ve oksijen ile besin sağlanarak hücre metabolizması sürdürülür. Fibroblastlar da VEGF üretimiyle dolaylı olarak anjiyogenezi destekler. Mikrovascular fragmentlerin transplantasyonu gibi yaklaşımlar, hızlı vaskülarizasyon ve iyileşmeyi artırmak için araştırılmaktadır (Sorg ve Sorg, 2023).

Proliferatif yanıtı takiben re-epitelizasyon evresi başlar. Epidermis katmanları, keratinositlerin hücre-hücre ve hücre-matriks bağlantıları aracılığıyla yara bölgesine göç etmesini sağlar. Keratinositler, epitel-mesenkimal geçiş (EMT) ile hareketli bir fenotip kazanır; lamellipodial sürünme ve shuffling mekanizmalarıyla yara yüzeyinde ilerlerler. Bu süreç sırasında E-kaderin aşağı regülasyonu ve vimentin'in yukarı regülasyonu hücre göçünü kolaylaştırır. Ön sıradaki keratinositler yara matriksi boyunca ilerlerken, ikinci sıra hücreler proliferasyon göstererek hücre tedarikini sürdürür (Huang vd., 2012; Jordan vd., 2011; J. M. Lee vd., 2006). Temas inhibisyonu, keratinosit göçünü durdurur ve epidermis katmanının yeniden oluşmasını sağlar (Sorg ve Sorg, 2023). Yaşlı derilerde keratinosit göçü ve proliferasyonu yavaşlar, bu da yara kapanmasının gecikmesine yol açar. Bu durum, özellikle ekrin ter bezlerinden gelen keratinositlerin yapışkanlığındaki azalmayla ilişkilidir (Rittié vd., 2016).

Remodelleme fazında granülasyon dokusu, tip III kolajenden daha dayanıklı tip I kolajene dönüşür (Caley vd., 2015; Visse ve Nagase, 2003). Miyofibroblastlar, ECM ve granülasyon dokusunun kontraksiyonunda rol oynar ve apoptoza uğrayarak skar oluşumunu düzenler. MMP ve TIMP dengesi, ECM remodellemesi için kritik öneme sahiptir; bu dengesizlikler kronik yara veya hipertrofik skar oluşumuna yol açabilir. Makrofajlar, apoptotik hücreleri temizleyerek yara bölgesinin hücresiz ve avasküler hale gelmesini sağlar. İnflamatuvar yanıtın şiddeti, skar oluşumu ile doğrudan ilişkilidir. Özellikle IL-6 sinyal yolunun aşırı aktivasyonu hipertrofik skar veya keloid oluşumuna katkıda bulunur. Öte yandan bazı çalışmalarda IL-6, anti-fibrotik gen ekspresyonunu destekleyerek patolojik fibroz oluşumunu azaltmıştır (Barayan vd., 2021; Kurachi vd., 2021; Qian vd., 2016).



Şekil 2.7 Yara iyileşmesinin evreleri: (1) hemostaz, (2) inflamasyon, (3) proliferasyon, (4) yeniden şekillenme (remodeling) (Sharma vd., 2024)

2.5.4 Fibroblastlar ve fonksiyonları

Fibroblastlar, insan vücudunda yaygın olarak bulunan tipik mezenkimal hücrelerdir ve yumuşak bağ dokularının yapısal bütünlüğünün korunmasında kritik rol oynar. Bu hücreler, ekstraselüler matriksi (ECM) sentezleyip sürdürerek doku mekanik stabilitesini sağlar ve aynı zamanda sitokinler ile büyüme faktörleri salgılayarak çevrelerindeki diğer hücrelerle iletişim kurar. Fibroblastlar, kök hücre nişleri için sinyal kaynağı görevi görür ve doku yeniden şekillenmesi, fibrozis, yara iyileşmesi, inflamatuvar yanıtlar ve kanser gibi birçok biyolojik süreçte aktif rol oynar (Pittenger vd., 2019). Fonksiyonel olarak fibroblastlar, farklı koşullara ve uyarılara bağlı olarak sınıflandırılabilir: fibrozis ilişkili fibroblastlar (FAF), yara iyileşmesi ilişkili fibroblastlar (WAF), kanser ilişkili fibroblastlar (CAF) ve yaşlanma ilişkili fibroblastlar (AAF) (Lendahl vd., 2022). Bu sınıflandırma, fibroblastların bulundukları ortamın morfo-fonksiyonel özelliklerine ve kökenlerine bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini vurgular. Fibroblastlar, dokulardan kolayca izole edilebilmeleri ve cam, plastik veya doğal/biyo-mühendislik materyalleri üzerinde kültürlenebilmeleri nedeniyle karşılaştırmalı fizyoloji çalışmalarında, patolojik durumların araştırılmasında ve biyomedikal uygulamalarda en yaygın kullanılan model sistemlerden biridir (Madelaire vd., 2022). Örneğin, fare embriyosundan türetilmiş spontan olarak immortalize 3T3 fibroblast hücre hattı, uzun süre boyunca yüksek proliferasyon kapasitesini koruması ve çevresel plastisite göstermesi sebebiyle temel hücre ve moleküler biyoloji çalışmalarında sıkça kullanılır; ayrıca rejeneratif tıp uygulamalarında pluripotent kök hücrelere dönüştürülebilme potansiyeli sunar (Nilforoushzadeh vd., 2022; Vierbuchen ve Wernig, 2012). Bu hücrelerin işlevselliği, büyük ölçüde içinde bulundukları ekstrasellüler çevre ile etkileşimlerine bağlıdır. Fibroblastlar tarafından sentezlenen kollajenler, elastik lifler, glikozaminoglikanlar (GAG), proteoglikanlar (PG) ve glikoproteinler, doku matrisinin ana yapısal ve biyokimyasal bileşenlerini oluşturur. Bu bileşenlerin sentezi ve düzenlenmesi, hem doku dayanıklılığını hem de hücre davranışını belirler. Ayrıca fibroblastlar, bu dinamik matriks ortamındaki yeniden yapılanma süreçlerinde özellikle yara iyileşmesinde kritik bir rol oynar.

Kollajenler, dokuların mekanik dayanıklılığını sağlayan en bol ECM proteinleridir ve XXIX farklı tipte kollajen molekülü tanımlanmıştır. Tüm kollajenler, tekrarlayan [Gly–X–Y] amino asit dizisine sahip olup, X ve Y pozisyonlarında prolin ve hidroksiprolin içerir ve üçlü sarmal kuaterner yapı oluşturur. Yetişkin dermiste en yaygın olarak tip I (%70) ve tip III (%8–11) kollajen bulunur; fetal ve iyileşen dermiste ise bu iki tipin oranı 1:1’dir (Li vd., 2021). Tip I ve III kollajenlerinin hibrit fibrilleri, fibroblast aktivasyonu, hücre polarizasyonu ve matriks bağlanma açısından optimum koşulları sağlar. Diğer kollajen tipleri de doku spesifik fonksiyonlarda rol oynar: tip V, VI, VII, XII ve XIV yapısal destek sağlarken; bazal membranlarda tip IV ve XIX bulunur; epidermal dayanıklılığa katkıda bulunan tip XIII, XVII ve XXIX kollajenler ise özellikle mekanik stres altında dokuyu stabilize eder (Woodley, 2017). Kollajenler aynı zamanda fibroblastlar aracılığıyla hücreler arası sinyalleşme süreçlerini tetikleyerek, dokuların onarım ve remodelasyon kapasitesini artırır.

Elastik lifler, yumuşak bağ dokularına elastikiyet kazandıran ve yüksek omurgalılarda daha belirgin olan yapılardır. Bu lifler, amorf elastin ve mikrofibrillerden oluşur; mikrofibriller, fibrillinlerden yapılan 10–12 nm çapında filamentler olup olgun elastik liflerin iskeletini oluşturur (Schmelzer ve Duca, 2022). Dermal bölgelerde elastik liflerin dağılımı farklıdır: retiküler dermis kalın, yatay lifler içerirken, papiller dermis ince dikey lifler ve mikrofibril demetleri ile dermo-epidermal birleşime bağlanır (Cotta-Pereira vd., 1976). Elastogenez, erişkin yaşamda neredeyse durduğu için elastin uzun ömürlü ve strese karşı yüksek dirençlidir (Boraldi vd., 2022; Duca vd., 2004; Heinz, 2020). Ancak çeşitli proteolitik enzimler, örneğin MMP-2, -7, -9, -12 ve -14, elastin ve tropoelastin öncüsünü parçalayabilir, bu da elastik liflerin dinamik olarak yeniden modellenmesine olanak tanır. Elastin ve elastik lifler, fibroblastların ürettiği ve organize ettiği bir mikroçevrede, dokuların hem mekanik esnekliğini hem de hücreler arası fonksiyonlarını destekler.

GAG’lar, fibroblastlar tarafından eksprese edilen lineer polisakkaritlerdir ve heparin (HP), heparan sülfat (HS), kondroitin sülfat (CS), dermatansülfat (DS), keratan sülfat (KS) ve hiyalüronik asit (HA) gibi çeşitli türleri içerir. HA dışındaki tüm GAG’lar, çekirdek proteinlere bağlanarak proteoglikanları oluşturur. Proteoglikanlar, ECM’de

yapısal rol üstlenmenin yanı sıra doku su dengesini düzenler, hücre çoğalması ve migrasyonunu destekler ve yara iyileşmesi ile doku onarımında önemli sinyaller sağlar (Bukhari vd., 2018; Lee vd., 2016; Sher vd., 2006; Stern ve Maibach, 2008; Wight vd., 1991; Xie vd., 2023). Örneğin dermal CS/DS-proteoglikanları versican, decorin ve biglycan, kollajen fibrillogenезini ve dokusal bütünlüğü destekler; KS-proteoglikanlar (lumican, fibromodulin) ise fibril düzenini stabilize eder. HS-proteoglikanlar (perlecan, syndecanlar, glypicanlar) bazal membranda bulunur ve keratinositlerin hayatta kalması ile proliferasyonunu destekler.

Glikoproteinler, hücre tutunması, adezyon ve sinyal iletiminde kritik rol oynar. Laminin, bazal membranlarda lokalizedir ve epiderminin sağlam şekilde dermise yapışmasını sağlayarak mekanik bütünlüğü korur. Fibronektin ise hem interstisyel hem de bazal membranda bulunur; yara sonrası fibroblastlar tarafından salgılanan fibronektin, geçici fibronektin iskelesi oluşturarak kemotaksis, anjiyogenez ve inflamatuvar süreçler için hücreler arası sinyaller sağlar (Has ve Nyström, 2015; Nyström ve Bruckner-Tuderman, 2019; Stoffels vd., 2013). Bu yapı, doku onarımında hücrelerin yönlendirilmesi ve ECM'nin yeniden organizasyonu için temel bir platform oluşturur.

Fibroblastlar, yara iyileşmesinin tüm üç fazında kritik bir rol oynar ve onarım sürecini koordine eder. Bu hücreler, birçok düzenleyici molekül üreterek ve iyileşme mekanizmalarında görev alan diğer hücre popülasyonlarıyla çapraz iletişim kurarak yara onarımını yönlendirir (Cialdai vd., 2022). Herhangi bir yaralanma, trombosit degranülasyonu ile salınan sitokinler aracılığıyla inflamatuvar bir yanıtı tetikler. Bu süreçte immün hücreler, interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), interlökin-12 (IL-12), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) gibi pro-inflamatuvar araçlar üretir ve inflamatuvar süreci güçlendirir; aynı zamanda fibroblastların yara bölgesine göçünü ve aktivasyonunu tetikler (Koh ve DiPietro, 2011). İnflamatuvar faz sırasında aktive olan fibroblastlar, yerel bağışıklık yanıtını güçlendirir ve immün hücrelerin aktivasyonunu destekler. Fibroblastlar TNF- α , interferon gama (IFN- γ), IL-6 ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinler üretir ve CXCL1, CX3CL1 ile CCL2 gibi çok sayıda kemokin salgılayarak immün hücreleri yara bölgesine çeker (Bautista-Hernández ve ark., 2017; Correa-Gallegos ve ark., 2021). Bunun yanında ICAM1 ve CD40

ekspresyonu aracılığıyla doğrudan temas temelli etkileşimler kurar ve dendritik hücreleri aktive eder (Saalbach vd., 2007). Fibroblastlar matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) salgılayarak yara stromasını yeniden şekillendirir ve immün hücrelerin infiltrasyonunu kolaylaştırır. İnflamatuar ödem nedeniyle değişen interstisyel akış ve sıvı basıncını algılayarak mikroçevrenin rijitliği, porozitesi, elastikiyeti ve viskozitesini modüle eder ve böylece immün yanıtı güçlendirir (Correa-Gallegos vd., 2021; Langevin vd., 2013). Ayrıca fibroblastlar fascia'dan yaralara göç ederek ECM içine gömülü immün hücreleri taşıyabilir. Bu özellikleri sayesinde fibroblastlar immün hücrelerin toplanmasını ve aktivitesini düzenleyebilir; fibroblast-makrofaj etkileşimleri ise inflammatuar fazdan proliferasyon fazına geçişin kontrolünde kritik rol oynar ve yara iyileşmesinin düzenli ilerlemesini sağlar (Mescher, 2017). Proliferasyon fazında fibroblast aktivitesi daha da belirgin hale gelir. İnflamatuar araçlar tarafından yönlendirilen fibroblastlar, geçici fibrin pıhtısı içinde göç ettikten sonra C5a, fibronectin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve TGF- β ile uyarılır; bu uyarılar fibroblastların proliferasyonunu destekler ve granülasyon dokusunun oluşumuna katkıda bulunur. Bu dönemde fibroblastlar aynı zamanda VEGF, FGF, angiopoietin 1 (Ang-1) ve trombospondin (TSP) gibi proanjiyojenik moleküller de salgılar. Makrofajlar ve diğer immün hücrelerden gelen büyüme faktörleri ile uyarılan fibroblastlar, MMP'ler salgılayarak fibrin pıhtısının parçalanmasını ve hücre göçünü kolaylaştırır. Bununla birlikte fibroblastlar, fibronectin, hyaluronik asit, proteoglikanlar ve ağırlıklı olarak tip III kollajen dahil olmak üzere ECM moleküllerini üretir; bu geçici matriks, keratinositlerin re-epitelizasyon için göçünü destekler (Mirastschijski ve ark., 2012). Proliferasyon fazı yaralanmadan yaklaşık 4 gün sonra başlar ve 2–3 hafta sürebilir. Bu süreçte fibroblastlar, yara içindeki baskın hücre popülasyonunu oluşturur ve TGF- β ile CXCL8 uyarımıyla miyofibroblastlara farklılaşır (Desmoulière vd., 2005). Miyofibroblastlar remodelleme fazının ana aktörleridir ve remodelleme fazı bir yılı aşabilir (Gurtner vd., 2008). Bu fazda yara kontraksiyonu, vaskülarizasyonun azalması, hücresellikte düşüş ve ECM yenilenmesi ile doku remodellemesi gerçekleşir. Miyofibroblastlar, ECM proteinlerini sentezleme ve kontraktıl fenotip kazanma yeteneklerini birleştirerek yara kontraksiyonunu ve dokusal remodellemeyi düzenler (Darby vd., 2014; Tomasek vd., 2002). Bu transdiferansiyasyon, büyük ölçüde TGF- β 1 ve ECM sertliği tarafından kontrol edilir; miyofibroblastlar α -düz kas aktini (α -SMA)

entegre ederek kontraktıl özellik kazanır. Bu kontraktıl aktivite sadece yara kontraksiyonunu sağlamakla kalmaz, aynı zamanda ECM sertliğini artırarak miyofibroblast farklılaşmasını ve devamlılığını teşvik eder (Grinnell ve Petroll, 2010). Miyofibroblastlar, kollajenler dahil MMP'ler ve ECM proteinlerinin dengeli üretimi yoluyla ECM'i yeniden şekillendirir (Bernardo ve Fibbe, 2013). Tip III kollajen genellikle tip I kollajen ile değiştirilir ve ECM, artan düzen, karmaşıklık ve çekme dayanıklılığı yönünde remodel edilir. Ancak iyileşmiş deri, sağlıklı derinin maksimum %80 çekme dayanıklılığına ulaşabilir (Gurtner vd., 2008) . İyileşme ilerledikçe hücresellik azalır; öncelikle immün hücreler, ardından endotelial hücreler ve son olarak miyofibroblastlar apoptoz yoluyla dokudan uzaklaşır. Miyofibroblast apoptozu, yaranın kapanması ve dokunun kısmi çekme dayanıklılığını kazanması sırasında gerçekleşir ve vaskülarizasyonun azalması ile granülasyon dokusundan skar dokusuna geçişi tetikler (Bainbridge, 2013).

2.5.5 Keratinositler ve fonksiyonları

Keratinositler, epidermin baskın hücresel bileşenleri olup toplam hücre popülasyonunun yaklaşık %95'ini oluşturur ve dış çevrenin çeşitli stres faktörlerine doğrudan maruz kalırlar (Piipponen vd., 2020). Epidermin temel işlevi, organizmayı dış ortamdan ayıran sağlam bir bariyer oluşturmaktır; bu bariyer sıvı kaybını önler ve mikroorganizmalara karşı koruma sağlar (Lefèvre-Utile vd., 2021). Epidermis, rutin aşınma ve çevresel etkenlerden kaynaklanan hasarları telafi etmek için sürekli bir yenilenme ve rejenerasyon sürecinden geçer (Takeo vd., 2015). Bu nedenle keratinositlerin bütünlüğü ve işlevselliği cilt sağlığı açısından kritik öneme sahiptir. Çevresel stres, UV radyasyonu, enfeksiyonlar, fiziksel yaralanmalar ve psoriasis ya da egzama gibi inflamatuvar hastalıklar epidermal bütünlüğü bozarak keratinosit fonksiyonlarını etkileyebilir. Dolayısıyla keratinosit biyolojisinin anlaşılması, cilt hastalıklarının patogenezi açıklamak ve terapötik yaklaşımlar geliştirmek için önemlidir (Marrapodi ve Bellei, 2024; Pathak vd., 2014). Keratinosit farklılaşması, epidermin tabakalı yapısının oluşumunu belirler. Bununla birlikte melanositler, dendritik hücreler ve bazal kök hücreler de epidermal homeostaza katkıda bulunur (Alameda vd., 2016).

Keratinositler, epiderminin başlıca yapısal hücreleri olup %90 oranında keratin ara filamentleri, organeller, çekirdek ve plazma membranından oluşur (Piipponen vd., 2020). Bazal tabakada bulunan progenitör hücreler mitozla çoğalarak farklılaşma sürecini başlatır ve hücreler stratum spinosum ile stratum granulosum boyunca keratin üretimini artırarak cilt bariyerinin yapısal bütünlüğünü sağlar (Hsu vd., 2014; Del Rosso ve Levin, 2011). Stratum corneum'a ulaştıklarında çekirdeklerini ve organellerini kaybeden keratinositler, lipid sentezi açısından zengin korneositlere dönüşür. Bu tabaka, korneositler ve aralarındaki lipidlerden oluşur; söz konusu lipidler bariyerin geçirgenlik ve dayanıklılık özelliklerini belirler. Hücresel dönüşüm süreci ortalama bir yetişkinde yaklaşık iki haftada tamamlanır; ayak tabanı ve saç derisinde bu süreç daha hızlıdır (Mauldin ve Peters-Kennedy, 2015). Bazal tabakadan stratum corneum'a doğru ilerleyen bu farklılaşma ve ekfoliasyon döngüsü epiderminin sürekli yenilenmesini sağlar (Pondeljak vd., 2023). Progenitör hücreler mitozla çoğalır, farklılaşarak yüzeye göç eder ve keratin sentezini artırarak bariyer fonksiyonunu güçlendirir (Del Rosso ve Levin, 2011; Matsuzaki ve Shitamukai, 2015). Stratum corneum'daki korneositler ortalama her iki haftada bir dökülür; bu süreç cilt bütünlüğünü, esnekliğini ve fonksiyonel dayanıklılığını korur. Hücre bölünmesi, farklılaşma ve ekfoliasyonun dengesi dermatolojik hastalıkların patogenezi ve tedavi stratejileri açısından kritik öneme sahiptir (Osseiran vd., 2018).

Yara iyileşmesi, yaralanma sonrası gelişen kompleks ve koordineli bir onarım sürecidir ve hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve doku remodelasyonu olmak üzere dört evreden oluşur (Peña ve Martin, 2024). Epiderminin bazal tabakasındaki kök hücre popülasyonu bu sürecin başlangıcını oluşturur. Bu popülasyon içinde keratinositler, epidermal tabakanın %90–95'ini oluşturarak yara bölgesinin yeniden kaplanmasında temel rol oynar (Czyz vd., 2023; Gopinath vd., 2021). Yaradan merkeze doğru göç eden bazal keratinositler antijenler ve yara iyileşme proteinleri salgılayarak re-epitelizasyonu başlatır; büyüme faktörleri aracılığıyla doku onarımı hızlandırılabilir (Gopinath vd., 2021; Peña ve Martin, 2024). Keratinositler, sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri yoluyla MAPK ve ERK1/2 gibi sinyal yollarını aktive ederek re-epitelizasyonu düzenler (Calabrese vd., 2022; Cui vd., 2021). Yara kenarındaki keratinositler öncelikle göç ederek yara yatağını kaplayan bir tabaka oluşturur; ardından proliferasyon evresiyle hücre sayısı

artar ve terminal farklılaşma ile epidermal bariyer yeniden kurulur. Bu iki süreç göç ve proliferasyon keratinositlerin yara iyileşmesindeki temel faaliyetleridir. Erken evrede büyüme faktörleri proliferasyonu desteklerken, orta evrede farklılaşma gerçekleşir ve çok katmanlı epidermis yeniden inşa edilir. Keratinosit tabakasının fonksiyonel olamaması (örneğin Epidermolizis Bülloza gibi hastalıklarda) kronik yara gelişimine neden olabilir. Plazma membranındaki heparin bağlayıcı büyüme faktörleri ve FGF reseptörlerinin düzenlenmesi, keratinositlere proliferasyon ve onarım için güçlü sinyaller iletir (Calabrese vd., 2022; Peña ve Martin, 2024).

2.5.6 Yara iyileşmesini teşvik eden hücre göçünü düzenleyen temel sinyal yolları

Yara iyileşmesi sırasında hücre göçü, Rho GTPaz, PI3K/Akt, TGF- β /Smad ve Wnt/ β -katenin yolları (Dong vd., 2025; Gao vd., 2022; Johan vd., 2024; Li vd., 2025) dahil olmak üzere çok sayıda sinyal kaskadı tarafından düzenlenir. Bu yollar, sitoskeletal dinamikler, hücre polarizasyonu ve kuvvet üretimi gibi temel göç süreçlerini moleküler düzeyde kontrol eder (Carvalho vd., 2019; Fang vd., 2018; Ridley, 2015; Wu vd., 2023). Sinyal yolları arasındaki çapraz konuşma, bu karmaşık süreçte hücreler arası koordinasyonu sağlar; farklı sinyal ağlarının birbirini düzenlemesiyle hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve doku yeniden şekillenmesi dengeli bir şekilde yürütülür.

Rho GTPaz'lar, sitoskeletal düzenlemeler yoluyla yönlendirilmiş hücre hareketini kolaylaştıran temel göç düzenleyicileridir (Ridley, 2015). Ras süper ailesinin bir alt sınıfı olan bu moleküller, GTP-bağlı aktif ve GDP-bağlı inaktif durumlar arasında döngü yapar; aktivasyonları guanin nükleotid değişim faktörleri (GEF), inaktivasyonları GTPaz-aktive edici proteinler (GAP) ve inaktif formun stabilizasyonu ise GDP ayrışma inhibitörleri (GDI) aracılığıyla kontrol edilir (Van den Broeke ve Favoreel, 2011). Hücre göçüne ilişkin araştırmalar özellikle üç ana Rho GTPaz olan RhoA, Rac1 ve Cdc42 üzerinde yoğunlaşmıştır. RhoA, hücrenin hem ön hem arka uçlarında aktomiyozin kasılmasını ve aktin polimerizasyonunu ROCK ve forminler aracılığıyla düzenler. Rac1, PAK kinaz ve WAVE-Arp2/3 komplekslerini aktive ederek lamellipodial membran uzamasını teşvik

ederken, Cdc42 ise WASP proteinlerini aktive ederek filopodiyal çıkıntılarının oluşumunu destekler. (Shih vd., 2025; Takaya vd., 2024; Yamaguchi vd., 2015).

PI3K/Akt yolu, proliferasyon, göç ve immün modülasyon gibi hücrel süreçlerin merkezi düzenleyicisidir (Xue vd., 2021). Bu yolak, reseptör tirozin kinazlar, integrinler, antijen/sitokin reseptörleri ve GPCR'ler aracılığıyla aktive edilir (Teng vd., 2021). PI3K, PIP2'yi PIP3'e dönüştürerek Akt'ı membrana çeker ve çift fosforilasyonla aktive eder. Aktive Akt, aşağı akış hedeflerini fosforile ederek göçü düzenler. Bu yolak, Rac1 ve Cdc42 gibi Rho GTPaz'ları ve WASP/WAVE-Arp2/3 komplekslerini aktive ederek aktin polimerizasyonunu teşvik eder (Deng vd., 2022). Ayrıca, adezyon dinamiklerini düzenleyerek hücrelerin ön ucta tutunmasını ve arka ucta adezyonları serbest bırakmasını sağlar; bu, sürekli ve koordineli göçü garanti eder.

TGF- β /Smad yolu, proliferasyon, göç, ECM sentezi ve yeniden düzenlenmesini düzenler (Najafi vd., 2019). TGF- β ligandları, reseptörleri (TGF β RI ve TGF β RII) ve Smad2/3 mediyatörlerini kapsar. Fosforile Smad2/3, Smad4 ile dimerleşip çekirdeğe taşınarak hedef gen ekspresyonunu düzenler (Tu vd., 2019). Bu yolak, RhoA ve ROCK aracılığıyla sitoskeletal yeniden yapılanmayı destekler ve α 5, α v, β 5 integrinler ile MMP3 ve MMP9 ekspresyonunu artırarak keratinosit göçünü teşvik eder (Gailit vd., 1994; Ponugoti vd., 2013). Ayrıca, EMT düzenleyicisi olarak görev yapar; E-kaderin ve sıkı bağlantı proteinlerini aşağı, N-kaderin ve vimentini yukarı regüle eder (Weber vd., 2012).

Wnt/ β -katenin yolu, hücrel proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve göç süreçlerini kontrol eder (Song vd., 2024). Wnt sinyali yokluğunda β -katenin degradasyona uğrar (Moon vd., 2004). Wnt ligandları (ör. Wnt3a) Frizzled ve LRP5/6 reseptörlerine bağlandığında degradasyon kompleksi bozulur; β -katenin sitoplazmada birikir, nükleusa geçer ve TCF/LEF transkripsiyon faktörleri ile hedef gen ekspresyonunu aktive eder (Nusse ve Clevers, 2017; Schaale vd., 2011). Wnt sinyali, Rac1 aktivasyonu ve aktin polimerizasyonu yoluyla hücre göçünü teşvik eder. Ayrıca, EMT'ye bağlı olarak E-kaderin baskılanması ve vimentin/N-kaderin artışı ile hücreler arası yapışmayı azaltır. MMP2, MMP7 ve MMP9 ekspresyonu artar, ECM degradasyonu hızlanır ve göç kolaylaşır (Sedgwick ve D'Souza-Schorey, 2016; Wu vd., 2007; Xue vd., 2024). Wnt1

ve EGFR aktivasyonu, keratinositlerin yara bölgelerine çekilmesini destekler; VEGF ise neovaskülarizasyon sırasında endotel hücre göçünü teşvik eder (Ono vd., 2018; Repertinger vd., 2004; Wang vd., 2019).

Sinyal yolları arasındaki çapraz konuşma (crosstalk), yara iyileşmesi sırasında hücre göçünü modüle eder. Örneğin, hipoksik koşullarda MSC'ler TGF- β /Smad2 ve PI3K/Akt yollarını aktive ederek fibroblast göçünü artırır ve yara iyileşmesini hızlandırır (Jun vd., 2014). Topikal androjen antagonizması, β -katenin nükleer translokasyonunu ve TGF- β sinyal yolunu inhibe ederek keratinosit göçünü teşvik eder (Toraldo vd., 2012). Rho GTPaz, farklı yolların ortak aşağı akış düğümü olarak görev yapabilir (Deng vd., 2022; Sedgwick ve D'Souza-Schorey, 2016). Farklı sinyal yolları tarafından düzenlenen hücre göçü tipleri, yara iyileşme süreçlerinde değişik özellikler gösterir (Dong vd., 2025; Gao vd., 2022; Huang vd., 2025; Johan vd., 2024; Li vd., 2025; Lv vd., 2020; Peng vd., 2019; Wang vd., 2022; Wang vd., 2024; Xu vd., 2024; Yu vd., 2020).

2.5.7 Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri

Yara iyileşmesi sürecinin etkin ilerlemesi, çeşitli büyüme faktörlerinin koordineli etkisine bağlıdır (Heldin ve Westermark, 1999). Temel büyüme faktörleri arasında PDGF, TGF- β , EGF, VEGF, FGF, IGF, KGF ve TNF- α yer alır. Bu faktörler, hücre göçü, proliferasyonu, anjiyogenez, inflamasyon kontrolü ve ekstrasellüler matriks sentezi gibi olayları düzenleyerek doku onarımında kritik roller üstlenir. Diyabet, kronik inflamasyon, yaşlanma, hipoksi ve beslenme yetersizlikleri gibi durumlar bu faktörlerin dengesini bozarak iyileşme sürecini aksatabilir. Bu nedenle büyüme faktörlerinin dengeli aktivasyonu, yara iyileşmesinin moleküler düzeninin korunması ve kronik yaraların önlenmesi açısından büyük önem taşır.

Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), damar endotelial hücrelerinin, düz kas hücrelerinin ve fibroblastların proliferasyonunu uyarak hasarlı damarların onarımına katkıda bulunur (Pierce vd., 1991). PDGF izoformları, uyarılmış makrofajlar, fibroblastlar ve endotelial hücreler tarafından salgılanır ve yumuşak doku onarımı, kemik onarımı ve epitel yenilenmesi gibi çeşitli yara iyileşme süreçlerine katılır (Mitchell vd.,

1976). PDGF, diğer büyüme faktörleriyle sinerjik olarak çalışarak doku rejenerasyonunu destekler ve fibroblastların hasarlı bölgeye göçünü artırır, kolajen üretimini teşvik eder ve granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırır (De Pascale vd., 2015; Ross vd., 1990; Seeger ve Paller, 2015). Trombositler, damar hasarına yanıt olarak aktive olur ve PDGF dahil olmak üzere çeşitli büyüme faktörlerini salgılar. Bu salgı, yara iyileşmesinde inflamasyon ve doku rejenerasyonu arasındaki dengeyi sağlar. PDGF, transmembran tirozin kinaz reseptörlerine, özellikle PDGF reseptör- β 'ye bağlanarak hücre içi sinyalleri başlatır ve fibroblast ile düz kas hücrelerinin proliferasyonunu uyarır (Montmayeur vd., 1997). Ayrıca, IL-1 gibi sitokinlerle birlikte nötrofilleri yara bölgesine çekerek mikropların temizlenmesini destekler ve TGF aracılığıyla monositlerin makrofajlara dönüşmesini teşvik ederek doku temizliği ve epitel yenilenmesini kolaylaştırır (Hantash vd., 2008). Klinik olarak, PDGF içeren trombositten zengin plazma (PRP) tedavileri yara iyileşmesini hızlandırmak için kullanılmaktadır. Bu tedaviler, PDGF'in sürekli salınımını sağlayarak fibroblast ve keratinosit aktivitesini artırır ve yeni kan damarlarının oluşumunu destekler. Böylece yara iyileşmesinin tüm aşamaları daha etkili bir şekilde ilerler (Allain vd., 2005; Greppi vd., 2011; Kubota vd., 2004; M. Dohan Ehrenfest vd., 2012).

TGF- β , "transforming growth factors" süper ailesine ait bir sitokindir ve TGFB1, TGFB2 ve TGFB3 genleri tarafından kodlanan üç ana izoform içerir (Meng vd., 2016). Beyaz kan hücrelerinin tüm alt tipleri TGF- β üretir. TGF- β reseptörleri tip 1 ve tip 2 alt birimlerinden oluşur; TGF- β bağlanması tip 2 reseptör kinazın fosforilasyonu ile başlar ve tip 1 reseptör kinazı aktive ederek çeşitli hedef genlerin ekspresyonunu tetikler (Nakao vd., 1997). TGF- β inaktif formda makrofajlar ve diğer hücreler tarafından üretilir; latent form LTBP ve LAP ile kompleksleşir. Plazmin ve trombospondin-1 (TSP-1) gibi moleküller, bu kompleksten aktif TGF- β salınımını tetikler. Makrofajlar, plazma hücreleri tarafından üretilen IgG'ye bağlı latent kompleksleri endosite ederek aktif TGF- β 'yı ekstrasellüler sıvıya bırakır (Nakao vd., 1997). TGF- β , özellikle inflamasyon kontrolü, T hücre proliferasyonu ve kök hücre farklılaşması gibi süreçlerde kritik rol oynar. TGF- β 'nın yara iyileşmesindeki rolü, farklı izoformların işlevleriyle ilişkilidir. TGF- β 1; inflamasyon, anjiyogenez, granülasyon dokusu oluşumu ve ekstrasellüler matriks yeniden şekillenmesinde görev alır (Okuda vd., 1998). TGF- β 1 eksik farelerde

yara iyileşmesi gecikir, granülasyon dokusu ve yeni damar oluşumu bozulur; inflamatuvar hücre yanıtı düzensizleşir (Crowe vd., 2000). TGF- β 2 ve TGF- β 3 ise fibroblast ve inflamatuvar hücre gelişimi ile kollajen üretimini destekler, yeni damar büyümesini teşvik eder ve böylece yara iyileşmesini hızlandırır (Wahl vd., 1987). Yara sıvılarında TGF- β 1, KGF, VEGF, HGF ve MMP-1 düzeyleri artmıştır; yanık hastalarında CD41/TGF- β 1 üreten T hücreleri yoğun olarak bulunur. TGF- β 1, monositleri yara bölgesine çeken kemotaktik bir ajan olarak görev yapar ve fibrotik dokularda yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilir (Fu vd., 2001). Bu veriler, TGF- β 'nın yara iyileşmesindeki merkezi rolünü ve inflamasyon-regülasyon mekanizmalarındaki önemini göstermektedir.

VEGF, angiogenez sürecinde kritik rol oynayan bir büyüme faktörüdür ve yara iyileşmesinde endotel hücre proliferasyonu, göç ve bazal membran parçalanmasını düzenler (Stojadinovic vd., 2007; Yamagishi vd., 1999). VEGF, Flt-1 (VEGFR-1), KDR (VEGFR-2) ve VEGFR3 (Flt-4) gibi reseptörlere bağlanır; KDR endotel hücre proliferasyonu ve göçünü tetikler, Flt-1 kan damarı organizasyonu ve geçirgenliği kontrol eder, VEGFR3 ise lenf angiogenezi teşvik eder (Barleon vd., 1994; Soker vd., 1996). VEGF etkisi altında, MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 ve TIMP-1 gibi enzimler aktive olur, bu da endotel hücre göçünü ve damar yapısının yeniden şekillenmesini destekler (Unemori vd., 1992). VEGF, ayrıca prostasiklin ve NO aracılığıyla damar duvarı vazodilatasyonunu artırır, VEGF ile indüklenen lokal proteolitik ortam, ECM ve bazal membran bileşenlerinin parçalanmasını sağlayarak angiogenez ve yara iyileşmesini kolaylaştırır (Murohara vd., 1998). VEGF'in anti-apoptotik etkileri, PI3K/AKT1 ve MAPK yolları üzerinden endotel hücrelerini koruması ile yara iyileşmesini destekler (Kallis ve Friedman, 2018). Bu mekanizmalar, hem akut hem de kronik yaraların yeniden vaskülarizasyonu ve dokusal onarımında merkezi bir rol oynar.

EGF, keratinosit proliferasyonu ve göçünü teşvik ederek yara iyileşmesini destekler (Carpenter ve Cohen, 1979; Martin ve Nunan, 2015; Prigent ve Lemoine, 1992). Hücre yüzey reseptörleri aracılığıyla EGFR aktivasyonu, DNA sentezi ve hücre bölünmesini tetikler, granülasyon dokusu oluşumu ve fibroblast göçünü artırır (Carpenter ve Cohen, 1979). UVB, IL-33 ve ANG II gibi faktörler EGFR-MEK-ERK veya EGFR-PI3K-Akt

yolaklarını aktive ederek keratinosit göçü ve proliferasyonunu destekler. Kronik yaralarda EGFR lokalizasyonu değişmiştir; çoğunlukla keratinosit sitoplazmasında birikir ve bu da EGF sinyalleşmesinin tam olarak gerçekleşememesine neden olur (Liu vd., 2012). Ayrıca metalloproteazlar (ADAM12) ve IGF-bağlayıcı proteinler EGF ve HB-EGF aktivitesini etkileyerek yara iyileşmesinin gecikmesine katkıda bulunur (FALANGA vd., 1992). EGF, keratinosit göçü ve proliferasyonunu artırarak epitelyalizasyonu destekler; bu süreçte hem integrinler, hem MMP'ler hem de ECM bileşenleri kritik düzenleyici rol oynar (FALANGA vd., 1992; Liu vd., 2012; Morasso ve Tomic-Canic, 2005; Nguyen vd., 2020; Savagner vd., 2005; Schirmacher vd., 2001; Werner ve Grose, 2003). Kronik yaralarda keratinosit proliferasyonu ve göçü, sağlıklı deriye kıyasla morfolojik ve fizyolojik olarak farklılık gösterir; hiperproliferatif epidermis, c-myc aktivasyonu ve diferansiyasyon bozuklukları ile ilişkilidir (Panuncialman ve Falanga, 2009; Stojadinovic vd., 2005; Usui vd., 2008).

Fibroblast Büyüme Faktörleri (FGF'ler), doku mühendisliğinde hasar görmüş veya sağlıklı dokuların onarımı için önemli biyolojik ajanlar olarak öne çıkmaktadır (Sahakyants ve Vacanti, 2020). Bu büyüme faktörleri, kök hücrelerin biyolojik süreçlerini ve doku uzmanlaşmasını düzenleyen kimyasal sinyaller sağlayarak doku oluşumunda kritik bir rol oynar. Araştırmalar, özellikle iyi bilinen FGF ailesinin doku rejenerasyonu ve onarımı üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (Rophael vd., 2007). FGF ailesi günümüzde 22 üyeyi kapsamaktadır ve bu proteinler, fibroblast proliferasyonunu uyarabilmektedir. FGF sinyalleri, çoğunlukla FGF reseptörleri (FGFR) aracılığıyla iletilir ve başlıca RAS/MAP kinaz sinyal kaskadını aktive eder. FGF'ler, cilt, kan damarları, kas, yağ, tendon/ligament, kırıkta, kemik, diş ve sinir dahil olmak üzere birçok dokunun onarımında etkili olmuştur. Ayrıca, transgenik insan FGF'leri ve topikal uygulamalar yoluyla FGF tedavisi, yara iyileşmesini desteklemek amacıyla kullanılmaktadır.

FGF-2, temel fibroblast büyüme faktörü olarak da adlandırılır ve endotel hücre proliferasyonunu teşvik eden VEGFA ile birlikte güçlü bir anjiyojenik etki gösterir (Stocco vd., 2007). FGF2, luteal dokuda yeni kan damarlarının büyümesini teşvik ederek luteal proliferasyondan sorumludur. Bu faktör, FGFRs-1c, -2c ve -3c reseptörleri aracılığıyla AKT1, MAPK1/3 (ERK1/2) ve STAT1 sinyal yollarını aktive ederek hücre

proliferasyonu ve transkripsiyon süreçlerini düzenler (Asakai vd., 1994). FGF2 tedavisi, luteal fibroblastlarda proliferasyon, kolajen üretimi ve VEGFA ekspresyonunu artırarak korpus luteum kaderini etkiler. Bu süreçler, doku yeniden şekillenmesini ve corpus albicans oluşumunu destekler (Turner ve Grose, 2010).

IGF sistemi, insülin, IGF-1 ve IGF-2 peptid ligandları ile bunların oluşturduğu komplekslerden meydana gelir ve ligandlar INSR, IGF-1R ve IGF-2 reseptörlerini aktive eder (Conover ve Oxvig, 2017). IGF-1, dokuların büyüme ve olgunlaşmasında kritik bir rol oynar (Vincent ve Feldman, 2002). Özellikle kornea epitel, stromal ve endotel hücrelerinde IGF-1R, IGF-2R ve INSR ekspresyonu gözlenmiştir. Bu sistem, yara iyileşmesi, homeostaz, hücre özelleşmesi ve proliferasyon gibi süreçlerde önemli biyolojik işlevler üstlenir. IGF reseptörlerinin aktivasyonu, Ras/Raf ve Rac yollarını tetikleyerek proliferasyon ve hücre göçünü destekler. Ayrıca, IRS proteinleri aracılığıyla PI3K/Akt yolunu aktive ederek protein sentezini başlatır ve hücre ölümünü engeller (LeRoith vd., 1995; Naeser, 1997; Rocha vd., 2002; Sehat vd., 2010; Titone vd., 2018; Waraky vd., 2017). IGF-1, özellikle kornea epitel ve stromasında hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını desteklerken, IGF-2 gelişimsel süreçlerde rol oynamaktadır (Cuthbertson vd., 1989; Jiang vd., 2015; Ko vd., 2009; H. K. Lee vd., 2006). Araştırmalar, IGF-1 ve IGF-2'nin limbik kök hücrelerin kornea epitel hücrelerine farklılaşmasında kritik olduğunu göstermiştir (Jiang vd., 2015).

NGF, yara iyileşmesinde inflamasyon, doku oluşumu ve doku yeniden şekillenmesi süreçlerinde etkili olan bir nörotrofik faktördür (Monika vd., 2022). NGF, mast hücreleri, nötrofiller, makrofajlar, keratinositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri üzerinde biyolojik etkiler gösterir. Rodent modellerinde, submandibular bezlerin çıkarılması yara iyileşmesini yavaşlatırken, topikal NGF uygulaması yara iyileşmesini önemli ölçüde hızlandırmıştır (Kawamoto ve Matsuda, 2004; Li vd., 1980). Bu bulgular, NGF'nin tükürükten salınmasının fizyolojik olarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir.

HGF, yetişkin kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücrelerin (MSC) hareket, farklılaşma ve proliferasyon süreçlerinde kritik rol oynayan çok işlevli bir sitokindir

(Herzog vd., 2003; Maina vd., 1996). Endotelyum ve epitel hücreleri HGF'den göç, proliferasyon, büyüme ve hayatta kalma sinyalleri alır. HGF, organ gelişimi, karaciğer ve böbrek rejenerasyonu, kan damarları oluşumu ve miyoblast yönlendirilmesinde etkili olup, hasarlı dokularda sitoprotektif bir rol üstlenir. HGF sinyal iletimi, yüksek afiniteli Met reseptörü üzerinden gerçekleşir ve Met reseptörü, Gab-1, SHC ve GRB2 gibi adaptör proteinlerle etkileşerek ras-ERK1/2 ve PI3K yollarını aktive eder. Bu mekanizmalar, hücresel büyüme, proliferasyon ve dokunun yeniden yapılandırılmasını destekler (Danilkovitch-Miagkova ve Zbar, 2002).

2.5.8 Kenevirin yara iyileşmesindeki rolü

Kannabinoidlerin çok çeşitli hastalık ve patolojik durumların tedavisinde potansiyel uygulamalarını tanımlayan literatür giderek artmaktadır (Pisanti ve Bifulco, 2019). Kannabinoidlerin kronik ağrı, spastisite, anoreksi, bulantı, malignite (Armstrong vd., 2015; Sarfaraz vd., 2008), astım (Basu ve Dittel, 2011), dirençli epilepsi (Oláh vd., 2014), ruh hali ve anksiyete bozuklukları, hareket bozuklukları, nöropatik ağrı, multipl skleroz, omurilik yaralanması, kanser, ateroskleroz, miyokard enfarktüsü, inme, hipertansiyon, glom, obezite ve metabolik sendrom, diabetes mellitus ve osteoporoz (Nikan vd., 2016; Pisanti ve Bifulco, 2019) tedavisindeki kullanımlarını açıklayan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Son zamanlarda literatür, kannabinoidlerin dermatolojik durumların tedavisindeki umut verici rolünü tanımlamaya başlamıştır; bunlar arasında cilt kanseri, inflamatuvar cilt hastalıkları ve pruritus yer almaktadır. Kannabinoid reseptörlerinin (CB1R ve CB2R) keratinosit proliferasyonu ve diferansiyasyonunu düzenlemede rol oynadığı gösterilmiştir. CB1R aktivasyonu genellikle proliferasyonu baskılarken diferansiyasyonu teşvik etmektedir; CB2R aktivasyonu ise bazen ters etki gösterebilmektedir. Fitokannabinoidler (THC, CBD, CBN ve CBG) özellikle hiperproliferatif keratinositlerde anti-proliferatif etki göstermiştir; bu bileşikler arasında CBD en yüksek aktiviteye sahiptir. Bu etkilerin klasik CB reseptörlerine bağlı olmaması, non-klasik mekanizmaların da rol oynadığını düşündürmektedir. Diğer yandan, sağlıklı dokularda topikal CBD'nin proliferasyonu artırıcı etkilerinin gözlemlenmesi, kannabinoidlerin bağlama özgü ve kompleks bir etki mekanizmasına sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, topikal CBD ve diğer fitokannabinoidlerin kronik veya

iyileşmeyen yaraların kenarındaki aşırı proliferatif keratinositleri düzenleyerek yara iyileşmesini destekleyebileceğini göstermektedir. CB1R agonizması ve CB2R antagonizması anti-proliferatif etkiler sunarak hiperproliferatif yara kenarının kontrolünde potansiyel fayda sağlayabilir. Dolayısıyla, kannabinoidlerin yara iyileşmesindeki rolü, özellikle insan derisinde daha fazla araştırılması gereken önemli bir alan olarak öne çıkmaktadır (Weigelt vd., 2021) Kannabinoidlerin (CB'ler), fibrosis ve re-epitelizasyon dahil yara iyileşmesinde rol oynayan parametreleri düzenleyerek akut yaraların iyileşme hızını artırabileceği ve skarsız iyileşmeye katkı sağlayabileceği gözlemlenmiştir. Fibroblastlar tarafından kollajen ve diğer ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin depo edilmesi iyileşme için gerekli olmakla birlikte, bu durum aynı zamanda fibrosis ve skar oluşumuna yol açabilir. CB2R aktivasyonu, fibroblast proliferasyonu, migrasyonu ve ECM birikimini azaltarak anti-fibrotik etki göstermektedir ve re-epitelizasyonu hızlandırarak yara kapanmasını destekleyebilir. Kannabinoidlerle yapılan in vitro ve hayvan çalışmaları, CB2 agonizmasının yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediğini ve CB2R blokajının yara kapanmasını geciktirdiğini göstermektedir. Ayrıca fitokannabinoidler (CBD, THC, CBN, CBG) hiperproliferatif keratinositlerin düzenlenmesinde anti-proliferatif etki göstererek kronik ve iyileşmeyen yaraların tedavisinde potansiyel fayda sağlayabilir (Weigelt vd., 2021)

2.5.9 Brokolinin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri

Brokoli, içerdiği zengin vitamin, mineral, lif ve fitokimyasal bileşenler sayesinde yara onarımında potansiyel terapötik etkiler göstermektedir. Brokoli özleri; sülforafan, indoller, A, C ve E vitaminleri, β -karoten, kersetin, kaempferol, glutatyon ve selenyum gibi birçok biyolojik aktif bileşen içerir. Bu bileşiklerin antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikleri, doku yenilenmesinde önemli rol oynamaktadır. Vitamin C, kollajen sentezi için temel bir kofaktördür. Hidroksilaz enzim sisteminde görev alarak hidroksiprolin ve hidroksilizin oluşumunu destekler; bu amino asitler kollajen zincirinin stabilizasyonu için zorunludur. Böylece C vitamini, hem yeni kollajen liflerinin oluşumunu hem de mevcut liflerin dayanıklılığını artırmaktadır. Brokoli ayrıca glukozinolatlar açısından zengindir ve bu bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinin, yara bölgesinde bakteriyel kaynaklı doku hasarını önleyerek kollajen sentezini dolaylı yoldan

artırdığı bildirilmiştir (Hakim vd., 2023). Glukozinolatlar, yara bölgesinde enfeksiyonun baskılanmasına katkıda bulunarak inflamasyon süresini kısaltabilir. Bunun yanı sıra brokoli, flavonoidler ve fenolik bileşikler gibi güçlü antioksidanlar bakımından da zengindir. Bu bileşikler serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarı azaltarak fibroblast aktivitesini ve prokollajen Tip I sentezini destekler. Bu özellikleri sayesinde flavonoidler, yara bölgesinde kollajen birikimini ve doku onarımını kolaylaştırıcı bir rol üstlenir. Yapılan deneysel gözlemler, brokoli ekstraktının topikal uygulandığında yara bölgesindeki kollajen lif yoğunluğunu artırdığını, ayrıca inflamatuvar hücre sayısında azalma sağladığını göstermektedir. Bu durum, brokolinin içerdiği C vitamini, glukozinolatlar ve polifenoller gibi bileşiklerin birlikte etkisiyle açıklanmaktadır (Hakim vd., 2023). Ayrıca, bu bileşenlerin fibroblast proliferasyonu ve ekstraselüler matriks sentezini uyararak doku yenilenmesini hızlandırdığı bildirilmektedir. Sonuç olarak, brokoli ekstraktı; kollajen sentezini artırıcı, inflamasyonu azaltıcı ve oksidatif hasarı sınırlayıcı etkileri sayesinde yara iyileşme sürecine katkı sağlamaktadır. Bu özellikleriyle brokoli, yara iyileşmesiyle ilişkili doku yenilenmesi süreçlerinde potansiyel bir doğal ajan olarak değerlendirilmektedir (Hakim vd., 2023).

2.6 Hücresel Senesens ve Mekanizmaları

Hücresel senesens ilk olarak kültüre edilmiş insan fibroblastlarının sınırlı çoğalma kapasitesi nedeniyle hücre döngüsünden kalıcı çıkış olarak tanımlanmıştır (Hayflick ve Moorhead, 1961). Günümüzde ise senesens, onkojenik aktivasyon, oksidatif ve genotoksik stres, mitokondriyal disfonksiyon, ışınlama veya kemoterapötik ajanlar gibi çok çeşitli içsel ve dışsal etkenlerle tetiklenebilen bir stres yanıtı olarak kabul edilmektedir (Kuilman vd., 2010). Senesensin tanımlayıcı özelliği, hasarlı ve yaşlı hücrelerin çoğalmasını sınırlayan kalıcı bir büyüme durmasının oluşmasıdır; ancak senesens programıyla ilişkili diğer birçok fenotipik değişiklik de senesens hücrelerinin patofizyolojik işlevlerini anlamak açısından önemlidir (Salama vd., 2014). Örneğin, senesens hücreler morfoloji değişiklikleri, kromatin yeniden düzenlenmesi ve metabolik yeniden programlanma geçirir ve çoğunlukla proinflamatuvar faktörlerden oluşan karmaşık bir karışımı salgırlar; bu karışım “senesens ile ilişkili salgısal fenotip” (SASP) olarak adlandırılır.

2.6.1 Senesensin fizyolojik rolleri

Hücrel senesens başlangıçta doku kültürü artefaktı olarak göz ardı edilmiştir. Ancak çok sayıda veri, senesens hücrelerin hastalık ve yaşlanmanın yanı sıra normal doku homeostazını da etkileyebileceğini göstermiştir (Muñoz-Espín ve Serrano, 2014). Nitekim, senesens gelişim sırasında da devreye girebilir (Muñoz-Espín vd., 2013; Storer vd., 2013) ve doku yeniden şekillenmesi için gereklidir. Örneğin, yara iyileşmesi sırasında senesens hücrelerin geçici olarak indüklenmesi gözlenir ve bu durum yara çözülmesine katkıda bulunur (Demaria vd., 2014; Jun ve Lau, 2010). Senesens aynı zamanda koruyucu bir stres yanıtı olabilir. Aslında senesens, prekanseröz hücrelerin çoğalmasını sınırlayarak kanserleri önleyen güçlü bir antikanser mekanizma olarak bilinir (Collado ve Serrano, 2010). Bununla birlikte, senesens hücrelerin birikimi yaşlanmayı ve yaşa bağlı hastalıkları da tetikler (Childs vd., 2015; Van Deursen, 2014). Senesens ve yaşlanma arasındaki bağlantı, başlangıçta yaşlı dokularda senesens hücrelerin biriktiğine dair gözlemlere dayandırılmıştır (Krishnamurthy vd., 2004). Yaşlanma sürecinde, kök ve progenitor hücrelerin senesensi, dokuların onarım ve yenilenme kapasitesine engel olarak doku homeostazını bozabilir. Son 10 yılda, senesensin yaşlanma ve yaşa bağlı patolojilerdeki zararlı sonuçlarına dair anlayışımız önemli ölçüde genişlemiştir. Bu farkındalığın artmasında iki araştırma hattı etkili olmuştur. Birincisi, senesens hücrelerin tespitine imkân tanıyan transgenik modellerin kullanılması, bu hücrelerin birçok yaşa bağlı patolojide sistematik olarak tanımlanmasını sağlamıştır (Muñoz-Espín ve Serrano, 2014). İkincisi, van Deursen laboratuvarı tarafından öncülük edilen genetik ve farmakolojik stratejilerle senesens hücrelerin seçici olarak ortadan kaldırılması, senesens hücrelerin gerçekten yaşlanma ve ilgili patolojilerde nedensel bir rol oynayabileceğini göstermiştir (Van Deursen, 2014). Senesens hücrelerin seçici olarak ortadan kaldırılmasının, normal yaşlanma bağlamında farelerin sağlık süresini önemli ölçüde uzatması ve yaşa bağlı hastalıklar veya kanser tedavisinin sonuçlarını iyileştirmesi (Baar vd., 2017; Baker vd., 2016; Baker vd., 2011; Chang vd., 2016; Childs vd., 2016; Demaria vd., 2017), senesens hücreleri temizleyebilecek bileşiklerin belirlenmesine olan ilgiyi artırmıştır. Ancak bu sözde “senolitik” tedaviler hâlen önemli sınırlamalarla karşı karşıyadır. Potansiyel yan etkilerinin yanı sıra, senolitik bileşiklerin değerlendirilmesi; evrensel senesens biyobelirteçlerinin eksikliği ve in vivo senesens fenotiplerinin

heterojenliği gibi faktörler tarafından kısıtlanmaktadır (Sharpless ve Sherr, 2015). Senesensi başlatan ve sürdüren yollar üzerine devam eden araştırmalar, biyobelirteçlerin ve potansiyel tedavilerin belirlenmesine yönelik önemli bilgiler sağlayacaktır.

2.6.2 Kenevirin senesens üzerine etkisi

Kenevirin (*Cannabis sativa*) senesens üzerindeki etkileri, içerdiği başlıca bileşikler olan Δ^9 -tetrahidrokannabinol (THC) ve kannabidiol (CBD) üzerinden incelenmektedir. (Gerasymchuk vd., 2022) tarafından yapılan çalışmada, THC ve CBD'nin fibroblast hücrelerinde yaşlanma sürecini etkilediği gösterilmiştir. Araştırmada, THC ve CBD tedavisinin β -galaktozidaz aktivitesini azalttığı ve böylece hücre senesansını geciktirdiği bulunmuştur. Ayrıca, bu bileşikler fibroblastlarda hücre büyümesini artırmış ve hücre döngüsü düzenleyicileri ile ekstrasellüler matris (ECM) üretimi ile ilişkili genlerin ekspresyonunu değiştirmiştir. Çalışmada, THC ve CBD'nin yara iyileşmesini metformin, rapamisin ve triasetilresveratrol gibi yaşlanma karşıtı bileşiklere kıyasla daha etkili bir şekilde iyileştirdiği de belirtilmiştir (Gerasymchuk vd., 2022). Buna karşılık, Li ve arkadaşları (2023) CBD'nin insan Sertoli hücrelerinde etkilerini incelemişlerdir. Çalışma, CBD maruziyetinin çeşitli sinyal yollarını etkileyerek Sertoli hücrelerinde transkriptomik değişikliklere yol açtığını ve hücre senesansı uyardığını göstermiştir (Y. Li vd., 2023). Bu iki çalışma birlikte değerlendirildiğinde, kenevir bileşiklerinin hücre tipine bağlı olarak senesans üzerinde farklı etkiler gösterebildiği ortaya konmaktadır; fibroblastlarda senesansı geciktirirken Sertoli hücrelerinde senesansı uyarmaktadır.

2.6.3 Brokolinin senesens üzerine etkisi

Brokolinin yaşlanma süreci üzerindeki etkileri, içerdiği sülforafan bileşiği aracılığıyla araştırılmaktadır. Sedore ve arkadaşları (2025), brokoli türevi sülforafanın, yaşlanma ile ilişkili gen ekspresyon desenlerini modüle ederek organizmanın yaşam süresini uzatabileceğini göstermiştir. Çalışmada sülforafan tedavisinin, transkripsiyonel yaşlanma saati olarak adlandırılan yaşlanma göstergesi üzerinde yavaşlatıcı bir etkisi olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, brokolinin sülforafan bileşiği sayesinde yaşlanma sürecini düzenleyebileceğini ve senesansı yavaşlatabileceğini ortaya koymaktadır (Sedore vd.,

2025). Buna ek olarak, Hariton ve arkadaşları (2018) sülforafanın hücre düzeyinde yaşlanmayı nasıl etkilediğini incelemişlerdir. Çalışmada, insan fibroblastlarında yaşlanma süreciyle birlikte glukoz alımının arttığı, glikoliz hızının yükseldiği ve bunun sonucunda oksidatif hasarın meydana geldiği gösterilmiştir. Sülforafan tedavisi ise bu metabolik değişiklikleri tersine çevirerek hücre yaşlanmasını geciktirmiştir. Özellikle, glukoz alımını ve glikoliz hızını azaltmasıyla oksidatif hasarı engellemesi, sülforafanın yaşlanma sürecini modüle etme mekanizmasını ortaya koymaktadır (Hariton vd., 2018). Her iki çalışma da brokolinin içerdiği sülforafan bileşiğinin, hem organizma düzeyinde yaşam süresini uzatabilecek gen ekspresyon modülasyonu hem de hücresel metabolik mekanizmalar üzerinden senesansı yavaşlatabilecek etkiler sunduğunu göstermektedir.

2.7 Antimikrobiyal Aktivite: Tanım ve Temel İlkeler

Antimikrobiyal aktivite, bir maddenin mikroorganizma popülasyonlarının büyümesini inhibe etme veya onları ortadan kaldırma kapasitesi olarak tanımlanır (Matos vd., 2023). Bu kavram yalnızca antibiyotiklerle sınırlı değildir; antimikrobiyal etki gösteren birçok doğal veya sentetik bileşik bulunmaktadır. Örneğin, antimikrobiyal peptitler (AMP'ler), bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküller ve bazı polisakkarit türevleri, mikroorganizmalar üzerinde farklı mekanizmalarla inhibe edici ya da öldürücü etkiler gösterebilir (Matos et al., 2023). Antimikrobiyal ajanlar etkilerini genellikle mikroorganizmanın yapısal bütünlüğünü veya metabolik işlevlerini hedef alarak gösterir. Bu ajanlar, hücre zarının bütünlüğünü bozarak veya geçirgenliğini artırarak hücre içi homeostazı bozar ve bu durum özellikle membran hedefli peptitler için karakteristiktir (Matos et al., 2023). Ayrıca bazı ajanlar, hücre duvar sentezinde yer alan peptidoglikan ve dış membran bileşenlerine etki ederek bakterinin yapısal stabilitesini azaltır (Matos et al., 2023). Hücre yüzeyindeki elektrostatik ve hidrofobik etkileşimleri değiştirerek bakteriyel adezyon veya yüzey yük dengesini bozan moleküller de antimikrobiyal etki mekanizmaları arasında yer alır (Matos et al., 2023). Bazı antimikrobiyal bileşikler doğrudan veya dolaylı olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırarak oksidatif stres oluşturur; bu durum DNA, protein ve lipitler gibi hücresel bileşenlerin hasar görmesine yol açar (Matos et al., 2023). Ayrıca birçok doğal veya nanopartikül temelli ajan, mikroorganizmaların biyofilm oluşturma kapasitesini azaltarak konak yüzeylerine

tutunma ve direnç geliştirme yeteneklerini sınırlandırır (Matos et al., 2023). Antimikrobiyal etkinliğin düzeyi, ajanın kimyasal yapısı ile hedef mikroorganizmanın hücresel özellikleri arasındaki ilişkiye bağlıdır. Ajanın yükü, lipofilikliği, boyutu, elektrostatik etkileşim potansiyeli ve hedefe ulaşabilirliği gibi faktörler, antimikrobiyal etkinin gücünü belirleyen başlıca parametrelerdir (Matos et al., 2023). Bu nedenle antimikrobiyal aktivite yalnızca maddenin kimyasal doğasına değil, aynı zamanda mikroorganizmanın zar kompozisyonu ve savunma mekanizmalarına da bağlı olarak değişkenlik gösterir (Matos et al., 2023).

2.7.1 Gram pozitif ve gram negatif bakteriler arasındaki yapısal farklar

Gram pozitif bakteriler, kalın bir peptidoglikan tabakasına sahip olup, bu yapı hücre duvarının mukavemetini artırır. Bu kalın duvar, bazı antimikrobiyal ajanların doğrudan membran bileşenlerine ulaşmasını kolaylaştırabilir. Özellikle membran etkileşimli peptitler, Gram pozitif bakterilerin zar lipidleriyle etkileşerek membran bütünlüğünü bozabilir. Örneğin, antimikrobiyal peptitlerin Gram pozitif bakterilerde membranı hedef aldığı ve zar geçirgenliğini artırdığı belirtilmiştir (Malanovic ve Lohner, 2016). Bitki kaynaklı bileşikler, Gram pozitif bakterilere karşı hücre membranında bozulma, solunum zinciri inhibisyonu ya da ATP sentezinin engellenmesi yoluyla antimikrobiyal etki gösterebilir. Bu tür etki, özellikle lipofilik yapıların membranlarla daha güçlü etkileşebilmesine dayanır. Flavonoidlerin Gram pozitif bakterilerdeki etkinliği, lipofiliklikleri ile ilişkilidir; lipofiliklik arttıkça etkinlik de artmaktadır (Adamczak vd., 2020).

Gram negatif bakteriler, ince bir peptidoglikan tabakasına ek olarak dış membran (lipopolisakkarit bileşenli) barajına sahiptir. Bu dış membran, birçok antimikrobiyal bileşiğin doğrudan içeri geçmesini engelleyebilir. Porin kanalları, yalnızca belirli küçük ve uygun özellikteki moleküllerin geçişine izin verir; bu da antimikrobiyal ajanın dış membranı aşabilmesini sınırlar (Volzing vd., 2013). Antimikrobiyal peptitler gibi ajanlar, Gram negatif bakterilere karşı etki gösterirken önce dış membranı geçmeli, sonra iç membrana ulaşmalıdır. Bu durum, Gram negatiflerde antimikrobiyal etkinliği sınırlandırabilir. Örneğin, polymiksinler Gram negatif bakterilerin dış membranını aşarak

içeri girebilir ve bakteriyel hücreyi öldürebilir. Ancak bu etki, bakterilerin aktif büyüme durumunda daha belirgindir (Volzing vd., 2013). Bitki flavonoidleri, Gram negatif bakterilere karşı da etki gösterebilir; ancak etkinlikleri genellikle daha düşüktür. Bu durum, Gram negatif bakterilerin dış membranının flavonoidlerin hücre içine geçişini engellemesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, flavonoidlerin lipofiliklikleri arttıkça, Gram negatif bakterilere karşı etkinlikleri de artmaktadır (Adamczak vd., 2020).

2.8 Antifungal Direnç ve *Candida albicans*

Candida albicans, insanlarda en sık rastlanan patojenik maya türlerinden biridir ve özellikle mukozal enfeksiyonlardan sorumludur. Son yıllarda, bu organizmanın antifungal ajanlara karşı geliştirdiği direnç, klinik tedavi stratejilerini ciddi şekilde zorlaştırmaktadır. Azol sınıfı ilaçlara karşı direnç, *C. albicans*'ın en çok karşılaşılan problemi ve tedavi seçeneklerini sınırlamaktadır (Kadariswantiningsih vd., 2025). *C. albicans*'ın antifungal direnç geliştirme mekanizmaları oldukça çeşitlidir. Bunların başında hedef enzimlerdeki mutasyonlar gelir; özellikle ERG11 genindeki değişiklikler, 14 α -lanosterol demetilaz enziminin yapısını değiştirerek azol ilaçlarının etkisini azaltır (Kadariswantiningsih vd., 2025). Bunun yanı sıra, hücre içine antifungal ajanların girişini engelleyen aktif pompa sistemleri, ilacın etkinliğini düşürür. *C. albicans*'ın biofilm oluşturma kapasitesi de dirençte kritik bir rol oynar; biofilm yapıları, mikroorganizmaların çevresel streslere karşı direncini artırır ve antifungal ajanların penetrasyonunu engelleyerek tedavi etkinliğini sınırlar (Kaur ve Nobile, 2023). Biofilm içinde bulunan hücreler, planktonik hücrelere kıyasla çok daha yüksek düzeyde direnç gösterir, bu da özellikle kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlarda tedavi başarısını azaltır. Klinik açıdan, *C. albicans*'ın antifungal direnç profili göz önünde bulundurularak tedavi planlanmalıdır. Echinocandin sınıfı antifungaller, ciddi sistemik enfeksiyonlarda genellikle tercih edilen seçeneklerdir ve azol dirençli suşlara karşı etkili olabilir (Wake vd., 2024). Ancak, bu ilaçların sınırlı etkinliği ve potansiyel yan etkileri nedeniyle, tedavi sürecinde dikkatli bir değerlendirme gereklidir. Direnç mekanizmalarının ve biofilm formasyonunun anlaşılması, tedavi stratejilerinin belirlenmesi ve dirençli suşların erken tespiti, klinik başarı için kritik öneme sahiptir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Bitkisel materyaller

- *Cannabis sativa* yaprak ve sapları
- *Brassica oleracea* L. var. *italica* gövde ve çiçeği

3.1.2 Kimyasal maddeler ve çözeltiler

- Musluk suyu (ön yıkama)
- Sıcak su (bitkilerin kısa süreli daldırılması)
- %70 Etanol (bitkilerin dezenfeksiyonu)
- Otoklavlanmış ddH₂O (EtOH uzaklaştırma ve yıkama)
- PBS (Fosfat tamponlu salin)
- RIPA Buffer, Qubit Protein Assay Reagent ve Qubit Protein Standards 1–3
- Gluteraldehit %5 ve %4 Paraformaldehit (TEM için)
- %1 Uranyl acetate çözeltisi (TEM negatif boyama)
- Steril distile su, DPBS (DLS ve hücre uygulamaları için)

- Metanol, kloroform, MSTFA, MTBSTFA, iç standartlar (GC-MS analizleri için)
- Hücre kültürü besiyerleri: RPMI 1640 (%10 FBS, %1 PEV-Strep) ve DMEM (High Glucose, %10 FBS, %1 PEV-Strep)
- Trypsin-EDTA, PBS, Trypan Blue, MTT, Kristal Violet çözeltisi ve alkol
- Mueller-Hinton Agar (MHA; Merck, Darmstadt, Germany)
- Mueller-Hinton Broth (MHB; Merck, Darmstadt, Germany)

3.1.3 Biyolojik materyaller

- İzole edilmiş bitkisel eksozomlar ve eksozom pelletleri
- Eksozomdan elde edilmiş protein örnekleri
- HaCaT (immortalize insan keratinositleri) ve HDF (primer veya immortalize insan dermal fibroblastlar) hücre hatları
- Bakteriyel ve fungal test suşları: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ve *Candida albicans* ATCC 10231.

3.1.4 Cihaz ve laboratuvar ekipmanları

- Beher, spatula, Falcon tüpler, filtreler, santrifüj ve ultracentrifüj cihazları
- Ultrasonik homojenizatör, vortex, pipetler ve steril uçlar
- TEM ve DLS cihazları, GC-MS sistemi ve otomatik örnekleme

- Mikropipetler, pipet uçları, kuvetler, lam/lamel tutucular, inkübasyon kapları
- CO₂ inkübatörü, biyogüvenlik kabini, inverted mikroskop, mikrolaka okuyucu
- Nanodrop spektrofotometre, termal döngü cihazı, qPCR cihazı, plate reader
- Hücre kültürü için T-flask, multiwell plate, cryovial tüpler, serolojik pipetler

3.1.5 Moleküler biyoloji reaktifleri

- RNA izolasyon kiti ve DNase/RNase free mikro santrifüj tüpler
- cDNA sentez kiti, SYBR Green Master Mix ve tasarlanmış primerler (TGF- β , VEGF, PDGF, FGF, MMP, Col1A1, Col1A2, EGF, IL-6, TNF- α)
- Agaroz, agaroz jel boyası, 100 bp DNA Ladder
- β -Galaktosidaz tahlil kiti

3.2 Yöntem

3.2.1 Bitki materyali temini

Deneyisel uygulamalar için eksozom benzeri nanopartikül (pEV) kaynağı olarak kenevir (*Cannabis sativa*) ve brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) bitki türleri seçilmiştir. Kenevir (Narlisaray çeşidi) bitkisi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kenevir Araştırmaları Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Brokoli bitkisi ise Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Halk Sağlığı Enstitüsü'ne bağlı Geleneksel, Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp Anabilim Dalı bünyesindeki Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesi'nden temin edilmiştir.

3.2.2 Eksozom izolasyonu

Eksozom izolasyonunda, ilk olarak bitkiler musluk suyu ile yıkanmış, ardından sıcak suya kısa süreli daldırılıp çıkarılmış ve %70'lik etanol ile dezenfekte edilmiştir. Etanol kalıntıları, otoklavlanmış ddH₂O ile uzaklaştırılmış ve örnekler laboratuvar tartımına tabi tutularak 20 g olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler, 100 mL PBS içerisine alınarak beherde mekanik parçalama işlemi uygulanmış ve bir gece +4°C'de inkübe edilmiştir. Ardından, homojenize edilen bitki örnekleri 50 mL Falcon tüplerine süzülerek büyük partiküllerden arındırılmıştır. Süzülen örnekler, 4°C'de kademeli santrifüjleme işlemine tabi tutulmuştur; sırasıyla 1.000 rpm 15 dakika, 5.000 rpm 15 dakika ve 9.000–10.000 rpm 15 dakika hızlarda santrifüj edilmiştir (Şekil 3.1). Her adımın süpernatantı steril Falcon tüplerine aktarılmış, gerekmesi halinde 45 µm filtre kullanılarak çökeltiler uzaklaştırılmıştır. İzolasyonun tamamlanmasından sonra süpernatant, ultrasantrifüjleme öncesi -20°C'de saklanmıştır. Ultrasantrifüjleme işlemi için 80 mL örnekler tüplere alınmış ve cihazın ağırlık dengesi sağlanmıştır. Örnekler 4°C'de, 34.000 rpm ($\approx 115.000 \times g$) hızında 2 saat 8 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme sonrası süpernatant atılmış ve pelletler, 80 mL PBS ile yıkanarak aynı koşullarda 1 saat 8 dakika tekrar santrifüjlenmiştir. Elde edilen pelletler 700 µL PBS içerisinde resüspanse edilmiş ve homojenliği sağlanamamışsa 10–20 saniye sonikasyona tabi tutulmuştur. Hazırlanan eksozom örnekleri -80°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1 Bitki örneklerinden kademeli ve ultrasantrifüj yöntemleri kullanılarak eksozom benzeri nanopartiküllerin izolasyonu

3.2.3 Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre kullanılarak protein miktarı belirlenmesi

-80 de saklanmış olan eksozom örnekleri çözündürülmüş ve 10.000 rpm’de 15 dakika çöktürülerek süpernatant ayrı bir ependorf tüpe aktarılmıştır. Bu aşamadan itibaren protein miktarının belirlenmesi için hazırlık yapılmıştır. Protein miktarları, Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre ile belirlenmiştir. Standartlar ve örnekler için karışımlar hazırlanmış, RIPA buffer ile 1:1 oranında seyreltme yapılmış ve 15–20 kez pipetaj ile karıştırılmıştır. Örnekler, karanlık ortamda 15 dakika inkübe edildikten sonra ölçümler alınmış ve 1:1 RIPA seyreltilmesi dikkate alınarak sonuçlar hesaplanmıştır.

3.2.4 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile eksozom morfoloji ve boyutunun incelenmesi

TEM analizi için eksozomların morfolojisi incelenmiştir. Her örnek 19 µL PBS ile 1 µL eksozom örneği oranında PCR tüplerinde hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler, numaralandırılmış TEM ızgaralarına damlatılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Kurutma kağıdı ile fazla sıvı uzaklaştırıldıktan sonra %5’lik gluteraldehit ile 5 dakika inkübe edilerek eksozomlar sabitlenmiştir. Ardından, 5 dakika PBS ile yıkama yapılmış ve kurutma işlemi tamamlanmıştır. İzlenen TEM gridleri, eksozom morfolojisi ve boyutunun gözlemlenmesi amacıyla analiz edilmiştir.

3.2.5 Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile boyut dağılımının belirlenmesi

Eksozomların boyut dağılımı ve polidispersite indeksi, DLS tekniği ile ölçülmüştür. Eksozomlar hacimce 1:10 oranında DPBS ile seyreltildikten sonra, Nanosizer cihazı kullanılarak ölçümler gerçekleştirilmiş ve boyut dağılım spektrumları elde edilmiştir.

3.2.6 GC-MS analizi ve veri işleme

Metabolomik analizlerde, izole edilen metabolitler metanol-su-kloroform sistemi ile türevlendirilmiştir. Türevlendirme ajanı olarak N-Metil-N-(trimetilsil) trifluoroasetamid ve MTBSTFA kullanılmıştır. GC-MS analizinde yüksek enerjili iyonizasyon uygulanmış

ve elde edilen spektrumlar, MetaboAnalyst yazılımı ile işlenerek İlksel Bileşen Analizi (PCA) ve ısı-harita grafikleri oluşturulmuştur.

3.2.7 Hücre kültürü koşulları

Eksozomların biyolojik etkinlikleri, HaCaT (immortalize insan keratinosit) ve HDF (human dermal fibroblast) hücre hatlarında in vitro koşullarda test edilmiştir. HaCaT hücreleri RPMI 1640 besiyeri ile, HDF hücreleri ise DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ile kültüre edilmiştir. Her iki besiyerine %10 FBS ve gerekli antibiyotikler (100 U/mL PEVisilin ve 100 µg/mL streptomisin) eklenmiştir. Hücreler 37°C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde büyütülmüş, morfoloji ve büyüme durumu invert mikroskop ile düzenli olarak izlenmiştir. Besiyerleri 2–3 günde bir taze besiyerine değiştirilmiştir.

HaCaT ve HDF hücreleri, yaklaşık %80–90 konfluens düzeyine ulaştığında pasajlanmıştır. Hücreler, trypsin-EDTA çözeltisi ile kültür kabından ayrılmış ve uygun yoğunlukta yeni kültür kaplarına aktarılmıştır. Pasajlama sırasında her iki hücre hattının morfolojisinin korunmasına ve proliferasyon kapasitelerinin sürdürülmesine özen gösterilmiştir.

Hücre yoğunluğu Tripan Mavisi boyama yöntemi ile belirlenmiş ve TC20 Automated Cell Counter (Bio-Rad) cihazı kullanılarak sayılmıştır. Her iki hücre hattı için hücre yoğunluğu ayarlanarak 96 kuyucuklu plakalara ekim yapılmış; plaka başına 1×10^4 hücre olacak şekilde hücreler dağıtılmış ve 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre zarfında hücrelerin tabaka oluşturması ve sağlıklı büyüme göstermesi sağlanmış, eksozom uygulamaları için uygun başlangıç koşulları elde edilmiştir.

3.2.8 Hücrelere eksozomların uygulanması

Hücrelere uygulanacak eksozomların biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla farklı konsantrasyonlarda ve farklı zaman noktalarında muameleler yapılmış, hücre canlılığı ve uygun doz belirlemesi MTT testi ile analiz edilmiştir. HaCaT ve HDF

hücreleri, izole edilen bitkisel eksozomlar (*Cannabis sativa*, *Brassica oleracea* L. var. *italica* ve sinerjetik) ile 10, 25, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında 12, 24 ve 48 saat süreyle muamele edilmiştir. Hücre canlılığı, MTT testi ile ölçülmüş ve absorbans değerleri (590 nm) canlı hücre yoğunluğu ile ilişkilendirilmiştir. Deneyler her biri 3 teknik ve 3 biyolojik tekrar şeklinde yürütülmüş ve pozitif/negatif kontrol grupları dahil edilmiştir.

3.2.9 RNA izolasyonu ve cDNA sentezi

HaCaT ve HDF hücrelerinden toplam RNA, ticari bir RNA izolasyon kiti kullanılarak izole edilmiştir. İzolasyon sırasında, hücrelerden RNA'nın bütünlüğünün korunmasına özen gösterilmiş ve kontaminasyon riskini azaltmak için DNase/RNase free mikro santrifüj tüpleri kullanılmıştır. Elde edilen RNA örneklerinin saflık ve konsantrasyonu, Nanodrop spektrofotometresi ile ölçülmüş ve A260/A280 oranları değerlendirilmiştir. RNA'nın bütünlüğü, %1 agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiş, intakt ribozomal bantlar üzerinden kalite doğrulaması yapılmıştır. Saf ve bütün RNA örnekleri, cDNA sentez kiti (iScript™ cDNA Synthesis Kit veya eşdeğeri) kullanılarak tek iplikli cDNA'ya dönüştürülmüş ve downstream qPCR analizleri için hazırlanmıştır. Tüm işlemler, her hücre hattı için 3 teknik ve 3 biyolojik tekrar şeklinde yürütülmüştür.

3.2.10 Primer tasarımı

Hedef genlere (Col 1A1, Col 1A2, FGF, MMP, IL-6) ait primerler, Integrated DNA Technologies (IDT) PrimerQuest Tool çevrimiçi yazılımı kullanılarak tasarlanmıştır. Genlere özgü bölgeler seçilmiş ve tasarım sürecinde GC içeriği optimize edilmiştir (Çizelge 3.1). Amplikon uzunlukları ile olası ikincil yapılar (örneğin saç tokası oluşumları veya dimerizasyon) IDT algoritmaları aracılığıyla değerlendirilmiştir. Tasarlanan primer dizilerinin özgüllüğü, NCBI Primer-BLAST veritabanı kullanılarak doğrulanmış ve primerler ticari olarak sentezlenmiştir.

Çizelge 3.1 Primerler, Integrated DNA Technologies (IDT) PrimerQuest Tool kullanılarak tasarlanmış ve özgüllükleri Primer-BLAST veritabanı aracılığıyla doğrulanmıştır. Tabloda, ilgili genlere ait ileri (F) ve geri (R) primer dizileri 5'→3' yönünde sunulmuştur.

COL1A1	CTGCTGGACGTCCTGGTGAA	ACGCTGTCCAGCAATACCTTGAG
COL1A2	GAGGGCAACAGCAGGTTCACTTA	TCAGCACCACCGATGTCCAA
FGF (FGF-2)	GTGTGTGCTAACCGTTACCT	GCTCTTAGCAGACATTGGAAG
MMP (MMP-1)	TTGAAGCTGCTTACGAATTTC	GAAGCCAAAGGAGCTGTAGATGTC
IL-6	TAGCCTCAATGACGACCTAAG	GTGGGGCTGATTGGAAACCT

3.2.11 qPCR analizi

Hazırlanan cDNA örnekleri kullanılarak hedef genlerin ekspresyon düzeyleri ölçülmüştür. Analiz kapsamında TGF- β , VEGF, PDGF, FGF, MMP, Col1A1, Col1A2, EGF, IL-6 ve TNF- α genleri değerlendirilmiştir. qPCR çalışmaları, SYBR Green I Master Mix kullanılarak gerçekleştirilmiş ve floresan sinyal ölçümleri LightCycler® Nano cihazı ile alınmıştır. Reaksiyonlar, her bir hedef gen için 3 teknik ve 3 biyolojik tekrar şeklinde yürütülmüş, cihazın termal döngü programı üretici protokolüne uygun olarak uygulanmıştır. Amplifikasyon sırasında oluşan floresan sinyalleri ile cDNA miktarı kantitatif olarak belirlenmiş ve gen ekspresyon düzeyleri sonraki analizler için kaydedilmiştir. Hedef gen ekspresyon verileri iç kontrol geni β -actin ile normalize edilmiş ve göreceli ekspresyon değişiklikleri $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.12 Wound-Healing tahlili

HaCaT ve HDF hücreleri, uygun kültür koşullarında monolayer tabakası oluşturacak şekilde çoğaltılmıştır. Hücre tabakası üzerinde steril bir pipet ucu kullanılarak doğrusal bir “yara” alanı oluşturulmuş ve hücrelerin göç ederek bu alanı doldurma kapasitesi değerlendirilmiştir. Yara oluşumundan sonra hücreler, izole edilen bitkisel eksozomlar (*Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* L. var. *italica*) ile muamele edilmiştir. Yara

kapanma oranları, oluşturulan başlangıç çizgisi ile 24, 48 ve 72 saatlerindeki hücre örtülme alanları karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Görüntülerin analizi ve yara alanının kantitatif ölçümü ImageJ yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneyler her hücre hattı için 3 teknik ve 3 biyolojik tekrar şeklinde yürütülmüş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

3.2.13 Hücre yaşlanması analizi

HaCaT ve HDF hücreleri, uygun kültür koşullarında çoğaltıldıktan sonra, izole edilen bitkisel eksozomlar (*Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* L. var. *italica*) ile 24 saat süreyle muamele edilmiştir. Hücre yaşlanması, β -Galaktosidaz aktivitesine dayalı ticari bir kit kullanılarak değerlendirilmiştir. Deney sırasında hücreler, yaşlanmış ve genç hücreler arasındaki morfolojik ve renk değişimlerine göre incelenmiş, β -Galaktosidaz pozitif hücreler sayılarak kantitatif analiz yapılmıştır. Tüm deneyler her hücre hattı için 3 teknik ve 3 biyolojik tekrar şeklinde yürütülmüş, elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak sunulmuştur.

3.2.14 Antibakteriyel ve antifungal aktivitenin belirlenmesinde modülasyon yönetimi

Bakteriyel ve fungal suşlar MHA plaklarında aktivasyon işlemine tabi tutulmuştur. Aktivasyon sonrası, kültürler 0.5 McFarland standardına göre hazırlanarak, MHB ortamına inoküle edilmiştir. Bakteriyel kültürlerde hücre yoğunluğu 5×10^5 CFU/mL, fungal kültürde ise $0.5\text{--}2.5 \times 10^3$ CFU/mL olacak şekilde ayarlanmıştır.

Deneysel gruplar, izole edilen bitkisel EV'lerin farklı konsantrasyonları (10^5 , 10^6 ve 10^7 vezikül/mL) kullanılarak oluşturulmuştur. Pozitif kontrol kuyucuklarında yalnızca besiyeri ve kültür inokulumu bulunurken, negatif kontrol olarak besiyeri kullanılabilir. Her kuyucuk için 15 μ L kültür inokulumu ve 150 μ L MHB besiyeri eklenmiştir.

Bakteriyel kültürler 37 °C'de 24 saat, fungal kültürler ise 35 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Kültürlerin optik yoğunlukları (OD₆₀₀) mikropilaya okuyucu ile bakteriler için

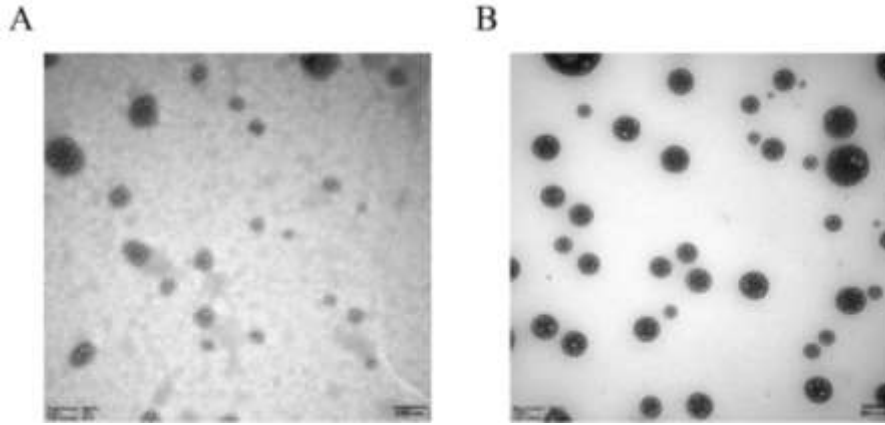
6, 12 ve 24 saat; fungus için 24 ve 48 saat sonunda ölçülmüştür. Test gruplarında kontrol gruplarına göre gözlenen OD düşüşleri, EV'lerin olası antimikrobiyal etkisi olarak yorumlanmıştır.

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak sunulmuştur. Kontrol ve test grupları arasındaki istatistiksel farklılıklar, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Dunnett post hoc testi ile değerlendirilmiştir. Tüm analizler GraphPad Prism 8.0 (GraphPad, Boston, MA, USA) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile Eksozom Morfoloji ve Boyutunun İncelenmesi

Cannabis sativa ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* kaynaklı pEV'ler, Transmission Electron Microscopy (TEM) ile incelenmiştir. *Cannabis sativa* örnekleri 48.000× büyütme ve 80 kV yüksek voltajda, *Brassica oleracea* L. var. *italica* örnekleri ise 36.000× büyütme ve 80 kV yüksek voltajda gözlemlenmiştir. Her iki görüntüde de ölçek çubuğu 200 nm olarak belirtilmiştir. TEM analizleri, her iki türdeki partiküllerin genellikle tekil, küresel şekilli ve düzgün yüzey morfolojisine sahip olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.1). Bununla birlikte, bazı bölgelerde kümelenme eğilimi gözlenmiştir.



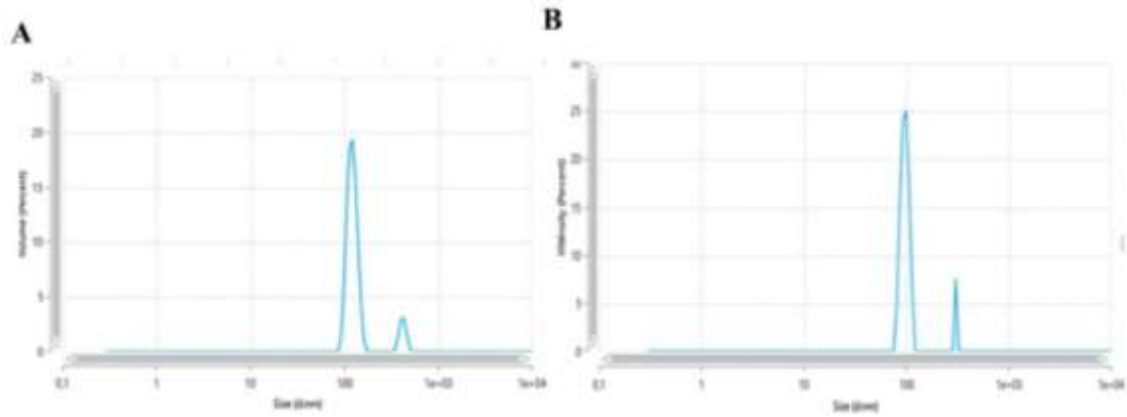
Şekil 4.1 TEM ile pEV morfolojisinin incelenmesi; tipik vezikül yapıları gözlenmektedir A) Kenevir, B) Brokoli

4.2 Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile Boyut Dağılımının Belirlenmesi

DLS analizine göre *Cannabis sativa* kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin boyut dağılımında iki belirgin pik gözlenmiştir. Baskın popülasyon 122,4 nm (yaklaşık $1,90 \times 10^9$ partikül) olarak belirlenirken, ikinci popülasyon 401,5 nm (yaklaşık $7,68 \times 10^6$ partikül) olarak tespit edilmiştir. Grafik incelendiğinde esas popülasyonun 100–150 nm aralığında yoğunlaştığı ve bu boyutların eksozomların literatürde tanımlanan tipik aralığı

(30–200 nm) ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu bulgular, *Cannabis sativa* türevli nanopartiküllerin büyük çoğunluğunun eksozom boyut aralığında yer aldığını ve elde edilen örneklerin hedeflenen yapıları başarıyla içerdiğini göstermektedir.

DLS analizinde *Brassica oleracea* kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküller için iki belirgin popülasyon gözlenmiş olup, baskın popülasyon 99,21 nm (yaklaşık $7,05 \times 10^8$ partikül), ikinci popülasyon ise 303,6 nm (yaklaşık $1,16 \times 10^7$ partikül) olarak belirlenmiştir. Grafik incelendiğinde esas popülasyonun 100 nm civarında yoğunlaştığı ve bu boyut aralığının eksozom boyutlarıyla (30–200 nm) uyumlu olduğu görülmektedir. Bu bulgular, elde edilen partiküllerin büyük çoğunluğunun eksozom boyut aralığında olduğunu ve saflaştırılan örneklerin hedeflenen boyutta nanopartiküller içerdiğini göstermektedir (Şekil 4.2)



Şekil 4.2 Dinamik Işık Saçılımı (DLS) analizi, her iki bitki türünden izole edilen pEV’lerin boyut dağılımını ve partikül yoğunluğu profillerini göstermektedir. A) Kenevir , B) Brokoli

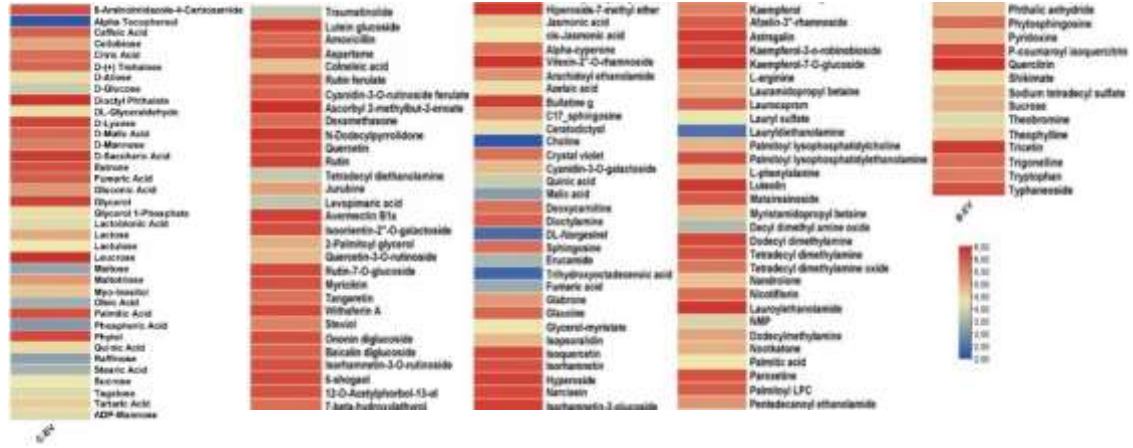
4.3 Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre Kullanılarak Protein Miktarı Belirlenmesi

Qubit Protein Assay kullanılarak yapılan ölçümler sonucunda, bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin (pEV’ler) protein konsantrasyonları belirlenmiştir. *Cannabis sativa* (kenevir) eksozom fraksiyonunda protein konsantrasyonu 7230 $\mu\text{g/mL}$ ($\approx 7,23 \text{ mg/mL}$) olarak tespit edilmiştir. *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) eksozom fraksiyonunda ise protein konsantrasyonu 14500 $\mu\text{g/mL}$ ($\approx 14,50 \text{ mg/mL}$) olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar, brokoli kaynaklı pEV’lerin, kenevir kaynaklı pEV’lere kıyasla daha yüksek protein içeriğine sahip olduğunu göstermektedir.

4.4 GC-MS Tabanlı Metabolomik Profilleme ile pEV'lerin Biyoaktif İçeriklerinin Belirlenmesi

Cannabis sativa (C-EV) ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* (B-EV) kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin metabolit profillerinin belirlenmesi amacıyla gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC–MS) analizi uygulanmıştır. İzole edilen pEV'ler, metabolit ekstraksiyonu öncesinde –80 °C'de saklanmış, analizden önce kontrollü şekilde çözülmüştür. Metabolit ekstraksiyonu için modifiye edilmiş metanol:kloroform:su (2:2:1, v/v/v) yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen fazlar ayrıştırıldıktan sonra polar faz (metanol/su) toplanmış, vakum altında kurutulmuş ve analiz öncesinde iki aşamalı türevleme işlemine tabi tutulmuştur. İlk aşamada, metoksimasyon işlemi gerçekleştirilmiş; bu amaçla örnekler 20 mg/mL derişimde hazırlanmış metoksiamin hidroklorür çözeltisi (piridin içerisinde hazırlanmış) ile 37 °C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. Bunu takiben silanizasyon aşamasında her örneğe 100 µL N-methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA) eklenmiş ve 37 °C'de 30 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Türevlenmiş örnekler, Agilent 7890B GC sistemi ile Agilent 5977A MS dedektörü (Agilent Technologies, USA) kullanılarak analiz edilmiştir. Ayırma işlemi DB-5MS kapiler kolon (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm film kalınlığı) üzerinde gerçekleştirilmiş; taşıyıcı gaz olarak helyum 1 mL/dk akış hızında kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µL, split oranı 10:1 olarak belirlenmiştir. Fırın sıcaklık programı, başlangıç sıcaklığının 70 °C'de 2 dakika tutulmasıyla başlatılmış; ardından sıcaklık 6 °C/dakika hızla 300 °C'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 10 dakika boyunca sabitlenmiştir. Kütle spektrumu tarama aralığı m/z 50–600 olarak belirlenmiş, iyonizasyon enerjisi 70 eV olarak ayarlanmıştır. Her örnek üç teknik tekrarla analiz edilmiştir. Ham veriler Agilent MassHunter yazılımı ile işlenmiş; pik entegrasyonu ve kütle spektrumlarının tanımlanması NIST (National Institute of Standards and Technology) 2017 kütüphanesi kullanılarak yapılmıştır. Eşik benzerlik değeri (match factor) %80'in üzerinde olan bileşikler tanımlamaya dahil edilmiştir. Tanımlanan metabolitlerin yarı-kantitatif değerlendirmesi normalize edilmiş pik alanları üzerinden gerçekleştirilmiştir. Metabolit bolluğuna göre elde edilen veriler MetaboAnalyst 5.0 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 4.3). Veriler Pareto normalization yöntemiyle normalize edilmiş, heatmap ve principal component analysis (PCA) gibi çok değişkenli istatistiksel analizlerle görselleştirilmiştir. C-EV ve B-EV örneklerine ait metabolit profilleri, her bir

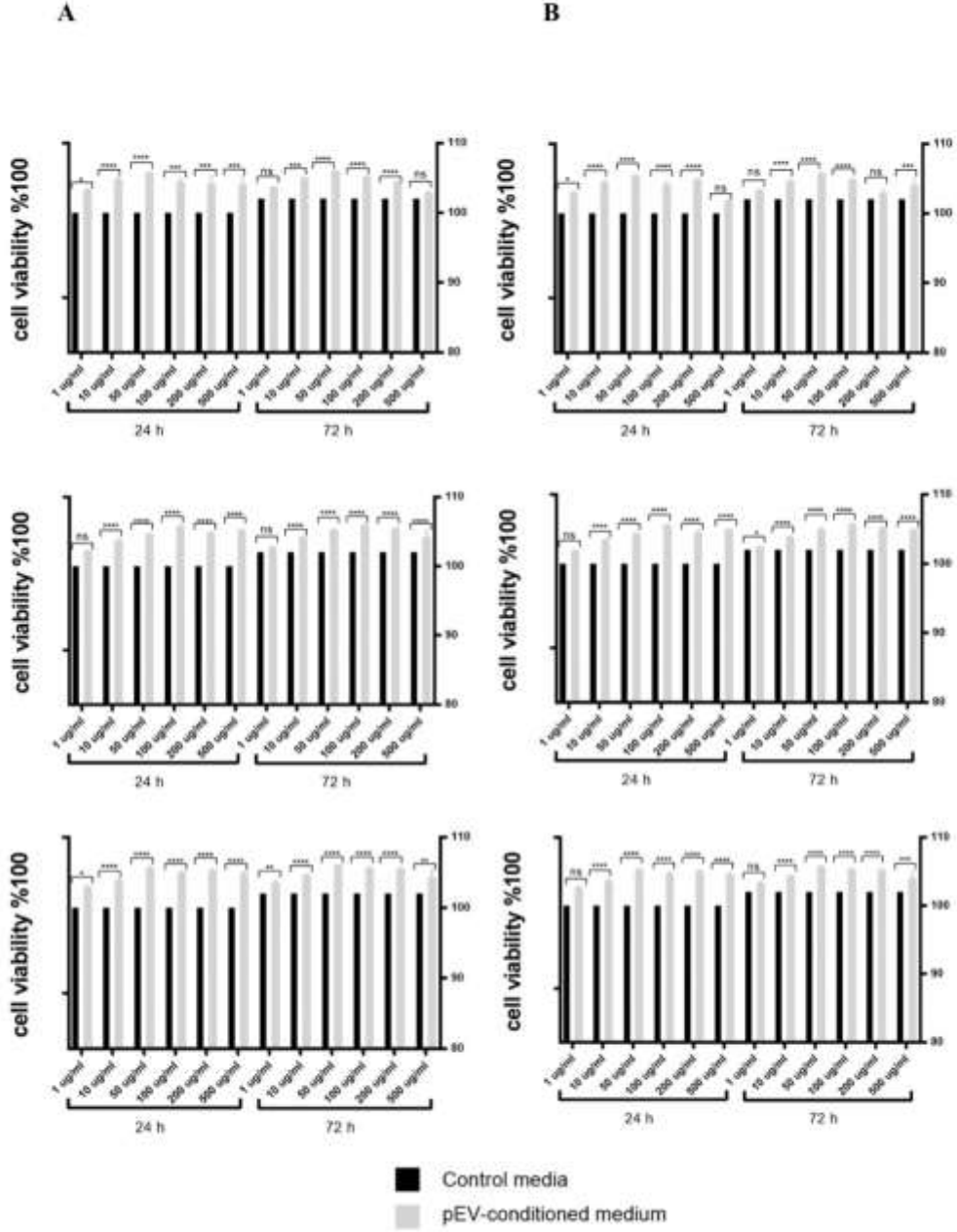
bitkinin biyolojik özelliklerini yansıtan özgün bileşen kümeleri üzerinden karşılaştırılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen metabolit listeleri, kimyasal sınıflarına göre (karbonhidratlar, organik asitler, polialkoller, aminoasit türevleri, fenolik bileşikler ve lipidler) gruplandırılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.3 Bitki kaynaklı ekstraselüler veziküllerin metabolom profiline ait ısı haritası. Renk skalası, seçilmiş metabolitlerin göreceli bolluklarını göstermektedir (kırmızı: yüksek, mavi: düşük)

4.5 Hücre Canlılığı ve EC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* türlerinden elde edilen pEV'lerin farklı konsantrasyonlarda (1–500 µg/mL) hücre canlılığı üzerindeki etkileri incelenmiştir (Şekil 4.4). *Cannabis sativa* pEV'leri, 24 ve 72 saatlik zaman noktalarında test edilen tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığı kontrol grubuna kıyasla korunmuş, bazı dozlarda anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Özellikle 25–100 µg/mL aralığında proliferatif etkinin belirgin olduğu, bu etkinin 72. saatte de sürdüğü tespit edilmiştir. *Brassica oleracea* var. *italica* pEV'leri, 24. saatte düşük ve orta dozlarda (10–100 µg/mL) hücre canlılığında artış kaydedilmiştir. 72. saatte ise yüksek dozlarda (250–500 µg/mL) hücre canlılığının korunduğu, toksisiteye rastlanmadığı belirlenmiştir. Kombinasyon grubu (S-EV; *Cannabis sativa* + *Brassica oleracea* pEV'leri), 24. saatte düşük dozlardan itibaren (1–25 µg/mL) anlamlı artışlar gözlenmiş; 50–250 µg/mL aralığında proliferatif etkinin en yüksek düzeye ulaştığı kaydedilmiştir. 72. saatte de bu eğilim devam etmiş ve özellikle orta-yüksek dozlarda (25–250 µg/mL) hücre canlılığında belirgin artışlar tespit edilmiştir.



Şekil 4.4 Farklı konsantrasyonlarda pEV ile zenginleştirilmiş kültür ortamının (gri sütunlar) ve kontrol medyasının (siyah sütunlar) 24 saat ve 72 saat inkübasyon sonrasında hücre canlılığı üzerindeki etkileri. İstatistiksel analizler, kontrol ve pEV grupları arasında anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$, ns: önemsiz). A)Yukarıdan aşağıya: C-EV, B-EV ve S-EV ile muamele edilen HDF hücreleri. B) Yukarıdan aşağıya: C-EV, B-EV ve S-EV ile muamele edilen HACAT hücreleri

4.6 Yara İyileşmesi Analizi (HaCaT Hücre Hattı)

HaCaT hücrelerinde gerçekleştirilen yara iyileşmesi deneyinde, hem *Cannabis sativa* (kenevir) hem de *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) kaynaklı pEV'lerin yanı sıra sinerjik uygulamaların etkileri değerlendirilmiştir.

4.6.1 Kenevir pEV'leri

Kontrol grubunda 24. saatte %1.45, 48. saatte %24.99 ve 72. saatte %42.85 yara kapanması gözlenmiştir. 1/2 doz uygulamasında 24. saatte %19.84, 48. saatte %39.81 ve 72. saatte %89.74 kapanma kaydedilmiştir. 1 doz uygulamasında 24. saatte %10.27, 48. saatte %96.73 ve 72. saatte %100 kapanma sağlanmıştır. 2 doz uygulamasında ise 24. saatte %26.72, 48. saatte %85.30 ve 72. saatte %100 kapanma elde edilmiştir (Şekil 4.5).

4.6.2 Brokoli pEV'leri

Kontrol grubunda 24. saatte %29.91, 48. saatte %34.70 ve 72. saatte %36.60 yara kapanması tespit edilmiştir. 1/2 doz uygulamasında 24. saatte %16.15, 48. saatte %60.16 ve 72. saatte %100 kapanma gerçekleşmiştir. 1 doz uygulamasında 24. saatte %19.30, 48. saatte %68.25 ve 72. saatte %100 kapanma gözlenmiştir. 2 doz uygulamasında ise 24. saatte %34.63, 48. saatte %78.10 ve 72. saatte %100 kapanma saptanmıştır (Şekil 4.5).

4.6.3 Kombinasyon grubu (Kenevir + Brokoli pEV'leri)

Kontrol grubunda 24. saatte %3.25, 48. saatte %19.01 ve 72. saatte %47.51 kapanma gözlenmiştir. 1/2 doz uygulamasında 24. saatte %42.00, 48. saatte %68.91 ve 72. saatte %100 kapanma kaydedilmiştir. 1 doz uygulamasında 24. saatte %31.98, 48. saatte %78.91 ve 72. saatte %100 kapanma elde edilmiştir. 2 doz uygulamasında ise 24. saatte %33.99, 48. saatte %85.86 ve 72. saatte %100 kapanma gerçekleşmiştir (Şekil 4.5).

4.7 Yara İyileşmesi Analizi (HDF Hücre Hattı)

HDF hücrelerinde yapılan yara iyileşmesi deneylerinde, *Cannabis sativa* (kenevir) ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* (brokoli) kaynaklı pEV'lerin yanı sıra sinerjik uygulamaların etkileri değerlendirilmiştir (Şekil 4.5).

4.7.1 Kenevir pEV'leri

Kontrol grubunda 24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla %25.95, %42.50 ve %45.01 oranında yara kapanması gözlenmiştir. 1/2 doz uygulamasında bu değerler 24. saatte %55.01, 48. saatte %82.01 ve 72. saatte %100 olarak kaydedilmiştir. 1 doz uygulamasında 24. saatte %60.30, 48. saatte %85.01 ve 72. saatte %100 kapanma sağlanmıştır. 2 doz uygulamasında ise 24. saatte %69.86, 48. saatte %84.09 ve 72. saatte %100 kapanma elde edilmiştir. Bu sonuçlar, özellikle yüksek dozlarda kenevir pEV'lerinin fibroblast migrasyonu ve yara kapanmasını hızlandırdığını göstermektedir (Şekil 4.5).

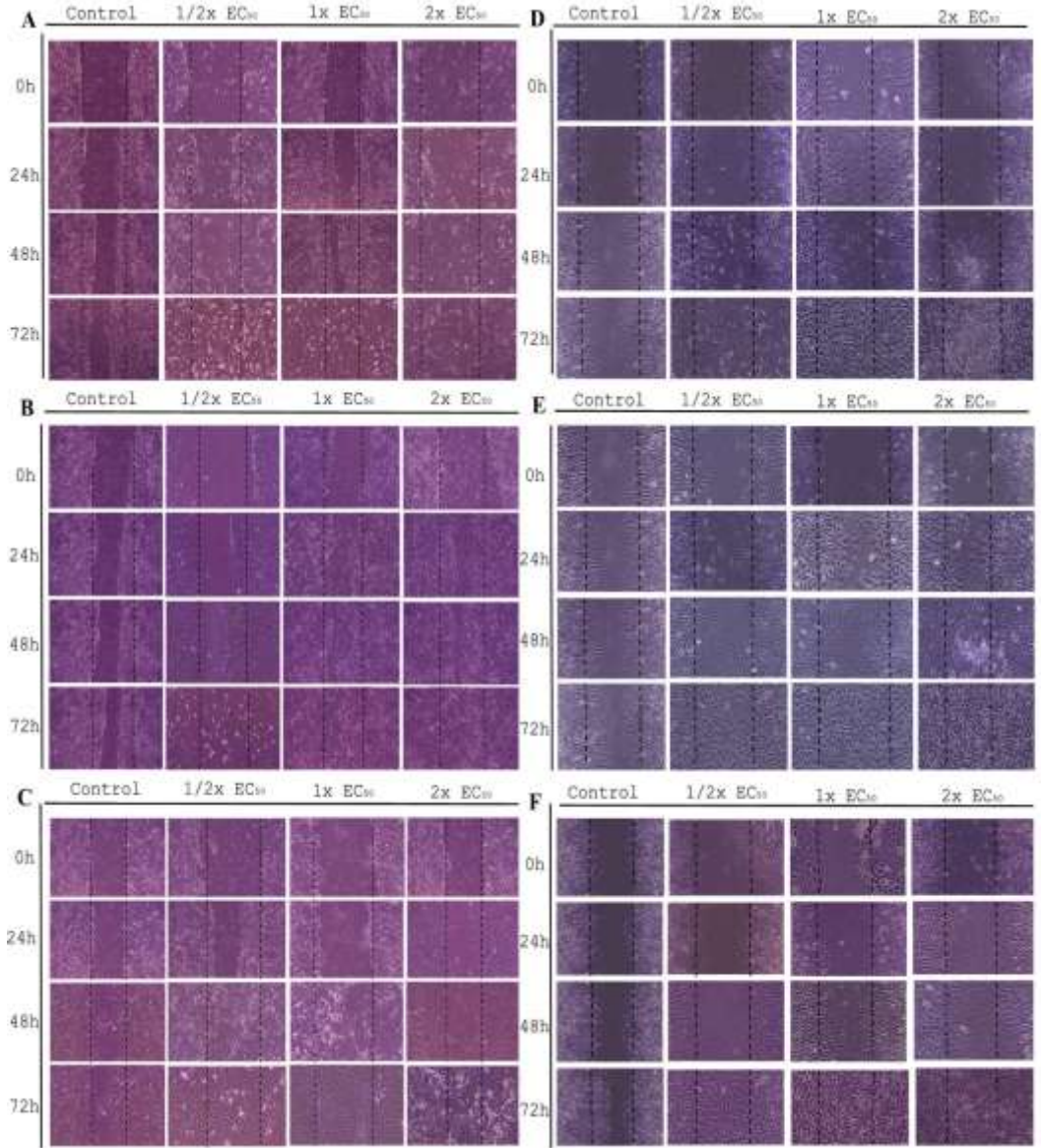
4.7.2 Brokoli pEV'leri

Kontrol grubunda 24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla %27.61, %59.61 ve %70.55 yara kapanması saptanmıştır. 1/2 doz uygulamasında 24. saatte %43.65, 48. saatte %63.73 ve 72. saatte %100 kapanma gözlenmiştir. 1 doz uygulamasında 24. saatte %50.57, 48. saatte %83.15 ve 72. saatte %100 kapanma gerçekleşmiştir. 2 doz uygulamasında ise 24. saatte %58.92, 48. saatte %83.63 ve 72. saatte %100 kapanma elde edilmiştir. Bu bulgular, brokoli pEV'lerinin de doz arttıkça erken faz kapanmayı hızlandırdığını ve 72. saatte tam kapanmaya ulaştığını ortaya koymaktadır (Şekil 4.5).

4.7.3 Kombinasyon grubu (*Cannabis sativa* + *Brassica oleracea* var. *italica* pEV'leri)

Kontrol grubunda 24., 48. ve 72. saatlerde %13.07, %32.86 ve %46.81 kapanma oranları tespit edilmiştir. 1/2 doz uygulamasında 24. saatte %14.77, 48. saatte %44.06 ve 72. saatte %89.42 kapanma gerçekleşmiştir. 1 doz uygulamasında 24. saatte %11.60, 48. saatte

%54.09 ve 72. saatte %100 kapanma sağlanmıştır. 2 doz uygulamasında ise 24. saatte %61.04, 48. saatte %81.76 ve 72. saatte %100 kapanma elde edilmiştir. Özellikle 2 doz sinerjik uygulamanın erken fazda yüksek kapanma sağlaması, kombinasyonun fibroblast aktivitesini artırdığını göstermektedir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 A) HACAT-C-EV B) HACAT-B-EV C) HACAT-S-EV D) HDF-C-EV E) HDF-B-EV F)HDF-S-EV. Farklı konsantrasyonlarda pEV ile zenginleştirilmiş kültür ortamının yara iyileşmesi üzerindeki etkileri. Çizik iyileşme modeli kullanılarak hücre göçü 0., 24., 48. Ve 72. saatlerde mikroskopik görüntülerle değerlendirilmiştir

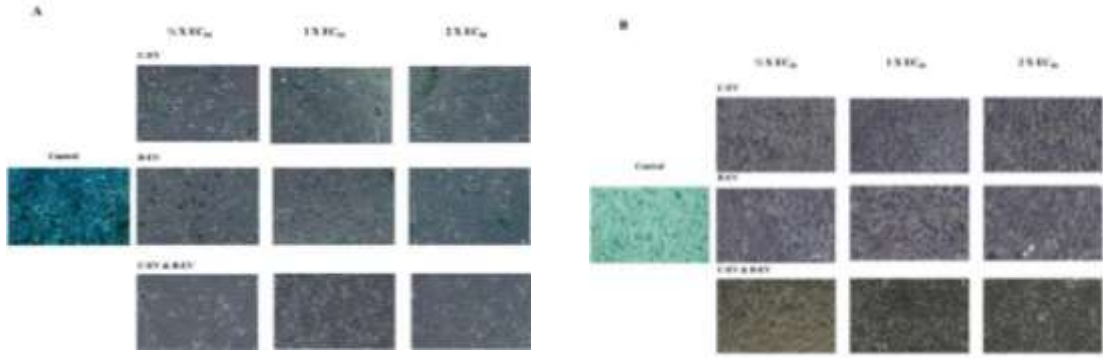
4.8 Hücresel Senesens (Yaşlanma) Analizi

Senesens üzerine yapılan β -Gal aktivitesi ölçümlerinde, pEV uygulamalarının hem HDF hem de HaCaT hücrelerinde yaşlanma belirteçlerini anlamlı ölçüde baskıladığı gözlenmiştir.

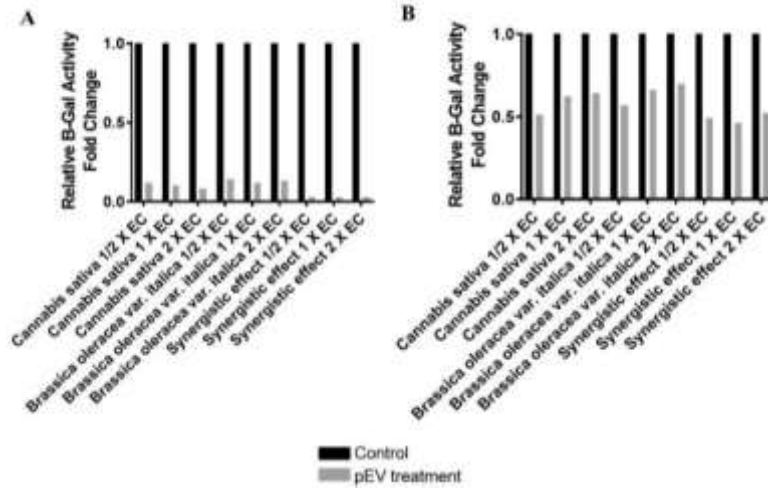
Kontrol gruplarında tüm dozlarda yüksek düzeyde β -Gal aktivitesi gözlenmiş olup relatif değerler 1.0 olarak normalize edilmiştir. Buna karşın pEV uygulanan gruplarda β -Gal aktivitesinin belirgin biçimde azaldığı görülmüştür (Şekil 4.6). Kenevir kaynaklı pEV'lerde (1/2X, 1X ve 2X dozlar) β -Gal aktivitesi neredeyse sıfır düzeyine yaklaşırken, brokoli kaynaklı pEV'lerde de benzer bir azalma gözlenmiştir. Sinerjik uygulamalarda da aynı şekilde β -Gal aktivitesi kayda değer biçimde baskılanmıştır. Bu bulgular, pEV tedavisinin HDF hücrelerinde senesens gelişimini güçlü bir şekilde inhibe ettiğini göstermektedir (Şekil 4.7)

Kontrol gruplarında β -Gal aktivitesi yüksek seviyede gözlenmiş ve relatif değerler 1.0 olarak normalize edilmiştir. pEV uygulamalarında ise β -Gal aktivitesi anlamlı derecede azalmış olmakla birlikte, HDF hücrelerine kıyasla daha yüksek düzeyde kalmıştır (Şekil 4.6). Kenevir kaynaklı pEV'lerde 1/2X, 1X ve 2X dozlarda aktivite yaklaşık %40–50 oranında baskılanmıştır. Brokoli pEV uygulamalarında da benzer şekilde azalma tespit edilmiştir. Sinerjik uygulamalarda ise özellikle 2X dozda belirgin bir azalma kaydedilmiş, ancak β -Gal aktivitesi HDF hücrelerinde olduğu kadar güçlü biçimde inhibe edilmemiştir (Şekil 4.7).

Genel olarak, pEV uygulamalarının her iki hücre hattında da β -Gal aktivitesini düşürerek senesensi baskıladığı ortaya konmuştur (Şekil 4.6). Bununla birlikte, baskılama etkisinin HDF hücrelerinde HaCaT hücrelerine kıyasla daha güçlü olduğu dikkat çekmektedir. Bu sonuçlar, pEV'lerin anti-senesens potansiyelinin hücre tipine bağlı farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4.6 β -galaktozidaz (SA- β -gal) boyaması ile belirlenen hücresel yaşlanma üzerine pEV uygulamasının etkileri A) HACAT hücreleri, B) HDF hücreleri



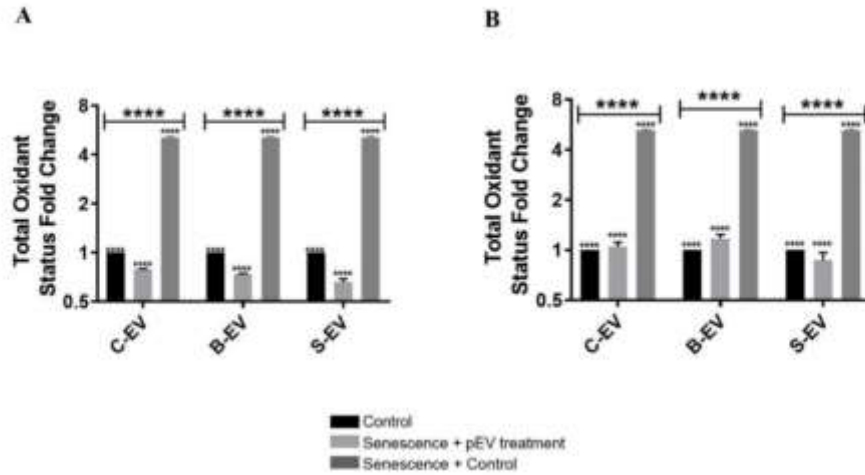
Şekil 4.7 HDF (A) ve HACAT (B) hücrelerinde yaşlanma belirteci olan β -galaktozidaz (β -Gal) aktivitesi üzerine pEV uygulamasının etkisi

4.9 Bitkisel Eksozomal Vezikül (pEV) Uygulamalarının Total Oksidan Seviyesi (TOS) Üzerine Etkisi

Cannabis sativa ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* bitkilerinden elde edilen bitkisel eksozomal veziküllerin (pEV) senesens indüklenmiş HDF (Human Dermal Fibroblast) ve HaCaT (insan keratinosit) hücre hatlarındaki toplam oksidan seviyesi (Total Oxidant Status, TOS) üzerindeki etkileri kantitatif olarak incelenmiştir. Senesens indüklenmiş HDF hücrelerinde, kontrol grubuna kıyasla oksidatif stres seviyeleri anlamlı şekilde artmıştır. “Senesens + Kontrol” grubunda TOS değeri, *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* pEV tedavisi uygulanmadan önce sırasıyla yaklaşık 5,5 kat ve 4,5 kat artış

göstermiştir. pEV tedavileri uygulandığında TOS seviyelerinde belirgin düşüş gözlenmiştir. *Cannabis sativa* pEV tedavisinde TOS değeri yaklaşık 1,2 kat, *Brassica oleracea* pEV tedavisinde ise yaklaşık 1,3 kat seviyelerine gerilemiştir. Her iki pEV'nin sinerjik uygulamasında TOS değeri 1 katın altına düşerek en düşük oksidatif stres seviyesi elde edilmiştir. İstatistiksel analizler, senesens + kontrol grubu ile pEV tedavi grupları arasında $p < 0.0001$ düzeyinde anlamlı farklılıklar göstermiştir. Ayrıca, her bir pEV uygulaması kendi kontrolüyle karşılaştırıldığında da anlamlı farklılık göstermiştir (Şekil 4.8).

HaCaT hücrelerinde elde edilen bulgular, HDF hücrelerinde gözlemlenen trendlerle paralellik göstermektedir. Senesens + kontrol grubunda TOS değeri yaklaşık 7 kat artış göstermiştir. *Cannabis sativa* pEV tedavisinde TOS seviyesi yaklaşık 1,3 kat, *Brassica oleracea* pEV tedavisinde ise yaklaşık 1,4 kat seviyelerine gerilemiştir. Her iki pEV'nin birlikte uygulanmasıyla TOS değeri 1 katın altına düşerek en etkili oksidatif stres azaltımı sağlanmıştır. Tüm HaCaT grupları arasında yapılan istatistiksel analizler $p < 0.0001$ düzeyinde anlamlı farklar göstermiştir. Bu sonuçlar, pEV uygulamalarının hem HDF hem de HaCaT hücrelerinde tutarlı ve belirgin bir antioksidan etki oluşturduğunu göstermektedir (Şekil 4.8).



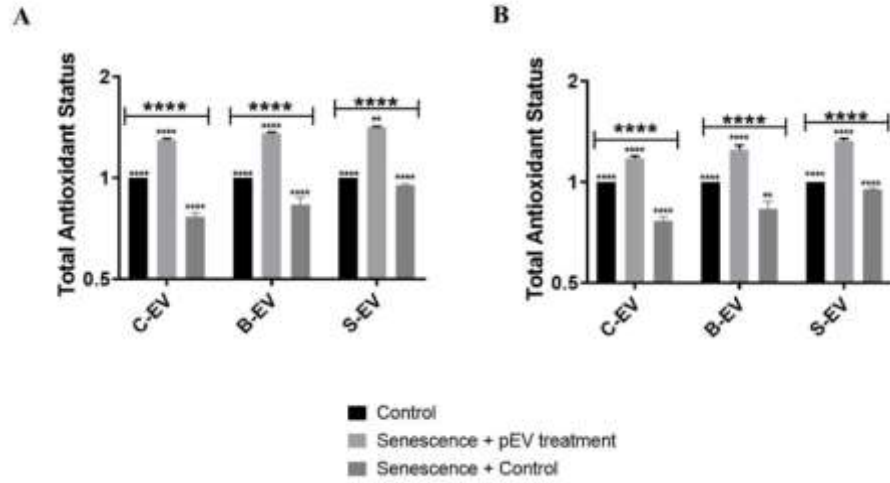
Şekil 4.8 HDF (A) ve HACAT (B) hücrelerinde toplam oksidan seviyesi (TOS) üzerine pEV uygulamasının etkileri (**p < 0.01, ***p < 0.001, ****p < 0.0001)

4.10 Bitkisel Eksozomal Vezikül (pEV) Uygulamalarının Toplam Antioksidan Düzeyi (TAS) Üzerine Etkisi

Yaşlanmaya bağlı olarak oksidatif stresin artması ve hücrel antioksidan savunma sistemlerinin zayıflaması bilinmektedir. Bu çalışmada, *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* kaynaklı bitkisel eksozomal veziküllerin (pEV), senesens indüklenmiş HDF ve HaCaT hücre hatlarındaki toplam antioksidan kapasite (Total Antioxidant Status, TAS) üzerindeki etkileri incelenmiştir

Kontrol grubunda TAS değeri yaklaşık 1 kat olarak ölçülmüştür. Senesens indüksiyonu sonrası tedavisiz kontrol grubunda TAS seviyeleri hem *Cannabis sativa* hem de *Brassica oleracea* pEV tedavisi uygulanmadan önce anlamlı şekilde azalmış ve özellikle *Brassica oleracea* grubunda TAS yaklaşık 0.7 kat seviyesine gerilemiştir. pEV tedavileri uygulandığında, *Cannabis sativa* pEV TAS değerini yaklaşık 1.5 kat, *Brassica oleracea* pEV tedavisi TAS değerini yaklaşık 1.4 kat, her iki bitkinin sinerjik pEV tedavisinde ise TAS değeri yaklaşık 1.6 kat seviyelerine yükselmiş ve en yüksek artış sinerjik tedavide gözlenmiştir. İstatistiksel analizlerde tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* pEV tedavileri ile senesens + kontrol grubu arasındaki farklar $p < 0.0001$ düzeyinde anlamlı bulunurken, sinerjik pEV tedavisinde fark $p < 0.01$ düzeyinde anlamlıdır (Şekil 4.9).

HaCaT hücrelerinde TAS değerleri HDF hücreleri ile benzer bir trend göstermiştir. Kontrol grubunda TAS yaklaşık 1 kat seviyesindeyken, senesens + kontrol grubunda TAS değerleri *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* gruplarında sırasıyla yaklaşık 0.75 kat ve 0.8 kat seviyelerine düşmüştür. pEV tedavileri uygulandığında *Cannabis sativa* pEV TAS değerini yaklaşık 1.5 kat, *Brassica oleracea* pEV tedavisi TAS değerini yaklaşık 1.3 kat seviyesine yükseltmiş ve sinerjik pEV uygulamasında TAS değeri yaklaşık 1.5–1.6 kat seviyelerine çıkarak en etkili artış gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak, tüm pEV tedavileri kontrol grubuna göre anlamlı fark yaratmıştır ($p < 0.0001$). *Brassica* pEV grubunda TAS artışı diğer gruplara kıyasla daha düşük olmasına rağmen $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.9).



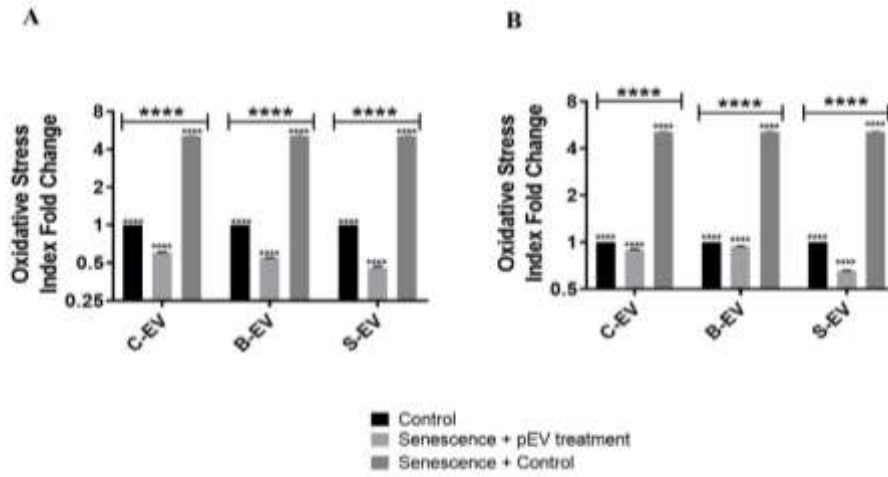
Şekil 4.9 HDF (A) ve HACAT (B) hücrelerinde toplam antioksidan seviyesi (TAS) üzerine pEV uygulamasının etkileri (***p < 0.001, ****p < 0.0001)

4.11 Bitkisel Eksozomal Vezikül (pEV) Uygulamalarının Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Üzerine Etkisi

Oksidatif stres indeksi (OSI), hücre içi oksidatif yükün antioksidan savunma kapasitesine oranı olarak tanımlanır ve TOS'un TAS'a bölünmesiyle hesaplanır. Bu çalışmada, *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* L. var. *italica* kaynaklı pEV'lerin, senesens indüklenmiş HDF ve HaCaT hücrelerinde OSI üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Kontrol grubunda OSI değeri yaklaşık 1 kat olarak ölçülmüş ve hücrelerin oksidatif yük ile antioksidan kapasite arasında dengeyi sağladığını göstermiştir. Senesens indüklenmiş tedavisiz kontrol grubunda OSI değerleri anlamlı şekilde yükselmiş ve *Cannabis sativa* grubunda yaklaşık 6,5 kat, *Brassica oleracea* grubunda yaklaşık 5,8 kat, sinerjik etki grubunda ise yaklaşık 6,8 kat olarak ölçülmüştür. Bu durum, yaşlanmanın HDF hücrelerinde hem oksidan seviyelerini artırdığını hem de antioksidan kapasiteyi azalttığını göstermektedir. pEV tedavileri uygulandığında, *Cannabis sativa* pEV ile OSI değeri yaklaşık 0,9 kat, *Brassica oleracea* pEV ile yaklaşık 1,1 kat, sinerjik pEV uygulaması ile ise OSI değeri 0,7 kat seviyelerine gerilemiş ve en düşük değer sinerjik tedavi grubunda elde edilmiştir. Tüm karşılaştırmalarda p < 0.0001 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir (Şekil 4.10).

HaCaT hücrelerinde de benzer eğilimler gözlenmiştir. Kontrol grubunda OSI yaklaşık 1 kat iken, senesens + kontrol grubunda *Cannabis sativa* ile OSI yaklaşık 6,8 kat, *Brassica oleracea* ile yaklaşık 6,5 kat, sinerjik etki grubunda ise yaklaşık 7 kat seviyelerine yükselmiştir. Bu sonuçlar, yaşlanmanın keratinosit hücrelerinde de oksidatif stres yükünü artırdığını ve redoks dengesini bozduğunu göstermektedir. pEV tedavileri sonrası *Cannabis sativa* pEV ile OSI değeri yaklaşık 1,0 kat, *Brassica oleracea* pEV ile yaklaşık 1,2 kat, sinerjik pEV uygulaması ile ise OSI değeri yaklaşık 0,75 kat seviyelerine düşmüş ve tüm tedavi gruplarında senesens + kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir ($p < 0.0001$) (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 HDF (A) ve HACAT (B) hücrelerinde oksidatif stres indeksi (OSI) üzerine pEV uygulamasının etkileri (**** $p < 0.0001$)

4.12 RNA İzolasyonu ve Saflık Analizi

RNA izolasyonu sonrası elde edilen örneklerin saflığı, A260/A280 oranları ile değerlendirildi. Kontrol grubunda A260/A280 oranı 2.09 ve RNA miktarı 2259 $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. *Cannabis sativa* kaynaklı pEV uygulamasında A260/A280 oranı 2.13 ve RNA miktarı 1712.2 $\mu\text{g/ml}$, *Brassica oleracea* kaynaklı pEV uygulamasında A260/A280 oranı 2.13 ve RNA miktarı 1756.4 $\mu\text{g/ml}$, sinerjetik (*Cannabis* + *Brassica*) pEV uygulamasında ise A260/A280 oranı 2.08 ve RNA miktarı 888.5 $\mu\text{g/ml}$ olarak belirlenmiştir. Elde edilen A260/A280 değerleri, tüm gruplarda yüksek saflıkta RNA elde edildiğini göstermektedir. RNA miktarları ise farklı uygulamalara bağlı olarak değişiklik

göstermiştir; özellikle sinerjistik pEV uygulamasında RNA miktarında belirgin bir azalma gözlemlenmiştir.

4.13 cDNA Sentezi

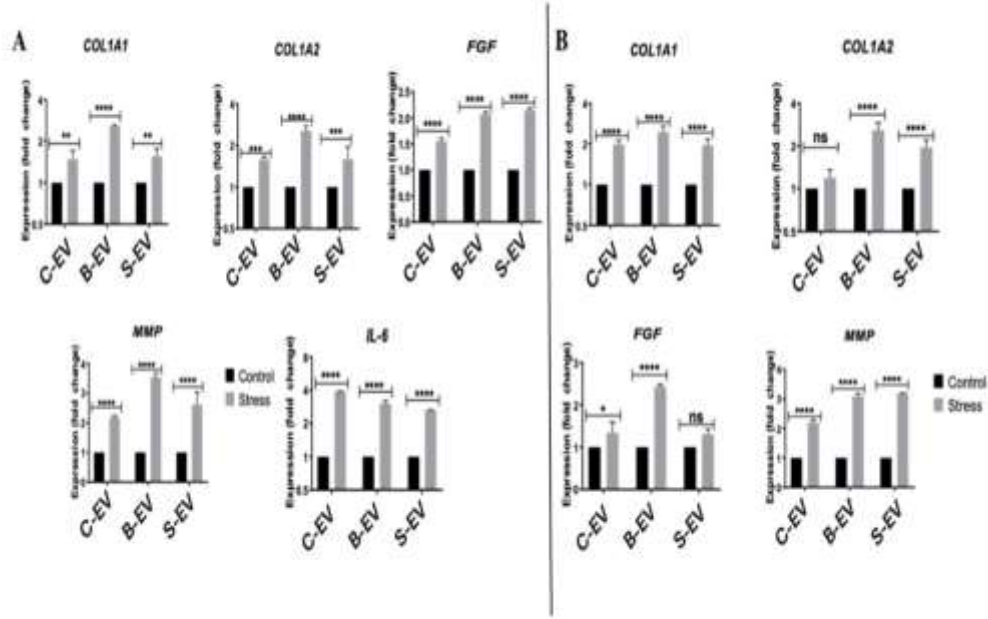
HaCaT hücrelerinden sentezlenen cDNA örneklerinin saflığı A260/A280 oranı ile değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1289 µg/ml olarak ölçülmüştür. *Cannabis sativa* pEV uygulamasında A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1228 µg/ml, *Brassica oleracea* var. *italica* pEV uygulamasında A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1288 µg/ml, synergetic (Cannabis + Brassica) pEV uygulamasında ise A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1254 µg/ml olarak belirlenmiştir. Tüm gruplarda A260/A280 değerlerinin 1.80 civarında olması, yüksek saflıkta cDNA elde edildiğini göstermektedir. cDNA miktarları ise uygulamalar arasında büyük farklılık göstermemiştir; bu durum, HaCaT hücrelerinde pEV uygulamalarının cDNA sentezi üzerinde sınırlı etkisi olduğunu düşündürmektedir.

HDF hücrelerinden sentezlenen cDNA örneklerinin saflığı A260/A280 oranı ile değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1214 µg/ml olarak ölçülmüştür. *Cannabis sativa* pEV uygulamasında A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1280 µg/ml, *Brassica oleracea* pEV uygulamasında A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1184 µg/ml, sinerjetik (Cannabis + Brassica) pEV uygulamasında ise A260/A280 oranı 1.80 ve cDNA miktarı 1197 µg/ml olarak belirlenmiştir. Tüm gruplarda A260/A280 değerlerinin 1.80 civarında olması, yüksek saflıkta cDNA elde edildiğini göstermektedir. cDNA miktarları uygulamalar arasında küçük farklılıklar göstermiş olup, genel olarak HDF hücrelerinde pEV uygulamalarının cDNA sentezi üzerinde sınırlı etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

4.14 Gen İfadesi Analizi (qPCR)

Bu çalışma, C-EV, B-EV ve S-EV uygulamalarının hem HaCaT keratinositlerinde hem de HDF fibroblastlarında anlamlı gen ekspresyon değişikliklerine neden olduğunu

göstermiştir (Şekil 4.11). Özellikle COL1A1 ve COL1A2 genlerinin yukarı regülasyonu, bu ekstrasellüler veziküllerin ekstrasellüler matriks (ECM) yeniden yapılanmasını desteklediğini göstermektedir. Fibroblast hücrelerinde FGF gen ekspresyonundaki belirgin artış ise pEV'lerin hücre proliferasyonu ve migrasyonunu teşvik eden bir mikroçevre oluşturduğunu düşündürmektedir. Bu durum, epidermal ve dermal hücrelerin yara iyileşmesi sürecinde aktif rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca MMP genlerinde gözlenen yukarı regülasyon, ECM yeniden yapılanması fazında bu enzimlerin kollajen liflerinin organizasyonunu düzenleme görevini yansıtmaktadır. Bulgular, pEV uygulamalarının ECM'nin hem sentezini hem de yeniden düzenlenmesini fizyolojik bir denge içinde modüle ettiğini göstermektedir. Çalışmamızda kollajen ve MMP gen ekspresyonlarındaki eşzamanlı artış, pEV'lerin doku onarımı sırasında ECM dinamiklerini dengeli bir şekilde düzenlediğini göstermektedir. Ek olarak, HaCaT hücrelerinde IL-6 düzeylerindeki artış, stres koşullarında inflamatuvar yanıtın aktive olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, pEV uygulamalarının bu sitokin yanıtını düzenleyerek aşırı inflamasyonu baskıladığı belirlenmiştir. Kollajen sentezi ve FGF üretimi artarken, MMP ve IL-6 gibi moleküllerin ekspresyonu yara iyileşmesinin doğal fazlarıyla uyumlu bir şekilde düzenlenmiştir. Son olarak, kombinasyon tedavilerinin tekli uygulamalara kıyasla daha güçlü biyolojik etkiler oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, pEV'lerin hem epidermal (HaCaT) hem de dermal (HDF) hücrelerde yara iyileşmesini çok yönlü bir biçimde desteklediğini ortaya koymaktadır.

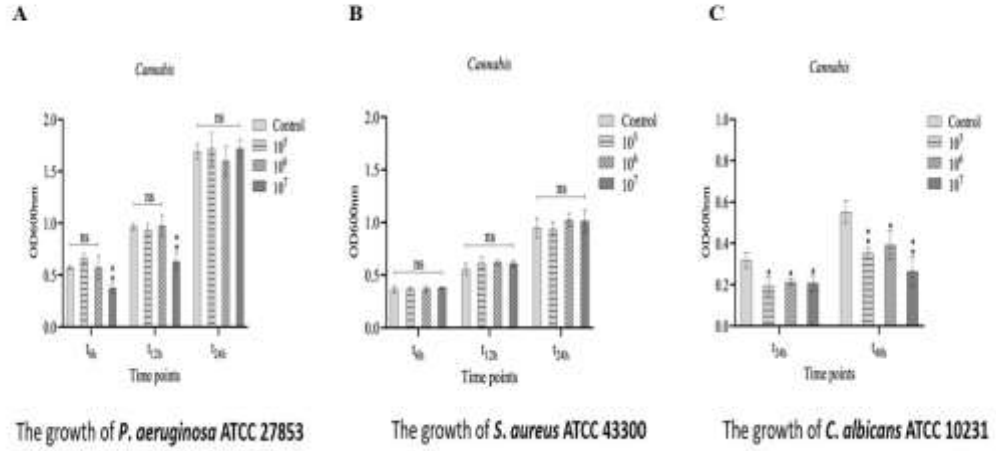


Şekil 4.11 HACAT keratinositlerinde (A) ve HDF fibroblastlarında (B) C-EV ve B-EV uygulamalarının qPCR sonuçları. Yara iyileşmesi ile ilişkili genlerin (COL1A1, COL1A2, FGF, MMP, IL-6) ekspresyon düzeyleri, bireysel ve sinerjik koşullar altında gösterilmiştir. İstatistiksel analizler, kontrol ve pEV grupları arasında anlamlı farklar olduğunu ortaya koymuştur (**p < 0.01, ***p < 0.001, ****p < 0.0001)

4.15 Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite

4.15.1 C-EVs uygulamalarının antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi

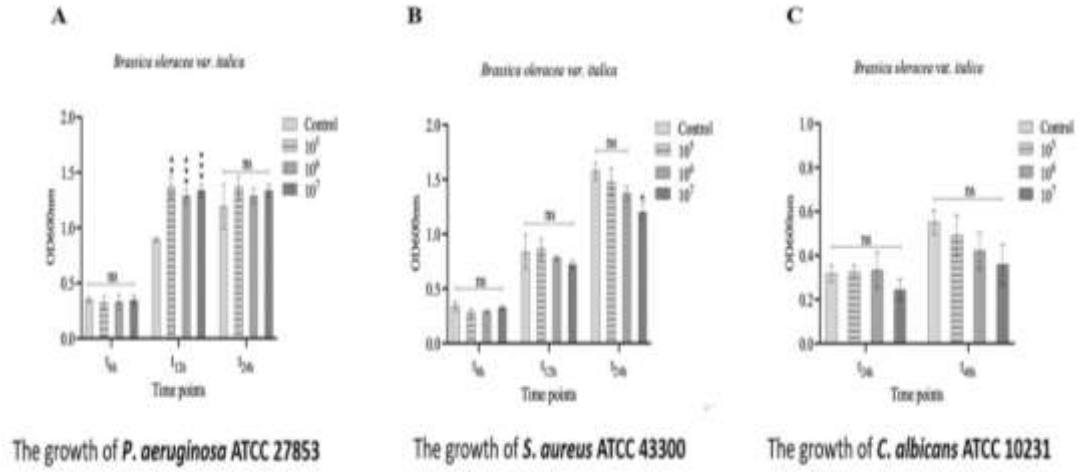
C-EVs uygulamaları sonucunda, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde 10^7 partikül/mL konsantrasyonunda 6 ve 12. saatlerde anlamlı bir büyüme inhibisyonu gözlenmiş; ancak 24. saatte bu etki kaybolmuştur. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 üzerinde ise tüm konsantrasyonlarda herhangi bir büyüme inhibisyonu tespit edilmemiştir. *Candida albicans* ATCC 10231 üzerinde ise 24 ve 48 saatlerde tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir büyüme azalması gözlenmiştir; 48. saatte etkinin daha belirgin olduğu görülmüştür (Şekil 4.12)



Şekil 4.12 C-EV'lerin üç farklı mikroorganizma üzerindeki etkileri. (A) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, (B) *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ve (C) *Candida albicans* ATCC 10231'nin büyümesi, 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde OD600 değerleri ölçülerek değerlendirilmiştir

4.15.2 B-EVs uygulamalarının antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi

B-EVs uygulamalarında, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 için 12. saatte tüm konsantrasyonlarda kısa süreli bir büyüme artışı gözlenmiş; 6 ve 24. saatlerde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 üzerinde yalnızca 10^7 partikül/mL konsantrasyonunda 24. saatte sınırlı bir büyüme inhibisyonu saptanmıştır. *Candida albicans* ATCC 10231 üzerinde B-EVs uygulamalarının herhangi bir etkisi gözlenmemiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 B-EV'lerin üç farklı mikroorganizma üzerindeki etkileri. (A) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, (B) *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ve (C) *Candida albicans* ATCC 10231'nin büyümesi, 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde OD600 değerleri ölçülerek değerlendirilmiştir

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma, *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* var. *italica* kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini çok yönlü biçimde ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, bu doğal nanoyapıların cilt biyolojisinde bariyer bütünlüğü, oksidatif stres kontrolü, inflamasyon modülasyonu ve yara onarımı gibi süreçlerde işlevsel roller üstlenebileceğini göstermektedir. DLS analizleri sonucunda, her iki bitkiden izole edilen partiküllerin büyük çoğunluğunun 30–200 nm aralığında yoğunlaştığı belirlenmiş, bu boyut aralığı literatürde tanımlanan tipik eksozom aralığıyla uyumlu bulunmuştur. *Cannabis sativa* örneklerinde baskın popülasyon 122,4 nm (yaklaşık $1,90 \times 10^9$ partikül), ikinci popülasyon 401,5 nm (yaklaşık $7,68 \times 10^6$ partikül) boyutunda; brokoli örneklerinde ise baskın popülasyon 99,21 nm (yaklaşık $7,05 \times 10^8$ partikül) ve ikinci popülasyon 303,6 nm (yaklaşık $1,16 \times 10^7$ partikül) olarak tespit edilmiştir. Özellikle 100–150 nm civarındaki baskın popülasyon, eksozomların bilinen boyut aralığıyla uyumlu olup izole edilen partiküllerin eksozom benzeri yapı özelliklerini taşıdığını göstermektedir. 300–400 nm civarında gözlenen ikinci popülasyonlar ise mikropartikül veya olası agregat oluşumuna işaret edebilir. Bu tür ikili dağılımlar, literatürde de belirtildiği üzere pEV’lerin biyogenez farklılıkları veya saflaştırma sürecinde gerçekleşen agregasyonlardan kaynaklanabilmektedir (Songwen Ju vd., 2013; Kilasoniya vd., 2023).

Protein analizleri sonucunda C-EV örneklerinde 7.23 mg/mL, B-EV örneklerinde ise 14.5 mg/mL protein konsantrasyonu belirlenmiştir. Bu yüksek değerler, kullanılan izolasyon yaklaşımının verimliliğini ve elde edilen veziküllerin biyolojik açıdan zengin içerik taşıdığını göstermektedir. Literatürde farklı bitki türleriyle yapılan çalışmalarda da protein miktarları arasında çeşitlilik rapor edilmiştir (Bokka vd., 2020; Emmanuela vd., 2024; Iriawati vd., 2024). Bu farklılıkların, kullanılan bitki materyali, izolasyon protokolü ve protein tayin yöntemlerinden kaynaklandığı anlaşılmaktadır.

GC–MS analizleri, *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* var. *italica* kaynaklı pEV’lerin cilt biyolojisi açısından anlamlı metabolit profilleri taşıdığını göstermiştir. C-EV’lerde belirlenen trehaloz ve gliserol gibi bileşikler, hücre hidrasyonu ve fotoyaşlanma karşıtı

mekanizmalarda kritik rol oynamaktadır (Hara ve Verkman, 2003). Ayrıca kafeik asit ve kinik asit türevleri gibi fenolik bileşikler, antioksidan savunmayı destekleyerek NF- κ B sinyal yolunun baskılanmasına katkıda bulunmuş ve inflamatuvar süreçlerin regülasyonunda rol göstermiştir. B-EV metabolomunda ise flavonoid ve fenilpropanoidlerin (quercetin, kaempferol, luteolin türevleri) zenginliği öne çıkmıştır. Bu bileşiklerin güçlü antioksidan aktiviteleri, keratinosit ve fibroblast migrasyonunu destekleyerek re-epitelizasyonu ve yara onarımını kolaylaştırmaktadır (Čizmarová vd., 2023; Zulkefli vd., 2023). Sfingolipitlerin (fitosfingozin, sfingozin, LPC türevleri) epidermal bariyer bütünlüğünü koruyucu rolleri de, B-EV'lerin cilt biyolojisinde çok katmanlı bir etki oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Igawa vd., 2021). Her iki pEV grubunda da gözlenen jasmonat türevleri ve aromatik aminoasitlerin varlığı, bu nanopartiküllerin sadece taşıyıcı değil, aynı zamanda sinyal iletiminde aktif aracı olabileceği hipotezini desteklemektedir.

Biyouyumluluk değerlendirmesinde pEV'lerin 1–500 μ g/mL aralığında hem HaCaT hem de HDF hücrelerinde 24–72 saatlik inkübasyon boyunca non-sitotoksik bir profil sergilediği ve hücre canlılığını %90'ın üzerinde koruduğu saptanmıştır. Özellikle B-EV grubunda 100 μ g/mL ve C-EV grubunda 50 μ g/mL konsantrasyonlarında metabolik aktivite artışı gözlenmiştir. Bu durum, pEV'lerin sitotoksikite oluşturmada hücrel metabolizmayı destekleyebileceğini göstermektedir (Kamiloglu vd., 2020; Raimondo vd., 2022; M. Kim vd., 2023; Iriawati vd., 2024).

Yara iyileşmesi analizlerinde, *Cannabis sativa* türevli pEV'lerin keratinositlerde erken faz iyileşmesini dramatik biçimde hızlandığı, brokoli kaynaklı pEV'lerin ise daha dengeli ve süregelen bir kapanma profili oluşturduğu belirlenmiştir. Kenevir pEV uygulamaları 48. saatte %96.73 kapanma oranına ulaşırken, 72. saatte %100 kapanma gözlenmiştir. Brokoli pEV uygulamaları ise 48. saatte %60–78, 72. saatte %100 kapanma ile orta fazda etkinlik göstermiştir. HDF hücrelerinde kenevir pEV'lerinin 24 saatte %60.30, 48 saatte %85 ve 72 saatte %100 kapanma sağlaması, fibroblastların hızlı migrasyon kapasitesiyle ilişkilendirilmiştir. Bu farklılıklar, hücre tipine özgü ECM üretimi ve göç dinamikleriyle açıklanabilir (Gerasymchuk vd., 2022; Fahey vd., 2002; Shibata vd., 2010; Mechchate vd., 2022; Tassaneesuwan vd., 2025).

Senesens analizlerinde pEV uygulamaları, β -Gal aktivitesinde anlamlı azalmalar sağlamıştır. HDF hücrelerinde gözlenen güçlü düşüş, pEV'lerin yaşlanma belirteçlerini baskılama kapasitesini ortaya koyarken, HaCaT hücrelerinde etkilerin daha ılımlı düzeyde olduğu görülmüştür. Sinerjik kombinasyonların her iki hücre hattında da belirgin anti-senesens etki sağlaması, kombinasyon stratejilerinin potansiyelini göstermektedir. Benzer şekilde Cho vd. (2021) ginseng hücre eksozomlarının UVB ile yaşlandırılmış melanositlerde SA- β -Gal aktivitesini düşürdüğünü; J.-S. Kim vd. (2023) ise Iris eksozomlarının H₂O₂ kaynaklı yaşlanmayı azalttığını bildirmiştir. Bu bulgularla uyumlu olarak, çalışmamızda pEV'lerin senesens koşullarında antioksidan kapasiteyi artırarak redoks dengesini iyileştirdiği belirlenmiştir. HDF hücrelerinde pEV tedavisi, oksidan seviyelerini anlamlı şekilde düşürürken ($p < 0.0001$), C-EV ve B-EV grupları kontrol düzeylerine yakın değerlere ulaşmıştır. HaCaT hücrelerinde de benzer bir düşüş gözlenmiştir ancak azalma oranı fibroblastlara göre daha sınırlıdır. Bu farklılık, dermal fibroblastların pEV'lere daha duyarlı yanıt verdiğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, Nrf2/AhR ekseninin aktivasyonu ile ilişkili antioksidan yanıtları bildiren literatürle de örtüşmektedir (Di Raimo vd., 2024; Urzì vd., 2023; S. Li vd., 2023; Kim vd., 2021; Kubra Tombulturk ve Demirci, 2025).

Gen ekspresyonu analizlerinde, COL1A1 ve COL1A2 düzeylerindeki artış pEV'lerin ekstraselüler matriksin yeniden yapılanmasını desteklediğini göstermiştir. Trentini vd. (2022) tarafından elma kaynaklı nanoveziküller ile yapılan çalışmada da benzer şekilde COL1A2, COL3A1 ve COL6A1 genlerinde artış bildirilmiştir. Ayrıca FGF ekspresyonundaki yükseliş, pEV'lerin hücre proliferasyonu ve göçünü destekleyen bir mikroçevre oluşturduğunu göstermektedir. MMP genlerindeki artış ise ECM yeniden yapılanması fazıyla uyumlu fizyolojik bir süreç olarak değerlendirilmiştir (Kandhwal vd., 2022; Krejner vd., 2016; Narauskaitė vd., 2021; Di Raimo vd., 2024). IL-6 düzeylerindeki artışın pEV uygulamalarıyla dengelenmesi, inflamatuvar yanıtın düzenlendiğini ve aşırı inflamasyonun baskılandığını göstermektedir (Raimondo vd., 2022).

Antimikrobiyal analizlerde B-EV'lerin etkisi zamana ve konsantrasyona bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde 12. saatte geçici bir artış gözlenmiş, *Staphylococcus aureus* üzerinde ise yüksek konsantrasyonlarda 24. saatte

inhibisyon tespit edilmiştir. *Candida albicans* üzerinde ise anlamlı bir etki saptanmamıştır. Bu bulgular, pEV'lerin antimikrobiyal etkinliğinin tür, süre ve doz bağımlı olduğunu göstermektedir. *Cannabis sativa* fitokimyasallarının sinerjik “entourage effect” mekanizması kapsamında daha güçlü antimikrobiyal etki gösterebildiği, CBD'nin MRSA ve VRSA gibi dirençli bakterilere karşı etkili olduğu literatürde bildirilmiştir (Hanuš ve Hod, 2020; Niyangoda vd., 2024; Dudley vd., 2025). Brokoli kaynaklı bileşiklerin ise özellikle sülforafan ve uzun zincirli alifatik bileşenleriyle Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, bu özelliğin cilt bakım ürünlerinde potansiyel kullanım sunduğu rapor edilmiştir (Basalirwa vd., 2020; Kumar, 2020; Nandini vd., 2020).

Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, *Cannabis sativa* ve *Brassica oleracea* var. *italica* kaynaklı pEV'lerin eksozomal boyut aralığında yer alan baskın popülasyonları, yüksek protein yükleri ve biyolojik açıdan zengin kargo profilleri ile cilt hücrelerinde biyoyumlu ve fonksiyonel etkilere sahip olduğu görülmektedir. Elde edilen bulgular, bu pEV'lerin yara iyileşmesi, antioksidan savunma ve yaşlanma karşıtı süreçlerde terapötik potansiyel taşıdığını güçlü biçimde desteklemektedir. Bununla birlikte, ikinci popülasyonların yapısının TEM/SEM analizleriyle doğrulanması, metabolomik bulguların LC-MS/MS tabanlı ileri çalışmalarla desteklenmesi ve in vivo modellerde etkinlik testlerinin yapılması, bu doğal nanopartiküllerin translasyonel uygulamalara taşınması açısından önem arz etmektedir. Genel olarak, bu çalışma hem *Cannabis sativa* hem de *Brassica oleracea* var. *italica* kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin fizikokimyasal, moleküler ve biyolojik açıdan kapsamlı bir profilini sunmaktadır. Elde edilen bulgular, bu nanopartiküllerin yara iyileşmesi, cilt bariyerinin korunması, antioksidan savunma ve inflamasyon modülasyonu gibi uygulamalarda terapötik ve kozmetik potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır. İleriye dönük olarak, pEV'lerin moleküler hedeflerinin belirlenmesi, in vivo model çalışmaları ve translasyonel araştırmalar, bu yapıların klinik ve kozmetik uygulamalardaki işlevselliğini doğrulamak açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Massih, R. M., Debs, E., Othman, L., Attieh, J., & Cabrerizo, F. M. 2023. Glucosinolates, a natural chemical arsenal: More to tell than the myrosinase story. *Front Microbiol*, 14, 1130208. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Abrahamov, A., Abrahamov, A., & Mechoulam, R. 1995. An efficient new cannabinoid antiemetic in pediatric oncology. *Life Sciences*, 56(23), 2097-2102. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- AbuMweis, S. S., Marinangeli, C. P., Frohlich, J., & Jones, P. J. 2014. Implementing phytosterols into medical practice as a cholesterol-lowering strategy: overview of efficacy, effectiveness, and safety. *Canadian Journal of Cardiology*, 30(10), 1225-1232. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Adamczak, A., Ożarowski, M., & Karpiński, T. M. 2020. Antibacterial Activity of Some Flavonoids and Organic Acids Widely Distributed in Plants. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 109. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Afnan, Saleem, A., Akhtar, M. F., Sharif, A., Akhtar, B., Siddique, R., Ashraf, G. M., Alghamdi, B. S., & Alharthy, S. A. 2022. Anticancer, Cardio-Protective and Anti-Inflammatory Potential of Natural-Sources-Derived Phenolic Acids. *Molecules*, 27(21). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Agrillo, B., Balestrieri, M., Gogliettino, M., Palmieri, G., Moretta, R., Proroga, Y. T. R., Rea, I., Cornacchia, A., Capuano, F., Smaldone, G., & De Stefano, L. 2019. Functionalized Polymeric Materials with Bio-Derived Antimicrobial Peptides for “Active” Packaging. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 601. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Aguilar-Camacho, M., Welte-Chanes, J., & Jacobo-Velázquez, D. A. 2019. Combined effect of ultrasound treatment and exogenous phytohormones on the accumulation of bioactive compounds in broccoli florets. *Ultrasonics Sonochemistry*, 50, 289-301. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ağagündüz, D., Şahin, T. Ö., Yılmaz, B., Ekenci, K. D., Duyar Özer, Ş., & Capasso, R. 2022. Cruciferous vegetables and their bioactive metabolites: from prevention to novel therapies of colorectal cancer. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 1534083. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., & Sharma, S. 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Crit Rev Biotechnol*, 30(3), 161-175. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Al-Hussainy, E. J., & Manea, A. I. 2019. Effect of planting distance and organic fertilization on growth and yield of Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Euphrates Journal of Agriculture Science*, 11(4), 13-21. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Allain, J. P., Bianco, C., Blajchman, M. A., Brecher, M. E., Busch, M., Leiby, D., Lin, L., & Stramer, S. 2005. Protecting the blood supply from emerging pathogens: the role of pathogen inactivation. *Transfus Med Rev*, 19(2), 110-126. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Alomari, D. Z., Eggert, K., Von Wiren, N., Alqudah, A. M., Polley, A., Plieske, J., Ganai, M. W., Pillen, K., & Röder, M. S. 2018. Identifying candidate genes for enhancing grain Zn concentration in wheat. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1313. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Anbualakan, K., Tajul Urus, N. Q., Makpol, S., Jamil, A., Mohd Ramli, E. S., Md Pauzi, S. H., & Muhammad, N. 2022. A Scoping Review on the Effects of Carotenoids and Flavonoids on Skin Damage Due to Ultraviolet Radiation. *Nutrients*, 15(1). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Andre, C., Christelle, M., Larondelle, Y., Yvan, Evers, D., & Daniele. 2010. Dietary Antioxidants and Oxidative Stress from a Human and Plant Perspective: A Review. *Current Nutrition & Food Science*, 6. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- André, C. M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C. A. A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J. F., Larondelle, Y., & Evers, D. 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry*, 70(9), 1107-1116. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Appendino, G., Chianese, G., & Taglialatela-Scafati, O. 2011. Cannabinoids: occurrence and medicinal chemistry. *Curr Med Chem*, 18(7), 1085-1099. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Aquilano, K., Ceci, V., Gismondi, A., De Stefano, S., Iacovelli, F., Faraonio, R., Di Marco, G., Poerio, N., Minutolo, A., Minopoli, G., Marcone, A., Fraziano, M., Tortolici, F., Sennato, S., Casciardi, S., Potestà, M., Bernardini, R., Mattei, M., Falconi, M., . . . Lettieri-Barbato, D. 2019. Adipocyte metabolism is improved by TNF receptor-targeting small RNAs identified from dried nuts. *Commun Biol*, 2, 317. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Armah, C. N., Derdemezis, C., Traka, M. H., Dainty, J. R., Doleman, J. F., Saha, S., Leung, W., Potter, J. F., Lovegrove, J. A., & Mithen, R. F. 2015. Diet rich in high glucoraphanin broccoli reduces plasma LDL cholesterol: Evidence from randomised controlled trials. *Molecular nutrition & food research*, 59(5), 918-926. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Armstrong, J. L., Hill, D. S., McKee, C. S., Hernandez-Tiedra, S., Lorente, M., Lopez-Valero, I., Eleni Anagnostou, M., Babatunde, F., Corazzari, M., Redfern, C. P. F., Velasco, G., & Lovat, P. E. 2015. Exploiting cannabinoid-induced cytotoxic autophagy to drive melanoma cell death. *J Invest Dermatol*, 135(6), 1629-1637. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Arts, I. C., & Hollman, P. C. 2005. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*, 81(1 Suppl), 317s-325s. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Asakai, R., Song, S. Y., Itoh, N., Yamakuni, T., Tamura, K., & Okamoto, R. 1994. Differential gene expression of fibroblast growth factor receptor isoforms in rat ovary. *Molecular and cellular endocrinology*, 104(1), 75-80. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Assaad, F. F., Qiu, J. L., Youngs, H., Ehrhardt, D., Zimmerli, L., Kalde, M., Wanner, G., Peck, S. C., Edwards, H., Ramonell, K., Somerville, C. R., & Thordal-Christensen, H. 2004. The PEN1 syntaxin defines a novel cellular compartment upon fungal attack and is required for the timely assembly of papillae. *Mol Biol Cell*, 15(11), 5118-5129. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Atal, M. K., Dwivedi, D. H., Narolia, S., Bharty, N., & Kumari, R. 2019. Influence of bio-fertilizer (Rhizobium radiobacter) in association with organic manures on Growth and Yield of broccoli (Brassica oleracea L. var. italica Plenck) cv. Palam Samridhi under Lucknow conditions. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1, 604-608. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Baar, M. P., Brandt, R. M., Putavet, D. A., Klein, J. D., Derks, K. W., Bourgeois, B. R., Stryeck, S., Rijksen, Y., van Willigenburg, H., & Feijtel, D. A. 2017. Targeted apoptosis of senescent cells restores tissue homeostasis in response to chemotoxicity and aging. *Cell*, 169(1), 132-147. e116. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bahi, A., Al Mansouri, S., Al Memari, E., Al Ameri, M., Nurulain, S. M., & Ojha, S. 2014. β -Caryophyllene, a CB2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. *Physiology & Behavior*, 135, 119-124. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bainbridge, P. 2013. Wound healing and the role of fibroblasts. *J Wound Care*, 22(8), 407-408, 410-412. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bak, M.-J., Ok, S., Jun, M., & Jeong, W.-S. 2012. 6-Shogaol-Rich Extract from Ginger Up-Regulates the Antioxidant Defense Systems in Cells and Mice. *Molecules*, 17(7), 8037-8055. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Baker, D. J., Childs, B. G., Durik, M., Wijers, M. E., Sieben, C. J., Zhong, J., A. Saltness, R., Jeganathan, K. B., Verzosa, G. C., & Pezeshki, A. 2016. Naturally occurring p16Ink4a-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature*, 530(7589), 184-189. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Baker, D. J., Wijshake, T., Tchkonja, T., LeBrasseur, N. K., Childs, B. G., Van De Sluis, B., Kirkland, J. L., & Van Deursen, J. M. 2011. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*, 479(7372), 232-236. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Baranoski, S., & Ayello, E. (2015). *Wound Care Essentials: Practice Principles*. Wolters Kluwer Health. (Original Publication)
- Barayan, D., Abdullahi, A., Vinaik, R., Knuth, C. M., Auger, C., & Jeschke, M. G. 2021. Interleukin-6 blockade, a potential adjunct therapy for post-burn hypermetabolism. *The FASEB Journal*, 35(5), e21596. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Barleon, B., Hauser, S., Schöllmann, C., Weindel, K., Marmé, D., Yayan, A., & Weich, H. A. 1994. Differential expression of the two VEGF receptors flt and KDR in placenta and vascular endothelial cells. *J Cell Biochem*, 54(1), 56-66. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Barrett, M. L., Scutt, A. M., & Evans, F. J. 1986. Cannflavin A and B, prenylated flavones from *Cannabis sativa* L. *Experientia*, 42(4), 452-453. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Basalirwa, D., Sudo, S., Wacal, C., Akae, F., Oo, A. Z., Koyama, S., Sasagawa, D., Yamamoto, S., Masunaga, T., & Nishihara, E. 2020. Assessment of crop residue and palm shell biochar incorporation on greenhouse gas emissions during the fallow and crop growing seasons of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Soil and Tillage Research*, 196, 104435. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Basu, S., & Dittel, B. N. 2011. Unraveling the complexities of cannabinoid receptor 2 (CB2) immune regulation in health and disease. *Immunol Res*, 51(1), 26-38. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bernardo, M. E., & Fibbe, W. 2013. Bernardo, ME and Fibbe, WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell* 13: 392-402. *Cell stem cell*, 13, 392-402. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Beutler, J. A., & Marderosian, A. H. 1978. Chemotaxonomy of *Cannabis* I. Crossbreeding between *Cannabis sativa* and *C. ruderalis*, with analysis of cannabinoid content. *Economic botany*, 32(4), 387-394. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bhambhani, S., Kondhare, K. R., & Giri, A. P. 2021. Diversity in Chemical Structures and Biological Properties of Plant Alkaloids. *Molecules*, 26(11), 3374. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bian, Q., Gao, S., Zhou, J., Qin, J., Taylor, A., Johnson, E. J., Tang, G., Sparrow, J. R., Gierhart, D., & Shang, F. 2012. Lutein and zeaxanthin supplementation reduces photooxidative damage and modulates the expression of inflammation-related genes in retinal pigment epithelial cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(6), 1298-1307. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Biga, L., Quick, D., Dawson, S., Harwell, A., Hopkins, R., Kaufmann, J., LeMaster, M., Matern, P., Morrison-Graham, K., & Runyeon, J. (2019). *Anatomy & Physiology 1e*. Oregon State Open Educational Resources. (Original Publication)
- Blažević, I., Montaut, S., Burčul, F., Olsen, C. E., Burow, M., Rollin, P., & Agerbirk, N. 2020. Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants. *Phytochemistry*, 169, 112100. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bolognini, D., Rock, E., Cluny, N., Cascio, M., Limebeer, C., Duncan, M., Stott, C., Javid, F., Parker, L., & Pertwee, R. 2013. Cannabidiolic acid prevents vomiting in *Suncus murinus* and nausea-induced behaviour in rats by enhancing 5-HT1A

- receptor activation. *British Journal of Pharmacology*, 168(6), 1456-1470. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bonham, C. A., Kuehlmann, B., & Gurtner, G. C. 2020. Impaired Neovascularization in Aging. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 9(3), 111-126. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bonini, S. A., Premoli, M., Tambaro, S., Kumar, A., Maccarinelli, G., Memo, M., & Mastinu, A. 2018. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology*, 227, 300-315. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Boraldi, F., Lofaro, F. D., Cossarizza, A., & Quaglino, D. 2022. The “Elastic Perspective” of SARS-CoV-2 Infection and the Role of Intrinsic and Extrinsic Factors. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1559. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Borrelli, F., Fasolino, I., Romano, B., Capasso, R., Maiello, F., Coppola, D., Orlando, P., Battista, G., Pagano, E., Di Marzo, V., & Izzo, A. A. 2013. Beneficial effect of the non-psychotropic plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. *Biochemical pharmacology*, 85(9), 1306-1316. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bouvier, F., Rahier, A., & Camara, B. 2005. Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. *Progress in Lipid Research*, 44(6), 357-429. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Bozkurt, S. 2018. Eksozomlar ve kanserdeki rolleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 45(2), 209-217. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Brenneisen, R. 2007. Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents. In M. A. ElSohly (Ed.), *Marijuana and the Cannabinoids* (pp. 17-49). Humana Press.
- Bukhari, S. N. A., Roswandi, N. L., Waqas, M., Habib, H., Hussain, F., Khan, S., Sohail, M., Ramli, N. A., Thu, H. E., & Hussain, Z. 2018. Hyaluronic acid, a promising skin rejuvenating biomedicine: A review of recent updates and pre-clinical and clinical investigations on cosmetic and nutricosmetic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 1682-1695. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Caley, M. P., Martins, V. L., & O'Toole, E. A. 2015. Metalloproteinases and Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 4(4), 225-234. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Camussi, G., Deregibus, M. C., Bruno, S., Cantaluppi, V., & Biancone, L. 2010. Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication. *Kidney international*, 78(9), 838-848. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Cappelletto, P., Brizzi, M., Mongardini, F., Barberi, B., Sannibale, M., Nenci, G., Poli, M., Corsi, G., Grassi, G., & Pasini, P. 2001. Italy-grown hemp: yield, composition and cannabinoid content. *Industrial Crops and Products*, 13(2), 101-113. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Carpenter, G., & Cohen, S. 1979. Epidermal Growth Factor. *Annual review of biochemistry*, 48(Volume 48, 1979), 193-216. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Cartea, M., Francisco, M., Soengas, P., & Velasco, P. 2010. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. *Molecules*, 16, 251-280. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Chanbisana, C., & Banik, A. 2019. Studies on effectiveness of packaging on storability of broccoli Cv. Aishwarya. *Int J Chem Stud*, 7, 5112-5118. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Chang, J., Wang, Y., Shao, L., Laberge, R.-M., Demaria, M., Campisi, J., Janakiraman, K., Sharpless, N. E., Ding, S., & Feng, W. 2016. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nature Medicine*, 22(1), 78-83. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Chen, A. Y., & Chen, Y. C. 2013. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chemistry*, 138(4), 2099-2107. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Chen, H., Xia, L.-S., Zhang, X.-D., & Wei, Z.-J. 2020. Antioxidant and Hypolipidemic Potential of Peptides from Broccoli Stems and Leaves [Article]. *Current topics in nutraceutical research*, 18, 16+. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Chen, X., Zhou, Y., & Yu, J. 2019. Exosome-like Nanoparticles from Ginger Rhizomes Inhibited NLRP3 Inflammasome Activation. *Mol Pharm*, 16(6), 2690-2699. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Childs, B. G., Baker, D. J., Wijshake, T., Conover, C. A., Campisi, J., & Van Deursen, J. M. 2016. Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science*, 354(6311), 472-477. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Childs, B. G., Durik, M., Baker, D. J., & Van Deursen, J. M. 2015. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nature Medicine*, 21(12), 1424-1435. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Chin, A. R., Fong, M. Y., Somlo, G., Wu, J., Swiderski, P., Wu, X., & Wang, S. E. 2016. Cross-kingdom inhibition of breast cancer growth by plant miR159. *Cell research*, 26(2), 217-228. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Choudhury, R., Sarangthem, I., Singh, A., Devi, K., & Singh, N. 2022. Studies on the yield of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) as influenced by boron application in acid soil. *The Pharma Innovation Journal*, 11(4), 595-601. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Cialdai, F., Risaliti, C., & Monici, M. 2022. Role of fibroblasts in wound healing and tissue remodeling on Earth and in space. *Front Bioeng Biotechnol*, 10, 958381. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Collado, M., & Serrano, M. 2010. Senescence in tumours: evidence from mice and humans. *Nature Reviews Cancer*, 10(1), 51-57. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Colombo, M., Moita, C., Van Niel, G., Kowal, J., Vigneron, J., Benaroch, P., Manel, N., Moita, L. F., Théry, C., & Raposo, G. 2013. Analysis of ESCRT functions in exosome biogenesis, composition and secretion highlights the heterogeneity of extracellular vesicles. *Journal of cell science*, 126(24), 5553-5565. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. 2014. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual review of cell and developmental biology*, 30(1), 255-289. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Conover, C. A., & Oxvig, C. 2017. PAPP-A: a promising therapeutic target for healthy longevity. *Aging Cell*, 16(2), 205-209. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Correa-Gallegos, D., Jiang, D., & Rinkevich, Y. 2021. Fibroblasts as confederates of the immune system. *Immunological Reviews*, 302(1), 147-162. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Cotta-Pereira, G., Guerra Rodrigo, F., & Bittencourt-Sampaio, S. 1976. Oxytalan, elaunin, and elastic fibers in the human skin. *J Invest Dermatol*, 66(3), 143-148. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Coutinho, L. L., Junior, T. C. T., & Rangel, M. C. 2023. Sulforaphane: An emergent anti-cancer stem cell agent. *Front Oncol*, 13, 1089115. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Cowin, A., & Waters, J. 2014. The science of wound healing. *Wound Management for the Advanced Practitioner, Victoria, Australia: IP Communications*. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Crippa, J. A., Guimarães, F. S., Campos, A. C., & Zuardi, A. W. 2018. Translational Investigation of the Therapeutic Potential of Cannabidiol (CBD): Toward a New Age. *Front Immunol*, 9, 2009. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Crowe, M. J., Doetschman, T., & Greenhalgh, D. G. 2000. Delayed Wound Healing in Immunodeficient TGF- β 1 Knockout Mice. *Journal of Investigative Dermatology*, 115(1), 3-11. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Cui, Y., Shen, J., Gao, C., Zhuang, X., Wang, J., & Jiang, L. 2016. Biogenesis of plant prevacuolar multivesicular bodies. *Molecular plant*, 9(6), 774-786. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Cuthbertson, R., Beck, F., Senior, P., Haralambidis, J., Penschow, J., & Coghlan, J. 1989. Insulin-like growth factor II may play a local role in the regulation of ocular size. *Development*, 107(1), 123-130. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Dad, H. A., Gu, T.-W., Zhu, A.-Q., Huang, L.-Q., & Peng, L.-H. 2021. Plant exosome-like nanovesicles: emerging therapeutics and drug delivery nanoplateforms.

- Molecular Therapy*, 29(1), 13-31. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Danilkovitch-Miagkova, A., & Zbar, B. 2002. Dysregulation of Met receptor tyrosine kinase activity in invasive tumors. *The Journal of clinical investigation*, 109(7), 863-867. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Darby, I. A., Laverdet, B., Bonté, F., & Desmoulière, A. 2014. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 7, 301-311. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Davis, W. M., & Hatoum, N. S. 1983. Neurobehavioral actions of cannabichromene and interactions with delta 9-tetrahydrocannabinol. *Gen Pharmacol*, 14(2), 247-252. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- De Cássia da Silveira e Sá, R., Lima, T. C., Da Nóbrega, F. R., De Brito, A. E. M., & De Sousa, D. P. 2017. Analgesic-Like Activity of Essential Oil Constituents: An Update. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12), 2392. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- De Pascale, M. R., Sommesse, L., Casamassimi, A., & Napoli, C. 2015. Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews*, 29(1), 52-61. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- DeLong, G. T., Wolf, C. E., Poklis, A., & Lichtman, A. H. 2010. Pharmacological evaluation of the natural constituent of Cannabis sativa, cannabichromene and its modulation by $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol. *Drug Alcohol Depend*, 112(1-2), 126-133. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Demaria, M., O'Leary, M. N., Chang, J., Shao, L., Liu, S., Alimirah, F., Koenig, K., Le, C., Mitin, N., & Deal, A. M. 2017. Cellular senescence promotes adverse effects of chemotherapy and cancer relapse. *Cancer discovery*, 7(2), 165-176. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Demaria, M., Ohtani, N., Youssef, S. A., Rodier, F., Toussaint, W., Mitchell, J. R., Laberge, R.-M., Vijg, J., Van Steeg, H., & Dollé, M. E. 2014. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Developmental cell*, 31(6), 722-733. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Deng, S., Leong, H. C., Datta, A., Gopal, V., Kumar, A. P., & Yap, C. T. 2022. PI3K/AKT Signaling Tips the Balance of Cytoskeletal Forces for Cancer Progression. *Cancers*, 14(7), 1652. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Denzer, K., Kleijmeer, M. J., Heijnen, H. F., Stoorvogel, W., & Geuze, H. J. 2000. Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *Journal of cell science*, 113(19), 3365-3374. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Desmoulière, A., Chaponnier, C., & Gabbiani, G. 2005. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen*, 13(1), 7-12. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Docimo, T., Consonni, R., Coraggio, I., & Mattana, M. 2013. Early phenylpropanoid biosynthetic steps in *Cannabis sativa*: link between genes and metabolites. *Int J Mol Sci*, 14(7), 13626-13644. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Dong, M., Ma, X., & Li, F. 2025. Dedifferentiated fat cells-derived exosomes (DFATs-Exos) loaded in GelMA accelerated diabetic wound healing through Wnt/ β -catenin pathway. *Stem Cell Res Ther*, 16(1), 103. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Doronicheva, N., Yasui, H., & Sakurai, H. 2007. Chemical structure-dependent differential effects of flavonoids on the catalase activity as evaluated by a chemiluminescent method. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(2), 213-217. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Duca, L., Floquet, N., Alix, A. J., Haye, B., & Debelles, L. 2004. Elastin as a matrikine. *Crit Rev Oncol Hematol*, 49(3), 235-244. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Dwivedi, A., Agarwal, N., Ray, L., & Tripathi, A. (2019). *Skin aging & cancer*. Springer. (Original Publication)
- Edgar, J. R. 2016. Q&A: What are exosomes, exactly? *BMC biology*, 14(1), 46. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- EINHORN, L. H., NAGY, C., FURNAS, B., & WILLIAMS, S. D. 1981. Nabilone: An Effective Antiemetic in Patients Receiving Cancer Chemotherapy. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 21(S1), 64S-69S. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Elbatsh, M., Mohd Moklas, M. A., Marsden, C., & Kendall, D. A. 2012. Antidepressant-like effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and rimonabant in the olfactory bulbectomised rat model of depression. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 102, 357-365. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Elsohly, M. A., & Slade, D. 2005. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci*, 78(5), 539-548. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Elsohly, M. A., Turner, C. E., Phoebe, C. H., Jr., Knapp, J. E., Schiff, P. L., Jr., & Slatkin, D. J. 1978. Anhydrocannabisativine, a new alkaloid from *Cannabis sativa* L. *J Pharm Sci*, 67(1), 124. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Fahey, J. W., Haristoy, X., Dolan, P. M., Kensler, T. W., Scholtus, I., Stephenson, K. K., Talalay, P., & Lozniewski, A. 2002. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(11), 7610-7615. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- FALANGA, V., EAGLSTEIN, W. H., BUCALO, B., KATZ, M. H., HARRIS, B., & CARSON, P. 1992. Topical Use of Human Recombinant Epidermal Growth Factor (h-EGF) in Venous Ulcers. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 18(7), 604-606. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S. P., & Casati, P. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, 3, 222. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Fantin, A., Vieira, J. M., Gestri, G., Denti, L., Schwarz, Q., Prykhodzhiy, S., Peri, F., Wilson, S. W., & Ruhrberg, C. 2010. Tissue macrophages act as cellular chaperones for vascular anastomosis downstream of VEGF-mediated endothelial tip cell induction. *Blood*, 116(5), 829-840. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Favela-González, K. M., Hernández-Almanza, A. Y., & De la Fuente-Salcido, N. M. 2020. The value of bioactive compounds of cruciferous vegetables (Brassica) as antimicrobials and antioxidants: A review. *J Food Biochem*, 44(10), e13414. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Fernandez-Prades, L., Brasal-Prieto, M., Alba, G., Martin, V., Montserrat-de la Paz, S., Cejudo-Guillen, M., Santa-Maria, C., Dakhaoui, H., Granados, B., Sobrino, F., Palomares, F., & Lopez-Enriquez, S. 2023. Sulforaphane Reduces the Chronic Inflammatory Immune Response of Human Dendritic Cells. *Nutrients*, 15(15), 3405. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Fleming, M. P., & Clarke, R. C. 1998. Physical evidence for the antiquity of *Cannabis sativa* L. *Journal of the International Hemp Association*, 5(2), 80-95. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Flores-Sanchez, I. J., Peč, J., Fei, J., Choi, Y. H., Dušek, J., & Verpoorte, R. 2009. Elicitation studies in cell suspension cultures of *Cannabis sativa* L. *Journal of Biotechnology*, 143(2), 157-168. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Flores-Sanchez, I. J., & Verpoorte, R. 2008. Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry Reviews*, 7(3), 615-639. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Fu, X., Wang, Z., & Sheng, Z. 2001. Advances in wound healing research in China: From antiquity to the present. *Wound Repair and Regeneration*, 9(1), 2-10. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gailit, J., Clark, R. A. F., & Welch, M. P. 1994. TGF- β 1 Stimulates Expression of Keratinocyte Integrins During Re-Epithelialization of Cutaneous Wounds. *Journal of Investigative Dermatology*, 103(2), 221-227. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gangoda, L., Boukouris, S., Liem, M., Kalra, H., & Mathivanan, S. 2015. Extracellular vesicles including exosomes are mediators of signal transduction: are they protective or pathogenic? *Proteomics*, 15(2-3), 260-271. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gao, Q., Pan, L., Li, Y., & Zhang, X. 2022. Astragaloside IV attenuates high glucose-induced human keratinocytes injury via TGF- β /Smad signaling pathway. *Journal of Tissue Viability*, 31(4), 678-686. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Gerasymchuk, M., Robinson, G. I., Groves, A., Haselhorst, L., Nandakumar, S., Stahl, C., Kovalchuk, O., & Kovalchuk, I. 2022. Phytocannabinoids Stimulate Rejuvenation and Prevent Cellular Senescence in Human Dermal Fibroblasts. *Cells*, 11(23). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gertsch, J., Leonti, M., Raduner, S., Racz, I., Chen, J.-Z., Xie, X.-Q., Altmann, K.-H., Karsak, M., & Zimmer, A. 2008. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(26), 9099-9104. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ghanbarzadeh, Z., Mohagheghzadeh, A., & Hemmati, S. 2024. The Roadmap of Plant Antimicrobial Peptides Under Environmental Stress: From Farm to Bedside. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 16(6), 2269-2304. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gilaberte, Y., Prieto-Torres, L., Pastushenko, I., & Juarranz, Á. 2016. Chapter 1 - Anatomy and Function of the Skin. In M. R. Hamblin, P. Avci, & T. W. Prow (Eds.), *Nanoscience in Dermatology* (pp. 1-14). Academic Press.
- Gliszczyńska-Świgło, A., Kałużewicz, A., Lemańska, K., Knaflowski, M., & Tyrakowska, B. 2007. The effect of solar radiation on the flavonol content in broccoli inflorescence. *Food Chemistry*, 100(1), 241-245. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Greening, D. W., Gopal, S. K., Xu, R., Simpson, R. J., & Chen, W. 2015. Exosomes and their roles in immune regulation and cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology*,
- Greppi, N., Mazzucco, L., Galetti, G., Bona, F., Petrillo, E., Smacchia, C., Raspollini, E., Cossovi, P., Caprioli, R., Borzini, P., Rebulla, P., & Marconi, M. 2011. Treatment of recalcitrant ulcers with allogeneic platelet gel from pooled platelets in aged hypomobile patients. *Biologicals*, 39(2), 73-80. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Grinnell, F., & Petroll, W. M. 2010. Cell motility and mechanics in three-dimensional collagen matrices. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 26, 335-361. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Grune, T., Lietz, G., Palou, A., Ross, A. C., Stahl, W., Tang, G., Thurnham, D., Yin, S.-a., & Biesalski, H. K. 2010. β -Carotene is an important vitamin A source for humans. *The Journal of nutrition*, 140(12), 2268S-2285S. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gurevich, D. B., Severn, C. E., Twomey, C., Greenhough, A., Cash, J., Toyne, A. M., Mellor, H., & Martin, P. 2018. Live imaging of wound angiogenesis reveals macrophage orchestrated vessel sprouting and regression. *Embo j*, 37(13). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. 2008. Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Gurung, S., Perocheau, D., Touramanidou, L., & Baruteau, J. 2021. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Communication and Signaling*, 19(1), 47. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Gutiérrez, A., & del Río, J. C. 2005. Chemical characterization of pitch deposits produced in the manufacturing of high-quality paper pulps from hemp fibers. *Bioresource Technology*, 96(13), 1445-1450. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Hakim, R. F., Fakhrurrazi, F., & Andini, Y. R. 2023. Potential effects of broccoli extract (*Brassica oleracea* var. *italica*) on collagen fiber density in the wound healing process. *Padjadjaran Journal of Dentistry*, 35(2), 145-150. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Hanson, P. I., & Cashikar, A. 2012. Multivesicular body morphogenesis. *Annual review of cell and developmental biology*, 28, 337-362. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Hantash, B. M., Zhao, L., Knowles, J. A., & Lorenz, H. P. 2008. Adult and fetal wound healing. *Front biosci*, 13, 51-61. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Hariton, F., Xue, M., Rabbani, N., Fowler, M., & Thornalley, P. J. 2018. Sulforaphane delays fibroblast senescence by curbing cellular glucose uptake, increased glycolysis, and oxidative damage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018(1), 5642148. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Has, C., & Nyström, A. 2015. Chapter Four - Epidermal Basement Membrane in Health and Disease. In J. H. Miner (Ed.), *Current Topics in Membranes* (Vol. 76, pp. 117-170). Academic Press.
- Hayflick, L., & Moorhead, P. S. 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental cell research*, 25(3), 585-621. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- He, J., Ren, W., Wang, W., Han, W., Jiang, L., Zhang, D., & Guo, M. 2022. Exosomal targeting and its potential clinical application. *Drug Delivery and Translational Research*, 12(10), 2385-2402. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Heinrich, M., Mah, J., & Amirkia, V. 2021. Alkaloids Used as Medicines: Structural Phytochemistry Meets Biodiversity—An Update and Forward Look. *Molecules*, 26(7), 1836. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Heinz, A. 2020. Elastases and elastokines: elastin degradation and its significance in health and disease. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 55(3), 252-273. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Herzog, E. L., Chai, L., & Krause, D. S. 2003. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, 102(10), 3483-3493. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Hill, M. N., & Gorzalka, B. B. 2004. Enhancement of anxiety-like responsiveness to the cannabinoid CB1 receptor agonist HU-210 following chronic stress. *European Journal of Pharmacology*, 499(3), 291-295. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Hill, T. D. M., Cascio, M.-G., Romano, B., Duncan, M., Pertwee, R. G., Williams, C. M., Whalley, B. J., & Hill, A. J. 2013. Cannabidiol-rich cannabis extracts are anticonvulsant in mouse and rat via a CB1 receptor-independent mechanism. *British Journal of Pharmacology*, 170(3), 679-692. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Honari, G. 2017. Skin Structure and Function. In (pp. 16-22).
- Howitt, J., & Hill, A. F. 2016. Exosomes in the Pathology of Neurodegenerative Diseases*. *Journal of Biological Chemistry*, 291(52), 26589-26597. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Huang, J., Deng, Q., Tsang, L. L., Chang, G., Guo, J., Ruan, Y. C., Wang, C. C., Li, G., Chan, H. F., Zhang, X., & Jiang, X. 2025. Mesenchymal stem cells from perinatal tissues promote diabetic wound healing via PI3K/AKT activation. *Stem Cell Research & Therapy*, 16(1), 59. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Huang, R. Y., Guilford, P., & Thiery, J. P. 2012. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci*, 125(Pt 19), 4417-4422. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Hunt, T. K., Hopf, H., & Hussain, Z. 2000. Physiology of wound healing. *Adv Skin Wound Care*, 13(2 Suppl), 6-11. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Aslam Gondal, T., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., Tsouh Fokou, P. V., Umair Arshad, M., & Khan, H. 2019. Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*, 24(12), 2277. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ishida, M., Hara, M., Fukino, N., Kakizaki, T., & Morimitsu, Y. 2014. Glucosinolate metabolism, functionality and breeding for the improvement of Brassicaceae vegetables. *Breed Sci*, 64(1), 48-59. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., Di Marzo, V., & Mechoulam, R. 2009. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(10), 515-527. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jeffery, E., Brown, A., Kurilich, A., Keck, A., Matusheski, N., Klein, B., & Juvik, J. 2003. Variation in content of bioactive components in broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(3), 323-330. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jiang, Q., Im, S., Wagner, J. G., Hernandez, M. L., & Peden, D. B. 2022. Gamma-tocopherol, a major form of vitamin E in diets: Insights into antioxidant and anti-inflammatory effects, mechanisms, and roles in disease management. *Free Radical Biology and Medicine*, 178, 347-359. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jiang, Y., Ju, Z., Zhang, J., Liu, X., Tian, J., & Mu, G. 2015. Effects of insulin-like growth factor 2 and its receptor expressions on corneal repair. *International journal of*

- clinical and experimental pathology*, 8(9), 10185. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jimenez-Jimenez, S., Hashimoto, K., Santana, O., Aguirre, J., Kuchitsu, K., & Cárdenas, L. 2019. Emerging roles of tetraspanins in plant inter-cellular and inter-kingdom communication. *Plant Signal Behav*, 14(4), e1581559. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Johan, M. Z., Pyne, N. T., Kolesnikoff, N., Poltavets, V., Esmaeili, Z., Woodcock, J. M., Lopez, A. F., Cowin, A. J., Pitson, S. M., & Samuel, M. S. 2024. Accelerated Closure of Diabetic Wounds by Efficient Recruitment of Fibroblasts upon Inhibiting a 14-3-3/ROCK Regulatory Axis. *J Invest Dermatol*, 144(11), 2562-2573.e2564. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Johnstone, R. M., Adam, M., Hammond, J., Orr, L., & Turbide, C. 1987. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *Journal of Biological Chemistry*, 262(19), 9412-9420. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jorch, S. K., & Kubes, P. 2017. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med*, 23(3), 279-287. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jordan, N. V., Johnson, G. L., & Abell, A. N. 2011. Tracking the intermediate stages of epithelial-mesenchymal transition in epithelial stem cells and cancer. *Cell Cycle*, 10(17), 2865-2873. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Joshi, B. S., de Beer, M. A., Giepmans, B. N., & Zuhorn, I. S. 2020. Endocytosis of extracellular vesicles and release of their cargo from endosomes. *ACS nano*, 14(4), 4444-4455. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jun, E. K., Zhang, Q., Yoon, B. S., Moon, J.-H., Lee, G., Park, G., Kang, P. J., Lee, J. H., Kim, A., & You, S. 2014. Hypoxic Conditioned Medium from Human Amniotic Fluid-Derived Mesenchymal Stem Cells Accelerates Skin Wound Healing through TGF- β /SMAD2 and PI3K/Akt Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(1), 605-628. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Jun, J.-I., & Lau, L. F. 2010. The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing. *Nature cell biology*, 12(7), 676-685. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- K, R. G., Balenahalli Narasingappa, R., & Vishnu Vyas, G. 2024. Unveiling mechanisms of antimicrobial peptide: Actions beyond the membranes disruption. *Heliyon*, 10(19), e38079. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kadariswantiningsih, I. N., Empitu, M. A., Santosa, T. I., & Alimu, Y. 2025. Antifungal resistance: Emerging mechanisms and implications (Review). *Mol Med Rep*, 32(3), 247. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kallis, P. J., & Friedman, A. J. 2018. Collagen Powder in Wound Healing. *Journal of drugs in dermatology : JDD*, 17(4), 403-408. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Kapusta-Duch, J., Borczak, B., Kopec, A., Filipiak-Florkiewicz, A., & Leszczyńska, T. 2014. The Influence of Packaging Type and Time of Frozen Storage on Antioxidative Properties of Brussels Sprouts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 1089-1096. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kaur, J., & Nobile, C. J. 2023. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. *Current Opinion in Microbiology*, 71, 102237. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kawamoto, K., & Matsuda, H. 2004. Nerve growth factor and wound healing. *Progress in brain research*, 146, 369-384. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kempinski, C., Jiang, Z., Bell, S., & Chappell, J. 2015. Metabolic Engineering of Higher Plants and Algae for Isoprenoid Production. In J. Schrader & J. Bohlmann (Eds.), *Biotechnology of Isoprenoids* (pp. 161-199). Springer International Publishing.
- Kennedy, D. O., Dodd, F. L., Robertson, B. C., Okello, E. J., Reay, J. L., Scholey, A. B., & Haskell, C. F. 2011. Monoterpenoid extract of sage (*Salvia lavandulaefolia*) with cholinesterase inhibiting properties improves cognitive performance and mood in healthy adults. *Journal of Psychopharmacology*, 25(8), 1088-1100. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Khalyfa, A., & Gozal, D. 2014. Exosomal miRNAs as potential biomarkers of cardiovascular risk in children. *Journal of Translational Medicine*, 12(1), 162. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kibar, H., Kibar, B., & Turfan, N. 2024. Exogenous citric acid, salicylic acid, and putrescine treatments preserve the postharvest quality and physicochemical properties of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) during cold storage. *Food Sci Nutr*, 12(3), 1686-1705. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kim, D.-S., Lee, H.-J., Jeon, Y.-D., Han, Y.-H., Kee, J.-Y., Kim, H.-J., Shin, H.-J., Kang, J., Lee, B. S., Kim, S.-H., Kim, S.-J., Park, S.-H., Choi, B.-M., Park, S.-J., Um, J.-Y., & Hong, S.-H. 2015. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF- κ B Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. *The American Journal of Chinese Medicine*, 43(04), 731-742. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kim, E.-S., & Mahlberg, P. G. 1997. Immunochemical localization of tetrahydrocannabinol (THC) in cryofixed glandular trichomes of *Cannabis* (Cannabaceae). *American journal of botany*, 84 3, 336. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kim, H., Wang, S. Y., Kwak, G., Yang, Y., Kwon, I. C., & Kim, S. H. 2019. Exosome-Guided Phenotypic Switch of M1 to M2 Macrophages for Cutaneous Wound Healing. *Adv Sci (Weinh)*, 6(20), 1900513. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kishore, R., Garikipati, V. N. S., & Gumpert, A. 2016. Tiny Shuttles for Information Transfer: Exosomes in Cardiac Health and Disease. *J Cardiovasc Transl Res*, 9(3), 169-175. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Ko, J. A., Yanai, R., & Nishida, T. 2009. IGF-1 released by corneal epithelial cells induces up-regulation of N-cadherin in corneal fibroblasts. *Journal of Cellular Physiology*, 221(1), 254-261. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Koh, E., Wimalasiri, K. M. S., Chassy, A. W., & Mitchell, A. E. 2009. Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7), 637-643. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Koh, T. J., & DiPietro, L. A. 2011. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13, e23, Article e23. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Komori, T., Fujiwara, R., Tanida, M., Nomura, J., & Yokoyama, M. M. 1995. Effects of Citrus Fragrance on Immune Function and Depressive States. *Neuroimmunomodulation*, 2(3), 174-180. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kopustinskiene, D. M., Masteikova, R., Lazauskas, R., & Bernatoniene, J. 2022. Cannabis sativa L. Bioactive Compounds and Their Protective Role in Oxidative Stress and Inflammation. *Antioxidants*, 11(4), 660. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kortekaas, S., Soto, M., Vicent, T., Field, J. A., & Lettinga, G. 1995. Contribution of extractives to methanogenic toxicity of hemp black liquor. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80(4), 383-388. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kowal, J., Tkach, M., & Théry, C. 2014. Biogenesis and secretion of exosomes. *Current opinion in cell biology*, 29, 116-125. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Krishnamurthy, J., Torrice, C., Ramsey, M. R., Kovalev, G. I., Al-Regaiey, K., Su, L., & Sharpless, N. E. 2004. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *The Journal of clinical investigation*, 114(9), 1299-1307. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Krupa-Kozak, U., Drabińska, N., Bączek, N., Šimková, K., Starowicz, M., & Jeliński, T. 2021. Application of broccoli leaf powder in gluten-free bread: An innovative approach to improve its bioactive potential and technological quality. *Foods*, 10(4), 819. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kubota, S., Kawata, K., Yanagita, T., Doi, H., Kitoh, T., & Takigawa, M. 2004. Abundant retention and release of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) by platelets. *J Biochem*, 136(3), 279-282. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kuilman, T., Michaloglou, C., Mooi, W. J., & Peeper, D. S. 2010. The essence of senescence. *Genes & development*, 24(22), 2463-2479. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Kumar, S., & Pandey, A. K. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, 2013(1), 162750. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Kurachi, I., Kurita, E., Takushima, A., & Suga, H. 2021. Human CD206+ Macrophages Show Antifibrotic Effects on Human Fibroblasts through an IL-6-Dependent Mechanism In Vitro. *Plast Reconstr Surg*, 147(2), 231e-239e. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Langevin, H. M., Fujita, T., Bouffard, N. A., Takano, T., Koptiuch, C., Badger, G. J., & Nedergaard, M. 2013. Fibroblast cytoskeletal remodeling induced by tissue stretch involves ATP signaling. *J Cell Physiol*, 228(9), 1922-1926. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Lansdown, A. B. 2002. Calcium: a potential central regulator in wound healing in the skin. *Wound Repair Regen*, 10(5), 271-285. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Lässer, C., Eldh, M., & Lötval, J. 2012. Isolation and characterization of RNA-containing exosomes. *Journal of visualized experiments: JoVE*(59), 3037. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Le, T. N., Luong, H. Q., Li, H.-P., Chiu, C.-H., & Hsieh, P.-C. 2019. Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) sprouts as the potential food source for bioactive properties: A comprehensive study on in vitro disease models. *Foods*, 8(11), 532. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Lee, D. H., Oh, J.-H., & Chung, J. H. 2016. Glycosaminoglycan and proteoglycan in skin aging. *Journal of Dermatological Science*, 83(3), 174-181. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Lee, H. K., Lee, J. H., Kim, M., Kariya, Y., Miyazaki, K., & Kim, E. K. 2006. Insulin-like growth factor-1 induces migration and expression of laminin-5 in cultured human corneal epithelial cells. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(3), 873-882. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Lee, J. M., Dedhar, S., Kalluri, R., & Thompson, E. W. 2006. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *J Cell Biol*, 172(7), 973-981. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Lei, C., Teng, Y., He, L., Sayed, M., Mu, J., Xu, F., Zhang, X., Kumar, A., Sundaram, K., Sriwastva, M. K., Zhang, L., Chen, S. Y., Feng, W., Zhang, S., Yan, J., Park, J. W., Merchant, M. L., Zhang, X., & Zhang, H. G. 2021. Lemon exosome-like nanoparticles enhance stress survival of gut bacteria by RNase P-mediated specific tRNA decay. *iScience*, 24(6), 102511. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Leopoldini, M., Russo, N., Chiodo, S., & Toscano, M. 2006. Iron chelation by the powerful antioxidant flavonoid quercetin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6343-6351. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- LeRoith, D., Werner, H., Beitner-Johnson, D., & Roberts Jr, C. T. 1995. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocrine Reviews*, 16(2), 143-163. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, A., Koroly, M. J., Schattenkerk, M. E., Malt, R. A., & Young, M. 1980. Nerve growth factor: acceleration of the rate of wound healing in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(7), 4379-4381. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, Q., Xia, B., Wu, J., Yuan, X., Lu, X., Huang, C., Gu, H., Zheng, K., You, Q., & Liu, K. 2022. Indole-3-carbinol (I3C) protects the heart from ischemia/reperfusion injury by inhibiting oxidative stress, inflammation, and cellular apoptosis in mice. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 924174. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, S.-p., Lin, Z.-x., Jiang, X.-y., & Yu, X.-y. 2018. Exosomal cargo-loading and synthetic exosome-mimics as potential therapeutic tools. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(4), 542-551. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, W., Chi, N., Rathnayake, R. A. C., & Wang, R. 2021. Distinctive roles of fibrillar collagen I and collagen III in mediating fibroblast-matrix interaction: A nanoscopic study. *Biochem Biophys Res Commun*, 560, 66-71. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, Y., Gao, X., Pan, D., Liu, Z., Xiao, C., Xiong, Y., Du, L., Cai, Z., Lu, W., & Dang, Y. 2023. Identification and virtual screening of novel anti-inflammatory peptides from broccoli fermented by *Lactobacillus* strains. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1118900. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, Y., Li, X., Cournoyer, P., Choudhuri, S., Yu, X., Guo, L., & Chen, S. 2023. Cannabidiol-induced transcriptomic changes and cellular senescence in human Sertoli cells. *Toxicol Sci*, 191(2), 227-238. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., Liu, H., & Yin, Y. 2016. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*, 8(3), 167. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Li, Z., Zhang, C., Wang, L., Zhang, Q., Dong, Y., Sha, X., Wang, B., Zhu, Z., Wang, W., Wang, Y., Zhou, Y., & Zhang, Y. 2025. Chitooligosaccharides promote diabetic wound healing by mediating fibroblast proliferation and migration. *Scientific Reports*, 15(1), 556. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Lian, M. Q., Chng, W. H., Liang, J., Yeo, H. Q., Lee, C. K., Belaid, M., Tollemeto, M., Wacker, M. G., Czarny, B., & Pastorin, G. 2022. Plant-derived extracellular vesicles: Recent advancements and current challenges on their use for biomedical applications. *Journal of extracellular vesicles*, 11(12), 12283. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Liu, H., Wu, J., Su, Y., Li, Y., Zuo, D., Liu, H., Liu, Y., Mei, X., Huang, H., & Yang, M. 2021. Allyl isothiocyanate in the volatiles of *Brassica juncea* inhibits the growth of root rot pathogens of *Panax notoginseng* by inducing the accumulation of ROS.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 69(46), 13713-13723. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

Liu, W., Hsu, D. K., Chen, H.-Y., Yang, R.-Y., Carraway, K. L., Isseroff, R. R., & Liu, F.-T. 2012. Galectin-3 Regulates Intracellular Trafficking of EGFR through Alix and Promotes Keratinocyte Migration. *Journal of Investigative Dermatology*, 132(12), 2828-2837. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

Lopez-Ojeda, W., Pandey, A., Alhajj, M., & Oakley, A. M. 2025. Anatomy, Skin (Integument). In *StatPearls*. StatPearls Publishing

Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC.

Lv, Q., Deng, J., Chen, Y., Wang, Y., Liu, B., & Liu, J. 2020. Engineered Human Adipose Stem-Cell-Derived Exosomes Loaded with miR-21-5p to Promote Diabetic Cutaneous Wound Healing. *Molecular Pharmaceutics*, 17(5), 1723-1733. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

M. Dohan Ehrenfest, D., Bielecki, T., Mishra, A., Borzini, P., Inchingolo, F., Sammartino, G., Rasmusson, L., & A. Evert, P. 2012. In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1131-1137. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

Maina, F., Casagrande, F., Audero, E., Simeone, A., Comoglio, P. M., Klein, R., & Ponzetto, C. 1996. Uncoupling of Grb2 from the Met receptor in vivo reveals complex roles in muscle development. *Cell*, 87(3), 531-542. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

Malanovic, N., & Lohner, K. 2016. Antimicrobial Peptides Targeting Gram-Positive Bacteria. *Pharmaceuticals (Basel)*, 9(3). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

Martin, P., & Nunan, R. 2015. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *British Journal of Dermatology*, 173(2), 370-378. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

Matos, G. M., Garcia-Teodoro, B., Martins, C. P., Schmitt, P., Guzmán, F., de Freitas, A. C. O., Stoco, P. H., Ferreira, F. A., Stadnik, M. J., Robl, D., Perazzolo, L. M., & Rosa, R. D. 2023. Antimicrobial Spectrum of Activity and Mechanism of Action of Linear Alpha-Helical Peptides Inspired by Shrimp Anti-Lipopolysaccharide Factors. *Biomolecules*, 13(1). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

McPartland, J. M., & Russo, E. B. 2001. Cannabis and Cannabis Extracts. *Journal of Cannabis Therapeutics*, 1(3-4), 103-132. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

Mechchate, H., El Allam, A., El Omari, N., El Hachlafi, N., Shariati, M. A., Wilairatana, P., Mubarak, M. S., & Bouyahya, A. 2022. Vegetables and Their Bioactive Compounds as Anti-Aging Drugs. *Molecules*, 27(7). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Mechoulam, R., Parker, L. A., & Gallily, R. 2002. Cannabidiol: an overview of some pharmacological aspects. *J Clin Pharmacol*, 42(S1), 11s-19s. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Mechoulam, R., Shani, A., Edery, H., & Grunfeld, Y. 1970. Chemical Basis of Hashish Activity. *Science*, 169(3945), 611-612. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Mediavilla, V. 1998. THE PRODUCTION OF ESSENTIAL HEMP OIL IN SWITZERLAND. *technology and ecology Symposium*, 24, 117-118. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Meena, R. K., Trivedi, S., Nama, A., Kumar, L., & Mehta, J. 2020. Broccoli: Growth and yield effected by different biofertilizers and inorganic matter–A Review. *Indian Journal of Pure and Applied Bioscience*, 8(3), 149-153. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Melrose, J. 2019. The Glucosinolates: A Sulphur Glucoside Family of Mustard Anti-Tumour and Antimicrobial Phytochemicals of Potential Therapeutic Application. *Biomedicines*, 7(3), 62. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Meng, X. M., Nikolic-Paterson, D. J., & Lan, H. Y. 2016. TGF- β : the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol*, 12(6), 325-338. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Mescher, A. L. 2017. Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration*, 4(2), 39-53. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Mitchell, R. S., Elgas, R. J., & Balk, S. D. 1976. Proliferation of Rous sarcoma virus-infected, but not of normal, chicken fibroblasts in oxygen-enriched environment: preliminary report. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 73(4), 1265-1268. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Mittal, R., Rasane, P., Gunjal, M., & Singh, J. 2025. Brassica oleracea as a functional crop: phytochemical potential and sustainable applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 105(7), 3525-3538. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Mittelbrunn, M., Gutiérrez-Vázquez, C., Villarroya-Beltri, C., González, S., Sánchez-Cabo, F., González, M. Á., Bernad, A., & Sánchez-Madrid, F. 2011. Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. *Nature communications*, 2(1), 282. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Modani, S., Tomar, D., Tangirala, S., Sriram, A., Mehra, N. K., Kumar, R., Khatri, D. K., & Singh, P. K. 2021. An updated review on exosomes: biosynthesis to clinical applications. *J Drug Target*, 29(9), 925-940. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Monika, P., Chandraprabha, M. N., Rangarajan, A., Waiker, P. V., & Chidambara Murthy, K. N. 2022. Challenges in healing wound: role of complementary and

- alternative medicine. *Frontiers in Nutrition*, 8, 791899. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Monteiro-Riviere, N. A. (2010). *Toxicology of the Skin*. (Original Publication)
- Montmayeur, J.-P., Valius, M., Vandenheede, J., & Kazlauskas, A. 1997. The Platelet-derived Growth Factor β Receptor Triggers Multiple Cytoplasmic Signaling Cascades That Arrive at the Nucleus as Distinguishable Inputs *. *Journal of Biological Chemistry*, 272(51), 32670-32678. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Montserrat-de la Paz, S., Marín-Aguilar, F., García-Giménez, M. D., & Fernández-Arche, M. A. 2014. Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil: Analytical and Phytochemical Characterization of the Unsaponifiable Fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(5), 1105-1110. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Moon, R. T., Kohn, A. D., Ferrari, G. V. D., & Kaykas, A. 2004. WNT and β -catenin signalling: diseases and therapies. *Nature Reviews Genetics*, 5(9), 691-701. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Morales, P., & Reggio, P. H. 2017. An Update on Non-CB1, Non-CB2 Cannabinoid Related G-Protein-Coupled Receptors. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 2(1), 265-273. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Morasso, M. I., & Tomic-Canic, M. 2005. Epidermal stem cells: the cradle of epidermal determination, differentiation and wound healing. *Biology of the Cell*, 97(3), 173-183. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Moreno, D. A., Carvajal, M., López-Berenguer, C., & García-Viguera, C. 2006. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *J Pharm Biomed Anal*, 41(5), 1508-1522. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Muñoz-Espín, D., Cañamero, M., Maraver, A., Gómez-López, G., Contreras, J., Murillo-Cuesta, S., Rodríguez-Baeza, A., Varela-Nieto, I., Ruberte, J., & Collado, M. 2013. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell*, 155(5), 1104-1118. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Muñoz-Espín, D., & Serrano, M. 2014. Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nature reviews Molecular cell biology*, 15(7), 482-496. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Murohara, T., Horowitz, J. R., Silver, M., Tsurumi, Y., Chen, D., Sullivan, A., & Isner, J. M. 1998. Vascular Endothelial Growth Factor/Vascular Permeability Factor Enhances Vascular Permeability Via Nitric Oxide and Prostacyclin. *Circulation*, 97(1), 99-107. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Naeser, P. 1997. Insulin receptors in human ocular tissues: immunohistochemical demonstration in normal and diabetic eyes. *Upsala journal of medical sciences*, 102(1), 35-40. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Najafi, M., Farhood, B., & Mortezaee, K. 2019. Extracellular matrix (ECM) stiffness and degradation as cancer drivers. *J Cell Biochem*, 120(3), 2782-2790. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Nakao, A., Afrakhte, M., Morn, A., Nakayama, T., Christian, J. L., Heuchel, R., Itoh, S., Kawabata, M., Heldin, N.-E., Heldin, C.-H., & Dijke, P. t. 1997. Identification of Smad7, a TGF β -inducible antagonist of TGF- β signalling. *Nature*, 389(6651), 631-635. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Namdar, D., Mazuz, M., Ion, A., & Koltai, H. 2018. Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in Cannabis sativa derived from inflorescence position along the stem and extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 113, 376-382. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Narasimha Murthy, S., & Shivakumar, H. N. 2010. CHAPTER 1 - Topical and Transdermal Drug Delivery. In V. S. Kulkarni (Ed.), *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems* (pp. 1-36). William Andrew Publishing.
- Nguyen, V. P. T., Stewart, J., Lopez, M., Ioannou, I., & Allais, F. 2020. Glucosinolates: Natural Occurrence, Biosynthesis, Accessibility, Isolation, Structures, and Biological Activities. *Molecules*, 25(19). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Nicolas-Espinosa, J., Yepes-Molina, L., & Carvajal, M. 2022. Bioactive peptides from broccoli stems strongly enhance regenerative keratinocytes by stimulating controlled proliferation. *Pharmaceutical Biology*, 60(1), 235-246. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Nikan, M., Nabavi, S. M., & Manayi, A. 2016. Ligands for cannabinoid receptors, promising anticancer agents. *Life Sciences*, 146, 124-130. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Nusse, R., & Clevers, H. 2017. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell*, 169(6), 985-999. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Nyström, A., & Bruckner-Tuderman, L. 2019. Matrix molecules and skin biology. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 89, 136-146. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Okuda, K., Murata, M., Sugimoto, M., Saito, Y., Kabasawa, Y., Yoshie, H., Saku, T., & Hara, K. 1998. TGF- β 1 influences early gingival wound healing in rats: an immunohistochemical evaluation of stromal remodelling by extracellular matrix molecules and PCNA. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 27(10), 463-469. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Oláh, A., Tóth, B. I., Borbíró, I., Sugawara, K., Szöllösi, A. G., Czifra, G., Pál, B., Ambrus, L., Kloepper, J., Camera, E., Ludovici, M., Picardo, M., Voets, T., Zouboulis, C. C., Paus, R., & Bíró, T. 2014. Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. *J Clin Invest*, 124(9), 3713-3724. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Ono, M., Masaki, A., Maeda, A., Kilts, T. M., Hara, E. S., Komori, T., Pham, H., Kuboki, T., & Young, M. F. 2018. CCN4/WISP1 controls cutaneous wound healing by modulating proliferation, migration and ECM expression in dermal fibroblasts via $\alpha 5\beta 1$ and TNF α . *Matrix Biology*, 68-69, 533-546. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Outtz, H. H., Tattersall, I. W., Kofler, N. M., Steinbach, N., & Kitajewski, J. 2011. Notch1 controls macrophage recruitment and Notch signaling is activated at sites of endothelial cell anastomosis during retinal angiogenesis in mice. *Blood*, 118(12), 3436-3439. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pacheco-Cano, R. D., Salcedo-Hernández, R., Casados-Vázquez, L. E., Wrobel, K., Bideshi, D. K., & Barboza-Corona, J. E. 2020. Class I defensins (BraDef) from broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) seeds and their antimicrobial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 30. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pacifico, D., Miselli, F., Carboni, A., Moschella, A., & Mandolino, G. 2008. Time course of cannabinoid accumulation and chemotype development during the growth of *Cannabis sativa* L. *Euphytica*, 160(2), 231-240. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Panuncialman, J., & Falanga, V. 2009. The Science of Wound Bed Preparation. *Surgical Clinics of North America*, 89(3), 611-626. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pegtel, D. M., & Gould, S. J. 2019. Exosomes. *Annual review of biochemistry*, 88(1), 487-514. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Peña, O. A., & Martin, P. 2024. Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 25(8), 599-616. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Peng, L., Zhu, X., Wang, C., Jiang, Q., Yu, S., Song, G., Liu, Q., & Gong, P. 2024. Indole-3-carbinol (I3C) reduces apoptosis and improves neurological function after cerebral ischemia-reperfusion injury by modulating microglia inflammation. *Scientific Reports*, 14(1), 3145. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Peng, Y., Wu, S., Tang, Q., Li, S., & Peng, C. 2019. KGF-1 accelerates wound contraction through the TGF- β 1/Smad signaling pathway in a double-paracrine manner. *Journal of Biological Chemistry*, 294(21), 8361-8370. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Petrović, M., Debeljak, Ž., Kezić, N., & Džidara, P. 2015. Relationship between cannabinoids content and composition of fatty acids in hempseed oils. *Food Chemistry*, 170, 218-225. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pierce, G. F., Mustoe, T. A., Altmann, B. W., Deuel, T. F., & Thomason, A. 1991. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem*, 45(4), 319-326. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pirró, S., Zanella, L., Kenzo, M., Montesano, C., Minutolo, A., Potestà, M., Sobze, M. S., Canini, A., Cirilli, M., Muleo, R., Colizzi, V., & Galgani, A. 2016. MicroRNA

- from *Moringa oleifera*: Identification by High Throughput Sequencing and Their Potential Contribution to Plant Medicinal Value. *PloS one*, 11(3), e0149495. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pisanti, S., & Bifulco, M. 2019. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. *J Cell Physiol*, 234(6), 8342-8351. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pizato, S., dos Santos, B. M. M., Santiago, N. G., Chevalier, R. C., Pinedo, R. A., & Cortez-Vega, W. R. 2020. Use of chitosan and xanthan gums to extend the shelf life of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L. italica). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ponugoti, B., Xu, F., Zhang, C., Tian, C., Pacios, S., & Graves, D. T. 2013. FOXO1 promotes wound healing through the up-regulation of TGF- β 1 and prevention of oxidative stress. *Journal of Cell Biology*, 203(2), 327-343. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pradhan, S., Khatlani, T., Nairn, A. C., & Vijayan, K. V. 2017. The heterotrimeric G protein G β (1) interacts with the catalytic subunit of protein phosphatase 1 and modulates G protein-coupled receptor signaling in platelets. *J Biol Chem*, 292(32), 13133-13142. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Prado, N. J., Ramirez, D., Mazzei, L., Parra, M., Casarotto, M., Calvo, J. P., Cuello Carrión, D., Ponce Zumino, A. Z., Diez, E. R., Camargo, A., & Manucha, W. 2022. Anti-inflammatory, antioxidant, antihypertensive, and antiarrhythmic effect of indole-3-carbinol, a phytochemical derived from cruciferous vegetables. *Heliyon*, 8(2), e08989. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Prieto, M. A., López, C. J., & Simal-Gandara, J. 2019. Chapter Six - Glucosinolates: Molecular structure, breakdown, genetic, bioavailability, properties and healthy and adverse effects. In I. C. F. R. Ferreira & L. Barros (Eds.), *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 90, pp. 305-350). Academic Press.
- Prigent, S. A., & Lemoine, N. R. 1992. The type 1 (EGFR-related) family of growth factor receptors and their ligands. *Progress in Growth Factor Research*, 4(1), 1-24. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Pugholm, L. H., Revenfeld, A. L. S., Søndergaard, E. K. L., & Jørgensen, M. M. 2015. Antibody-Based Assays for Phenotyping of Extracellular Vesicles. *BioMed Research International*, 2015(1), 524817. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Qian, L. W., Fourcaudot, A. B., Yamane, K., You, T., Chan, R. K., & Leung, K. P. 2016. Exacerbated and prolonged inflammation impairs wound healing and increases scarring. *Wound Repair Regen*, 24(1), 26-34. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Qiu, F. S., Wang, J. F., Guo, M. Y., Li, X. J., Shi, C. Y., Wu, F., Zhang, H. H., Ying, H. Z., & Yu, C. H. 2023. Rgl-exomiR-7972, a novel plant exosomal microRNA derived from fresh *Rehmanniae Radix*, ameliorated lipopolysaccharide-induced

- acute lung injury and gut dysbiosis. *Biomed Pharmacother*, 165, 115007. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Radwan, M. M., Chandra, S., Gul, S., & ElSohly, M. A. 2021. Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis. *Molecules*, 26(9). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Record, M., Subra, C., Silvente-Poirot, S., & Poirot, M. 2011. Exosomes as intercellular signalosomes and pharmacological effectors. *Biochemical pharmacology*, 81(10), 1171-1182. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Regente, M., Corti-Monzón, G., Maldonado, A. M., Pinedo, M., Jorrín, J., & de la Canal, L. 2009. Vesicular fractions of sunflower apoplastic fluids are associated with potential exosome marker proteins. *FEBS letters*, 583(20), 3363-3366. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Repertinger, S. K., Campagnaro, E., Fuhrman, J., El-Abaseri, T., Yuspa, S. H., & Hansen, L. A. 2004. EGFR enhances early healing after cutaneous incisional wounding. *J Invest Dermatol*, 123(5), 982-989. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Reyes-Hernández, O. D., Figueroa-González, G., Quintas-Granados, L. I., Gutiérrez-Ruiz, S. C., Hernández-Parra, H., Romero-Montero, A., Del Prado-Audelo, M. L., Bernal-Chavez, S. A., Cortés, H., Peña-Corona, S. I., Kiyekbayeva, L., Ateşşahin, D. A., Goloshvili, T., Leyva-Gómez, G., & Sharifi-Rad, J. 2023. 3,3'-Diindolylmethane and indole-3-carbinol: potential therapeutic molecules for cancer chemoprevention and treatment via regulating cellular signaling pathways. *Cancer Cell Int*, 23(1), 180. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ridley, A. J. 2015. Rho GTPase signalling in cell migration. *Curr Opin Cell Biol*, 36, 103-112. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Rittié, L., Farr, E. A., Orringer, J. S., Voorhees, J. J., & Fisher, G. J. 2016. Reduced cell cohesiveness of outgrowths from eccrine sweat glands delays wound closure in elderly skin. *Aging Cell*, 15(5), 842-852. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Rocha, E. M., Cunha, D. A., Carneiro, E. M., Boschero, A. C., Saad, M. J., & Velloso, L. c. A. 2002. Identification of insulin in the tear film and insulin receptor and IGF-I receptor on the human ocular surface. *Investigative ophthalmology & visual science*, 43(4), 963-967. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Rock, E. M., Kopstick, R. L., Limebeer, C. L., & Parker, L. A. 2013. Tetrahydrocannabinolic acid reduces nausea-induced conditioned gaping in rats and vomiting in *Suncus murinus*. *British Journal of Pharmacology*, 170(3), 641-648. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., & Gurtner, G. C. 2019. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*, 99(1), 665-706. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Rophael, J. A., Craft, R. O., Palmer, J. A., Hussey, A. J., Thomas, G. P. L., Morrison, W. A., Penington, A. J., & Mitchell, G. M. 2007. Angiogenic Growth Factor

- Synergism in a Murine Tissue Engineering Model of Angiogenesis and Adipogenesis. *The American Journal of Pathology*, 171(6), 2048-2057. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ross, R., Bowen-Pope, D. F., & Raines, E. W. 1990. Platelet-derived growth factor and its role in health and disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 327(1239), 155-169. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ross, S. A., & ElSohly, M. A. 1996. The volatile oil composition of fresh and air-dried buds of *Cannabis sativa*. *J Nat Prod*, 59(1), 49-51. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Ross, S. A., Mehmedic, Z., Murphy, T. P., & Elsohly, M. A. 2000. GC-MS analysis of the total delta9-THC content of both drug- and fiber-type cannabis seeds. *J Anal Toxicol*, 24(8), 715-717. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Russo, E. B. 2011. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1344-1364. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Saalbach, A., Klein, C., Sleeman, J., Sack, U., Kauer, F., Gebhardt, C., Averbeck, M., Anderegg, U., & Simon, J. C. 2007. Dermal fibroblasts induce maturation of dendritic cells. *J Immunol*, 178(8), 4966-4974. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Safe, S., Wormke, M., & Samudio, I. 2000. Mechanisms of inhibitory aryl hydrocarbon receptor-estrogen receptor crosstalk in human breast cancer cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 5(3), 295-306. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Saha, N., Biswas, S., Mondal, S., & Dasgupta, S. 2020. Value Addition in Compost (Saha, N., Biswas, S., Mondal, S., Dey, D. and Dasgupta, S. In: Recent Trends in Composting Technology, B.R. Pati and Mandal, S.M. (eds).). In (pp. pp 91-109).
- Sahakyants, T., & Vacanti, J. P. 2020. Tissue engineering: from the bedside to the bench and back to the bedside. *Pediatric Surgery International*, 36(10), 1123-1133. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sahu, R., Kaushik, S., Clement, C. C., Cannizzo, E. S., Scharf, B., Follenzi, A., Potolicchio, I., Nieves, E., Cuervo, A. M., & Santambrogio, L. 2011. Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Developmental cell*, 20(1), 131-139. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Saini, R. K., Nile, S. H., & Park, S. W. 2015. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Res Int*, 76(Pt 3), 735-750. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Salama, R., Sadaie, M., Hoare, M., & Narita, M. 2014. Cellular senescence and its effector programs. *Genes & development*, 28(2), 99-114. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sardar, H., Shafiq, M., Naz, S., Ali, S., Ahmad, R., & Ejaz, S. 2024. Enhancing drought tolerance in broccoli (*Brassica oleracea* L.) through melatonin application:

- Physiological and biochemical insights into growth, photosynthesis, and antioxidant defense mechanisms. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 59, 103256. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sarfaraz, S., Adhami, V. M., Syed, D. N., Afaq, F., & Mukhtar, H. 2008. Cannabinoids for cancer treatment: progress and promise. *Cancer Res*, 68(2), 339-342. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Savagner, P., Kusewitt, D. F., Carver, E. A., Magnino, F., Choi, C., Gridley, T., & Hudson, L. G. 2005. Developmental transcription factor slug is required for effective re-epithelialization by adult keratinocytes. *Journal of Cellular Physiology*, 202(3), 858-866. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Schaale, K., Neumann, J., Schneider, D., Ehlers, S., & Reiling, N. 2011. Wnt signaling in macrophages: Augmenting and inhibiting mycobacteria-induced inflammatory responses. *European Journal of Cell Biology*, 90(6), 553-559. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Schirmacher, P., Mann, A., Breuhahn, K., & Blessing, M. 2001. Keratinocyte-Derived Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor Accelerates Wound Healing: Stimulation of Keratinocyte Proliferation, Granulation Tissue Formation, and Vascularization. *Journal of Investigative Dermatology*, 117(6), 1382-1390. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Schmelzer, C. E. H., & Duca, L. 2022. Elastic fibers: formation, function, and fate during aging and disease. *The FEBS Journal*, 289(13), 3704-3730. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sedgwick, A. E., & D'Souza-Schorey, C. 2016. Wnt Signaling in Cell Motility and Invasion: Drawing Parallels between Development and Cancer. *Cancers*, 8(9), 80. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sedore, C. A., Segerdell, E., Coleman-Hulbert, A. L., Johnson, E., Levi, J. N., Lithgow, G. J., Driscoll, M., & Phillips, P. C. 2025. The broccoli derivative sulforaphane extends lifespan by slowing the transcriptional aging clock. *bioRxiv*, 2025.2005.2011.653363. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Seeger, M. A., & Paller, A. S. 2015. The Roles of Growth Factors in Keratinocyte Migration. *Advances in Wound Care*, 4(4), 213-224. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sehat, B., Tofigh, A., Lin, Y., Trocmé, E., Liljedahl, U., Lagergren, J., & Larsson, O. 2010. SUMOylation mediates the nuclear translocation and signaling of the IGF-1 receptor. *Science signaling*, 3(108), ra10-ra10. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Senzel, L., Gnatenko, D. V., & Bahou, W. F. 2009. The platelet proteome. *Curr Opin Hematol*, 16(5), 329-333. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sgonc, R., & Gruber, J. 2013. Age-related aspects of cutaneous wound healing: a mini-review. *Gerontology*, 59(2), 159-164. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Shahidi, F., & De Camargo, A. C. 2016. Tocopherols and tocotrienols in common and emerging dietary sources: Occurrence, applications, and health benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10), 1745. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Shakeel, M., Khan, S. N., Saleem, Y., Burgess, P. J., & Shafiq, S. 2019. Colour, water and chlorophyll loss in harvested broccoli (*Brassica oleracea* L. Italica) under ambient conditions in Pakistan. *Scientia Horticulturae*, 246, 858-861. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sharma, Y., Ghatak, S., Sen, C., & Mohanty, S. 2024. Emerging technologies in regenerative medicine: The future of wound care and therapy. *Journal of Molecular Medicine*, 102, 1425-1450. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sharpless, N. E., & Sherr, C. J. 2015. Forging a signature of in vivo senescence. *Nature Reviews Cancer*, 15(7), 397-408. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Shen, H., & Lane, R. A. 2023. Extracellular vesicles from primed adipose-derived stem cells enhance Achilles tendon repair by reducing inflammation and promoting intrinsic healing. *Stem Cells*, 41(6), 617-627. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sher, I., Zisman-Rozen, S., Eliahu, L., Whitelock, J. M., Maas-Szabowski, N., Yamada, Y., Breitkreutz, D., Fusenig, N. E., Arikawa-Hirasawa, E., Iozzo, R. V., Bergman, R., & Ron, D. 2006. Targeting Perlecan in Human Keratinocytes Reveals Novel Roles for Perlecan in Epidermal Formation *. *Journal of Biological Chemistry*, 281(8), 5178-5187. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Shi, L., Li, Y., Lin, M., Liang, Y., & Zhang, Z. 2024. Profiling the Bioactive Compounds in Broccoli Heads with Varying Organ Sizes and Growing Seasons. *Plants (Basel)*, 13(10). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Shih, P.-C., Tzeng, I.-S., Chen, Y.-C., & Chen, M.-L. 2025. Gastrodin Mitigates Ketamine-Induced Inhibition of F-Actin Remodeling and Cell Migration by Regulating the Rho Signaling Pathway. *Biomedicines*, 13(3), 649. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Simiyu, D. C., Jang, J. H., & Lee, O. R. 2022. Understanding Cannabis sativa L.: Current Status of Propagation, Use, Legalization, and Haploid-Inducer-Mediated Genetic Engineering. *Plants*, 11(9), 1236. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Simons, M., & Raposo, G. 2009. Exosomes–vesicular carriers for intercellular communication. *Current opinion in cell biology*, 21(4), 575-581. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Simpson, R. J., Lim, J. W., Moritz, R. L., & Mathivanan, S. 2009. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert review of proteomics*, 6(3), 267-283. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Singer, A. J., & Clark, R. A. F. 1999. Cutaneous Wound Healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 738-746. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Singh, A. A., Yadav, D., Khan, F., & Song, M. 2024. Indole-3-Carbinol and Its Derivatives as Neuroprotective Modulators. *Brain Sci*, 14(7). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Singh, B., & Sharma, R. A. 2015. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. 3 *Biotech*, 5(2), 129-151. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Singh, P., Biswas, A., & Upadhyay, D. 2021. Effect of inorganic fertilizer and organic manures on growth and yield of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cv. Palam Samridhi at Norther Hill of Chhattisgarh. *The Pharma Innovation*, 10, 1000-1003. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Slatkin, D. J., Doorenbos, N. J., Harris, L. S., Masoud, A. N., Quimby, M. W., & Schiff, P. L. 1971. Chemical constituents of cannabis sativa L. Root. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60(12), 1891-1892. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Small, E. 1978. *Syst. Bot.*, 3, 37. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Soker, S., Fidler, H., Neufeld, G., & Klagsbrun, M. 1996. Characterization of novel vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors on tumor cells that bind VEGF165 via its exon 7-encoded domain. *J Biol Chem*, 271(10), 5761-5767. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Song, P., Gao, Z., Bao, Y., Chen, L., Huang, Y., Liu, Y., Dong, Q., & Wei, X. 2024. Wnt/ β -catenin signaling pathway in carcinogenesis and cancer therapy. *Journal of Hematology & Oncology*, 17(1), 46. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Stern, R., & Maibach, H. I. 2008. Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clinics in Dermatology*, 26(2), 106-122. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Stocco, C., Telleria, C., & Gibori, G. 2007. The Molecular Control of Corpus Luteum Formation, Function, and Regression. *Endocrine Reviews*, 28(1), 117-149. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Stoffels, J. M. J., Zhao, C., & Baron, W. 2013. Fibronectin in tissue regeneration: timely disassembly of the scaffold is necessary to complete the build. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(22), 4243-4253. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Stojadinovic, O., Brem, H., Vouthounis, C., Lee, B., Fallon, J., Stallcup, M., Merchant, A., Galiano, R. D., & Tomic-Canic, M. 2005. Molecular Pathogenesis of Chronic Wounds: The Role of β -Catenin and c-myc in the Inhibition of Epithelialization and Wound Healing. *The American Journal of Pathology*, 167(1), 59-69. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Stojadinovic, O., Kodra, A., Golinko, M., Tomic-Canic, M., & Brem, H. 2007. A Novel, Non-Angiogenic, Mechanism of Vegf: Stimulation of Keratinocyte and Fibroblast Migration. *Wound Repair Regen*, 15, A30. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Storer, M., Mas, A., Robert-Moreno, A., Pecoraro, M., Ortells, M. C., Di Giacomo, V., Yosef, R., Pilpel, N., Krizhanovsky, V., & Sharpe, J. 2013. Senescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning. *Cell*, 155(5), 1119-1130. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Stout, J. M., Boubakir, Z., Ambrose, S. J., Purves, R. W., & Page, J. E. 2012. The hexanoyl-CoA precursor for cannabinoid biosynthesis is formed by an acyl-activating enzyme in *Cannabis sativa* trichomes. *Plant J*, 71(3), 353-365. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Subha, D., Harshnii, K., Madhikiruba, K. G., Nandhini, M., & Tamilselvi, K. S. 2023. Plant derived exosome- like Nanovesicles: an updated overview. *Plant Nano Biology*, 3, 100022. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Sussman, C., & Bates-Jensen, B. M. (2012). *Wound care : a collaborative practice manual for health professionals* (4th ed.). Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. (Original Publication)
- Takada, Y., Andreeff, M., & Aggarwal, B. B. 2005. Indole-3-carbinol suppresses NF-kappaB and IkappaBalpha kinase activation, causing inhibition of expression of NF-kappaB-regulated antiapoptotic and metastatic gene products and enhancement of apoptosis in myeloid and leukemia cells. *Blood*, 106(2), 641-649. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Takaya, K., Imbe, Y., Wang, Q., Okabe, K., Sakai, S., Aramaki-Hattori, N., & Kishi, K. 2024. Rac1 inhibition regenerates wounds in mouse fetuses via altered actin dynamics. *Scientific Reports*, 14(1), 27213. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Takeda, S., Okajima, S., Miyoshi, H., Yoshida, K., Okamoto, Y., Okada, T., Amamoto, T., Watanabe, K., Omiecinski, C. J., & Aramaki, H. 2012. Cannabidiolic acid, a major cannabinoid in fiber-type cannabis, is an inhibitor of MDA-MB-231 breast cancer cell migration. *Toxicology Letters*, 214(3), 314-319. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Taniguchi, M., & Ochiai, A. 2017. Characterization and production of multifunctional cationic peptides derived from rice proteins. In: Oxford University Press.
- Teng, Y., Ren, Y., Sayed, M., Hu, X., Lei, C., Kumar, A., Hutchins, E., Mu, J., Deng, Z., Luo, C., Sundaram, K., Sriwastva, M. K., Zhang, L., Hsieh, M., Reiman, R., Haribabu, B., Yan, J., Jala, V. R., Miller, D. M., . . . Zhang, H. G. 2018. Plant-Derived Exosomal MicroRNAs Shape the Gut Microbiota. *Cell Host Microbe*, 24(5), 637-652.e638. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Teng, Y., Xu, F., Zhang, X., Mu, J., Sayed, M., Hu, X., Lei, C., Sriwastva, M., Kumar, A., Sundaram, K., Zhang, L., Park, J. W., Chen, S. Y., Zhang, S., Yan, J., Merchant, M. L., Zhang, X., McClain, C. J., Wolfe, J. K., . . . Zhang, H. G. 2021. Plant-derived exosomal microRNAs inhibit lung inflammation induced by exosomes SARS-CoV-2 Nsp12. *Mol Ther*, 29(8), 2424-2440. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Tennent, G. A., Brennan, S. O., Stangou, A. J., O'Grady, J., Hawkins, P. N., & Pepys, M. B. 2007. Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver. *Blood*, 109(5), 1971-1974. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., Antoniou, A., Arab, T., Archer, F., & Atkin-Smith, G. K. 2018. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *Journal of extracellular vesicles*, 7(1), 1535750. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Thery, T., Lynch, K. M., Zannini, E., & Arendt, E. K. 2020. Isolation, characterisation and application of a new antifungal protein from broccoli seeds—New food preservative with great potential. *Food Control*, 117, 107356. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Thomas, A., Stevenson, L. A., Wease, K. N., Price, M. R., Baillie, G., Ross, R. A., & Pertwee, R. G. 2005. Evidence that the plant cannabinoid Delta9-tetrahydrocannabivarin is a cannabinoid CB1 and CB2 receptor antagonist. *Br J Pharmacol*, 146(7), 917-926. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Tian, T., Wang, Y., Wang, H., Zhu, Z., & Xiao, Z. 2010. Visualizing of the cellular uptake and intracellular trafficking of exosomes by live-cell microscopy. *J Cell Biochem*, 111(2), 488-496. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Titone, R., Zhu, M., & Robertson, D. M. 2018. Insulin mediates de novo nuclear accumulation of the IGF-1/insulin Hybrid Receptor in corneal epithelial cells. *Scientific Reports*, 8(1), 1-13. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Tkach, M., & Théry, C. 2016. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell*, 164(6), 1226-1232. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Tomasek, J. J., Gabbiani, G., Hinz, B., Chaponnier, C., & Brown, R. A. 2002. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 3(5), 349-363. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Toraldo, G., Bhasin, S., Bakhit, M., Guo, W., Serra, C., Safer, J. D., Bhawan, J., & Jasuja, R. 2012. Topical androgen antagonism promotes cutaneous wound healing without systemic androgen deprivation by blocking β -catenin nuclear translocation and cross-talk with TGF- β signaling in keratinocytes. *Wound Repair and Regeneration*, 20(1), 61-73. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. H. (2018). *Principles of Anatomy and Physiology*. Wiley. (Original Publication)
- Tu, S., Huang, W., Huang, C., Luo, Z., & Yan, X. 2019. Contextual Regulation of TGF- β Signaling in Liver Cancer. *Cells*, 8(10), 1235. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Turner, N., & Grose, R. 2010. Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nature Reviews Cancer*, 10(2), 116-129. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Uemura, M., Hata, G.-i., Toda, T., & Weine, F. S. 1997. Effectiveness of eucalyptol and *d*-limonene as gutta-percha solvents. *Journal of Endodontics*, 23(12), 739-741. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Umez, T., Takanashi, M., Murakami, Y., Ohno, S.-i., Kanekura, K., Sudo, K., Nagamine, K., Takeuchi, S., Ochiya, T., & Kuroda, M. 2021. Acerola exosome-like nanovesicles to systemically deliver nucleic acid medicine via oral administration. *Molecular Therapy Methods & Clinical Development*, 21, 199-208. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Unemori, E. N., Ferrara, N., Bauer, E. A., & Amento, E. P. 1992. Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenase expression in human endothelial cells. *Journal of Cellular Physiology*, 153(3), 557-562. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Usui, M. L., Mansbridge, J. N., Carter, W. G., Fujita, M., & Olerud, J. E. 2008. Keratinocyte Migration, Proliferation, and Differentiation in Chronic Ulcers From Patients With Diabetes and Normal Wounds. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 56(7), 687-696. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötvall, J. O. 2007. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature cell biology*, 9(6), 654-659. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., & Ferreres, F. 2004. Characterisation of flavonols in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) by liquid chromatography-uV diode-array detection-electrospray ionisation mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1054(1-2), 181-193. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Van den Broeke, C., & Favoreel, H. W. 2011. Actin' up: herpesvirus interactions with Rho GTPase signaling. *Viruses*, 3(4), 278-292. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Van Deursen, J. M. 2014. The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509(7501), 439-446. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Van Niel, G., d'Angelo, G., & Raposo, G. 2018. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature reviews Molecular cell biology*, 19(4), 213-228. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- van Vliet, S. A. M., Vanwersch, R. A. P., Jongasma, M. J., Olivier, B., & Philippens, I. H. C. H. M. 2008. Therapeutic effects of Δ^9 -THC and modafinil in a marmoset Parkinson model. *European Neuropsychopharmacology*, 18(5), 383-389. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Vanhoenacker, G., Van Rompaey, P., De Keukeleire, D., & Sandra, P. 2002. Chemotaxonomic features associated with flavonoids of cannabinoid-free

- cannabis (*Cannabis sativa* subsp. *sativa* L.) in relation to hops (*Humulus lupulus* L.). *Nat Prod Lett*, 16(1), 57-63. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Vasanthi, H. R., Mukherjee, S., & Das, D. K. 2009. Potential health benefits of broccoli—a chemico-biological overview. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 9(6), 749-759. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Vidal, M., Sainte-Marie, J., Philippot, J. R., & Bienvenue, A. 1989. Asymmetric distribution of phospholipids in the membrane of vesicles released during in vitro maturation of guinea pig reticulocytes: Evidence precluding a role for “aminophospholipid translocase”. *Journal of Cellular Physiology*, 140(3), 455-462. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Vig, A. P., Rampal, G., Thind, T. S., & Arora, S. 2009. Bio-protective effects of glucosinolates – A review. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1561-1572. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Vincent, A. M., & Feldman, E. L. 2002. Control of cell survival by IGF signaling pathways. *Growth Horm IGF Res*, 12(4), 193-197. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Visse, R., & Nagase, H. 2003. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*, 92(8), 827-839. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Volzing, K., Borrero, J., Sadowsky, M. J., & Kaznessis, Y. N. 2013. Antimicrobial Peptides Targeting Gram-negative Pathogens, Produced and Delivered by Lactic Acid Bacteria. *ACS Synthetic Biology*, 2(11), 643-650. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Waghmare, S., Lileikyte, E., Karnik, R., Goodman, J. K., Blatt, M. R., & Jones, A. M. E. 2018. SNAREs SYP121 and SYP122 Mediate the Secretion of Distinct Cargo Subsets. *Plant physiology*, 178(4), 1679-1688. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wahl, S. M., Hunt, D. A., Wakefield, L. M., McCartney-Francis, N., Wahl, L. M., Roberts, A. B., & Sporn, M. B. 1987. Transforming growth factor type beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(16), 5788-5792. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wake, R. M., Allebone-Salt, P. E., John, L. L. H., Caswall, B. A., Govender, N. P., Ben-Ami, R., Murray, L. W., Logan, C., Harrison, T. S., & Bicanic, T. A. 2024. Optimizing the Treatment of Invasive Candidiasis—A Case for Combination Therapy. *Open Forum Infectious Diseases*, 11(6), ofae072. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Waldenström, A., Genneback, N., Hellman, U., & Ronquist, G. 2012. Cardiomyocyte microvesicles contain DNA/RNA and convey biological messages to target cells. *PloS one*, 7(4), e34653. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wang, H., Wang, X., Liu, X., Zhou, J., Yang, Q., Chai, B., Chai, Y., Ma, Z., & Lu, S. 2022. miR-199a-5p Plays a Pivotal Role on Wound Healing via Suppressing

- VEGFA and ROCK1 in Diabetic Ulcer Foot. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022(1), 4791059. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wang, J., Ding, Y., Wang, J., Hillmer, S., Miao, Y., Lo, S. W., Wang, X., Robinson, D. G., & Jiang, L. 2010. EXPO, an exocyst-positive organelle distinct from multivesicular endosomes and autophagosomes, mediates cytosol to cell wall exocytosis in Arabidopsis and tobacco cells. *The Plant Cell*, 22(12), 4009-4030. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wang, L., Chen, J., Song, J., Xiang, Y., Yang, M., Xia, L., Yang, J., Hou, X., Chen, L., & Wang, L. 2024. Activation of the Wnt/ β -catenin signalling pathway enhances exosome production by hucMSCs and improves their capability to promote diabetic wound healing. *Journal of Nanobiotechnology*, 22(1), 373. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wang, Y., Wu, Z., Tian, J., Mi, Y., Ren, X., Kang, J., Zhang, W., Zhou, X., Wang, G., & Li, R. 2019. Intermedin protects HUVECs from ischemia reperfusion injury via Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Renal Failure*, 41(1), 159-166. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Waraky, A., Lin, Y., Warsito, D., Haglund, F., Aleem, E., & Larsson, O. 2017. Nuclear insulin-like growth factor 1 receptor phosphorylates proliferating cell nuclear antigen and rescues stalled replication forks after DNA damage. *Journal of Biological Chemistry*, 292(44), 18227-18239. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Weber, C. E., Li, N. Y., Wai, P. Y., & Kuo, P. C. 2012. Epithelial-Mesenchymal Transition, TGF- β , and Osteopontin in Wound Healing and Tissue Remodeling After Injury. *Journal of Burn Care & Research*, 33(3), 311-318. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Weigelt, M. A., Sivamani, R., & Lev-Tov, H. 2021. The therapeutic potential of cannabinoids for integumentary wound management. *Experimental Dermatology*, 30(2), 201-211. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Werner, S., & Grose, R. 2003. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*, 83(3), 835-870. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Werz, O., Seegers, J., Schaible, A. M., Weinigel, C., Barz, D., Koeberle, A., Allegrone, G., Pollastro, F., Zampieri, L., Grassi, G., & Appendino, G. 2014. Cannflavins from hemp sprouts, a novel cannabinoid-free hemp food product, target microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase. *PharmaNutrition*, 2(3), 53-60. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wight, T. N., Heinegård, D. K., & Hascall, V. C. 1991. Proteoglycans. In E. D. Hay (Ed.), *Cell Biology of Extracellular Matrix: Second Edition* (pp. 45-78). Springer US.
- Williamson, E. M. 2004. The Medicinal Uses of Cannabis and Cannabinoids. Edited by G. W. Guy, B. A. Whittle and P. J. Robson. Pharmaceutical Press: London, 2004. Pages: 448. ISBN: 0-85369-517-2. Price £39.95. *Human Psychopharmacology*:

- Clinical and Experimental*, 19(8), 589-589. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Willms, E., Cabañas, C., Mäger, I., Wood, M. J., & Vader, P. 2018. Extracellular vesicle heterogeneity: subpopulations, isolation techniques, and diverse functions in cancer progression. *Frontiers in immunology*, 9, 738. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wolfe, K. L., & Liu, R. H. 2008. Structure– activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8404-8411. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Woodley, D. T. 2017. Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis: Implications for Wound Healing. *Dermatol Clin*, 35(1), 95-100. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wu, B., Crampton, S. P., & Hughes, C. C. W. 2007. Wnt Signaling Induces Matrix Metalloproteinase Expression and Regulates T Cell Transmigration. *Immunity*, 26(2), 227-239. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Wu, W., Zhang, B., Wang, W., Bu, Q., Li, Y., Zhang, P., & Zeng, L. 2024. Plant-Derived Exosome-Like Nanovesicles in Chronic Wound Healing. *Int J Nanomedicine*, 19, 11293-11303. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Xiao, J., Feng, S., Wang, X., Long, K., Luo, Y., Wang, Y., Ma, J., Tang, Q., Jin, L., Li, X., & Li, M. 2018. Identification of exosome-like nanoparticle-derived microRNAs from 11 edible fruits and vegetables. *PeerJ*, 6, e5186. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Xie, C., Schaefer, L., & Iozzo, R. V. 2023. Global impact of proteoglycan science on human diseases. *iScience*, 26(11). (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Xu, J., Bai, M., Song, H., Yang, L., Zhu, D., & Liu, H. 2022. Hemp (*Cannabis sativa* subsp. *sativa*) Chemical Composition and the Application of Hempseeds in Food Formulations. *Plant Foods Hum Nutr*, 77(4), 504-513. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Xu, S., Jiang, C., Yu, T., & Chen, K. 2024. A multi-purpose dressing based on resveratrol-loaded ionic liquids/gelatin methacryloyl hydrogel for enhancing diabetic wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 283, 136773. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Xue, C., Li, G., Lu, J., & Li, L. 2021. Crosstalk between circRNAs and the PI3K/AKT signaling pathway in cancer progression. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 400. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Xue, L., Pestka, J. J., Li, M., Firestone, G. L., & Bjeldanes, L. F. 2008. 3,3'-Diindolylmethane stimulates murine immune function in vitro and in vivo. *J Nutr Biochem*, 19(5), 336-344. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)

- Xue, W., Yang, L., Chen, C., Ashrafizadeh, M., Tian, Y., & Sun, R. 2024. Wnt/ β -catenin-driven EMT regulation in human cancers. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 81(1), 79. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Yamagishi, S., Yonekura, H., Yamamoto, Y., Fujimori, H., Sakurai, S., Tanaka, N., & Yamamoto, H. 1999. Vascular endothelial growth factor acts as a pericyte mitogen under hypoxic conditions. *Lab Invest*, 79(4), 501-509. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Yamaguchi, M., Murata, T., El-Rayes, B. F., & Shoji, M. 2015. The flavonoid p-hydroxycinnamic acid exhibits anticancer effects in human pancreatic cancer MIA PaCa-2 cells in vitro: Comparison with gemcitabine. *Oncol Rep*, 34(6), 3304-3310. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Yipp, B. G., & Kubes, P. 2013. NETosis: how vital is it? *Blood*, 122(16), 2784-2794. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Yu, J., Nam, D., & Park, K. S. 2020. Substance P enhances cellular migration and inhibits senescence in human dermal fibroblasts under hyperglycemic conditions. *Biochem Biophys Res Commun*, 522(4), 917-923. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Yun, J. 2014. Limonene inhibits methamphetamine-induced locomotor activity via regulation of 5-HT neuronal function and dopamine release. *Phytomedicine*, 21(6), 883-887. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Zeringer, E., Barta, T., Li, M., & Vlassov, A. V. 2015. Strategies for isolation of exosomes. *Cold Spring Harb Protoc*, 2015(4), 319-323. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Zhang, H., & Lyden, D. 2019. Asymmetric-flow field-flow fractionation technology for exomere and small extracellular vesicle separation and characterization. *Nature protocols*, 14(4), 1027-1053. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Zhang, L., Valencia, C. A., Dong, B., Chen, M., Guan, P.-J., & Pan, L. 2015. Transfer of microRNAs by extracellular membrane microvesicles: a nascent crosstalk model in tumor pathogenesis, especially tumor cell-microenvironment interactions. *Journal of Hematology & Oncology*, 8(1), 14. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Zhao, F., Zheng, T., Gong, W., Wu, J., Xie, H., Li, W., Zhang, R., Liu, P., Liu, J., & Wu, X. 2021. Extracellular vesicles package dsDNA to aggravate Crohn's disease by activating the STING pathway. *Cell Death & Disease*, 12(9), 815. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)
- Zhu, W. J., Liu, Y., Cao, Y. N., Peng, L. X., Yan, Z. Y., & Zhao, G. 2021. Insights into Health-Promoting Effects of Plant MicroRNAs: A Review. *J Agric Food Chem*, 69(48), 14372-14386. (Reprint Edition) (Original Publication) (Errata)