

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**AT KUYRUĞU VE LAVANTA KAYNAKLI EKSOZOM BENZERİ
NANOPARTİKÜLLERİN HACAT HÜCRE HATTINDA YARA İYİLEŞMESİ
VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ÜZERİNDEKİ ROLÜ**

Selin AŞIK

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİLM DALI**

**ANKARA
2025**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AT KUYRUĞU VE LAVANTA KAYNAKLI EKSOZOM BENZERİ NANOPARTİKÜLLERİN HACAT HÜCRE HATTINDA YARA İYİLEŞMESİ VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE ÜZERİNDEKİ ROLÜ

Selin AŞIK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. İlker BÜYÜK

Bu çalışma, Atkuyruğu (*Equisetum arvense*) ve Lavanta (*Lavandula angustifolia*) bitkilerinden izole edilen eksozom benzeri nanoveziküllerin (pEV'ler) yara iyileşmesi ve antimikrobiyal etkilerini in vitro koşullarda incelemeyi amaçlamaktadır. Bitki türevli eksozom benzeri nanoveziküller, biyoyumlu yapıları ve doğal bileşen taşıma kapasiteleri sayesinde modern yara tedavilerinde yenilikçi bir alternatif oluşturmaktadır. Bu kapsamda, pEV'ler kademeli santrifüj ve ultrasantrifüj yöntemleriyle izole edilmiş, morfolojik karakterizasyonları Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve Dinamik Işık Saçılımı (DLS) analizleriyle doğrulanmıştır. GC-MS analizi, eksozomlarda biyolojik olarak aktif metabolitlerin varlığını ortaya koymuştur. İmmortalize edilmiş insan keratinosit hücre hattı (HACAT) ve insan dermal fibroblast hücre hattı (HDF) üzerinde yapılan MTT (hücre canlılığı testi) ve çizik (scratch) testleri, pEV'lerin hücre canlılığını koruduğunu ve yara kapanma sürecini hızlandırdığını göstermiştir. Ayrıca β -galaktosidaz boyaması, oksidatif stres ve gen ekspresyon analizleri, pEV'lerin yaşlanma karşıtı ve antioksidan etkilerini desteklemiştir. Mikrodilüsyon yöntemiyle yürütülen testlerde her iki bitkiden elde edilen pEV'lerin, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* suşlarına karşı belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bulgular, bitki türevli eksozom benzeri nanoveziküllerin yara iyileşmesi ve enfeksiyon kontrolünde güvenli, etkili ve sürdürülebilir bir biyoterapötik ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Kasım 2025, 128 sayfa

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

ABSTRACT

Master Thesis

THE ROLE OF EXOSOME-LIKE NANOPARTICLES DERIVED FROM HORSETAIL AND LAVENDER ON WOUND HEALING AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN HACAT CELL LINES

Selin AŞIK

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 in vitro wound healing and antimicrobial effects of exosome-like nanovesicles (pEVs) isolated from Horsetail (*Equisetum arvense*) and Lavender (*Lavandula Angustifolia*). Plant-derived exosome-like nanovesicles represent an innovative alternative in modern wound treatment due to their biocompatible structures and natural biomolecule delivery capacity. Within this scope, pEVs were isolated using differential centrifugation and ultracentrifugation methods, and their morphological characterization was confirmed by Transmission Electron Microscopy (TEM) and Dynamic Light Scattering (DLS) analyses. GC–MS analysis revealed the presence of biologically active metabolites within the vesicles. Experiments performed on immortalized human keratinocyte (HACAT) and human dermal fibroblast (HDF) cell lines, including MTT viability and scratch wound assays, demonstrated that pEVs maintained cell viability and promoted wound closure. Furthermore, β -galactosidase staining, oxidative stress, and gene expression analyses supported the anti-aging and antioxidant properties of pEVs. Antimicrobial evaluations conducted by the microdilution method revealed that pEVs derived from both plants exhibited significant inhibitory effects against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans* strains. Collectively, these findings suggest that plant-derived exosome-like nanovesicles can serve as safe, effective, and sustainable biotherapeutic agents for wound healing and infection control.

November 2025, 128 pages

Key Words: Antimicrobial effect, Cellular senescence, Horsetail, Lavender, Plant-derived exosome-like nanovesicles (pEVs), Wound healing

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yürütülmesi ve tamamlanması sürecinde bilgi, deneyim ve desteğini her zaman yanımda hissettiren değerli danışmanım Prof. Dr. İlker BÜYÜK'e, yönlendirmeleri, sabrı ve akademik rehberliği için en içten teşekkürlerimi sunarım. Araştırmamın farklı aşamalarında katkılarını esirgemeyen ve bilimsel bakış açılarıyla çalışmamın gelişimine önemli katkılarda bulunan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Sümer ARAS'a saygılarımı sunarım. Çalışmalarımıza bilgisi ve tecrübesi ile ışık tutan değerli hocam Doç. Dr. Başar KARACA'ya teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, laboratuvar çalışmalarım süresince sağladığı teknik destek ve katkılarından dolayı değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Hakan ESKİZENGİN'e teşekkür ederim. Tez sürecimde hem bilgisi hem de teknik desteği ile katkıda bulunan değerli hocam Doç. Dr. Burak DERKUŞ ve ekibine de ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından FYL-2025-3881 proje kodu ile desteklenmiştir. Sağlanan bu değerli destek için de ilgili birime teşekkürlerimi sunarım.

Bu uzun ve yoğun süreç boyunca her koşulda yanımda olan, sabırları, sevgileri ve manevi destekleriyle bana güç veren sevgili aileme en derin teşekkürlerimi sunarım. Her zaman inancını, desteğini ve sevgisini hissettiren anneme ve babamın güveni ile sağladığı motivasyona minnettarım. Beni her zaman anlayışla karşılayan, zor anlarımda cesaret veren ve başarının paylaşıldığında anlam kazandığını öğreten aileme, bugün ulaştığım noktanın en büyük paydaşları oldukları için gönülden teşekkür ederim.

Selin AŞIK
Ankara, Kasım 2025

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve/veya KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Eksozomlar ve Eksozom Benzeri Yapılar.....	3
2.1.1 Eksozomların yapısı ve biyolojik fonksiyonları	4
2.1.2 Eksozomların biyogenezi ve hedef hücreler tarafından alınması.....	8
2.1.3 Eksozomların tıbbi ve terapötik uygulamalardaki kullanımları.....	11
2.1.4 Bitki kaynaklı ekstrasellüler veziküller	15
2.1.5 Bitki tabanlı nanoveziküllerin tıbbi ve terapötik uygulamalardaki kullanımları.....	18
2.2 Atkuyruğu (<i>Equisetum arvense</i>).....	23
2.2.1 Botanik özellikleri	23
2.2.2 Kimyasal içerik.....	25
2.2.3 Biyolojik aktiviteler ve geleneksel kullanım alanları.....	25
2.3 Lavanta (<i>Lavandula angustifolia</i>)	26
2.3.1 Botanik özellikler	27
2.3.2 Kimyasal içerik.....	29
2.3.3 Biyolojik aktiviteler ve geleneksel kullanım alanları.....	30
2.4 Yara İyileşmesi	32
2.4.1 Yara iyileşmesi sürecinde deri yapısının, keratinositlerin ve fibroblastların fonksiyonel önemi	33
2.4.2 Yara iyileşme süreci ve aşamaları	36
2.4.3 Eksozomların ve bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin yara iyileştirmedeki potansiyelleri	39
2.5 Hücrel Senesens	43
2.5.1 Hücrel senesensin genel tanımı ve biyobelirteçleri	44

2.5.2 Hücresel senesensin moleküler mekanizmaları.....	46
2.5.3 Hücresel senesensin fizyolojik ve patolojik etkileri.....	48
2.5.4 Klinik ve terapötik uygulamalardaki önemi	51
2.6 Antimikrobiyal Etki.....	53
2.6.1 Atkuyruğu ekstraktının antimikrobiyal etkileri	54
2.6.2 Lavanta ekstraktının antimikrobiyal etkileri.....	54
2.6.3 Antifungal etki.....	55
2.6.4 Bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerdeki rolü	56
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	57
3.1 Materyal	57
3.1.1 Bitkisel materyaller	57
3.1.2 Kimyasal maddeler ve çözeltiler	57
3.1.3 Biyolojik materyaller	58
3.1.4 Cihaz ve laboratuvar ekipmanları.....	59
3.1.5 Moleküler biyoloji reaktifleri (qPCR)	60
3.2 Yöntem	61
3.2.1 Bitki materyali temini	61
3.2.2 Eksozom izolasyonu	61
3.2.3 Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre kullanılarak protein miktarı belirlenmesi	63
3.2.4 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile eksozom morfoloji ve boyutunun incelenmesi	63
3.2.5 Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile boyut dağılımının belirlenmesi.....	63
3.2.6 GC-MS analizi ve veri işleme	64
3.2.7 Hücre kültürü koşulları.....	64
3.2.8 Hücrelerin pasajlanması.....	65
3.2.9 Hücre sayım işlemi	65
3.2.10 Hücrelere eksozom uygulaması için efektif dozun belirlenmesi (ec50) ve hücrelere eksozomların uygulanması	65
3.2.11 Atkuyruğu ve lavanta kaynaklı pev'lerin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin in vitro olarak incelenmesi.....	66
3.2.12 Hücresel senesensin SA-β-Gal (β-Galaktosidaz) aktivitesi ile değerlendirilmesi	67
3.2.13 Total Oksidan Statüsü (TOS) / Total Antioksidan Statüsü (TAS) ölçümleri ile redoks dengesinin değerlendirilmesi	67

3.2.14 Gen ekspresyon analizleri (rna izolasyonu ve cdna sentezi)	68
3.2.15 Primer tasarımı	68
3.2.16 qPCR analizi	69
3.2.17 Antibakteriyel ve antifungal aktivitenin belirlenmesinde mikrodilüsyon yöntemi	69
3.2.18 Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz	70
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	72
4.1 pEV'lerin Morfolojik Analizi ve Karakterizasyonu	72
4.2 pEV'lerin Sahip Olduğu Biyoaktif Bileşenlerin Metabolom Analizi	75
4.3 Hücre Kültürü Çalışmaları	80
4.3.1 Hücrelere eksozom uygulaması için efektif dozun belirlenmesi (EC50).....	80
4.3.2 pEV uygulamasının hücre göçü ve yara iyileşmesi üzerine etkisi	82
4.3.3 β -galaktosidaz aktivitesi ile hücre senesensin tayini.....	85
4.3.4 pEV'lerin antioksidan kapasiteleri ve oksidatif stresin modülasyonu.....	89
4.3.5 Gen ekspresyon analizleri	92
4.3.6 Antimikrobiyal ve antifungal aktivite	95
5. SONUÇ	98
KAYNAKLAR	101
ÖZGEÇMİŞ	128

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	Gen ekspresyon analizi için normalize hesaplama yöntemi

Kısaltmalar

96-well Plate	Hücre kültürü ve MTT testi için mikrolaka
ABTS	Kolorimetrik antioksidan ölçüm reaktifi
AEV	Aloe vera kaynaklı ekstrasellüler vezikül
AdMSC	Yağ dokusundan türetilmiş mezenkimal kök hücre
Akt/mTOR	HücreSEL büyüme ve metabolizma yolu
ANOVA	Varyans analizi
ARF	p53 yolunu düzenleyen CDKN2A izoformu
ASEV	Aloe saponaria kaynaklı ekstrasellüler vezikül
ATCC	Referans mikroorganizma koleksiyonu
AXIN-2	Wnt/β-katenin negatif düzenleyicisi
BBB	Kan-beyin bariyeri
BMSC	Kemik iliği kök hücresi
BRAF	MAPK/ERK yolunda kinaz; onkogen
β-Actin	Referans gen (hücreSEL iç kontrol)
β-laktamaz	Beta-laktam antibiyotikleri parçalayan bakteri enzimi
C. albicans	Fırsatçı patojen maya
CCL20	Bağışıklık hücre göçünü düzenleyen kemokin
CD	Hücre yüzey belirteçleri (örn. CD9, CD63, CD81)
CDKN2A	p16INK4a/ARF'ı kodlayan tümör baskılayıcı gen
CFU	Koloni oluşturan birim
CHMP4	ESCRT-III alt birimi
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
Col1A1 / Col1A2	Tip I kolajen genleri
COX-2	İnflamasyon/anjiyogenezele ilişkili enzim

CRISPR/Cas9	Gen düzenleme teknolojisi
CSC	Kanser kök hücresi
CYC	Lavantadan izole monoterpen türevidir; anti-aging etkiler
DDR	DNA hasarına hücresel yanıt
DGDG	Bitki membranı glikolipidi
DLS	Dinamik Işık Saçılımı (parçacık boyutu analizi)
DMEM / RPMI	Hücre kültürü besiyerleri
DNA	Deoksiribonükleik asit
Dunnett Testi	Çoklu karşılaştırma testi
E. coli	Gram-negatif model bakteri
ECM	Hücre dışı matriks
EGF	Epidermal büyüme faktörü
EMT	Epitel-mezenkimal geçiş
EPC	Endotelial progenitör hücre
ERK1/2	Hücre büyüme/diferansiyasyon kinazları
ESCRT	Endozomal ayırma kompleksi
EV	Hücre dışı vezikül (Eksozom)
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi
GEV	Greyfurt kaynaklı eksozom
GDEN	Zencefil kaynaklı eksozom-benzeri nanovezikül
GPx	Glutasyon peroksidaz enzimi
GraphPad Prism	İstatistiksel analiz ve grafik yazılımı
GSH	Antioksidan tripeptit (Glutasyon)
GTPase	GTP hidroliz enzimi
HACAT	İnsan keratinosit hücre hattı
HDF	İnsan dermal fibroblast hücre hattı
HSP	Isı şoku proteinleri (örn. HSP70/HSP90)
Hsp-90α	Hücre motilitesi ve re-epitelizasyon proteini
IDT	Gen sentezleme firması
IL-1β	Proinflamatuvar sitokin
IL-4	Anti-inflamatuvar sitokin
IL-6	İnflamasyon ve doku onarımı sitokini
IL-8	Nötrofil kemotaksisi
IMVB	Lizozomal yıkım yoluna giden MVB
İnkübatör	%5 CO ₂ ve 37°C'de hücre kültürü ortamı
iNOS	Uyarılabilir NO sentaz
KEAP1	Nrf2'nin negatif düzenleyicisi
Ki-67	Proliferasyon belirteci
LELNs	Lavanta kaynaklı eksozom-benzeri nanoveziküller
LOX	Kolajen çapraz bağlama enzimi
LOXL2	LOX ailesi üyesi enzim
LPS	Gram-negatif dış zar endotoksini

McFarland	Mikrobiyal bulanıklık standardı
MHA	Mueller-Hinton Agar
MHB	Mueller-Hinton Broth
MMP	Matriks metalloproteinaz
MTT	Hücre canlılığı testi (Formazan temelli)
mRNA	Haberci RNA
MSC	Mezenkimal kök hücre
MVB	Multiveziküler cisimcik
NanoDrop	RNA/DNA saflık ölçüm cihazı
Nrf2	Antioksidan yanıt düzenleyici faktör
PBS	Fosfat tamponlu salin
pEV	Bitki kaynaklı eksozom benzeri vezikül
PI3K/Akt/mTOR	Büyüme-sağkalım sinyal yolu
Qubit	Protein tayini için floresan ölçüm cihazı
qPCR	Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
RB	Hücre döngüsü düzenleyici protein
ROS	Reaktif oksijen türleri
SA- β -gal	Hücre yaşlanma belirteci (β -galaktosidaz)
SASP	Senesensle ilişkili sekretuar fenotip
SD	Standart sapma
SIRT1	Hücre yaşlanma ve enerji dengesi düzenleyici enzim
SYBR Green	DNA'ya bağlanan floresan boya
TAS	Toplam antioksidan seviyesi
TC20	Hücre sayım cihazı (Bio-Rad)
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskobu
TGF- β	Transforme edici büyüme faktörü beta
TOS	Toplam oksidan seviyesi
Tripan Mavisi	Hücre canlılık boyası
TSG101	Eksozomal yapısal protein
UV	Ultraviyole ışınım
UVB	Ultraviyole-B ışını
VEGF	Damar endoteli büyüme faktörü
Wnt/ β -catenin	Hücre proliferasyon ve farklılaşma yolu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Hücresel kaynaklı ekstrasellüler veziküllerin sınıflandırılması.....	3
Şekil 2.2 Eksozomların yapısal ve moleküler bileşenleri	6
Şekil 2.3 Eksozom biyogenezinin temel aşamaları.....	10
Şekil 2.4 Atkuyruğu bitkisinin yaprak görünümü.....	24
Şekil 2.5 Atkuyruğu bitkisinin dünya genelinde yayılımı	24
Şekil 2.6 Atkuyruğu bitkisinin sahip olduğu içerikler ve bilinen biyolojik fonksiyonları	25
Şekil 2.7 Tıbbi lavanta bitkisinin çiçeklenme dönemindeki görünümü.....	28
Şekil 2.8 Lavanta bitkisinin dünya genelinde yayılımı.....	29
Şekil 2.9 Lavanta bitkisinin sahip olduğu içerikler ve bilinen biyolojik fonksiyonları ..	30
Şekil 2.10 İnsan derisinin yapısal detayları.....	35
Şekil 2.11 Yara iyileşmesi aşamaları	38
Şekil 3.1 İzolasyon süreci	62
Şekil 3.2 %10 FBS içeren hücrelerin besiyeri ile kültüre edilmesi ve %5 karbondioksit içeren inkübatörde 37°C’de büyütülmesi.....	65
Şekil 3.3 Hücrelere eksozom uygulanması için efektif doz belirlenmesi amacıyla hücrelerin ekilmesi ve hücrelere PEV uygulaması	66
Şekil 4.1 E. arvense ve L.angustifolia kaynaklı PEV’lerin TEM ve DLS analizleri	73
Şekil 4.2 E. arvense ve L.angustifolia kaynaklı PEV’lerin metabolik profilleri.....	76
Şekil 4.3 Farklı konsantrasyonlarda pEV ile zenginleştirilmiş kültür ortamının 24 saat ve 72 saatlik inkübasyon sonrasında hücre canlılığı üzerindeki etkileri	81
Şekil 4.4 Farklı konsantrasyonlarda pEV ile zenginleştirilmiş kültür ortamının yara iyileşmesi üzerindeki etkileri	83
Şekil 4.5 β -galaktozidaz (SA- β -gal) boyaması ile belirlenen hücresel yaşlanma üzerine pEV uygulamasının etkileri.....	88
Şekil 4.6 HDF ve HACAT hücrelerinde yaşlanma belirteci olan β -galaktozidaz (β -Gal) aktivitesi üzerine pEV uygulamasının etkisi.....	88
Şekil 4.7 HDF ve HACAT hücrelerinde toplam oksidan seviyesi (TOS) üzerine pEV uygulamasının etkileri	91
Şekil 4.8 HDF ve HACAT hücrelerinde toplam antioksidan seviyesi (TAS) üzerine pEV uygulamasının etkileri	92
Şekil 4.9 HDF ve HACAT hücrelerinde oksidatif stres indeksi (OSI) üzerine pEV uygulamasının etkileri.....	92
Şekil 4.10 HACAT keratinositlerinde ve HDF fibroblastlarında H-EV ve L-EV uygulamalarının qPCR sonuçları	93
Şekil 4.11 E.arvense kaynaklı PEV’lerin antimikrobiyal analizleri	96
Şekil 4.12 L.angustifolia kaynaklı PEV’lerin antimikrobiyal analizleri.....	96

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Eksozomların terapötik ajanlar olarak potansiyeli.....	14
Çizelge 2.2 PEV'lerin terapötik etkileri.....	21
Çizelge 2.3 Memeli kaynaklı eksozomların ve bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin karşılaştırılması	22
Çizelge 3.1 Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler.....	57
Çizelge 3.2 İleri ve ters primerlerin dizilimi.....	69
Çizelge 4.1 E. arvense ve L.angustifolia kaynaklı PEV'lerin içerikleri ve öne çıkan biyolojik etkileri	78

1. GİRİŞ

Son yıllarda nanoteknoloji ve biyoteknoloji alanlarında yaşanan hızlı gelişmeler, hücreler arası iletişim mekanizmalarının anlaşılması ve bu süreçlerin tedavi edici amaçlarla modüle edilmesine yönelik çalışmalara ivme kazandırmıştır. Bu bağlamda, hücrelerin mikroveziküller ve eksozomlar gibi ekstrasellüler veziküller (EVs) aracılığıyla genetik materyal, protein ve lipitleri taşıyarak biyolojik işlevler üzerinde belirleyici bir rol oynadığı bilinmektedir. Eksozomlar, 30–150 nm çapında, çift katlı lipit membrana sahip, endozomal kökenli yapılar olup, biyogenezi sırasında yüklenen biyomoleküller ile hedef hücrelerde gen ekspresyonunu, metabolizmayı ve immün yanıtı düzenleyebilmektedir. Günümüzde eksozomlar yalnızca memeli hücrelerinden değil, aynı zamanda bitkilerden de elde edilmekte ve bu bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküller (PEV'ler) biyoyumluluk, düşük immünojenisite ve zengin biyolojik içerikleri nedeniyle ilaç taşıyıcı sistemler, yara iyileştirme ve antimikrobiyal uygulamalarda dikkat çekici bir potansiyele sahiptir.

PEV'ler, içeriklerinde bulunan flavonoidler, terpenler, alkaloidler, fenolik bileşikler ve uçucu yağlar gibi biyoaktif moleküller sayesinde oksidatif stresin azaltılması, hücre proliferasyonunun teşviki, inflamasyonun baskılanması ve patojenlerin inhibisyonu gibi çok yönlü biyolojik etkiler gösterebilmektedir. Atkuyruğu (*Equisetum arvense*) ve Lavanta (*Lavandula angustifolia*) bitkileri, tarihsel olarak yara iyileştirme, cilt sağlığının korunması ve enfeksiyonların önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Atkuyruğu, yüksek silika içeriği, flavonoidler ve alkaloidler bakımından zengin olup, kollajen sentezini destekleyerek doku rejenerasyonunu hızlandırabilmektedir. Lavanta ise başta linalool ve linalil asetat olmak üzere güçlü antimikrobiyal ve anti-inflamatuar etkiye sahip bileşenler içermekte, ayrıca yara bölgesinde ağrının azaltılması ve epitelizasyonun hızlanmasına katkı sağlamaktadır.

Bununla birlikte, yara iyileşme sürecinde hücresel senesens önemli bir biyolojik süreç olarak karşımıza çıkmaktadır. Senesens, hücrelerin proliferatif kapasitesini kaybederek metabolik olarak aktif kalmaya devam ettiği, genellikle DNA hasarı, oksidatif stres veya telomer kısalması gibi uyaranlarla tetiklenen geri dönüşümsüz bir duraklama halidir.

Kronik yaralarda veya yaşlanmaya bağlı doku hasarlarında senesan hücrelerin birikimi, iyileşme sürecini yavaşlatmakta; buna karşın yara bölgesinde kısa süreli senesens, doku yeniden yapılanmasını destekleyebilmektedir. Bu nedenle senesensin düzenlenmesi, yara iyileştirme stratejilerinde yeni bir hedef olarak değerlendirilmektedir.

Bu  alışma, atkuyruğu ve lavanta bitkilerinden elde edilen eksozom benzeri nanoveziküllerin, in vitro koşullarda, immortalize insan keratinosit hücre hattı (HACAT) ve insan dermal fibroblast hücre hattı (HDF)  zerinde yara iyileştirme potansiyelinin ve antimikrobiyal etkilerinin değerlendirilmesini amaçlamaktadır. Ayrıca, bu nanoveziküllerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonu, sitotoksisite analizleri ve antimikrobiyal testleri ile biyolojik etkinlikleri kapsamlı bir şekilde incelenecektir. Elde edilen bulgular, bitki tabanlı eksozom benzeri yapılar ile yara iyileştirme ve enfeksiyon kontrolünde yeni ve biyouyumlu bir tedavi yaklaşımının geliştirilmesine katkı sağlamayı hedeflemektedir.

2. KURAMSAL TEMELLER ve/veya KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Eksozomlar ve Eksozom Benzeri Yapılar

Hücreler tarafından salgılanan küçük boyutlu çeşitli membran vezikülleri topluca ekstrasellüler veziküller olarak adlandırılmaktadır (Yang vd., 2019). EV'ler eksozomlar, mikroveziküler cisimcikler (MVB'ler) ve apoptotik cisimcikler olmak üzere üç ana grup olarak incelenmektedir (Şekil 2.1). MVB'ler ve apoptotik cisimcikler, hücre zarının dışı doğru tomurcuklanması ve bölünmesi ile oluşmaktadır. Eksozomlar, hücreler arası iletişimi yöneten ve endozomal kökenleriyle dikkat çeken, ekstrasellüler veziküller ailesinin fonksiyonel açıdan en dinamik alt tiplerinden biri olarak bilinmektedir (Battistelli ve Falcieri, 2021). İlk keşfedildikleri zamanlarda hücrelerden atık materyalleri uzaklaştırmak ile görevli oldukları düşünülse de güncel çalışmalar çeşitli proteinler (Simpson vd., 2009; Théry vd., 2009), lipidler (Vidal vd., 1989) ve DNA, RNA açısından zengin nükleik asitler (Waldenström vd., 2012; Yin vd., 2023) gibi biyoaktif bileşenleri içerdiğini göstermiştir. Bu bileşenler sayesinde eksozomlar immün yanıt oluşturma (Greening, Gopal, Xu, vd., 2015), sinyal iletimi, antijen sunumu gibi farklı süreçlerde de önemli roller oynamaktadır (Mittelbrunn vd., 2011). Hücreler arası iletişimin kilit oyuncularını olarak kabul edilen eksozomlar son yıllarda yapılan çalışmalar ile kökenlendiği hücreden aldığı nükleik asit, protein gibi içerikleri ile klinik araştırmalar, tedavi süreçleri, ilaç taşıma gibi çeşitli konuların ilgi odağı haline gelmiştir.



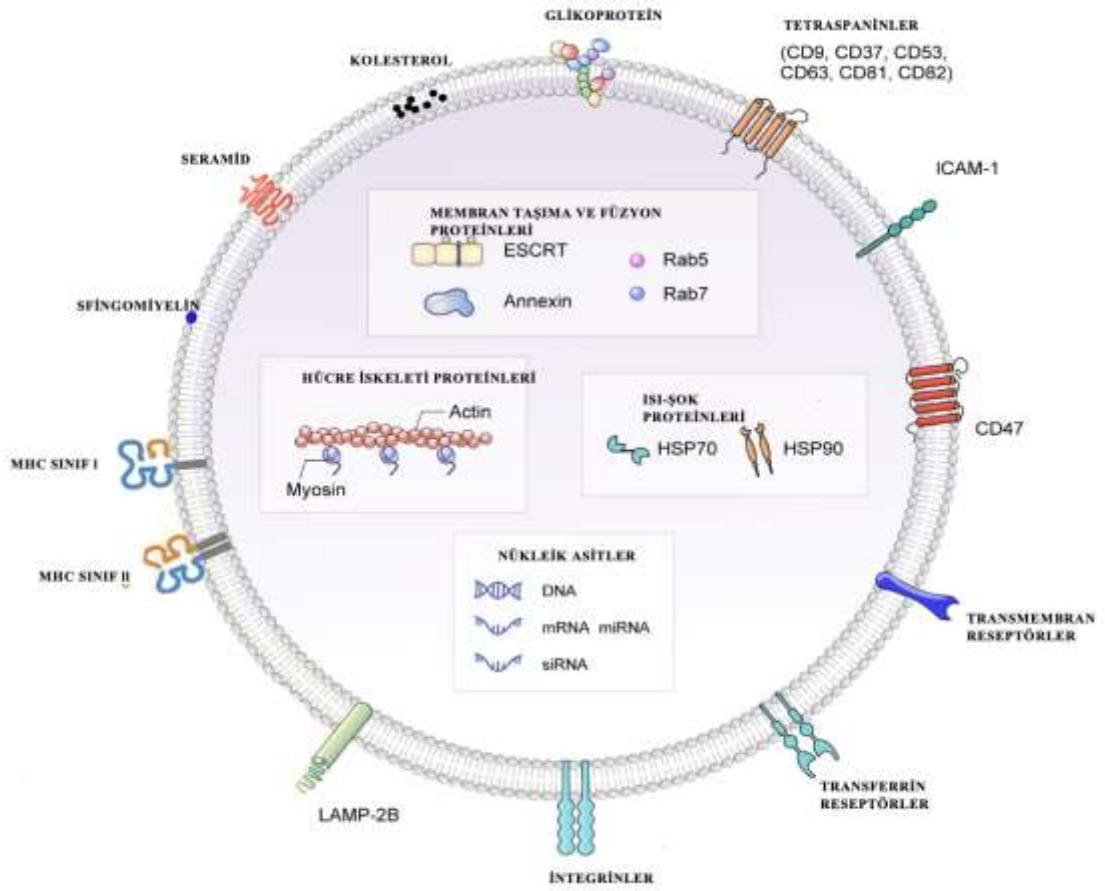
Şekil 2.1 Hücre kaynaklı ekstrasellüler veziküllerin sınıflandırılması (Gurunathan vd., 2019)

2.1.1 Eksozomların yapısı ve biyolojik fonksiyonları

Eksozomlar, boyutları yaklaşık olarak 30-150 nm'yi bulan ve zar yapıları lipit çift katmanlı olan veziküllerdir (Doyle ve Wang, 2019). Zar yapıları, esas olarak kolesterol, fosfatidilserin ve sfingomiyelin gibi doymamış lipitlerden oluşmaktadır. Bu lipit yapıların, özellikle de doymamış yağ asitleri ve sfingolipitlerin, eksozomların zar yapılarını stabilize ettiği ve in vivo koşullarda gerekli zar bütünlüğünü koruduğu düşünülmektedir (Ridder vd., 2014). Buna ek olarak eksozom salgılanmasında da önemli rol oynadıkları bilinmektedir (Skotland vd., 2019). Eksozomlar için oldukça önemli bileşenlerden olan proteinler ise esas olarak tetraspanin ailesini (CD9, CD63 ve CD81), membran taşıma ve füzyon proteinlerini (GTPazlar, anneksinler ve flotilin), integrinleri, ısı şoku proteinlerini (HSP'ler), taşıma için gerekli olan endozomal ayırma kompleks proteinlerini (Alix, TSG101), sitoskeletal proteinleri ve transferrin reseptörleri ve MHC I ve II molekülleri gibi belirli proteinleri içermektedir (Mashouri vd., 2019; Vlassov vd., 2012). Ekstrasellüler veziküller, özellikle eksozomlar, hücreler arası iletişimde kritik araçlar olup; biyomoleküler içerikleri sayesinde immün yanıt, rejenerasyon ve patolojik süreçlerde önemli roller üstlenmektedir. Eksozomların yapısı incelendiğinde (Şekil 2.2); lipit bileşenleri arasında glikoproteinler, kolesterol, seramid ve sfingomiyelin dikkat çekerken, bu moleküller membranın akışkanlığı ve stabilitesini sağlamaktadır. Protein içerikleri arasında yer alan transmembran reseptörler, integrinler, transferrin reseptörleri ve tetraspaninler (CD9, CD37, CD53, CD63, CD81, CD82), hücre hedeflenmesi ve sinyal iletiminde görev alır. Ayrıca immün düzenleyici moleküller olan MHC sınıf I/II, bağışıklık sistemine antijen sunumunda rol oynarken; ısı-şok proteinleri (HSP70, HSP90) stres yanıtlarının düzenlenmesine katkıda bulunur. Hücre iskeleti proteinleri (aktin, miyozin), vezikülün yapısal bütünlüğünü desteklerken, membran taşıma ve füzyon proteinleri (ESCRT kompleksi, Rab5, Rab7, annexin) eksozom biyogenezinde ve membran füzyonunda işlev görmektedir. İç kısımlarında bulunan nükleik asitler (DNA, mRNA, miRNA, siRNA) ise genetik ve epigenetik bilginin taşınmasına aracılık ederek alıcı hücrelerin biyolojik yanıtlarını şekillendirmektedir. Eksozomlar yapısal bütünlüklerine yardımcı olan proteinlere ve lipitlere ek olarak, hücreler arası iletişimin ana kargosu olan ve hedef hücrelerin biyolojik süreçlerini etkilerken, ebeveyn hücrelerinin durumunu yansıtan büyük miktarda DNA, mRNA ve kodlamayan RNA

içermektedir (Zhang vd., 2019). Bu çok yönlü moleküler içerik, eksozomları hem fizyolojik süreçlerde hem de terapötik uygulamalarda güçlü biyolojik araçlar haline getirmektedir (Koh vd., 2023).

İnsanlarda EV'ler; tükürük, idrar, kan, anne sütü ve beyin omurilik sıvısı gibi çeşitli vücut sıvıları da dahil olmak üzere farklı kaynaklarda bulunabilmektedir (Arraud vd., 2014; Greening, Gopal, Mathias, vd., 2015; Höög ve Lötval, 2015; Lässer vd., 2011; Taylor vd., 1980; Théry vd., 2002; Yuana vd., 2013). Bağlı oldukları ana hücelere özgü içerikler barındıran eksozomların, birçok çalışmada farklı hücre tiplerinde tespit edilmesi ve de önemli roller üstlenmesi kısa sürede araştırmacıların ilgi odağı haline gelmelerinde ana etkindir. Örneğin; makrofajlar, doğuştan gelen bağışıklıkta kritik rol oynayan mononükleer fagositlerdir. Makrofaj kaynaklı EV'lerin işlevsel bağışıklık proteinleri taşıdığı bilinmektedir; bu EV'ler, beyin damarlarındaki endotel hücreleriyle etkileşime geçebilir ve yüzey bileşenleri aracılığıyla kan-beyin bariyerini aşabilirler. Ayrıca, IL-4 gibi anti-inflamatuar sitokinleri taşıma yeteneğine sahiptirler. Bu veziküller, güçlü antitümör ve anti-inflamatuar etkiler de sergilemektedir (Cheng vd., 2017; Yuan vd., 2019). Farklı bir örnek olarak mezenkimal kök hücreler, hücre temelli tedavilerde sıkça tercih edilen bir seçenektir. Kemik iliğı, diş pulpası ve adipoz doku gibi çeşitli insan dokularından kolaylıkla elde edilebilirler. Mezenkimal kök hücreler, kendini yenileme yeteneğine sahiptir ve bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde rol oynarlar. Bu hücrelerden izole edilen eksozomlar, yara iyileşmesini desteklemektedir ve cilt ya da kalp dokusu gibi çeşitli dokuların onarımında oldukça faydalıdır (Cao vd., 2021). Bu veziküller ayrıca kanserin ilerlemesini baskılayabilir ve inflamasyonu hafifletici özellikler gösterebilmektedir (Zhang vd., 2014). Ek olarak, bu hücrelerin diğer hücelere kıyasla nispeten daha fazla eksozom salgıladıkları da bilinmektedir (Che vd., 2019; Grégoire vd., 2015; Yao ve Ricardo, 2016).



Şekil 2.2 Ekzozomların yapısal ve moleküler bileşenleri. Ekzozom membranı, lipitler (glikoprotein, kolesterol, seramid, sfingomiyelin) ve proteinlerle (transmembran reseptörler, transferrin reseptörleri, integrinler, tetraspaninler) zenginleşmiştir. Ayrıca MHC sınıf I/II, ısı-şok proteinleri (HSP70, HSP90), hücre iskeleti proteinleri (aktin, miyozin) ve membran taşıma/füzyon proteinleri (ESCRT, Rab5, Rab7, annexin) ekzozomların biyolojik işlevselliğini destekler. İç kısımlarında DNA, mRNA, miRNA ve siRNA gibi nükleik asitler taşınırlar (Koh vd., 2023).

Hücre/doku kökenine bağlı olarak ekzozomlara birçok farklı işlev atfedilmiştir. Ekzozomlar bağışıklık tepkisinin kolaylaştırıcıları olarak yoğun bir şekilde incelenmiştir (Théry vd., 2009) ve antijen sunumunda ekzozomların rolü kapsamlı bir şekilde belgelenmiştir (Théry vd., 2002). Programlanmış hücre ölümü, anjiyogenez, inflamasyon ve pıhtılaşmada ekzozomların rolleri bildirilmiştir (Janowska-Wieczorek vd., 2005). Ekzozomlar, gelişim ve farklılaşma sırasında polaritenin yaratılmasında morfogon taşıyıcıları olarak da gösterilmiştir (Lakkaraju ve Rodriguez-Boulan, 2008).

Bir araştırma grubu, insan sütünden elde edilen ekzosomlardaki farklı mikroRNA seviyelerini birkaç aylık emzirme döneminde incelemiştir (Kosaka vd., 2010). Özellikle bağışıklık düzenleyici rollerinde rol alan miR-181a ve miR-155 olmak üzere belirli miRNA'lar, emzirme döneminin ilk 6 ayında yüksek seviyelerde mevcutken, sonraki aşamalarda bu miRNA'ların önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Anne sütünden elde edilen ekzosomlarda bulunan miRNA'ların bebeğin bağışıklık sisteminin gelişimini modüle edebileceği öne sürülmüş ve daha yakın tarihli çalışmalar, ekzosomların yalnızca protein ve lipid alışverişi yapmak veya aşağı akış sinyal olaylarını tetiklemek için alıcı hücrelere özel olarak hedeflemediğini, aynı zamanda belirli nükleik asit kargosunu da ilettiğini göstermiştir (Belting ve Wittrup, 2008; Pegtel vd., 2011; Valadi vd., 2007). Ekzosomların en özel işlevleri arasında, uzak mesafelerdeki hücre-hücre iletişimini mümkün kılması yer almaktadır. Mast hücrelerinin yaklaşık 1300 farklı genden mRNA taşıyan eksozomlar salgıladığı bildirilmiştir. Bu mRNA'ların ne kadarının tam uzunlukta ve ne kadarının parçalanmış olduğu henüz kesin olarak bilinmemektedir. Ayrıca bu eksozomlar, >100 farklı mikroRNA dahil olmak üzere çok sayıda küçük RNA içermektedir (Valadi vd., 2007). Eksozomların alıcı hücrelere aktarılabilmesi ve bu hücrelerde bazı mRNA'ların aktif biçimde çevrilebilmesi, taşınan mRNA'ların işlevsel olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, eksozomların hücreler arası iletişimde doğal ve düzenli bir mekanizma olarak kullanıldığını düşündürmektedir.

Geleneksel olarak hücre iletişimi; temas bağımlı (juktakrin), parakrin, endokrin, ekzokrin veya sinaptik yollarla gerçekleştiği kabul edilen bir süreçtir. Bu klasik modelde, sinyal iletimi genellikle reseptör aracılı etkileşimlerle sağlanır; ya komşu hücrelerin yüzey bileşenleriyle doğrudan temas ederek ya da belirli mesafelerdeki hedef hücrelere hormon veya nörotransmitter gibi çözünebilir moleküllerin salınımıyla gerçekleşir. Ancak son yıllarda ortaya çıkan veriler, hücreler arası iletişimin bundan çok daha karmaşık bir biçim alabildiğini göstermektedir. Hücreler, daha karmaşık veya hedefe yönelik bir “mesaj” iletmek istediklerinde, bu görevi eksozomlar aracılığıyla gerçekleştirebilirler. Eksozomlar, içeriklerini koruyarak bir hücreden diğerine taşınabilen, hücre zarından kolaylıkla füzyon yoluyla geçebilen ve virüslere benzer yapısal özelliklere sahip nanoveziküllerdir. Bu özellikleri sayesinde, eksozomlar hücreler

arası bilgi aktarımında etkili ve doğal bir “taşıyıcı sistem” olarak değerlendirilmektedir (Ratajczak vd., 2006).

2.1.2 Eksozomların biyogenezi ve hedef hücreler tarafından alınması

Lipid çift tabakası ile çevrelenmiş olan eksozomlar, biyogenezi açısından kapsamlı bir şekilde incelenmiştir ve membran taşınımı ile füzyonuna ilişkin çeşitli proteinleri içermekte oldukları ortaya konmuştur. Bu proteinler arasında Rab GTPazları, aneksinler, integrinler, fibronektin (Hsu vd., 2010; Kowal vd., 2014; Théry vd., 2002), tetraspaninler (CD9, CD63, CD81 ve CD82) (Andreu ve Yáñez-Mó, 2014; Escola vd., 1998), ısı şok proteinleri (HSP'ler) (Clayton vd., 2005) ve lipid salıclı proteinler (Subra vd., 2007; Trajkovic vd., 2008) bulunmaktadır.

Eksozom oluşumu, hücre zarının iki kez içe doğru kıvrılması ile başlayan çok basamaklı bir süreci kapsamaktadır (Şekil 2.3). Bu süreç, kargo yüklenmesi sırasında ara form görevi gören multiveziküler cisimciklerin (MVB'ler) veya intralüminal veziküllerin (ILV'ler) olgunlaşması ile devam etmektedir (Colombo vd., 2014; Raposo ve Stoorvogel, 2013). MVB oluşumu sırasında, golgi aygıtı ve endoplazmik retikulumdan gelen yükler MVB'lere dahil edilir (van Niel vd., 2011), bu MVB'ler daha sonra eksozomal yol aracılığıyla plazma zarı ile füzyona girerek eksozomları serbest bırakabilir veya lizozomlarla birleşerek yıkım sürecine girebilir (Hessvik ve Llorente, 2018; Ostrowski vd., 2010). Bu ayırım, iki tip MVB oluşumuna yol açar: eksozom salınımına yol açan ve de kolesterol açısından zengin salgısal MVB'ler (sMVB'ler) ve lizozomal yıkım yoluna katılan kolesterol açısından fakir MVB'ler (IMVB'ler) (Möbius vd., 2003). Ayrıca bu iki MVB için bir ayırım da, lizobisfosfatidik asit açısından değerlendirilmiştir. Lizobisfosfatidik asit IMVB'lerde bulunurken sMVB'lerde bulunmamaktadır (Kobayashi vd., 1998).

Eksozom biyogenezi, taşınım için gerekli endozomal sıralama kompleksleri (ESCRT) ile ilişkilendirilmektedir. ESCRT, dört ayrı kompleksten oluşmaktadır: ESCRT-0, ESCRT-I, ESCRT-II ve ESCRT-III (Hurley, 2008). Her kompleks, eksozom oluşumu ve salınımının belirli aşamalarına katkıda bulunmaktadır. ESCRT-0, ubiquitinlenmiş

kargoların kümelenmesinden sorumluyken; ESCRT-I ve ESCRT-II membran tomurcuklanmasını sağlamaktadır; ESCRT-III ise membran kesilmesini başlatmaktadır (Henne vd., 2011). Eksozom biyogenezi, MVB'lerin ve mikrotübüllerin hücre zarına yaklaşmasıyla devam etmektedir. Bu noktada Rab GTPazları ve ardından SNARE proteinleri, eksozomların hücre zarı ile kaynaşarak ekstraselüler alana salınmasını kolaylaştırmaktadır (Savina vd., 2005). Bu süreçte başlıca yer alan kompleks ESCRT olsa da eksozom biyogenezinde yalnızca ESCRT mekanizması rol almamaktadır; seramid ve sindekan-sintenin-ALIX yolları gibi diğer mekanizmalar da eksozom biyogenezi açısından kritik öneme sahiptir.

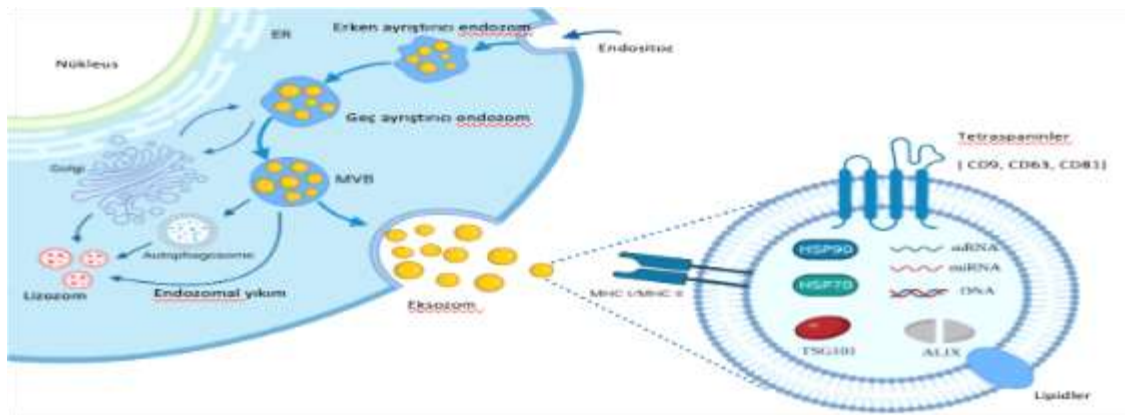
Seramid aracılı gerçekleşen mekanizmada, tip II sfingomiyelinaz (SMase2), sfingomiyelini seramide dönüştürerek vezikül oluşumu için gerekli olan membran eğriliğini teşvik eden bir rol üstlenmektedir. Yapılan bir araştırma SMase2'nin susturulması ile birlikte, Olineu hücrelerinden PLP'nin eksozomal salınımını azalttığını bildirmektedir (Trajkovic vd., 2008). Sindekan-sintenin-ALIX aracılı gerçekleşen mekanizmada ise sindekan kargosunun heparan sülfat (HS) zincirlerine bağlanması, sindekanların kümelenmesine ve ardından membran tomurcuklanma süreci için sintenin-1 ve ALIX'in işe alınmasına yol açmaktadır (Baietti vd., 2012). Syntenin hücre zarına alındığında ALIX ile etkileşir; ALIX de TSG101 ve CHMP4 gibi ESCRT proteinleri ile üç adet LYPX(n)L motifi aracılığıyla bağlantı kurar. Bu bağlantı tomurcuklanma sürecinde ESCRT mekanizması ile iş birliği yapmak için gerekli olan sindekan-sintenin-ALIX kompleksini oluşturmaktadır (Bissig vd., 2013; Matsuo vd., 2004).

Başarılı bir şekilde salınımı gerçekleştirilen ve hedef hücrelere ulaşan eksozomlar üç ana yolla etki göstermektedir: (1) hedef hücre yüzey reseptörleri ile doğrudan etkileşim yoluyla sinyal yönlendirme; (2) doğrudan plazma membranı ile füzyon yoluyla içerik bırakımı; (3) endositoz yoluyla hücre içine alınma ve içerik salınımı. İlk mekanizmada, eksozom yüzeyindeki CD47, tetraspaninler, integrinler veya FasL ve TRAIL gibi ligandlar, alıcı hücre reseptörlerine bağlanarak hücresel işleyişin regülasyonuna etki edebilmektedir (Gurung vd., 2021; M. A. Kumar vd., 2024). İkinci mekanizmada ise, lipid raft bölgeleri ve SNARE/Rab proteinleri aracılığıyla eksozom membranı, hedef hücre membranı ile hemi-füzyon yaparak içeriklerini doğrudan sitoplazmaya

bırakabilmektedir. Bu sürecin özellikle tümör hücrelerinde (düşük pH ve zengin sfingomiyelin içeriği nedeniyle) daha etkili olabileceği vurgulanmaktadır (Gurung vd., 2021).

Üçüncü ve de en yaygın yol olan internalizasyon mekanizmaları arasında klatrin-aracılı endositoz, caveolin-aracılı endositoz, makropinositoz, fagositoz ve lipid raft bağımlı yollar gibi farklı süreçler yer almaktadır (Liu ve Wang, 2023; McKelvey vd., 2015). Endositoz sonrası eksozomlar, endozomal yola girmektedir; bu süreçte bazıları lizozomal degradasyona uğrarken, bazıları da trans-golgi ağı gibi alternatif yollara yönlendirilerek içeriklerini serbest bırakabilmektedir. Ayrıca, düşük verimle de olsa endozomal kaçış yoluyla eksozom içeriklerinin sitoplazmada işlevsel hale gelmesi de mümkündür (McKelvey vd., 2015).

Sonuç olarak, eksozomların hedef hücreler tarafından alınması; kaynak hücrelerinin biyokimyasal yapısı, alıcı hücrelerin reseptör profili, lipid-protein kompozisyonu ve de çevresel etkenler gibi çok katmanlı faktörlere bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bu kompleks süreç, hücresel iletişimi anlamak ve eksozom tabanlı hedefe özgü ilaç taşıma sistemlerini geliştirmek açısından değerlendirildiğinde oldukça önemlidir (Gurung vd., 2021; Liu ve Wang, 2023).



Şekil 2.3 Eksozom biyogenezinin temel aşamaları. Hücre içine alınan veziküller ilk olarak erken endozomlara taşınır. Bu bölgeler, içerdikleri kargoları ayrıştırarak bir kısmını geri dönüşüm endozomları aracılığıyla plazma membranına geri gönderirken, bir kısmını da geç endozomlara yönlendirir. Geç endozomlarda multiveziküler cisimcikler oluşur; bunların içinde yer alan intraluminal veziküller ise eksozomların öncülleridir (Zhang vd., 2023).

2.1.3 Eksozomların tıbbi ve terapötik uygulamalardaki kullanımları

Doğal kökenli olmaları nedeniyle eksozomlar yüksek biyouyumluluk ve düşük toksisite göstermektedir. Ayrıca, sınırlı immünojenisiteye sahip olup biyolojik olarak parçalanabilmektedirler. Bu ender özellikleri ile, eksozomlar sentetik taşıyıcılar veya nanoparçacıklara (NP'ler) kıyasla daha avantajlı ajanlar olarak öne çıkmaktadır (Batrakova ve Kim, 2015; Tan vd., 2013; van Dommelen vd., 2012). Eksozomların sağladıkları bir diğer önemli avantaj ise doğal olarak hedefleme potansiyelleridir. Ayrıca hedefleme ile kalmayıp, yapılarında doğal olarak bulundurdıkları bileşenleri doğrudan veya kapsüllenmiş ilaçlarla birlikte sinerjik etki göstererek hedef hücrelere iletebilmektedir. Yapılan bir araştırmada eksozomların kan-beyin bariyeri (BBB) gibi fizyolojik engelleri aşarak belirli bir nöron popülasyonuna ulaşabildiği kanıtlanmıştır (Ha vd., 2016; Shi vd., 2019). Jiang vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada nöronlardan elde edilen ekzomların, mikrogliya ve astrositleri inhibe ettiği bilinen miR-124-3p taşıyabildiği, böylece omurilik yaralanmalarının iyileşmesine katkı sağladığı gösterilmiştir (Jiang vd., 2020). Eksozomlar ayrıca nöron-glia etkileşimlerini etkileyerek nöroinflamasyonu ve nöropatogenezini de iyileştirebilmektedir. Ayrıca, mikroRNA'lar (miRNA'lar) ile zenginleştirilmiş eksozomların, iltihaplanmayı ve koagülasyon kaskadını modüle edebildiği Li vd. tarafından gerçekleştirilen çalışmada gösterilmiştir (Li vd., 2021). Yapılmış farklı çalışmada, makrofajların IL-4'e maruz kaldığında, iltihaplanmayı baskılamak amacı ile de eksozomlar salabildiğine değinilmiştir (Phu vd., 2022). Buna ek olarak bağışıklık yanıtlarının, astrositlerden türeyen eksozomların CD4+T hücrelerini düzenlemesiyle de modüle edilebildiği bildirilmiştir (Szpakowski vd., 2023). ALL (akut lenfoblastik lösemi) hastalarından elde edilen eksozomların, FOXP3 ekspresyonunu ve Treg ile ilişkili sitokinleri artırabildiği, ALL hastalarının eksozomlarının apoptozisi teşvik ederek T lenfositlerinin fonksiyonlarını etkilediği de bildirilmiştir (Gholipour vd., 2022). Eksozomlar, oksidatif hasarı ve organellerin fonksiyonunun düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Örneğin, T lenfositlerinden izole edilen eksozomların, NOX4'ü yukarı regüle ederek oksidatif hasarı indükleyebilecek MEK1/2 ve ERK1/2 taşıdığı tespit edilmiştir (Rolski vd., 2022).

Eksozomlar, küçük moleküller, RNA, DNA ve proteinler gibi çeşitli terapötik ajanları kapsülleyebilme özellikleri sayesinde, hedefli ilaç taşıma için ideal biyolojik sistemler olarak değerlendirilmektedir. Doğal kökenleri ve hücrelere özgü yüzey molekülleri, belirli hücre tiplerine seçici hedefleme kapasitesini artırır. Nitekim, Kamerkar vd., (2017), eksozomların siRNA'yı pankreas kanseri hücrelerine özgü biçimde iletmek üzere modifiye edilebileceğini ve böylece daha az yan etkiyle potansiyel bir kanser tedavisi sunduklarını göstermiştir (Kamerkar vd., 2017).

Eksozomların biyolojik işlevleri yalnızca ilaç taşıma ile sınırlı değildir; aynı zamanda hücrel sinyal iletimi, metabolik düzenleme ve immünomodülasyon gibi süreçlerde de kritik roller üstlenirler. Örneğin, Robbins ve Morelli (2014), eksozomların kanser immünoterapisinde antijen sunumu ve bağışıklık yanıtlarının modülasyonu aracılığıyla nasıl kullanılabileceğini kapsamlı biçimde gözden geçirmiştir (Robbins ve Morelli, 2014).

Bununla birlikte, eksozomlar hücre ölüm mekanizmalarının düzenlenmesinde de önemli rol oynar. Kemik iliği kök hücrelerinden (BMSC'ler) türetilen eksozomlar, Akt/mTOR yolunu modüle ederek otofajiyi indükleyebilmekte, apoptozisi baskılayabilmekte ve inflamatuvar sitokin düzeylerini azaltabilmektedir (Xiao vd., 2022). Benzer şekilde, periferik nöropatide de eksozomlar, mitokondrilerin normal fonksiyonlarını koruyarak hücrel onarımı destekleyebilir (Shan vd., 2022). Oksidatif stresle ilişkili hastalıkların tedavisinde de eksozomların terapötik potansiyeli giderek daha fazla öne çıkmaktadır. Özellikle süt kaynaklı eksozomların KEAP1-siRNA ile zenginleştirilmiş formlarının, Nrf2 ekspresyonunu artırarak oksidatif hasarı azaltabildiği ve diyabetik yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (Xiang vd., 2023).

Eksozomların içerikleri (özellikle proteinler ve nükleik asitler) ait oldukları ana hücrelerinin fizyolojik ve patolojik durumlarını yansıttığından, hastalıkların tanısında biyomarker olarak da büyük bir potansiyel taşırlar. Dahası, eksozomlar belirli genetik materyalleri ve lipidleri taşıma kapasiteleri sayesinde, hastalık mikroçevresini değiştirebilecek veya genetik defektleri düzeltebilecek bir "hassas tıp aracı" olarak değerlendirilmektedir. Bu doğrultuda, Kooijmans vd., (2012), eksozomların özellikle

patolojik bölgelerle seçici etkileşim kurmak üzere tasarlanabileceğini ve böylece hedef dışı etkilerin minimize edilebileceğini vurgulamıştır (Kooijmans vd., 2012).

Özellikle son yıllarda bilim dünyasının çözüm arayışında olduğu ilaç dirençli kanser türlerinde, eksozomların kemoterapiye yanıtı modüle edebildiği farklı çalışma gruplarınca bildirilmiştir (Pegtel ve Gould, 2019; Van Niel vd., 2018; Yáñez-Mó vd., 2015). Eksozomlar; proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi çeşitli biyomolekülleri taşıyarak hem tümör hücreleri arasında hem de tümör-stroma arası iletişimde etkili olmaktadır (Colombo vd., 2014; Simons ve Raposo, 2009; Valadi vd., 2007; Zhang ve Grizzle, 2014). Eksozomal mikroRNA'lar (örneğin miR-21), hedef hücrelerde tümör baskılayıcı genleri baskılayarak (ör. PTEN), PI3K/AKT gibi proliferatif sinyalleri aktive ederek ilaç direncine katkı sağlayabilmektedir (Mu vd., 2014; Teng vd., 2018; B. Wang vd., 2014; Wang vd., 2023). Eksozomlar aynı zamanda epitel-mezenkimal geçiş (EMT), kanser kök hücresi (CSC) karakteri ve immün kaçış gibi mekanizmalarla dirençli fenotiplerin gelişimini kolaylaştırmaktadır (Ju vd., 2013; Kim vd., 2014; Reiner vd., 2017; van der Pol vd., 2012; Witwer vd., 2017). Bu bağlamda, eksozomlar yalnızca biyobelirteç veya taşıyıcı değil, aynı zamanda terapötik hedef olarak da değerlendirilmektedir. Çizelge 2.1'de eksozomların çeşitli çalışmalarda kanıtlanmış potansiyelleri özetlenmiştir.

Klinik açıdan, eksozomlar ve türevleri (bitki kaynaklı EV'ler dahil), ilaçların taşınması ve hedef dokuya yönlendirilmesi amacıyla incelenmektedir. Ayrıca, genetik mühendislikle düzenlenmiş eksozomların immün cevabı güçlendirme ve tedaviye duyarlılığı artırma potansiyeli taşıdığı klinik öncesi bulgularda belirtilmiştir (Jin vd., 2024). Bu bulgular, eksozomların yalnızca onkolojik değil, yara iyileşmesi ve enfeksiyon kontrolü gibi rejeneratif tıp alanlarında da potansiyel uygulamaları olabileceğini göstermektedir. Bitkisel kökenli eksozom benzeri nanoveziküllerin daha güvenli, sürdürülebilir ve hedefe yönelik tedavi platformları sunabileceği düşünülmektedir (Ju vd., 2013).

Çizelge 2.1 Eksozomların terapötik ajanlar olarak potansiyeli

Kullanım Alanı	Mekanizma/Etki Yolu	Avantajlar	Örnek Bulgular	Referans Çalışma
Nörolojik hastalıklar & rejenerasyon	miRNA taşıma (örn. miR-124-3p), inflamasyon baskısı, nöron–glia etkileşim	BBB’yi aşabilme, nöral onarım	Nöron kaynaklı eksozomlar miR-124-3p ile omurilik yaralanmasında iyileşme sağlar; süt eksozomları KEAP1-siRNA ile diyabetik yara iyileşmesini hızlandırır	Jiang vd., 2020; Xiang vd., 2023
İmmün modülasyon	Treg indüksiyonu, CD4+ T hücre regülasyonu, immün baskılama	İmmün cevabı artırma/baskılama	ALL hasta eksozomları FOXP3 ve Treg sitokinlerini artırır; IL-4 ile polarize makrofaj eksozomları kardiyometabolik inflamasyonu azaltır	Gholipour vd., 2022; Phu vd., 2022
Oksidatif stres düzenlenmesi	Nrf2/KEAP1 aktivasyonu, NOX4 ve ERK1/2 modülasyonu	Oksidatif hasarı azaltma, mitokondri fonksiyonunu koruma	T-lenfosit eksozomları NOX4 aracılı oksidatif stresi indükler; BMSC eksozomları SIRT1 ile periferik nöropatiyi azaltır	Rolski vd., 2022; Shan vd., 2022
Kanser tedavisi	siRNA/miRNA kapsülasyonu, proliferatif sinyal düzenleme	Hedefe yönelik tedavi, toksisite azaltma	Eksozomlar siRNA ile KRAS mutant pankreas kanserini hedefler; eksozomal miR-21 PTEN baskılayarak PI3K/AKT aktivasyonuna yol açar	Kamerkar vd., 2017; Van Dommelen vd., 2012
İlaç direncinin aşılması	EMT, CSC karakteri, immün kaçış mekanizmaları	Dirençli fenotiplerin kırılması	Eksozomlar kemoterapiye yanıtı modüle ederek dirençli hücre popülasyonlarının gelişimine katkıda bulunur	Robbins & Morelli, 2014; Zhang & Grizzle, 2014

Çizelge 2.1 Eksozomların terapötik ajanlar olarak potansiyeli (devam)

Kullanım Alanı	Mekanizma/Etki Yolu	Avantajlar	Örnek Bulgular	Referans Çalışma
Biyobelirteç potansiyeli	Protein, lipid ve RNA içeriklerinin hücre durumunu yansıtması	Non-invaziv teşhis, erken tanı	Eksozom içerikleri kanser ve nörodejeneratif hastalıkların erken biyobelirteci olarak kullanılır	Valadi vd., 2007; Shi vd., 2019
Hassas tıp	Genetik defektleri düzeltme, hedefe yönelik kargo taşıma	Hedef dışı etkiyi azaltma, kişiselleştirilmiş tedavi	Eksozomlar patolojik dokulara özel nükleik asit/lipit taşır, tedavi seçiciliğini artırır	Kooijmans vd., 2012; Tan vd., 2013

2.1.4 Bitki kaynaklı ekstrasellüler veziküller

Bitkilerden salınan ekstrasellüler veziküller üzerine yapılan çalışmalar yakın zamanda başlamış olsa da, pEV'lerin biyogenezi ve mekanizmalarını tanımlayan çalışmalar mevcuttur. İlk bulgulara göre, bitkilerin patojen enfeksiyonu ve saldırısı da dahil olmak üzere birçok biyotik ve abiyotik çevresel strese yanıt olarak ekstrasellüler veziküller ürettiği bilinmektedir (An, Ehlers, vd., 2006; An, Hükelhoven, vd., 2006). pEV'lerin üretimi ve salgılanmasına dair ikna edici kanıtlar sunmak amacıyla, Qianli ve arkadaşları arpa yaprağı hücrelerinde sitoplazmada intravakuoler MVB'lerin proliferasyonunu ve bu organelin ile zarının taşınmasıyla meydana gelen yapısal bozulmalarını gözlemlemişlerdir (An vd., 2007). Biyotrofik külleme mantarı, hipersensitif hücrelere ve bu hücrelerin sağlam komşu hücrelerine saldırmaktadır. Patojenlere karşı antimikrobiyal bileşikler içeren intravakuoler MVB'ler, mantarın penetrasyonunu engellemek ya da mantarın plazma zarı ile etkileşime yanıt olarak sağlam epidermal hücrelerde uyarıldığı tespit edilmiştir (An, Hükelhoven, vd., 2006; An vd., 2007; Samuel vd., 2015; Yáñez-Mó vd., 2015). Ayrıca, mantar enfeksiyonunun artmasının, bitki bağışıklık tepkilerini uyarak enfeksiyon bölgesinde MVB proliferasyonunu indüklediğine dair çeşitli raporlar da mevcuttur (An, Ehlers, vd., 2006; F. Wang vd., 2014). pEV'lerin biyogenez mekanizmasının, memelilerden elde edilen eksozomların (MDE'ler) mekanizmasından belirgin bir seviyede farklı olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Halperin ve

Jensen, 1967; Marchant vd., 1967; Marchant ve Robards, 1968). Tıpkı MDE'lerin biyogeneğinde olduğu gibi, ESCRT komplekslerinin pEV'lerin olgunlaşmasında ve yüklerinin ayrıştırılmasında rol oynadığı öne sürülmektedir. Fakat yapılan araştırmalarda, yüksek bitkilerde klasik bir ESCRT-0 kompleksi bulunmamaktadır; bunun yerine, konservatif VHS (VPS27, HRS, STAM) bölgelerine sahip TOM1-benzeri (TOL) proteinler, ESCRT-0 yerine geçerek ubiquitin bağlayıcı proteinler olarak görev yapmaktadır ve erken endozomda auxin taşıyıcı PIN-FORMED 2 (PIN2)'nin vakuoler ayrıştırılmasında rol oynamaktadır (Gao vd., 2017).

pEV'lerin; boyut dağılımı, yüzey elektrik yükü, morfolojisi, yoğunluğu ve bazı bileşenleri gibi özellikler bakımından MDE'lere benzediği bilinmektedir (Deng vd., 2017; Ju vd., 2013; Raimondo vd., 2015). MDE'ler gibi pEV'ler de fizyolojik süreçleri düzenleyen RNA'lar, proteinler ve lipidler gibi biyomolekülleri içermektedir (Teng vd., 2018). pEV'lerin kendileri taşıma vezikülleri olarak kullanılabilirken, taşıdıkları yapısal ve fonksiyonel biyomoleküller de klinik olarak faydalı uygulamalara sahip olabilmektedir (Wang vd., 2013; X. Wang vd., 2019). pEV'lerin sağladığı avantajlardan biri, çok sayıda yenilebilir bitkiden elde edilebilmeleri sayesinde etkin ve bol miktarda üretilibilmeleridir. pEV'lerin kaynak hücrelerine bağlı olarak her bir pEV, farklı özellik ve bileşenlere sahiptir; bu nedenle pEV'ler ve içerdikleri moleküller, çeşitli mekanizmalarla ve hücre alım yollarıyla sinyal iletim yollarının düzenlenmesinde özgün yaklaşımlar göstermektedir.

Örneğin, Zhuang ve arkadaşları zencefil kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerde (GDEN'ler) bolca bulunan 6-shogaol bileşiğinin, TLR4/TRIF yolunu düzenleyerek Nrf2'yi aktive ettiğini ve bu yolun anti-inflamatuar etkileri aracılığıyla alkol kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruma sağladığını doğrulamıştır (Zhuang vd., 2015). Ayrıca, Ju ve arkadaşları üzüm kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin, intestinal kök hücrelerin iyileşmesini Wnt/ β -catenin sinyal yolunu düzenleyerek indüklediğini, bu yolun AXIN-2, Cyclin D1, c-MYC ve EGF gibi genleri düzenlediğini bildirmiştir (Ju vd., 2013). Üzüm kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin hücre alımı açısından, bu nanoveziküllerin intestinal kök hücrelere yüksek seçicilik sergilediği ve alımlarının mikropinositoz inhibitörü olan sitokalsin-D ile önemli ölçüde engellendiği, buna karşın

klatrin aracılı endositoz inhibitörlerinden etkilenmediği yine aynı çalışmada bildirilmiştir (Ju vd., 2013).

pEV'ler ile MDE'ler arasında birçok benzerlik bulunsa da bu iki vezikül grubu pek çok açıdan bazı farklılıklar da göstermektedir. MDE'lerin lipid çift tabakası genellikle kolesterol, glikosfingolipitler, seramidler ve fosfatidilserinden oluşur; bu da onlara kararlılık ve özgün bir sertlik sağlamaktadır (Mashouri vd., 2019; Nishio vd., 2020; Stremersch vd., 2016; Waldenström ve Ronquist, 2014). Buna karşın, pEV'lerin eksozomal zarları fosfatidik asit (PA), fosfatidilkolin (PC), digalaktosildiasilgliserol (DGDG) ve monogalaktozil diasilgliserol (MGDG) açısından zengindir (Teng vd., 2018); bu özgün lipid özellikleri, memeli hücrelerini düzenleyici etkiler sunmaktadır. Fosfolipitler arasında özellikle PA pEV'lerde yaygın olarak bulunmaktadır, memeli hedefi olan rapamisin (mTOR) yolunu hedefleme ve uyarma yeteneği ile de dikkat çekmektedir. mTOR yolu hücre büyümesi, proliferasyonu, iyileşmesi gibi işlevlerden sorumludur ve insan sağlığı ile hastalıklarında geniş bir etki alanına sahiptir. PC ise vücutta kolin kaynağı olup, kalın bağırsaklardaki hücre zarlarında yapısal blok oluşturarak hücre duvarını koruyabilmektedir.

Teng ve arkadaşları, GDEN'leri izole ederek gen, protein ve lipid profillerini analiz etmişlerdir. Araştırmada, GDEN'lerin fosfolipit açısından zengin zarlarının mikrobiyotaya tercihli olarak alındığı ve bağırsak bakterilerinin ortamını düzenleyebileceği belirlenmiştir. Ayrıca, bazı özgün protein ve genlerin varlığı, GDEN'lerin bağırsak mikrosistemini düzenleme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Bu eşsiz özellikler bir araya geldiğinde, pEV'lerin türler arası iletişime de katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Teng vd., 2018). Bu değerli özelliklerin bir sonucu olarak, pEV'lerin MDE'lere veya yapay nanoveziküllere kıyasla olağanüstü terapötik avantajlar sağladığı düşünülmektedir. Bu avantajlar arasında kolay ve büyük ölçekli üretim (Li vd., 2018), düşük toksisite ve azalmış immünojenisite (Deng vd., 2017), etkili hücre alım (Wang vd., 2013), yüksek biyoyumluluk ve stabilite (M. Zhang, E. Viennois, M. Prasad, vd., 2016) gibi birçok özellik yer almaktadır. pEV'lerin özellikleri ve tedavi edici etkinlikleri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olsa da bu veziküllerin

birçok yönü hala araştırma konusudur. Bu nedenle, pEV'lerin biyolojik aktiviteleri ve uygulamaları hakkında bilgi birikimimizi artırmak amacıyla ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.1.5 Bitki tabanlı nanoveziküller'in tıbbi ve terapötik uygulamalardaki kullanımları

Memeli eksozomları, yeni terapiler ve tedaviler oluşturmak amacıyla proteinleri, ilaçları, siRNA'ları, miRNA'ları ve CRISPR/Cas9 moleküllerini taşımak için birçok çalışmada daha önce kullanılmıştır. Bununla birlikte, insan eksozomlarının ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılmasına ilişkin birçok kısıtlama oluşmuştur. İn vitro olarak üretilen veya vücut sıvılarından izole edilebilen insan eksozomlarının zor ulaşılabilir olması çalışmalar için güçlük oluşturmaktadır. Elde edilen memeli eksozomlarının bilimsel çalışmalarda kullanılması etik açıdan değerlendirildiğinde çalışılması daha güç bir materyal olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durumun ana sebeplerinden birisi immün yanıt oluşturma eğilimidir. Ayrıca memeli eksozomlarının saf olarak elde edilme süreci, üretim maliyeti, klinik ortamlardaki kullanışlılığı ve de biyouyumluluğu da tartışılan dezavantajlar arasındadır.

Günümüzde yapılan çalışmalarda pEV'ler, memeli hücre kaynaklı veziküllerin teknik sınırlamalarını aşmayı mümkün kılarak, bunlara alternatif olma potansiyelleri açısından araştırılmaktadır. Geniş ölçekli üretilebilirlikleri açısından değerlendirildiğinde, pEV'ler hastalık tedavisinde ve çeşitli dozajları uygulayabilen ilaç taşıyıcı sistemler (DDS) geliştirilmesinde fizyolojik, kimyasal ve biyolojik özellikleri sayesinde büyük bir uygulama potansiyeline sahiptir (Rome, 2019; Yang vd., 2018; M. Zhang, E. Viennois, C. Xu, vd., 2016). Örneğin, Wang ve arkadaşları, ilk kez terapötik ajanları beyin tümörlerine ulaştırmak amacıyla çok işlevli pEV'leri nano-vektörler olarak geliştirmişlerdir (Wang vd., 2013). pEV'lerin, in vivo ortamda belirli dokularda biriktiğini ve yüksek nanovektör stabilitesi sayesinde periferik kanda uzun süre dolaşımda kaldığını göstermişlerdir. Nanoteknoloji temelli ilaç geliştirme, cazip bir strateji hâline gelmiştir; dolayısıyla pEV temelli tedavilerin, kanserler, inflamasyonlar ve bağışıklıkla ilişkili hastalıkların tedavisinde umut vadeden bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

Genel olarak Üzüm (Ju vd., 2013), Greyfurt (B. Wang vd., 2014; Wang vd., 2015), Zencefil (Brahmbhatt vd., 2013), Limon (Raimondo vd., 2015), Brokoli (Deng vd., 2017), Havuç (Mu vd., 2014), Hindistan Cevizi (Zhao vd., 2018), Sarımsak (Yu vd., 2025), Elma (Fujita vd., 2018) gibi yenilebilir bitkiler tarafından salgılanan doğal nanoveziküller olan pEV'ler, kaynak bitkilerde bulunan doğal biyokimyasallar sayesinde belirgin terapötik faydalar sunmaktadır. Çizelge 2.2'de pEV'lere yönelik yapılan çalışmaların ve terapötik etkilerinin bir özeti sunulmaktadır. pEV'ler ve taşıdıkları bitki kaynaklı kimyasallar, fizyolojik ve patolojik süreçler üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Birçok farklı çalışmanın ilgi odağı bitkilerden biri olan zencefil, eksozom çalışmalarında da büyük bir ivme kazanmıştır. GDEN'lerin içerdikleri kargonun, tümör hücre proliferasyonunu ve inflamatuvar bağırsak hastalığını (IBD) baskılamada ve doku hasarından sonra mikrobiyotayı hedefleyerek düzenlemek ve normale döndürmek yoluyla etkili olduğu kanıtlanmıştır (Li vd., 2018; Teng vd., 2018; M. Zhang, E. Viennois, M. Prasad, vd., 2016; Zhang vd., 2017). Ayrıca, pEV'lerin uygulanmasıyla ilişkili herhangi bir inflamasyon veya toksisiteye dair bir kanıt bulunmamaktadır ve bu nedenle, kopolimer bazlı nanoveziküller, metal bazlı nanoveziküller (altın/gümüş) ve karbon bazlı nanoveziküller gibi yapay nanotaşıyıcılardan daha güvenli kabul edilmektedirler (Nelemans ve Gurevich, 2020; Wolfram vd., 2015; Zhou vd., 2019)

Büyük miktarlarda üretilebilen ucuz yenilebilir bitkiler, toksisiteye neden olmadan ve aynı zamanda yüklerini bir hücreden diğerine aktarırken stabilitelerini koruyarak hücreler arası iletişimde kilit bir rol oynamaktadır. Doğuştan biyouyumlulukları, belirli hücreleri hedefleme yetenekleri ve terapötik kimyasalları kapsülleme ve koruma yetenekleri nedeniyle kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Üretim kolaylığı ve de üretim seviyesi açısından oldukça avantaj sağlayan biyolojik, kimyasal ve de fizyolojik uygunlukları sayesinde nano-taşıyıcı moleküller olmanın yanında biyobelirteç olarak kullanılabilme ve diagnostik çalışmalarda da öncü olabilme potansiyellerini de ortaya koymuşlardır. pEVler biyolojik olarak uyumludur ve hayvanlardan elde edilen sentetik nanoveziküllere veya eksozomlara göre bir bağışıklık tepkisini tetikleme olasılığı daha düşüktür. Bitkilerden elde edilen eksozom benzeri nanoveziküller flavonoidler, proteinler ve RNA'lar dahil olmak üzere anti-inflamatuvar ve anti-kanser özelliklerine sahip önemli miktarda biyolojik olarak aktif materyal içerirler. Bu veziküllerin en önemli avantajlarından biri, insan

hücreleri tarafından iyi tolere edilmeleri ve genellikle toksik olmamalarıdır. Ayrıca, çeşitli farmakolojik özellikler gösteren bitki metabolitlerini içermeleri, onları doğal terapötik ajanlar olarak önemli kılmaktadır. Kolayca bulunabilen bitki kaynaklarından büyük miktarlarda yapılabildiklerinden, uygun maliyetli bir alternatiftirler. Bu özellikler bu nanoveziküllerin ticari kullanılabilirliğini artırmaktadır. Bitkisel nanoveziküllerin doğrudan bitki hücrelerinden elde ediliyor olması, hayvan haklarına duyarlı tüketiciler için de ideal bir seçenek haline gelmektedir. Son yıllarda vegan içerikli ürünlere yönelik talebin artması, özellikle kozmetik endüstrisinde önemli bir değişime yol açmıştır ve birçok tüketici, hayvanlar üzerinde test yapılmamış ve hayvansal bileşenler içermeyen ürünlere yönelmektedir. pEV'ler vegan içerik taleplerini karşılayarak hem etik hem de çevresel açıdan daha sürdürülebilir bir seçenek olmaktadır. Biyouyumlulukları, düşük toksisite, biyoaktif bileşen taşıma kapasiteleri ve ekonomik üretim avantajları ile pEV'ler, gelecekte hem tıbbi hem de kozmetik sektörlerinde daha yaygın olarak kullanılma potansiyelini ortaya koymaktadır.

Yukarıda özetlenen literatür bulguları doğrultusunda, bitki ve hayvan kaynaklı eksozomların benzer yapısal özellikler taşımasına karşın, bitki kaynaklı eksozom benzeri veziküllerin translasyonel biyomedikal uygulamalarda daha avantajlı bir profil sunduğu görülmektedir. pEV'ler; düşük immünojenite, yüksek biyostabilite, toksik olmama ve maliyet etkinliği gibi temel özellikleriyle dikkat çekmektedir (X. Chen vd., 2019; Teng vd., 2018; Wang vd., 2023). Ayrıca bitkisel kökenleri nedeniyle etik açıdan sürdürülebilir olmaları ve sekonder metabolitlerce zengin içerikleri, bu yapıları yalnızca biyolojik taşıyıcılar değil, aynı zamanda terapötik etkiye sahip biyoaktif sistemler hâline getirmektedir (Kim, Jang, Kim, vd., 2023). Bu özellikler, pEV'leri yara iyileşmesi, antimikrobiyal savunma ve antioksidan yaklaşımlar gibi biyomedikal alanlarda umut vadeden yeni nesil biyoterapötik ajanlar olarak konumlandırmaktadır. Hayvan ve bitki kaynaklı eksozomların başlıca benzerlik ve farklılıklarını özetleyen karşılaştırmalı nitelikler Çizelge 2.3'te verilmiştir.

Çizelge 2.2 PEV'lerin terapötik etkileri

Bitki	Boyut (nm)	Eksozomal İçerik	In vivo Etkinlik	Referans Çalışma
Üzüm	200–800 (380.5)	miRNA, proteinler, lipidler (PA, PE, PC)	DSS kaynaklı kolit semptomlarının azaltılması, bağırsak kök hücrelerinin korunması, bağırsak dokusunda iyileşme	(Ju vd., 2013)
Greyfurt	50–800 (253.7); 105.7–396.1 (210.8)	miRNA, proteinler, metabolitler (naringin, naringenin), lipidler	Tümör büyümesinin baskılanması, inflamasyonun azalması, DSS kaynaklı kolit modelinde vücut ağırlığı kaybının önlenmesi	(Wang vd., 2014) (Wang vd., 2013)
Limon	50–70	miRNA, proteinler, lipidler	Tümör büyümesinin inhibisyonu, lösemi hücrelerinin proliferasyonunun azaltılması	(Raimondo vd., 2015)
Brokoli	18.3–118.2 (32.4)	miRNA, proteinler, lipidler	Kolit semptomlarının azalması, bağırsak mukozasında iyileşme	(Deng vd., 2017)
Elma	100–200 (170)	miRNA, proteinler, metabolitler (flavonoidler, furanokumarinler)	OATP2B1 ekspresyonunun artırılması, bağırsak fonksiyonlarının düzenlenmesi	(Fujita vd., 2018)
Zencefil	70–500 (202.3); 100–400 (188.5); 100–300; 100–500 (206.8); 232.7; 102.3–398.3 (294.1)	miRNA, proteinler, lipidler; siRNA; metabolitler (gingerol, shogaol)	Tümör büyümesinin baskılanması, inflamasyonun azaltılması, bağışıklık yanıtının modülasyonu, karaciğer hasarına karşı koruma	(Fujita vd., 2018) (Zhang vd., 2016) (Zhang vd., 2017) (Li vd., 2018) (Teng vd., 2018) (Wang vd., 2019) (Zhuang vd., 2015)

Çizelge 2.3 Memeli kaynaklı eksozomların ve bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin karşılaştırılması

Özellik	Memeli Kaynaklı Eksozomlar	Bitki Kaynaklı Eksozom Benzeri Nanoveziküller
Kaynak	Hücre kültürleri, serum, süt, idrar, hücre süspansiyonları	Meyve, sebze, yaprak, kök, tohum ve hücre süspansiyonları
Biyogüvenlik	Potansiyel zoonotik bulaş ve immünojenik riskler taşıyabilir	Doğal, toksik olmayan ve immün sistem tarafından iyi tolere edilir
Etik/Üretim Maliyeti	Hücre kültürü veya hayvan kullanımı gerektirir; yüksek maliyetli	Bitkilerden büyük miktarda kolayca izole edilir; düşük maliyetli ve etik açıdan avantajlı
İzolasyon Kolaylığı	Hücre kültürü ortamına bağlı, karmaşık saflaştırma adımları gerektirir	Basit ekstraksiyon ve ultrafiltrasyon yöntemleriyle yüksek verim alınabilir
İçerik (Kargo)	Protein, lipit, miRNA ve DNA taşır; genellikle tür spesifik	Sekonder metabolitler, miRNA, antioksidan ve antimikrobiyal bileşikler içerir; türler arası etkileşime uygundur
Biyolojik Stabiliye	pH ve sıcaklık değişimlerine duyarlı; kısa raf ömrü	Asidik ortama dayanıklı; mide asidine karşı stabil; uzun süreli depolanabilir
Hedefleme Kapasitesi	Genetik mühendisliği ile artırılabilir; doğal hedefleme sınırlı	Doğal hedefleme özelliği yüksek; intestinal bariyeri geçebilme kapasitesi kanıtlanmıştır
Taşıma Sistemi Olarak Kullanımı	Klinik düzeyde araştırmalar mevcut ancak üretim zorluğu sınırlayıcı	Geniş spektrumlu taşıyıcı potansiyeli; ilaç, RNA veya fitokimyasal yükleme için ideal
Ekolojik Sürdürülebilirlik	Hücre kültürü atıkları ve enerji tüketimi yüksek	Yenilenebilir, çevre dostu ve sürdürülebilir üretim döngüsüne sahip
Uygulama Alanları	Kanser, nörodejeneratif hastalıklar, doku rejenerasyonu	Yara iyileşmesi, antimikrobiyal tedaviler, antioksidan ve anti-aging uygulamalar

2.2 Atkuyruğu (*Equisetum arvense*)

Atkuyruğu bitkisinin sindirim, solunum ve idrar yolu rahatsızlıkları gibi yaygın rahatsızlıkların tedavisinde kullanımı oldukça eskiye dayanmaktadır. Atkuyruğu bitkisi sahip olduğu güçlü antioksidan içerikler, anti-inflamatuvar etkiler ve antibakteriyel özellikleri ile birçok tedavi yöntemi açısından güçlü bir içerik ile öne çıkmaktadır (Carneiro vd., 2019). Günümüzde, bitkisel içeriklerle tedavi geliştirmeye yönelik çalışan araştırmacılar, tıbbi inovasyonların sürdürülebilirliği ve güvenilirliği için özellikle tıbbi bitkiler başta olmak üzere doğal kaynaklardan tedavi ve ilaç geliştirmeye odaklanmışlardır. Doğal içeriklerin tıbbi çalışmalarda kullanımı, DSÖ'nün küresel tıbbi durumları yönetmek için önermiş olduğu yenilikçi stratejilerden biri olarak da karşımıza çıkmaktadır (Luanda vd., 2023).

2.2.1 Botanik özellikler

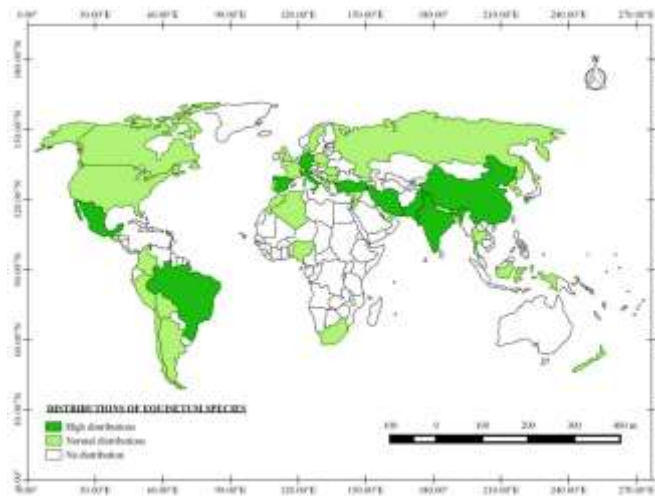
Atkuyruğu bitkisi bilinen diğer adı ile Kırkkilit otu bitki dünyasında damarlı bitkiler (*Tracheophytes*) arasında yer alan bir türdür. Eşeyli eğretiler (*Polypodiophyta*) sınıfına, *Equisetidae* alt sınıfına ve *Equisetales* takımına dâhildir. *Equisetaceae* familyasına bağlı olan bu bitki, *Equisetum* cinsi içinde, *E. subg. Equisetum* alt cinsine ait bir türdür. Atkuyruğu iki farklı tipte gövdeye sahip çok yıllık bir bitkidir. Bunlardan ilki, steril ve fotosentetik özellikler gösteren yeşil, dallı ve de içi boş olan yapıdaki gövdelerdir. Diğeri ise fotosentetik özellikler barındırmayan, daha çok üremeye yönelik yapıda olan sporlu gövdelerdir. İlkbaharda gelişmiş olan yeşil fotosentetik gövdeleri, yaklaşık olarak yaz aylarından ilk don zamanına kadar canlılığını koruyabilmektedir. Ardından ortaya çıkan üreme gövdeleri ise fotosentetik gövdelere kıyasla genellikle kahverengi renkte olup, daha kısa boylu, dallanmamış ve stomalardan yoksundur. Bu yapılar yaklaşık olarak 10 ila 25 cm uzunluğundadır, üzerleri pullu kahverengi yapraklar ile kaplıdır ve uç kısımlarında da spor üretimini sağlayan bir apikal spor konisi (strobilus) taşımaktadırlar (Şekil 2.4), (Parameshwaran vd., 2022). Atkuyruğu tarım alanlarında yaygın biçimde bulunur. Özellikle derin kök sistemine ve rizomlar (köksaplar) aracılığıyla vejetatif üreme kapasitesine sahip olması, bu türün eradikasyonunu güçleştirmektedir. Ayrıca ekstrem koşullarda (soğuk, gölge ve don gibi) gösterdiği

yüksek toleransa ile atkuyruğu bitkisinin yabancı ot olarak da sınıflandırılmaktadır (Filipov ve Chiorescu, 2021).



Şekil 2.4 Atkuyruğu bitkisinin yaprak görünümü (Photohound, 2012, Wikimedia Commons)

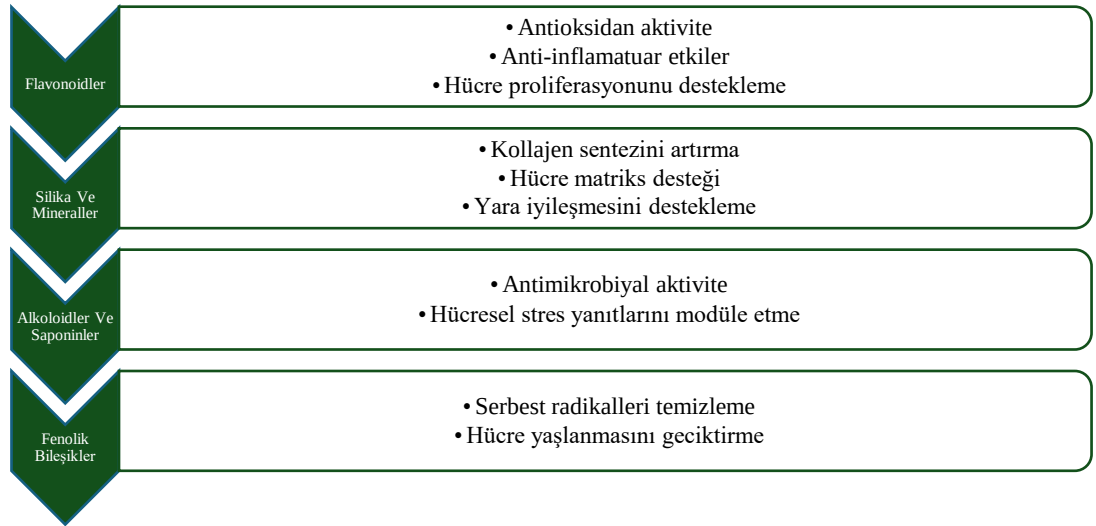
Atkuyruğu bitkisi, özellikle Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya olmak üzere kuzey yarımkürede oldukça yaygın olarak yetişen bir bitkidir (Makia vd., 2022). Yaygın olarak; Hindistan, Japonya, İtalya, Almanya, Fransa, Amerika Birleşik Devletleri, Çin, Rusya, Afganistan, Yunanistan, Pakistan, Ukrayna, Kolombiya, İsveç, Portekiz, Avusturya, Bulgaristan ve Türkiye dahil olmak üzere kuzey yarımkürede bulunan hemen hemen tüm ülkelerde doğal olarak yetişmektedir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Atkuyruğu bitkisinin dünya genelinde yayılımı

2.2.2 Kimyasal içerik

Atkuyruğu bitkisi, alkaloidler, terpenoidler, flavonoidler, steroller, fenoller, fitosteroller, tanenler ve saponinler gibi oldukça çeşitli fitokimyasal sınıfları içermektedir (Şekil 2.6) (Dormousoglou vd., 2022; Makia vd., 2022; Sandhu vd., 2010). Bu içeriklere ek olarak; proteinler, karbonhidratlar, amino asitler (Makia vd., 2022), eser elementler ve mineraller (sodyum, potasyum, stronsiyum, kalsiyum, magnezyum, demir, fosfor, bakır, çinko, titanyum, manganez ve silikon) ve de B1, B2, B6, C, E, K vitaminleri de dahil olmak üzere besin bileşenleri açısından da oldukça zengin bir bitki olduğu bilinmektedir (Oniszcuk vd., 2014).



Şekil 2.6 Atkuyruğu bitkisinin sahip olduğu içerikler ve bilinen biyolojik fonksiyonları

2.2.3 Biyolojik aktiviteler ve geleneksel kullanım alanları

Atkuyruğu bitkisi, geleneksel ve modern tıpta kullanımı açısından incelendiğinde, ve zengin içeriği göz önünde bulundurulduğunda; yanık tedavisinden kardiyovasküler hastalıklara, karaciğer ve böbrek rahatsızlıklarından ülser ve yara iyileşmesine kadar birçok alanda terapötik olarak oldukça yüksek aktiviteye sahiptir. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda HIV kaynaklı sitopati, kemik ile ilişkili rahatsızlıklar, kanser çalışmaları, tüberküloz, kırılğan tırnaklar, kanamaların durdurulması, hipertansiyon, sistit, çocuklarda

enürezis, üretrit, hemorajiler, hepatit, diyabet ve sarılık gibi çeşitli sağlık sorunlarının da destekleyici tedavisinde de kullanılabilirliğini göstermektedir. Bu geniş farmakolojik ve terapötik etki yelpazesi ile atkuyruğu bitkisinin içerdiği biyoaktif bileşiklerin yenilikçi tedavilerde kullanımı ve ilaç geliştirme süreçlerinde potansiyeli kanıtlanmıştır (Badole ve Kotwal, 2015; Carneiro vd., 2019; Makia vd., 2022; Oh vd., 2004; Parameshwaran vd., 2022), (Schlappack vd., 2022; Schoendorfer vd., 2018; Zia ur vd., 2022).

Atkuyruğu bitkisinin sahip olduğu içerikler göz önünde bulundurulduğunda, öne çıkan farmakolojik etkiler arasında antibakteriyel aktivitesi yer almaktadır. Özellikle de günümüzde antibiyotik direncinin giderek artması ile birlikte, doğal içeriklerin antimikrobiyal potansiyeli ilgi çeken bir konu haline gelmiştir (Dadgostar, 2019). Atkuyruğu bitkisinin metil ve etil alkol ekstraktları ile yapılan bir çalışmada, hastaların ağız boşluğundan izole edilmiş olan ve antibiyotik dirençli olduğu bilinen bakteriler üzerinde atkuyruğu bitkisinin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır (Kryvtsova vd., 2021). Çalışmanın sonucunda, her iki ekstrenin de (özellikle *Staphylococcus aureus* gibi Gram-pozitif bakterilerde) biyofilm oluşumunu oldukça anlamlı düzeyde azaltmış olduğu ve de düşük konsantrasyonlarında dahil etki potansiyeli olduğunu kanıtlanmıştır. Disk difüzyon ve minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) yöntemleri ile yapılmış olan değerlendirmelerde ise, %70 sulu etanolik gövde ekstresinin, özellikle *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* ve *S. aureus* gibi patojenler üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğu saptanmıştır (Pallag vd., 2018). Buna ek olarak n-bütanolik ve etil asetat ekstraktlarının de benzer şekilde *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* gibi dirençli suşlara karşı oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (Čanadanović-Brunet vd., 2009). Bu bağlamda atkuyruğu bitkisinin gösterdiği antimikrobiyal özelliklerin, sahip olduğu biyoaktif bileşiklerin bakteri hücre duvarı ve sitoplazmik zar yapısı ile etkileşime girerek bakteriyel büyümeyi inhibe etmesi veya direnç mekanizmalarını aşması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Abed vd., 2020), (Vaou vd., 2021).

2.3 Lavanta (*Lavandula angustifolia*)

Lavanta, uzun zamandır hem geleneksel tıpta hem de aromaterapide kullanılmış, sakinleştirici ve yatıştırıcı özellikleri ile bilinen oldukça önemli bir tıbbi bitkidir. Sahip

olduğu içerikler ile; özellikle sinir sistemi, cilt hastalıkları, solunum ve sindirim sistemi ile ilişkili çeşitli rahatsızlıkların destekleyici tedavisinde kullanılmaktadır (Cavanagh ve Wilkinson, 2002; Lis-Balchin ve Hart, 1999; Perry ve Perry, 2006). Lavanta esansiyel yağı başta olmak üzere bitkisel ekstraktları, anksiyete, depresyon, uykusuzluk, ağrı, baş ağrısı ve sindirim sorunları gibi birçok durumda etkili bulunmuştur (Kasper, 2013; Lis-Balchin ve Hart, 1999; Woelk ve Schläpke, 2010). Özellikle linalool ve linalil asetat gibi uçucu bileşenler sayesinde, lavanta yağı sakinleştirici, antimikrobiyal, anti-inflamatuvar ve analjezik etkiler göstermektedir (Koulivand vd., 2013; Peana vd., 2002; Prashar vd., 2004). Günümüzde araştırmacılar, çevre haklarına duyarlı, sürdürülebilir ve etkili terapötik ajanlar geliştirme amacıyla, özellikle tıbbi bitkilerden elde edilen doğal ürünlere yönelmektedir. Lavanta gibi tıbbi etkileri kuvvetli olduğu bildirilen bitkiler, içerdikleri biyoaktif bileşikler sayesinde geniş farmakolojik etkilere sahiptir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), geleneksel tıbbın modern tedaviye entegre edilmesini desteklemekte ve bu kapsamda doğal ürünlerin kullanımını da teşvik etmektedir WHO (2013).

2.3.1 Botanik özellikler

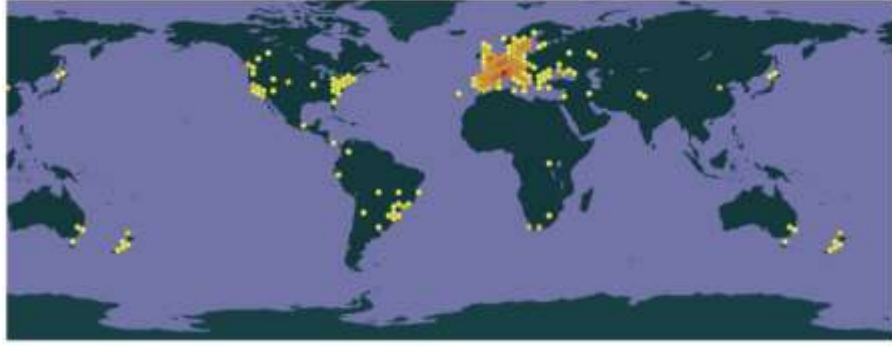
İngiliz lavantası (*Lavandula angustifolia*) damarlı bitkiler (*Tracheophytes*) arasında sınıflandırılan bir çiçekli bitkidir (*Angiosperms*). Bu tür, gerçek çiçekliler (*Eudicots*) ve asterid grubu (*Asterids*) içinde yer alır. *Lamiales* takımına bağlı olan bitki, *Lamiaceae* familyasının *Lavandula* cinsine ait bir türdür. “Lavanta” adı, Latince’de “yıkamak” anlamına gelen *lavo* kelimesinden türemiştir; bu durum bitkinin tarihsel olarak temizlik ve hijyen amacıyla kullanımına işaret etmektedir. İngiliz lavantası olarak bilinen *L. angustifolia*, Haziran–Ağustos ayları arasında çiçeklenen, hoş kokulu pembemsi-mor çiçeklere sahip çok yıllık otsu bir türdür (Şekil 2.7). Kare kesitli gövde yapısı, gri-yeşil renkte aromatik yaprakları ve yumuşak tüylerle kaplı çalimsı görünümü ile karakterizedir. Yaklaşık 45 cm’ye kadar boylanabilen bitkide, uzun ve sivri uçlu yapraklar ile 6–10 tübüler çiçekten oluşan başak tipi salkımlar dikkat çeker. Çiçek kaliksi beş dişli olup genç dönemde beyaz, olgunlaştıkça ise yeşile dönen yapısıyla tanımlanır; ayrıca bazı varyetelerde oval-eşkenar dörtgen biçimli ve brakteolleri bulunmayan ya da 2,5 mm’ye kadar büyüeyebilen brakteler görülebilir (McCoy ve Davis, 2021; Tucker ve Hensen, 1985).

İngiliz lavantası, iyi drene edilmiş alkali topraklarda, kuru ile orta nemli koşullarda ve tam güneş altında en iyi gelişimi gösterir. Aşırı nem kök çürümesine neden olduğundan bu tür için drenaj büyük önem taşımaktadır. Organik madde açısından fakir substratları tolere edebilmesi, bitkinin farklı ekolojik koşullara uyum sağlayabilmesine olanak verir. Yüksek kaliteli uçucu yağ üretimi nedeniyle ekonomik açıdan değerli olan *L. angustifolia*, kısa çiçek saplarına ve küçük çiçeklere sahip olması sebebiyle diğer lavanta türlerine kıyasla daha düşük çiçek ve yağ verimine sahiptir (Wells vd., 2018).



Şekil 2.7 Tıbbi lavanta bitkisinin çiçeklenme dönemindeki görünümü (Bresson, 2012, Wikimedia Commons)

Doğal olarak Batı Akdeniz'in dağlık bölgelerinde yayılış göstermektedir (McCoy ve Davis, 2021). Türün dağılımı; Venezuela, Avusturya, Doğu Ege Adaları, Kırım, İtalya, İspanya, Fransa, Bulgaristan ve Batı Himalayalar gibi geniş bir coğrafyayı kapsamaktadır. Günümüzde ticari amaçla yetiştiriciliği özellikle Bulgaristan, Fransa, İspanya, Portekiz, Birleşik Krallık, Avustralya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın olarak yapılmaktadır (Wells vd., 2018). Bununla birlikte, herhangi bir ekolojik ya da ekonomik etkisine dair kesin kanıt bulunmaksızın Amerika Birleşik Devletleri, Belçika, Avustralya, Danimarka, Hindistan, Çekya, Norveç, Slovenya, Yunanistan, Kıbrıs ve İsviçre dahil olmak üzere toplam 11 ülke veya adaya sonradan götürüldüğü kaydedilmiştir (Şekil 2.8).

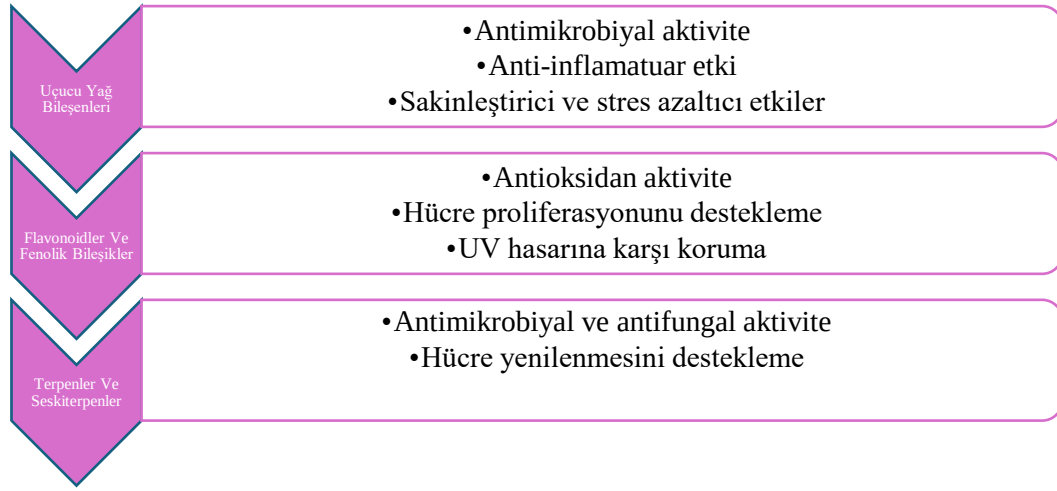


Şekil 2.8 Lavanta bitkisinin dünya genelinde yayılımı

2.3.2 Kimyasal içerik

Linalil asetat, lavanta esansiyel yağının %40'ına kadarını oluşturur ve tatlı bir koku veren antimikrobiyal bir esterdir. Lavanta esansiyel yağı ayrıca, antimikrobiyal bileşenler içeren ve insanlar için zararsız olan bir terpen alkolü olan linalool içerir (McCoy ve Davis, 2021). İngiliz lavantası ayrıca 1,8-sineol, terpinen-4-ol, beta-osimene ve kafur içerir (Cavanagh ve Wilkinson, 2002). Lavanta esansiyel yağı, başta linalool (%20–45) ve linalil asetat (%25–46) olmak üzere, 1,8-sineol, terpinen-4-ol, borneol, α -terpineol, α -pinen ve β -pinen gibi monoterpenoid bileşenler açısından zengindir. Bu bileşenler, lavantanın antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklerini belirleyen temel unsurlardır. Ayrıca, lavanta bitkisinin çiçek ve yaprakları flavonoidler, tanenler ve fenolik asitler gibi fitokimyasallar içermektedir.

Lavanta türleri, çevresel ve gelişimsel faktörlere bağlı olarak bileşiminde 50'den fazla monoterpen ve seskiterpen barındırır; bu uçucu bileşenler bitkinin savunma mekanizmasında rol alarak otçul organizmalara karşı koruma sağlar ve allelopatik etkileriyle çevredeki bitkilerin büyümesini baskılayabilir (Şekil 2.9), (Hassiotis vd., 2014).



Şekil 2.9 Lavanta bitkisinin sahip olduğu içerikler ve bilinen biyolojik fonksiyonları

2.3.3 Biyolojik aktiviteler ve geleneksel kullanım alanları

Lavanta, yüzyıllardır geleneksel tıpta çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Antiseptik ve yatıştırıcı özellikleri sayesinde yanık tedavisinde, cilt enfeksiyonlarında ve sinirsel rahatsızlıklarda tercih edilmiştir. Modern araştırmalar, lavanta esansiyel yağının antibakteriyel, antifungal, anti-inflamatuar, antioksidan ve sedatif etkilerini doğrulamaktadır.

Özellikle *Lavandula angustifolia* türü, stres, anksiyete ve uykusuzluk gibi sinir sistemi bozukluklarının tedavisinde etkili bulunmuştur. Ayrıca, lavanta yağı, ciltteki serbest radikallerle savaşarak yaşlanma karşıtı etkiler gösterir ve yara iyileşmesini hızlandırır (Dobros vd., 2023) .

Yapılan çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalar, lavanta'nın hem merkezi sinir sistemi üzerinde sedatif ve anksiyolitik etkiler gösterdiğini hem de antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiğini ortaya koymuştur (de Rapper vd., 2016; Sarkic ve Stappen, 2018). Avrupa İlaç Ajansı (EMA), lavanta'nın hafif stres semptomları ve uyku bozuklukları için geleneksel bitkisel ilaç olarak kullanılabileceğini onaylamıştır (Mori vd., 2016). Lavanta ayrıca topikal uygulamalarda yara iyileştirici, antiseptik ve

antimikrobiyal etkileri nedeniyle kozmetik ve dermatolojik ürünlerde yaygın olarak yer almaktadır (Arzi vd., 2011; Woelk ve Schläpke, 2010). Geleneksel kullanımı dışında, modern fitoterapi uygulamalarında da lavanta esansı ya da ekstraktı, farmasötik preparatlara dahil edilerek hem oral hem de dermal kullanım için formüle edilmektedir (Costa vd., 2011; de Rapper vd., 2016; Hardy vd., 2018).

Lavanta esansiyel yağı, özellikle Gram-pozitif bakterilere karşı güçlü antibakteriyel etkilere sahiptir. Metisiline dirençli *S. aureus* suşlarına karşı yapılan çalışmalarda, lavanta yağının bakteriyel büyümeyi inhibe ettiği ve sinerjik etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri, lavanta yağının *E. coli* ve *P. aeruginosa* gibi Gram-negatif bakterilere karşı da etkili olduğunu göstermektedir. Bu etkiler, lavanta yağının hücre zarını bozarak bakteriyel hücre ölümüne neden olmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Lavanta uçucu yağı, tarih boyunca aromaterapide yaygın olarak kullanılan ve düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle tıbbi amaçlarla da tercih edilen bir bitkisel üründür. (Buckle, 2003; Cavanagh ve Wilkinson, 2002). De Rapper vd. tarafından gerçekleştirilen çalışmada (2012) lavanta yağı, farklı etki mekanizmalarına sahip dört konvansiyonel antimikrobiyal ajan (kloramfenikol, siprofloksasin, nistatin ve fusidik asit) ile kombinasyon halinde test edilmiş ve bu kombinasyonların *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* gibi patojenler üzerindeki etkinlikleri minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) yöntemiyle değerlendirilmiştir (De Rapper vd., 2012). GC-MS analizleri sonucunda lavanta yağının ana kimyasal bileşenleri linalil asetat (%36.7), linalool (%31.4) ve terpinen-4-ol (%14.9) olarak belirlenmiş, bu bileşiklerin antimikrobiyal etkilerde rol oynadığı tespit edilmiştir (Behnam vd., 2006; Daferera vd., 2000; Roller vd., 2009; Soković vd., 2010). Yağın tek başına kullanımı da etkili bulunmuş, özellikle *C. albicans*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerinde sırasıyla 3.00, 2.00 ve 2.00 mg/mL MIC değerlerine ulaşılmıştır. Kombinasyon sonuçlarında ise, lavanta yağı ile kloramfenikolün *P. aeruginosa* üzerinde güçlü bir sinerji oluşturduğu (Σ FIC = 0.29), siprofloksasin ile *S. aureus* üzerinde sinerjik etki sağladığı (Σ FIC = 0.49), fusidik asit ile de bazı oranlarda pozitif etkiler gözlemlendiği görülmüştür; ancak nistatin ile kombinasyonlarda genellikle etkisizlik ya da antagonizm gözlemlenmiştir. Genel olarak, lavanta yağının oranı arttıkça

sinerjik etkinin daha belirgin hale geldiği saptanmıştır. Bu bulgular, doğal ürünlerin bazı antibiyotiklerle birlikte kullanımının antimikrobiyal etkileri artırabileceğini ve özellikle protein sentezini hedefleyen ilaçlarla yapılan kombinasyonlarda umut verici sonuçlar ortaya koyduğunu göstermektedir (Carson vd., 2002; Hübsch vd., 2014; Lopez-Romero vd., 2015; Trombetta vd., 2005). Sonuç olarak, antibiyotik direncinin artmasıyla birlikte, lavanta yağı gibi doğal ajanların mevcut antimikrobiyal ilaçlarla sinerjik kullanımı, tedavi stratejilerinde alternatif ve etkili bir yaklaşım olarak düşünülebilmektedir (Arias ve Murray, 2009; Othman vd., 2011).

2.4 Yara iyileşmesi

Yara iyileşmesi, canlı organizmalarda dokuların bütünlüğünün bozulmasıyla başlayan karmaşık bir biyolojik yanıttır. Bu süreç, organizmanın hayatta kalması ve homeostazın yeniden sağlanması açısından temel bir savunma ve onarım mekanizması olarak kabul edilir. Fizyolojik olarak oldukça düzenli işleyen bu yanıt; hemostaz, inflamasyon, hücre proliferasyonu ve yeniden yapılanma gibi birbirini izleyen ancak kısmen örtüşen olaylardan oluşur. Yaranın kapatılması yalnızca doku bütünlüğünün yeniden sağlanması anlamına gelmez; aynı zamanda hücre dışı matriksin, büyüme faktörlerinin ve immün sistem bileşenlerinin senkronize bir şekilde etkileşime girdiği dinamik bir rejenerasyon sürecini ifade eder. Yaralanma sonrası başlayan hemostaz fazında damarlar daralır, trombositler aktive olur ve fibrin ağı oluşturarak hem kanamayı durdurur hem de hücre göçü için geçici bir matriks sağlar (Gurtner vd., 2008). Bunu izleyen enflamasyon fazında nötrofiller ve makrofajlar yara bölgesine göç ederek patojen ve doku artıklarını temizler, aynı zamanda PDGF ve VEGF gibi büyüme faktörleri salgılayarak proliferatif fazın başlamasını tetikler (Eming vd., 2014). Proliferatif fazda fibroblastlar ve endotelial hücreler yoğun şekilde çalışarak kolajen ve ekstraselüler matriks bileşenlerini sentezler, yeni damar oluşumu (anjiyogenez) ve epitel hücre göçü (re-epitelizasyon) ile granülasyon dokusu meydana gelir ve yara kenarları daralmaya başlar (Reinke ve Sorg, 2012), (Rodrigues vd., 2019). Remodeling (matürasyon olarak da ifade edilir) fazında ise Tip III kolajen yıkılarak yerine daha güçlü Tip I kolajen yerleşir, kolajen lifleri yeniden düzenlenir ve doku dayanıklılığı artar; bu süreç haftalar hatta aylar sürebilir ve çoğunlukla skar dokusu oluşumu ile sonlanır (Gurtner vd., 2008; Rodrigues vd., 2019). Son yıllarda

yapılan çalışmalar, iyileşme sürecinin hüresel bileşenler ve mikroçevre arasındaki dinamik etkileşimlere bağlı olduğunu, bağışıklık yanıtı ile doku rejenerasyonu arasındaki dengenin yara iyileşmesinin hızını ve kalitesini belirlediğini ortaya koymaktadır (Wilkinson ve Hardman, 2020).

2.4.1 Yara iyileşmesi sürecinde deri yapısının, keratinositlerin ve fibroblastların fonksiyonel onemi

İnsan derisi, vucudun dış yüzeyini kaplayan en büyük organdır ve organizmayı dış çevreye karşı koruyan ilk savunma hattıdır. Deri, patojenler, UV ışınları, kimyasallar ve fiziksel travmalar gibi zararlı etkenlere karşı bariyer görevi görürken; aynı zamanda vücut ısısının düzenlenmesi ve su kaybının kontrolü gibi yaşamsal fizyolojik işlevleri yerine getirir. Bu görevler, yapısal olarak üç ana katmanda yer alan özelleşmiş hücre grupları tarafından gerçekleştirilir: epidermis, dermis ve hipodermis.

En dış katman olan epidermis, %95 oranında keratinositlerden oluşur; geri kalan kısmını ise pigment üretici melanositler, dokuda yerleşik bağışıklık hücreleri olan Langerhans hücreleri, Merkel hücreleri ve T bellek hücreleri oluşturur (Yousef vd., 2025). Keratinositler yalnızca fiziksel bariyer oluşturmakla kalmaz; aynı zamanda epidermal su dengesini sağlayan lipidleri salgılar ve bağışıklık savunmasında görev alırlar. Bu hücreler, Toll-like reseptörler aracılığıyla patojenleri tanır, ardından IL-1 β , IL-8 ve CCL20 gibi inflamatuvar sitokin ve kemokinler salgılayarak bağışıklık hücrelerinin yara bölgesine yönlendirilmesini sağlar (Kennedy-Crispin vd., 2012; Kllisch vd., 2005; Medzhitov, 2001).

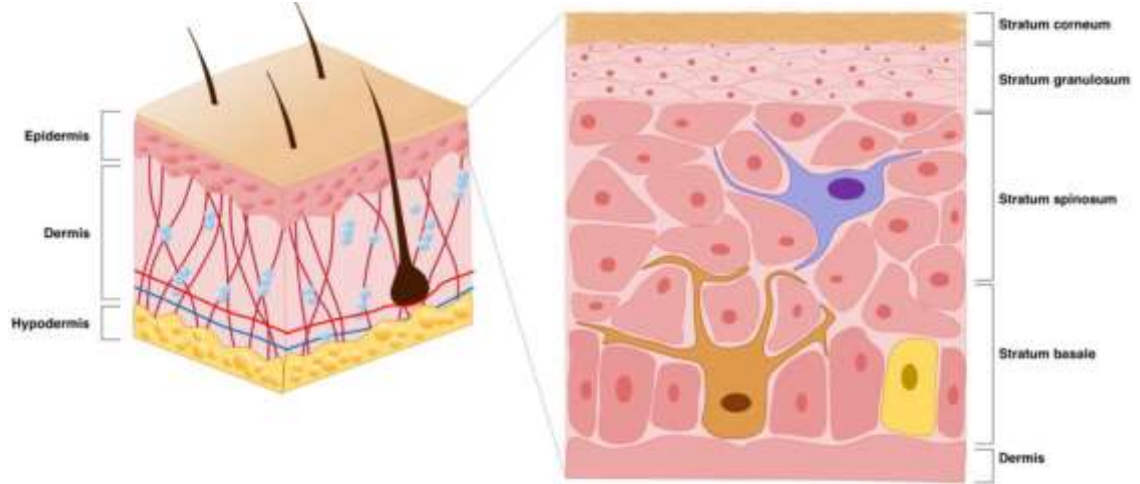
Epidermisin hemen altında yer alan dermis, papiller ve retiküler olmak üzere iki bağ dokusu katmanından oluşur. Papiller tabaka daha gevsk bağ dokudan oluşarak epidermis ile doğrudan temas halindedir; retiküler tabaka ise daha kalın, yoğun kolajen lifleri içeren bir yapıya sahiptir (Kennedy-Crispin vd., 2012; Kllisch vd., 2005; Medzhitov, 2001; Woodley, 2017; Yousef vd., 2025). Dermiste ter bezleri, kıl folikülleri, kas lifleri, duyu nöronları ve zengin bir damar ağı bulunur. Bu damar ağı, yalnızca epidermise ve eklentilerine besin ve oksijen taşımakla kalmaz; aynı zamanda yara sonrası inflamatuvar

hücrelerin (nötrofiller, lenfositler vb.) bölgeye göçünü sağlayarak bağışıklık yanıtında aktif rol oynar. Dermiste bulunan bağışıklık hücreleri arasında dendritik hücreler, makrofajlar, CD4⁺ ve CD8⁺ T bellek hücreleri, mast hücreleri ve Foxp3⁺ T düzenleyici hücreler yer alır ve bu hücreler genellikle kıl folikülleri çevresinde yoğunlaşır (Yousef vd., 2025).

Bu yapılar arasında dermiste en yaygın bulunan hücreler fibroblastlardır. Fibroblastlar; elastin, fibrillin, kolajen (özellikle tip I ve III) gibi ECM (ekstrasellüler matriks) proteinlerini ve çeşitli büyüme faktörlerini sentezleyerek dermisin mekanik dayanıklılığı, elastikiyeti ve bütünlüğünü sağlar (Cole vd., 2018). Ayrıca, bazal membran yapısında görev alan kolajen IV ve integrin $\alpha 6$ gibi moleküller, epidermis ve dermis arasında sağlam bir bağlantı oluşturarak cilt bütünlüğünün korunmasına katkı sunar (Yousef vd., 2025).

Derinin en alt katmanı olan hipodermis (subkutan doku), esas olarak yağ hücreleri (adipositler), mezenkimal kök hücreler (MSC'ler), kan ve lenf damarlarından oluşur (Gaur vd., 2017). Bu katman yalnızca enerji deposu değil; aynı zamanda hormon salgılayan ve bağışıklık sistemini etkileyen aktif bir dokudur. İçeriğinde adipositlerin yanı sıra fibroblast öncülleri (pre-adipositler) ve çok çeşitli bağışıklık hücreleri de yer alır (Mraz ve Haluzik, 2014). Ayrıca, hipodermiste yer alan mezenkimal kök hücreler (AdMSC'ler), büyüme faktörleri salgılayarak dermisin yenilenmesi ve doku bütünlüğünün sürdürülmesine katkı sağlar (S. X. Chen vd., 2019; Ezure ve Amano, 2007). Bu hücreler aynı zamanda doku homeostazının düzenlenmesi, inflamasyonun kontrolü, anjiyogenez ve metabolik süreçler (lipid metabolizması, insülin duyarlılığı) üzerinde de önemli etkilere sahiptir (Gaur vd., 2017; Jackson vd., 2011; Niu vd., 2015). Şekil 2.10' da insan derisinin yapısal detayları gösterilmektedir. Deri epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç ayrı katmandan oluşur. Epidermis, patojen istilasına karşı bir bariyer sağlar ve vücuttan atılan su miktarını düzenler. Epidermis, hücresel farklılaşmanın ve yenilenmenin düzenli olarak gerçekleştiği çok katmanlı bir yapıdır. En altta yer alan stratum basale, sürekli bölünen kök hücrelerden oluşur ve epidermisin yenilenmesini sağlar. Üzerindeki stratum spinosum, desmozomal bağlantılarla güçlendirilmiş keratinositlerden oluşarak dokuya dayanıklılık kazandırır. Stratum granulosum, keratohiyalin granülleri içeren hücreleriyle keratinleşmenin başladığı

tabakadır. En üstteki stratum corneum ise ölü, çekirdeksiz, yoğun keratinize hücrelerden meydana gelir ve dış etkenlere karşı koruyucu bir bariyer oluşturur (Brito vd., 2024).



Şekil 2.10 İnsan derisinin yapısal detayları (Brito vd., 2024).

Keratinositlerin (HaCaT hücreleri) ve Fibroblastların (HDF hücreleri) yara onarımındaki fonksiyonları: Yara iyileşmesi, cildin bariyer işlevinin yeniden sağlanmasını hedefleyen çok aşamalı ve hücreler arası etkileşime dayalı bir süreçtir. Bu süreç; iltihaplanma, yeni bağ dokusunun oluşumu, epitel kapanması ve skar dokusunun yeniden şekillenmesi gibi aşamalardan geçer. Özellikle iyileşmenin orta ve geç evrelerinde, keratinositler ile fibroblastlar arasında yoğun ve karşılıklı bir etkileşim gerçekleşir.

Keratinositler, yaralı bölgenin kenarlarında çoğalır ve göç ederek epitel tabakasını yeniden oluştururlar. Bu hücreler aynı zamanda yara ortamında fibroblastları uyararak, onların bağ dokusu üretimini ve çoğalmasını artıran çeşitli sinyaller salgılamalarını sağlar. Fibroblastlar, bu uyarılar doğrultusunda büyüme faktörleri ve kolajen gibi yapı taşlarını sentezleyerek iyileşmenin ilerlemesine katkıda bulunur. Bu karşılıklı etkileşim hem keratinositlerin davranışını düzenler hem de yeni doku oluşumunu destekler. Zamanla fibroblastlar, daha fazla kasılma yeteneğine sahip bir yapıya dönüşerek yara dokusunun daralmasına yardımcı olur. Bu dönüşüm; hücre dışı matristeki değişimler,

büyüme faktörleri ve mekanik gerilim gibi unsurlarla kontrol edilir. Bu süreçte, fibroblastların kas benzeri özellikler kazanması, yaranın daha hızlı kapanmasını sağlar. Ayrıca, keratinositler ve fibroblastlar birlikte çalışarak yaralı bölgedeki hücre dışı yapının yeniden oluşmasına katkı sağlar. Bu yapı, keratinositlerin yerleşimini ve farklılaşmasını etkileyerek sağlıklı bir epitel tabakasının oluşmasını mümkün kılar. Sonuç olarak, keratinosit ve fibroblastlar arasındaki etkileşimler yara iyileşmesinin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. Bu hücreler arası iletişim, iyileşmenin süresi, kalitesi ve yara izi oluşumu gibi klinik sonuçları doğrudan etkiler. Bu nedenle bu etkileşimlerin daha iyi anlaşılması, özellikle kronik yaralar veya aşırı skar oluşumu gibi durumlarda yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine olanak sağlayabilmektedir (Eming vd., 2014; Gurtner vd., 2008; Reinke ve Sorg, 2012; Werner vd., 2007; Wilkinson ve Hardman, 2020).

2.4.2 Yara iyileşme süreci ve aşamaları

Cilt bütünlüğünde yara iyileşmesi, yaralanmadan hemen sonra başlayan ve yıllarca sürebilen hücresel, humoral ve moleküler mekanizmaların dinamik ve oldukça düzenlenmiş bir sürecidir. Fonksiyon kaybıyla birlikte normal anatomik yapının her doku bozulması bir yara olarak tanımlanabilir. İntegumental yaralanmalar açık veya dış yaralar olarak tanımlanırken, iç veya kapalı yaralar hala sağlam bir cilt ile iç organların ve dokuların yaralanmalarını veya yırtılmalarını tanımlar. Bir cilt yarasının kapanması rejenerasyon veya onarım ile gerçekleştirilebilir. Cilt yarasının iyileşmesi, yalnızca hasarlı dokunun kapatılması değil, aynı zamanda hücreler arası iletişim ve sinyal yolları aracılığı ile işlevsel bütünlüğün yeniden kazanılması sürecidir. Rejenerasyon, bu sürecin ideal formunu temsil eder; doku, hasar öncesindeki formunu ve fonksiyonunu büyük ölçüde geri kazanır. Bu bağlamda yara iyileşmesi, çeşitli hücre tiplerinin eş zamanlı ve koordineli etkileşimi ile ilerleyen dinamik bir süreç olarak ortaya çıkar (PEYVANDI vd., 2012) (Golebiewska ve Poole, 2015). Hücrelerin, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin etkileşimi cildin kapanmasıyla sonuçlanır. Ancak hücreler ve araçlar arasındaki bu hassas denge bozulsa bile, son veriler bir hücre tipinin eksikliğinin veya bir aracının yokluğunun yara iyileşmesine dahil olan diğerleri tarafından telafi edilebileceğini ve böylece onarımın yine de gerçekleşebileceğini göstermektedir (Szpadarska vd., 2003).

Yara iyileşme süreci yapay olarak zaman ve mekanda örtüşen üç ila beş faza bölünebilir (Gaertner ve Massberg, 2016).

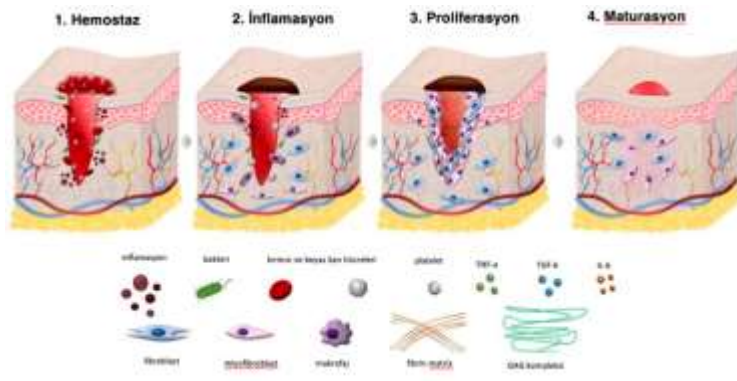
Genel olarak yara iyileşmesi, birbiri ile bağlantılı olan ancak birbirinden farklı üç biyolojik süreç aracılığıyla gerçekleşmektedir; bu aşamalar sırasıyla hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon ve remodelasyondur (Almadani vd., 2021; Wallace vd.; Wang, 2018). Bu evreler bütünü ile yara iyileşme sürecini kaskadını temsil etmektedir ve bu evrelerin herhangi birinde yaşanan yetersizlik, vücudun yara iyileştirme kapasitesini engelleyebilir. Hemostaz aşaması, deri bütünlüğüne zarar veren herhangi bir yaralanmanın hemen ardından başlamaktadır (Barrientos vd., 2008). Bu aşamada kan damarları daralırken, trombositler de açığa çıkan kollajenle temas ederek aktive olur ve granüllerini salgılar; bu durum devamında daha fazla trombosit aktivasyonuna ve agregasyonuna yol açmaktadır. Koagülasyon kaskadının aktivasyonu ile, bu süreç yara içinde geçici bir fibrin matriksinin oluşumuyla sonuçlanır (Furie ve Furie, 2008). Hemostaz sırasında trombosit aktivasyonunun bir sonucu olarak, nötrofillerin ve makrofajların kemotaksisini destekleyen transforman büyüme faktörü- β (TGF- β) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü de dahil olmak üzere çok sayıda sitokin salgılanır ve inflamatuvar faz başlatılır (Bevilacqua vd., 1985; Pohlman vd., 1986). Nötrofiller, akut olarak ortaya çıkan ilk hücreler arasındadır. Deneysel veriler, nötrofillerin yokluğunda yara iyileşmesinin ilerleyebileceğini öne sürerken, makrofajların bu faz ve genel yara iyileşmesi için kritik olduğu bulunmuştur (Simpson ve Ross, 1972; van Amerongen vd., 2007). Aktive monositlerden türeyen makrofajlar, fagositoya yardımcı olur ve fibroblast proliferasyonu, anjiyogenez ve keratinosit göçünü teşvik eden daha fazla sitokin ve büyüme faktörü üretir. Düzensiz yara makrofaj fonksiyonu, diyabetik yaralarda yara iyileşmesinin bozulmasıyla ilişkilendirilmiştir (Barman ve Koh, 2020).

İlk yaralanmayı takiben 2-3 gün içinde yeterli sayıda fibroblast yara bölgesine göç eder ve bu, iyileşmekte olan kutanöz yarada 3 haftaya kadar süren proliferatif fazın başlangıcını müjdeler. Fibroblastlar, bu fazda geçici matriks içine düzensiz kollajen, özellikle olgunlaşmamış tip III kollajenden zengin kollajen üretimiyle önemli bir rol oynar. Yara bölgesine göç eden fibroblastlar, çeşitli sitokinlerin etkisiyle miyofibroblasta

dönüşebilir; bu da artmış kollajen üretimi ve nihai yara kontraksiyonuna yol açar (Desmoulière vd., 1993; Finnson vd., 2020).

Yara iyileşme sürecinin modülasyonunda birçok sinyal yolunun rol oynadığı da bildirilmiştir; bunlar arasında angiotensin II ve TGF- β 'nin kanonik ve kanonik olmayan sinyal yolları da yer almaktadır (Finnson vd., 2020; Murphy vd., 2015).

Yara iyileşmesinin son remodelasyon fazında, granülasyon dokusu kalıcı skar dokusuyla yer değiştirir. Net kollajen üretimi 4-5 hafta boyunca aktif şekilde devam eder ve sonraki yıl boyunca tip III retiküler kollajen, tip I fibriller kollajen ile yer değiştirir (Diegelmann, 2003), (Carlson ve Longaker, 2004). Epidermal hücreler tarafından salgılanan ve matriks metalloproteinazlar olarak bilinen çinkoya bağımlı endopeptidazlar, doku remodelasyonunda merkezi bir rol oynar (Broughton vd., 2006; Velnar vd., 2009). Yara çekme dayanımı, kollajen üretiminin artmasıyla birlikte artmaya devam eder; 1. haftada %3, 3. haftadan sonra %20 oranında artış görülür. Yaralanmadan 3 ay sonra, çekme dayanımı sağlıklı derinin %80'ine ulaşır, ancak %100'e asla erişemez (Levenson vd., 1965; Lindstedt ve Sandblom, 1975). Hemostaz/inflamasyon, proliferasyon ve remodelasyon olmak üzere her bir faz, yara iyileşme sürecinin başarısı için hayati önem taşır (Janis ve Harrison, 2016). Şekil 2.11'de yara iyileşmesi fazlarının şematik olarak gösterimi yer almaktadır.



Şekil 2.11 Yara iyileşmesi aşamaları (Trinh vd., 2022)

2.4.3 Eksozomların ve bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin yara iyileştirmedeki potansiyelleri

Günümüzde bilim insanları alternatif tıp alanında yapılan çalışmalarda güvenilir içerik oluşturma hedefi ile yenilikçi yaklaşımlara başvurmaktadır. Gelişen teknoloji ile birçok farklı rahatsızlıkta daha yenilikçi ve hedefe yönelik tedaviler geliştirilmiş bu süreçte de doğal içerikli tedavilere olan yönelimin arttığı gözlemlenmiştir.

Yara iyileşmesi; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma evrelerinden oluşan kompleks bir süreçtir ve bu sürecin düzenlenmesinde EV'ler çok yönlü görevler üstlenmektedir. İlk evre olan hemostazda, trombosit kaynaklı EV'ler özellikle trombinle aktive edilmiş trombositlerden salındığında pıhtı oluşumunu güçlü biçimde destekler (Lee vd., 1999). Bu EV'ler, fosfatidilserin (PS) ve P-selektin gibi molekülleri yüzeylerinde sergileyerek trombin üretimini ve fibrin oluşumunu kolaylaştırır (Gasecka vd., 2019; Owens vd., 2011). Aynı zamanda, doku faktörü (TF) ile etkileşerek hem ekstrinsik hem de intrinsik pıhtılaşma yollarını aktive edebilirler (Rodrigues vd., 2019; Wang, 2018).

İkinci evre olan inflamasyon fazında, nötrofil kaynaklı EV'ler (NDEV'ler) ortam koşullarına bağlı olarak reaktif oksijen türleri (ROS) ve IL-8 (nötrofil kemotaksisini teşvik eden bir kemokin) üretimini artırabilir ($p < 0.05$) ve endotel hücrelerinde E-selektin ile VCAM-1 (bağışıklık hücrelerinin endotele yapışmasını sağlayan adezyon molekülleri) ekspresyonunu tetikleyerek pro-inflamatuvar bir yanıt oluşturur (Kolonics vd., 2020). Bu fazda, M2 makrofajlardan salınan EV'ler, M1 fenotipindeki makrofajları yeniden programlayarak iNOS (pro-inflamatuvar nitrik oksit üretiminden sorumlu enzim) ekspresyonunu baskılar; buna karşın arginaz (anti-inflamatuvar M2 fenotip belirteci) düzeylerini artırır (Kim vd., 2019). Aynı zamanda, yaralı keratinositlerden salınan EV'ler özgün N-glikan yapıları ve miR-21 (anti-inflamatuvar ve proliferatif sinyalleri destekleyen mikroRNA) gibi mikroRNA'lar aracılığıyla bu dönüşümü destekler; hnRNPA2B1 proteininin (EV'lerde miRNA paketlenmesini sağlayan protein) susturulması, bu fonksiyonun bozulmasına neden olur (Zhou vd., 2020).

Proliferatif fazda, hipoksi altında aktive olan endotel hücreleri ve endotelial progenitör hücrelerden (EPC'ler) salınan EV'ler, E-selektin, VEGF (anjiyogenezi başlatan temel büyüme faktörü), COX-2 (inflamasyon ve anjiyogenezi destekleyen enzim) gibi pro-anjiyogenik genlerin yanı sıra c-Myc (hücre döngüsü ve proliferasyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörü) ekspresyonunu artırır (Li vd., 2016; J. Zhang vd., 2016). Bu etkinin ERK1/2 (hücre büyümesi ve farklılaşmasını düzenleyen sinyal yolu) üzerinden gerçekleştiği ve miR-21 ile aktive edildiği bildirilmiştir (Xu vd., 2020; J. Zhang vd., 2016). Ayrıca, kemik iliği kökenli EPC-EV'ler, miR-221-3p içeriğiyle PECAM-1 (damar bütünlüğünü sağlayan hücresel adezyon molekülü), VEGF ve Ki67 (hücre proliferasyonu belirteci) gibi genlerin ekspresyonunu artırır (Xu vd., 2020).

Bunun dışında, makrofaj, osteoblast ve tükürük kaynaklı EV'ler de VEGF, Wnt3a (anjiyogenezi ve hücre farklılaşmasını yöneten sinyal molekülü), UBE2O (ubikuitin aracılı protein yıkımında görevli enzim) ve BMP-2 (kemik ve damar gelişiminde görevli büyüme faktörü) gibi bileşenler aracılığıyla anjiyogeneze katkı sağlar (Gangadaran vd., 2020; M. Li vd., 2019; Mi vd., 2020; Tang vd., 2019).

Endotel kaynaklı EV'ler, fibroblastlarda PI3K/Akt/mTOR (hücre proliferasyonu, migrasyonu ve hayatta kalmasını sağlayan sinyal yolları) ve YAP/CTGF (mekanotransdüksiyonla ilişkili transkripsiyonel yolak) üzerinden kolajen sentezini ve miyofibroblast farklılaşmasını destekler (Lipson vd., 2012; Wei vd., 2020). KCs-EV'ler ise ERK1/2 sinyali aracılığıyla MMP-1 ve MMP-3 (ekstraselüler matriksin yeniden şekillendirilmesinde görevli metalloproteinazlar), IL-6 ve IL-8 (pro-inflamatuvar ve pro-anjiyogenik sitokinler) ekspresyonunu artırırken, RECK ve TIMP (MMP inhibitörleri) proteinlerini baskılar. Ayrıca, bu etkilerde miR-21'in belirleyici rol oynadığı gösterilmiştir (Q. Li vd., 2019).

Yara iyileşmesinin son evresi olan yeniden yapılanma fazında, ECM önce MMP-1 ve MMP-8 ile parçalanır (matriks yıkımı), ardından LOX (lizil oksidaz; kolajen liflerinin çapraz bağlanmasını ve dokunun mekanik dayanıklılığını sağlayan enzim) tarafından stabilize edilir (Mathew-Steiner vd., 2021). Fibroblast kaynaklı EV'ler, diğer fibroblastlarda kolajen I, MMP-1 ve MMP-3 ekspresyonunu artırarak bu süreçleri

hızlandırır ($p < 0.01$) (Oh vd., 2020); hipoksik endotel hücrelerinden salınan EV'ler ise LOXL2 (LOX ailesinden kolajen çapraz bağlayıcı enzim) taşıyarak kolajen matrisin sıkılaşmasına katkı sağlar (de Jong vd., 2016). Aynı zamanda, fibroblastların α -SMA (kasılabilir miyofibroblast fenotip belirteci) ve N-kadherin (hücre-hücre adezyonunu destekleyen protein) ekspresyonu da EV'lerle artar (Q. Li vd., 2019). Bu süreç, PLGF-1 (VEGF ailesinden anjiyojenik ve fibrotik faktör) içeren miyofibroblast EV'leriyle daha da hızlanır (Arif vd., 2020).

Son olarak, fibrosit kaynaklı EV'ler (FDEV'ler), Hsp-90 α (hücre motilitesi ve re-epitelizasyonu destekleyen şaperon protein), STAT3 (çok sayıda iyileşme ilişkili genin ekspresyonunu yöneten transkripsiyon faktörü) ve miR-21, miR-126, miR-124a gibi çeşitli mikroRNA'lar aracılığıyla fibroblast aktivasyonu, kolajen sentezi ve inflamasyonun çözülmesine katkıda bulunur (Bhatia vd., 2016; Dauer vd., 2005; Geiger vd., 2015; Suga vd., 2014).

Elde edilen bulgular, EV'lerin yara iyileşmesinin tüm evrelerinde aktif rol oynayan biyolojik aracı sistemler olduğunu ortaya koymaktadır. Farklı hücre tiplerinden salınan EV'ler; içeriklerindeki proteinler, enzimler, yüzey molekülleri ve özellikle mikroRNA'lar aracılığıyla hemostazı düzenleyebilmekte, inflamatuvar yanıtı yönlendirmekte ve fibroblastlar ile endotel hücrelerinin fonksiyonlarını eşgüdümlü şekilde koordine edebilmektedir. EV'lerin bu özgün taşıma kapasitesi; pıhtılaşma faktörlerinden anjiyojenik sinyallere, inflamatuvar düzenleyicilerden yeniden yapılanmayı sağlayan matriks proteinlerine kadar çok geniş bir moleküler yelpazeyi kapsar. Ayrıca, hücrel fenotip değişikliklerini tetikleyebilmeleri (örneğin M1'den M2'ye makrofaj dönüşümü veya fibroblastların miyofibroblastta farklılaşması), onları yalnızca pasif taşıyıcı yapılar değil, aynı zamanda aktif biyolojik düzenleyiciler hâline getirmektedir. Tüm bu veriler, EV'lerin yara iyileşmesinde doğal rejeneratif mekanizmaların kilit parçaları olduğunu ve potansiyel olarak hedefe yönelik tedavi yaklaşımlarında değerlendirilebilecek güçlü biyomoleküller olduklarını göstermektedir (Naruskaitė vd., 2021).

Son birkaç yılda, EV'ler, klinik uygulamalarda umut verici bir tedavi stratejisi olarak özel bir ilgi kazanmıştır. Şaşırtıcı bir şekilde, bitki hücrelerinden izole edilen EV'lerin, memeli hücreleriyle çok benzer özelliklere ve salgılama modellerine sahip olduğu gösterilmiştir (Xiao vd., 2018; Xu vd., 2023). Özellikle, bitki kaynaklı EV'ler, mevcut benzer sistemlerle karşılaştırıldığında maddelerin taşınmasında daha avantajlı sistemlerden birini temsil etmektedir. Küçük boyutları ve negatif yükleri, farklı pH ve sıcaklık aralıklarında artırılmış fizikokimyasal stabilite ile birleştiğinde, hedef hücelere etkin bir şekilde nüfuz etmelerini sağlar. Dahası, bu tür EV'ler, yapay olarak üretilmiş lipozomlar ve hayvan kaynaklı EV'lerle karşılaştırıldığında, düşük yan etki olasılığı ile yüksek hedefleme potansiyeline sahiptir (He vd., 2021). Terapiye yönelik etkileri, yara iyileşmesi ve doku onarımı da dahil olmak üzere çeşitli insan hastalıklarında gösterilmiştir (Xu vd., 2023); bu etkiler esas olarak güçlü antioksidan ve anti-inflamatuvar etkilerine dayanmaktadır (Kim, Jang, Kim, vd., 2023). Bu bağlamda, greylift kaynaklı ekstrasellüler veziküllerin (GEV'ler), HACAT hücreleri üzerinde H₂O₂ aracılı oksidatif stres yoluyla hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS) içeriğini azalttığı bulunmuştur. Gerçekten de, GEV'ler, antioksidan özellikleri sayesinde HACAT hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü teşvik etmiş ve kolajen tip I, fibronektin, laminin ve vimentin dahil olmak üzere yara iyileşmesiyle ilişkili mRNA ve proteinlerin ekspresyonunu artırmıştır. Ayrıca, bir tüp oluşumu testi, GEV'lerin kapiller tüp oluşumunu da desteklediğini, bunun da yara iyileşmesini oksijen ve besin maddesi temini yoluyla iyileştirdiğini doğrulamıştır (Savcı vd., 2021). Benzer şekilde, Sánchez-López ve ark. (Sánchez-López vd., 2022), nar suyundan (PgEV'ler) ilk kez EV izole etmiş, bunların Thp-1 hücreleri üzerinde anti-inflamatuvar etkilerini ve Caco-2 hücreleriyle yapılan çizik (scratch) testinde iyileşme sürecini geliştirme yeteneklerini göstermiştir. Ayrıca, *Aloe Saponaria*'dan elde edilen EV'ler (ASEV'ler), RAW 264.7, HDF veya HUVEC hücreleri üzerinde kronik deri yaralarının iyileşmesini araştırmak amacıyla kullanıldığında, hiçbir toksik etki tespit edilmemiştir. Dikkat çekici şekilde, ASEV'ler, LPS (lipopolisakkarit) ile uyarılan RAW 264.7 fare makrofaj hücre hattında IL-6 ve IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyonunu etkili bir şekilde azaltmıştır. Ayrıca, bu ASEV aracılı anti-inflamatuvar etkiler, HDF hücrelerinin proliferasyonunda ve göçünde artışa yol açmıştır (Kim vd., 2022). Kim ve ark. (Kim vd., 2021) tarafından yapılan farklı bir çalışmada, *Aloe vera*'dan elde edilen EV'lerin (AEV'ler) yara iyileştirici özelliklerinin belirgin bir antioksidan etkiyle ilişkili olduğu

gösterilmiştir. AEV'lerin antioksidan aktivitesinin doza bağımlı olarak ve AEV'lerin hücre içine alınması yoluyla arttığı bulunmuştur. Yazarlar ayrıca AEV'lerin (10^9 partikül/mL) güçlü bir antioksidan olan quercetin'e benzer antioksidan özellikler sergilediğini göstermiştir. Son olarak, AEV'ler, Nrf-2 gibi antioksidan savunmayla ilişkili genlerin mRNA ekspresyonunu yukarı regüle etmiştir. Tüm bu etkiler hem HACAT hücrelerinin hem de HDF hücrelerinin göçünü artırmıştır.

Dikkate değer bir şekilde, buğdaydan elde edilen EV'lerin de rejeneratif özellikler sergilediği bulunmuştur. Bu etki, endotel hücreleri, epitel hücreleri ve dermal fibroblastlar üzerindeki proliferatif ve göçü artırıcı etkilerine dayanmaktadır ve kolajen tip I mRNA ekspresyon düzeyindeki artış, tüp benzeri yapıların oluşumu ve apoptozda azalma ile ilişkilidir (Şahin vd., 2019). Genel olarak pEV'ler, doku yeniden şekillenmesi ve gelecekteki klinik uygulamalar için yeni bir yaklaşım temsil edebilir. Sonuç olarak pEV'ler, yüksek biyouyumluluk, antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri sayesinde yara iyileşmesi ve doku onarımı alanında umut vadeden biyolojik araçlardır. Hücresel proliferasyon, migrasyon ve kolajen üretimini desteklemeleri, onları konvansiyonel taşıyıcılara karşı avantajlı kılmaktadır. Özellikle düşük toksisiteleri ve hedefleme yetenekleri, gelecekte klinik uygulamalarda yaygın kullanım potansiyellerini güçlendirmektedir. Bu bağlamda, pEV'lerin rejeneratif tıpta güvenli ve etkili biyoterapötikler olarak geliştirilmesi yönünde ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.5 Hücresel Senesens

Hücresel senesens, genellikle hücre döngüsünden çıkmış ve hasar görmüş normal hücrelerde geri dönüşümsüz bir proliferatif duraklama olarak tanımlanır. Bu hücreler yüksek metabolik aktivite sergiler (Dörr vd., 2013), canlı kalır ve apoptozu aktif şekilde baskırlar (Childs vd., 2014; Zhu vd., 2015). Senesens halindeki hücreler, dinlenme hücreleri ve terminal farklılaşmış hücreler gibi diğer bölünmeyen hücre popülasyonlarından ayıran özgün morfolojik ve moleküler özelliklere ve işlevlere sahiptirler (Campisi ve d'Adda di Fagagna, 2007; Collado vd., 2007; d'Adda di Fagagna, 2008). Hücresel senesensin ayırt edici özellikleri arasında; uzun süreli hücre döngüsü duraklaması, transkripsiyonel değişiklikler, senesensle ilişkili sekretuar fenotip (SASP)

olarak bilinen biyolojik olarak aktif bir salgı profili kazanımı, makromoleküler hasar ve düzensiz metabolizma yer almaktadır (Gorgoulis vd., 2019).

2.5.1 Hücresel senesensin genel tanımı ve biyobelirteçleri

Hücresel senesens, DNA hasarı, telomer disfonksiyonu, onkogen aktivasyonu ve organel stresine yanıt olarak ortaya çıkan kompleks bir biyolojik süreçtir ve tümör baskılama, doku onarımı, embriyogenez ve organizma yaşlanması gibi birçok kritik olayla ilişkilendirilmiştir.

Hayflick ve Moorhead (1961), normal kültüre edilmiş insan fibroblastlarının sınırlı bir hücre bölünme kapasitesine sahip olduğunu ve bu kapasitenin tükenmesinin ardından geri dönüşsüz bir büyüme duraklamasına, yani replikatif senesensa girdiğini göstermiştir (Hayflick ve Moorhead, 1961). Bu gözlem, dokuların yaşlanmasının, zamanla biriken hasarlı hücrelerin yerine geçecek proliferatif kapasiteyi kademeli olarak kaybeden hücreler nedeniyle oluştuğu hipotezini doğurmuştur (Hayflick, 1965). Ancak, senesensli hücre birikiminin organizma yaşlanmasını ve fonksiyon bozukluğunu teşvik ettiğini kanıtlamak için uygun araçların geliştirilmesi yıllar almıştır.

Senesens araştırmalarında önemli bir sınırlılık, kültür veya doku örneklerinde senesensli hücreleri tanımlamak için tek, evrensel veya model-spesifik biyobelirteçlerin bulunmamasıdır. Günümüzde, senesensli hücrelerin tanımlanması, birden fazla belirtecin kombinasyonuna dayanmakta olup; bu belirteçler aynı anda mevcut olduğunda, kararlı şekilde duraklamış senesensli hücreler ile farklılaşmış hücreler arasındaki ayrımı yapabilmektedir.

Senesensli hücreleri kültürlenmiş hücrelerde ve taze doku örneklerinde tespit etmek için kullanılan ilk ve hâlâ en yaygın biyobelirteç, ‘senesens ile ilişkili β -galaktozidaz’ (SA- β -gal) birikimidir (Dimri vd., 1995). Bu belirteç, histokimyasal boyama ile çoğu senesensli hücrede tespit edilebilir ve genellikle presenesan, kuiesan veya immortalize ve transform edilmiş hücrelerde bulunmaz. Bununla birlikte, SA- β -gal aktivitesi, serumdan yoksun

bırakılmış veya aşırı yoğun kültürlenmiş hücrelerde de birikebilir ve in vivo olarak bazı makrofaj alt popülasyonlarını, immün uyarılara karşı geri dönüşlü bir yanıtın parçası olarak işaretleyebilir (Hall vd., 2017).

Senesensli hücrelerin bir diğer özelliği, lipofuscin birikimidir. Biotin bağlı Sudan black B analoguna dayanan yeni bir yöntem, farklı hücre ve doku tiplerinde senesensli hücreleri güvenilir şekilde izlemek için ortaya çıkan bir sistem olarak önem kazanmaktadır (Evangelou vd., 2017). Senesensli hücrelerin bir diğer ayırt edici özelliği ise, anormal derecede geniş ve yassı morfolojiye sahip olmaları ve sitoplazma/çekirdek oranının orantısız şekilde artmasıdır. Başlangıçta, bu hacimli sitoplazma, hücresel senesensin oluşumu ile birlikte görülen bir özellik olarak tanımlanmışken, yakın tarihli bir çalışma artmış hücre boyutunun senesens ile ilişkili büyüme duraklamasını tetikleyici bir rol oynayabileceğini öne sürmüştür (Neurohr vd., 2019). Ayrıca in vivo olarak, SA- β -gal pozitif senesensli hücreler, tek hücre düzeyinde tespit edilen SA- β -gal negatif hücrelere kıyasla daha büyük hücre boyutuna sahiptir (Biran vd., 2017).

Senesensli hücrelerin bir diğer belirgin göstergesi, DNA replikasyonunun olmamasıdır, bu durum tipik olarak nükleozid analogu (örneğin 5-bromodeoksiuridin veya [3 H]timidin) inkorporasyonu veya PCNA ve Ki-67 gibi proliferasyon belirteçleri için immün boyama ile tespit edilir. Ancak, bu belirteçler senesensli hücreleri kuiesan veya farklılaşmış postmitotik hücrelerden ayırt edemez.

p21 ve p16, p53 ve RB tarafından yönetilen tümör baskılayıcı yolların bir bileşeni olan siklin-bağımlı kinaz inhibitörleridir ve sıklıkla senesensli hücrelerde birikir. p21 ve p16 ekspresyon seviyeleri, senesensle ilişkili büyüme duraklamasını oluşturmak ve sürdürmek için yeterli olduğundan, bu proteinler hem doku hem de kültürlenmiş hücrelerde senesensli hücrelerin tanımlanmasında kullanılmaktadır. Özellikle p16, senesensli hücrelerin seçici olarak ortadan kaldırılmasının test edildiği fare modellerinde yerine geçici bir senesens belirteci olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, tüm senesensli hücre tipleri p16 eksprese etmez; bazı tümör hücreleri, özellikle RB fonksiyonunu kaybetmiş olanlar, p16'yı da eksprese edebilir (Witkiewicz vd., 2011).

Çekirdekdeki senesensle ilişkili heterokromatin fokları (SAHF) da senesensli hücrelerin tespitinde kullanılmakla birlikte, bunlar aktive olmuş onkogenler ve DNA replikasyon stresörleri tarafından indüklenen senesens programına özgü görünmektedir. Ayrıca, hasar bölgelerinde sitolojik olarak tespit edilebilen çekirdek foklarında biriken kalıcı DNA hasar yanıtı faktörleri, senesensli hücrelerin bir diğer belirteçidir ve telomerik dizilerde birikmeleri durumunda, telomerle ilişkili foklar, senesens durumu için güçlü bir belirteç olarak kabul edilir (d'Adda di Fagagna, 2008; Fumagalli vd., 2012; Herbig vd., 2006).

Son olarak, senesensle ilişkili sekresyon profili (SASP) bileşenleri, özellikle proinflatuar sitokinler IL-6 ve IL-8, transkript ve protein düzeyinde genel doku veya hücre kültürü senesensini değerlendirmek için kullanılabilir. Ancak, SASP tek başına güvenilir bir senesens biyobelirteci olarak kullanılamaz; zira p16 aşırı ekspresyonuyla tetiklenen senesens, SASP transkripsiyon programında değişiklik gerektirmez (Coppé vd., 2011).

Genel olarak, evrensel senesens biyobelirteçlerinin araştırılması, senesens fenotiplerinin yüksek derecede heterojen olması ve başlangıç tetikleyicisine ile hücre tipine bağlı olarak farklılık göstermesi nedeniyle sürekli bir zorlukla karşı karşıyadır. Bu nedenle, ilgili hücre ve doku tiplerinde tek hücre düzeyinde yapılan transkriptomik ve proteomik çalışmalar, senesens durumunun özgün veya ortak belirteçlerini, ayrıca yaşlı ve hastalıklı dokulardan senesensli hücrelerin izole edilmesini sağlayacak hücre yüzeyi moleküllerini belirlemek için büyük önem taşımaktadır. Son dönemde, gerçek zamanlı olarak senesens yükünü izlemek ve klinik örneklerde senoterapi etkinliğini değerlendirmek için geliştirilen yenilikçi görüntüleme tabanlı araçlar ve floresan izleyiciler, bilim camiasının ilgisini çekmiş olup, senesens temelli translasyonel tıp uygulamaları için bir dönüm noktası olma potansiyeline sahiptir (Lozano-Torres vd., 2019; Y. Wang vd., 2019).

2.5.2 Hücresel senesensin moleküler mekanizmaları

Senesensin nedenleri arasında çok sayıda faktör olsa da, hücre döngüsü mekanizmasının inhibisyonu en belirleyici özelliktir. Ayrıca tüm hücresel yaşlanma fenotiplerinin hem oluşması hem de sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir. Genel olarak, yaşlanan

hücrelerin büyümesinin durmasının, hasarlı hücrelerde DNA replikasyonunun başlamasını önlemek için G1 fazında bir hücre döngüsü blokajı yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir (Campisi ve d'Adda di Fagagna, 2007; d'Adda di Fagagna, 2008). Senesens hücreler, DNA hasarının varlığında mitozu engellemek için G2'de de durabilir (Gire ve Dulić, 2015). Bu hücre döngüsü durması, hasarlı veya dönüştürülmüş hücrelerin mutasyon yaymamasını sağlamak için başlatıldığından, sürdürülmesi sıkı bir şekilde kontrol edilmelidir. Bu adımlar, hücre dışı ve hücre içi yaşlanmayı tetikleyen sinyallere yanıt veren ancak farklı, sinyale bağlı gen ifade kalıpları gösteren temel hücre döngüsü düzenleyicilerinin eylemini gerektirir.

Hücrel senesens, DNA hasarı, telomer kısalması, onkogen aktivasyonu, oksidatif stres ve metabolik bozukluklar gibi çeşitli uyarıcılarla tetiklenen kalıcı hücre döngüsü duraklamasıdır ve bu süreçte p53/ARF ile RB/p16 tümör baskılayıcı yolları temel düzenleyici mekanizmaları oluşturur. Her iki yolak, stres türü ve hücre tipine bağlı olarak tek başına ya da birlikte aktive olarak senesensin başlamasını ve sürdürülmesini sağlar (Beauséjour vd., 2003; d'Adda di Fagagna, 2008; Gire vd., 2004). Örneğin telomer kısalması, insan fibroblastlarında replikatif senesensin ana tetikleyicisidir ve shelterin kompleksiyle korunamayan telomerler DDR aktivasyonu ile hücre döngüsünü durdurur. Buna karşın fare fibroblastlarında uzun telomerler ve telomerase aktivitesi nedeniyle senesens daha çok oksidatif stres aracılığıyla ortaya çıkar (Blackburn, 2005; Bodnar vd., 1998; Cesare vd., 2009; Hayflick ve Moorhead, 1961; Hewitt vd., 2012; Parrinello vd., 2003). Ayrıca, telomerik DNA'nın yapısal özellikleri nedeniyle telomerler oksidatif hasara özellikle duyarlıdır ve bu bölgelerdeki DNA kırıkları TRF2 proteininin onarım enzimlerini engellemesi nedeniyle kalıcı hale gelir, böylece DDR sürekli aktif kalır ve senesens pekişir (Broccoli vd., 1997; Fumagalli vd., 2012; Hewitt vd., 2012). Onkogen kaynaklı senesens (OIS) ise aşırı mitojenik sinyaller sonucu replikasyon stresi ve DNA hasarının artmasıyla tetiklenir; burada p53 ve RB yolları genellikle zorunlu olmakla birlikte, fare ve insan hücreleri arasında farklı düzenlenme biçimleri görülür (Denoyelle vd., 2006; Di Micco vd., 2006; Kamijo vd., 1997; Serrano vd., 1997). Örneğin, Ras aktivasyonu insan fibroblastlarında çoğunlukla p16-RB yoluyla, fare fibroblastlarında ise p53 aracılığıyla senesensi başlatır; ancak bazı hücre tiplerinde p53 veya p16'nın tek başına OIS için gerekli olmadığı da bildirilmiştir (Cipriano vd., 2011; Denoyelle vd.,

2006; Gray-Schopfer vd., 2006). Bu süreçte CDKN2A lokusunun epigenetik kontrolü de önemlidir; PRC1/2 kompleksleri p16 ekspresyonunu baskımlarken, senesens sırasında baskılayıcı işaretlerin kaldırılması p16 transkripsiyonunu kolaylaştırır (Barradas vd., 2009; Yap vd., 2010). Ayrıca, ARF (p14ARF/p19ARF) geninin onkogenik uyarılara verdiği yanıt, türler arasında farklılık gösterir; farelerde ARF p53 aktivasyonunu tetiklerken, insan hücrelerinde çoğunlukla p16 aracılı mekanizmalar baskındır (Kim ve Sharpless, 2006; Krishnamurthy vd., 2004; Munro vd., 1999; Rowland vd., 2002). Bu nedenle, insan melanositik nevilerinde (melanosit adı verilen pigment hücrelerinden köken alan benleri (nevüsleri) tanımlar. Bunlar genellikle iyi huylu (benign) deri lezyonlarıdır) sık görülen BRAF veya N-RAS mutasyonları p16 aracılı senesensa yol açarken ARF katkısı sınırlıdır, fakat ARF'in melanom ilerlemesinde tümör baskılayıcı rolü kritik öneme sahiptir (Gray-Schopfer vd., 2006). Sonuç olarak, senesens sürecinin başlatılmasında telomer kısalması, DNA hasarı, oksidatif stres ve onkogen aktivitesi gibi farklı uyarılar rol oynasa da bu sinyallerin ortak paydası DDR'nin kalıcı aktivasyonu ve p53 ile RB yolakları üzerinden hücre döngüsü duraklamasının sağlanmasıdır. Ancak bu mekanizmaların işleyiş biçimi hücre tipine, türe ve uyarıcıya bağlı olarak değişkenlik gösterir (Berkovich vd., 2003; Inoue vd., 1999).

2.5.3 Hücresel senesensin fizyolojik ve patolojik etkileri

Hücresel senesens, hücrelerin kalıcı proliferatif duraklamaya girdiği ve metabolik olarak aktif kalmaya devam ettiği kompleks bir biyolojik süreçtir. Fizyolojik düzeyde, senesens organizmanın doku homeostazını korumasında, hasar görmüş veya potansiyel malign hücrelerin çoğalmasının engellenmesinde kritik rol oynar. Örneğin, replikatif senesens, hücrelerin yaşlanma sürecinde telomer kısalması sonucu ortaya çıkarak, genom bütünlüğünün korunmasını sağlar ve kanser gelişimini önleyici bir mekanizma olarak işlev görür (Campisi, 2013; Hayflick, 1965). Ayrıca, senesens yaralanma sonrası dokuların onarım sürecinde fibroblastların ve diğer hücrelerin proliferasyonunu sınırlayarak, aşırı fibrozis ve doku sertleşmesini önlemeye katkıda bulunur (Demaria vd., 2017).

Bununla birlikte, hücresel senesensin uzun süreli birikimi ve senesensle ilişkili sekretuar fenotip (SASP) olarak bilinen inflamatuvar ve doku modüle edici faktörlerin salınımı, patolojik süreçlere zemin hazırlayabilir. SASP, proinflamatuvar sitokinler, kemokinler, proteazlar ve büyüme faktörlerini içerir; bu moleküller çevre dokularda kronik inflamasyon, doku bozulması ve immün sistem fonksiyonlarında düzensizliklere yol açabilir (Coppé vd., 2008; Freund vd., 2010). Özellikle yaşlanma ile ilişkili kronik hastalıklarda, örneğin ateroskleroz, osteoartrit, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklarda senesens hücrelerin birikimi ve SASP aktivitesinin artışı patogeneizde önemli bir yer tutmaktadır (Caravia ve López-Otín, 2015; Childs vd., 2015).

Kanser bağlamında ise, hücresel senesens çifte yönlü bir etkiye sahiptir. İlk aşamalarda tümör baskılayıcı bir rol üstlenirken, uzun süreli senesens hücrelerin oluşturduğu SASP, tümör mikroçevresini değiştirerek kanser ilerlemesini ve metastazı teşvik edebilir (Zhu vd., 2015). Bu nedenle, senesens hücrelerin hedeflenmesi ve ortadan kaldırılması (senolitik tedaviler) günümüzde anti-aging ve kanser tedavisinde önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir (Campisi, 2013).

Sonuç olarak, hücresel senesens hem organizmanın fizyolojik işlevlerinde koruyucu bir mekanizma hem de kronik hastalıkların gelişiminde patolojik bir faktör olarak rol oynar. Bu çift yönlü doğası, senesensle ilişkili süreçlerin ayrıntılı anlaşılması ve bu hücrelerin modülasyonuna yönelik terapötik stratejilerin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Atkuyruğu ve hücresel senesens : Atkuyruğu fenolik bileşikler, flavonoidler ve özellikle yüksek silika içeriği ile dikkat çeken bir bitkidir. Bu kimyasal içerikleri sayesinde antioksidan, anti-inflamatuvar ve dokuyu koruyucu etkiler gösterebilir. Preklinik çalışmalarda, bu bitkinin yaşlanma ile ilişkili hücresel bozuklukları modüle etme kapasitesi üzerine önemli veriler elde edilmiştir.

Örneğin, osteoporoz fare modelinde yapılan bir çalışma, atkuyruğu ekstraktının osteoklastogenezi baskılayarak kemik rezorpsiyonunu azalttığını ve kemik yapısında yaşa bağlı değişimlerin ilerlemesini yavaşlattığını göstermiştir (Hegedüs ve ark., 2024).

Ayrıca, Wistar sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 120 mg/kg dozunda verilen atkuyruğu ekstresi mandibula kemik mineral yoğunluğunda belirgin bir artış sağlamıştır (Arbabzadegan vd., 2019). Diğer bir çalışmada, kemik-ölçütleri, kemik biyobelirteçleri ve dengesini inceleyen deneylerde atkuyruğu ekstraktı uygulaması kemik sağlığını destekleyici etkiler göstermiştir (İbrahim vd., 2022).

Metabolik etkiler bağlamında, streptozotosin ile diyabet modeli oluşturulan sıçanlarda atkuyruğu ekstraktının SIRT1 ekspresyonunu artırma eğiliminde olduğu, insülin duyarlılığını iyileştirme ve oksidatif stres yanıtlarını düzenleme potansiyeli taşıdığı bildirilmiştir (Hegedüs vd., 2020). SIRT1'in hücrel enerji dengesi, DNA onarımı ve yaşlanma düzenlemesinde merkezi rolü göz önüne alındığında, bu sonuçlar atkuyruğu ekstraktının yaşlanma ile ilişkili metabolik bozukluklarda terapötik bir aday olabileceğini düşündürmektedir.

Ek olarak, anti-inflamatuar etkiler, kronik inflamasyon kaynaklı hücrel senesens birikimini sınırlandırma potansiyelini ortaya koymaktadır. Atkuyruğu ekstraktı, oksidatif stres kaynaklı DNA hasarını azaltarak hücrelerin yaşlanma süreçlerine karşı dayanıklılığını artırabilir. Bu mekanizmalar, özellikle yaşlanmayla ilişkili doku bozulmaları üzerinde koruyucu etkiler taşıyabilir.

Lavanta ve hücrel senesens : Lavanta, zengin fenolik bileşikler, terpenoidler ve uçucu yağ içerikleri sayesinde güçlü antioksidan, anti-inflamatuar ve hücre koruyucu etkilere sahiptir. Bitkiye ait özütlerin ve yağların, oksidatif stres, DNA hasarı ve iltihap süreçlerine karşı modülatör etkileri çeşitli in vitro ve in vivo modellerde ortaya konmuştur.

Örneğin, insan hepatoma hücre hattı (HepG2) ve izole edilmiş sıçan hepatosit modellerinde yapılan çalışmalarda, lavanta uçucu yağının oksidan kaynaklı DNA lezyonlarını anlamlı biçimde azalttığı, ayrıca süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve GSH düzeylerini artırarak antioksidan savunmaları desteklediği gösterilmiştir (Kozics vd., 2017). Ayrıca lavantanın ışığa maruz kalma durumuna (UV)

karşı koruyucu etkisi de, antioksidan kapasitesiyle ilişkili şekilde gösterilmiştir (Stelmach vd., 2025).

İnflamatuvar süreçler açısından, lavanta uçucu yağının proinflamatuvar sitokin üretimini (örneğin IL-6, IL-8) önemli ölçüde engellediği ve lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı hücrel inflamasyonu baskıladığı raporlanmıştır (Pandur vd., 2021). Benzer şekilde, finansal tromboz modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada, lavanta yağının trombüs oluşumunu ve doku hasarını azalttığı, serumdaki oksidatif stres belirteçlerini düşürdüğü bildirilmiştir (But vd., 2023). Yaşlanma ve hücrel senesens açısından da ilgi çekici veriler güncel çalışmalarla ortaya çıkmaktadır. Örneğin, lavantadan izole edilen bir bileşik olan β -Cyclocitral (CYC)'ın, oksidatif stres, telomer düzenlemesi ve otofaji yollarını modüle ederek anti-yaşlanma etkisi gösterebildiği önerilmiştir; CYC'nin yaşlanan model organizmalarda biyobelirteçleri etkileyerek hücre sağlığını destekleyebileceği öne sürülmüştür (Shan vd., 2024). Ayrıca, lavanta kaynaklı eksozom benzeri nanoparçacıklar (lavender exosome-like nanoparticles, LELNs) kullanılarak yapılan bir UVB foto-yaşlanma modeli çalışmasında, bu nanoparçacıkların HACAT hücrelerinde ve fare derisinde inflamasyonu ve doku yaşlanmasını azaltıcı etkileri gösterilmiştir (Li vd., 2025). Lavanta özütlerinin nöroprotektif, antidiyabetik, kolinesteraz inhibitörü etkileri üzerine de literatürde çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, lavanta etanolik ekstraktının enzim inhibitörlüğü (örneğin asetilkolinesteraz) ve antioksidan etkinlik açısından karakterize edildiği bir çalışma mevcuttur (Tundis vd., 2023). Ayrıca "Phenolic Compounds and Pharmacological Potential of Lavandula" başlıklı derlemelerde, lavantanın sinir koruyucu etkileri, antioksidan kapasitesi ve yaşlanmayla ilişkili nörodejeneratif yollardaki potansiyel rolü kapsamlı biçimde incelenmiştir (Mykhailenko vd., 2025).

2.5.4 Klinik ve terapötik uygulamalardaki önemi

Hücrel senesensin klinik uygulamalardaki önemi hem yaşlanma süreci hem de çeşitli hastalıkların patogeneğinde oynadığı çift yönlü rolden kaynaklanmaktadır. Senesens hücreler, doku homeostazının korunmasında önemli işlevler görürken, birikimleri kronik inflamasyon ve doku hasarına yol açarak çeşitli yaşa bağlı hastalıkların gelişimini

tetikleyebilir (Caravia ve López-Otín, 2015; Childs vd., 2015). Bu durum, hücre sel senesensin terapötik müdahaleler için potansiyel bir hedef haline gelmesini sağlamıştır.

Son yıllarda, senesens hücrelerin spesifik olarak hedeflenmesi ve ortadan kaldırılması amacıyla geliştirilen senolitik ajanlar, klinik araştırmalarda önemli bir ilerleme olarak kabul edilmektedir. Bu ilaçlar, özellikle yaşa bağlı hastalıklarda, kardiyovasküler rahatsızlıklar, osteoartrit, fibrozis ve nörodejeneratif hastalıklar gibi durumlarda, senesens hücrelerin birikimini azaltarak doku fonksiyonlarının iyileştirilmesini hedeflemektedir (Kirkland ve Tchkonja, 2017; Zhu vd., 2015). Örneğin, fare modellerinde senolitik tedavilerin, yaşlanmaya bağlı kas güçsüzlüğünü ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (Xu vd., 2018).

Kanser tedavisinde ise, senesens hücrelerin hem koruyucu hem de zararlı etkileri göz önünde bulundurulmaktadır. Kemoterapi ve radyoterapi sonrası oluşan senesens hücreler, tümör baskılayıcı bir bariyer oluştursa da, SASP aracılığıyla mikro çevreyi değiştirerek tümör ilerlemesini destekleyebilir. Bu nedenle, senesens hücrelerin seçici olarak temizlenmesi, tedavi etkinliğini artırmak ve nüks riskini azaltmak için araştırılmaktadır (Demaria vd., 2017; Ovadya ve Krizhanovsky, 2014). Ayrıca, immün kontrol noktası inhibitörleri ve diğer immünoterapötik yaklaşımlarla senesens hücrelerin immün sistem tarafından elimine edilmesinin desteklenmesi klinik açıdan umut vaat etmektedir.

Bunun yanı sıra, senesens hücrelerin varlığının biyobelirteç olarak kullanılması, yaşlanma ve hastalık takibinde yeni diagnostik yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Örneğin, kan ve doku örneklerindeki SASP faktörlerinin ölçülmesi, hastalık progresyonunun izlenmesinde ve tedavi yanıtlarının değerlendirilmesinde yardımcı olabilmektedir (Justice vd., 2019).

Özetle, hücre sel senesensin klinik ve terapötik uygulamalardaki önemi, hastalık patogeneğinde oynadığı kritik rol ve tedavi stratejilerindeki potansiyel hedef olarak değeri nedeniyle giderek artmaktadır. Senolitik ve senomorfik ilaçların geliştirilmesi ile senesens hücrelerin modülasyonu, yaşlanma ve ilgili hastalıklarla mücadelede yeni bir paradigma sunmaktadır.

2.6 Antimikrobiyal Etki

Bakteriler prokaryotik hücre yapısına sahip mikroorganizmalardır; çekirdek zarları ve membran organelleri bulunmaz, genetik materyalleri sitoplazmada dağınık halde nükleoid bölgesinde yer alır. Hücre duvar yapılarında bulunan peptidoglikan tabakası, bakterilerin sınıflandırılmasında temel bir kriterdir. Gram-pozitif bakteriler, kalın bir peptidoglikan tabakasına ve teikoik asitlere sahipken; Gram-negatif bakteriler ince peptidoglikan tabakası ile birlikte dış membranda lipopolisakkarit (LPS) bulundurur, bu da onların antibiyotiklere karşı daha dirençli olmalarına katkıda bulunur (Madigan vd., 2019). Gram-negatif fırsatçı bir patojen olan *Pseudomonas aeruginosa*, özellikle yoğun biyofilm oluşturma yeteneği, çoklu ilaç direnci mekanizmaları (efluks pompaları, β -laktamaz üretimi) ve quorum sensing (QS) sistemi aracılığıyla kontrol edilen toksin ve enzim üretimi ile klinik açıdan önemlidir; immünsüprese bireylerde ciddi solunum yolu ve yara enfeksiyonlarına yol açmaktadır (Moradali vd., 2017; Pang vd., 2019). Gram-pozitif bir patojen olan *Staphylococcus aureus* ise yüzey proteinleri aracılığıyla adezyon sağlama, çeşitli ekzotoksinler ve enzimler üretme, ayrıca metisiline dirençli MRSA suşlarıyla artan antibiyotik direnci nedeniyle hem toplum hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ciddi sorun oluşturmaktadır (Tong vd., 2015). Literatürde, lavanta uçucu yağının ve başlıca bileşenleri linalool, linalyl asetat ve geraniol'ün hem *P. aeruginosa* hem de *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal ve antibiyofilm etkiler sergilediği gösterilmiştir (Cavanagh ve Wilkinson, 2002; Herman vd., 2016). Ayrıca linaloolun antibiyotiklerle sinerjistik etkileşim göstererek dirençli *S. aureus* suşlarında etkinliği artırdığı raporlanmıştır (Kwiatkowski vd., 2020). Atkuyruğu özütleri ise fenolik ve flavonoid bileşenleri aracılığıyla özellikle Gram-pozitif türler üzerinde anlamlı antibakteriyel etki göstermiş; *S. aureus*'a karşı inhibitör zonlar oluşturduğu rapor edilmiştir (Pallag vd., 2018). *P. aeruginosa* için doğrudan PEV veya özüt temelli güçlü kanıtlar sınırlı olsa da, bitkinin yüksek antioksidan kapasitesi ve fenolik içeriği bu bakteri için de potansiyel etki mekanizmaları sunmaktadır. Genel olarak, lavantanın quorum sensing ve biyofilm modülasyonu üzerinden, atkuyruğunun ise fenolik/flavonoid içeriğiyle Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal potansiyeli ön plana çıkmaktadır.

2.6.1 Atkuyruğu ekstraktının antimikrobiyal etkileri

Atkuyruğu zengin silika, fenolik bileşik ve flavonoid içerikleriyle bilinir. Radulović ve arkadaşlarının çalışmasında, atkuyruğu uçucu yağının 1:10 seyreltmesinin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis* gibi hem Gram-pozitif hem Gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. GC-MS analizinde öne çıkan bileşenler arasında hexahydrofarnesyl acetone, cis-geranyl acetone, thymol ve trans-phytol yer almaktadır (Radulović vd., 2006). Ayrıca Eren ve İnci tarafından yürütülen bir araştırma, metanol ve etanol ekstraktlarının çeşitli patojenler üzerinde 20 mm civarında inhibisyon zonları oluşturduğunu bildirmiştir (Eren vd., 2024). Farklı çözücülerle yapılan çalışmalar, antibakteriyel etkinliğin ekstrakt tipine göre değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Örneğin sınırlı etkinlik gösteren kloroform ekstraktına karşın, metanol ve etanol ekstraktları belirgin seviyede inhibisyon sağlamıştır. Bu sonuçlar, atkuyruğu'nun biyoyararlılığını kanıtlar şeklinde, fenolik ve flavonoid içeriklerinin antimikrobiyal aktivite açısından önemli olduğunu işaret etmektedir.

2.6.2 Lavanta ekstraktının antimikrobiyal etkileri

Lavanta uçucu yağı, özellikle linalool ve linalil asetat bileşenleriyle dikkat çeker ve bakteriyel zar geçirgenliğini bozarak etki gösterir. Massoud ve arkadaşlarının ACS Omega'da yayımlanan çalışmasında, Lübnan menşeli *L. angustifolia* ve *L. × intermedia* (lavandin) yağlarının *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *E. coli* ve *S. marcescens* gibi bakterilere karşı test edildiği ve minimum inhibitör konsantrasyonların (MIC) sırasıyla 0.174 ve 0.169 mg/mL olduğu raporlanmıştır. Ayrıca her iki yağ da bakteriyostatik değil, bakterisidal etki göstermiş, yani bakteriyi öldürmüştür (Massoud vd., 2024). Bir başka çalışma ise Bulgaristan'ın Varna bölgesinde yetiştirilen "Jubileina" lavantası yağının linalool/seçici monoterpen yapıcı profili taşıdığını ve *E. coli* gibi bakterilere 0.31 % düzeyinde antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermiştir (Stamova vd., 2025). Bu çalışmalar, lavanta esaslı yağların Gram-pozitif bakterilere karşı özellikle etkili

olduğunun yanı sıra, Gram-negatiflere karşı da önemli potansiyel içerdiğini destekler niteliktedir.

2.6.3 Antifungal etki

Mantarlar ökaryotik mikroorganizmalar olup hücre duvarlarında kitin, membranlarında ise ergosterol bulundurmaları ile diğer canlı gruplarından ayrılır ve bu özellikler antifungal tedavilerin başlıca hedeflerini oluşturur (Talapko vd., 2021). Çeşitli yaşam biçimlerine sahip olan mantarlar arasında *Candida albicans*, en sık rastlanan fırsatçı patojen maya türlerinden biridir. Normal şartlarda insan mukozalarında kommensal olarak bulunmasına rağmen bağışıklık sisteminin baskılanması veya mikrobiyota dengesinin bozulması halinde patojen hale geçerek yüzeysel ya da sistemik enfeksiyonlara yol açabilir (Macias-Paz vd., 2023; Srb vd., 2025). *C. albicans*'ın başlıca virülans faktörleri arasında dimorfizm (maya hif arasında form değişimi), güçlü biyofilm oluşturma kapasitesi, adezyon proteinleri, hidrolitik enzimler (proteaz, fosfolipaz) ve konağın immün yanıtını baskılayan mekanizmalar yer almaktadır (Yalçın ve Bonabian, 2025). Bu nedenle biyofilm ve hiflenmenin baskılanması antifungal stratejiler açısından kritik öneme sahiptir. Literatürde lavanta uçucu yağının ve temel monoterpenerleri olan linalool ve linalyl asetatın *C. albicans* üzerinde fungistatik ve fungisidal etkilere sahip olduğu, düşük konsantrasyonlarda hiflenmeyi baskıladığı ve biyofilm oluşumunu anlamlı derecede azalttığı raporlanmıştır (Neisari vd., 2025). Benzer şekilde geraniol, ergosterol seviyelerini düşürerek, PM-ATPaz aktivitesini inhibe ederek ve biyofilmi zayıflatarak daha düşük sitotoksositeyle antikandidal etki sergilemektedir (de Souza vd., 2024). Ayrıca bu bileşiklerin antifungal ajanlarla sinerjistik etkileşim gösterebildiği vurgulanmaktadır (Biernasiuk ve Malm, 2023). Atkuyruğu tarafında ise doğrudan *C. albicans*'a karşı modern veriler sınırlı olsa da, atkuyruğundan izole edilen endofitik bakterilerin antikandidal etki gösterebildiği bildirilmiştir (Das vd., 2016). Ayrıca bitkinin fenolik ve flavonoid bileşenlerce zengin özütlerinin antifungal potansiyel taşıyabileceği öne sürülmektedir (Pallag vd., 2018). Genel olarak bakıldığında, lavantanın özellikle hiflenme ve biyofilm gibi virülans faktörlerini hedefleyebildiği, atkuyruğunun ise potansiyel antifungal etkilerinin daha çok dolaylı olup ileri çalışmalara ihtiyaç duyduğu görülmektedir.

2.6.4 Bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin antibakteriyel ve antifungal aktivitelerdeki rolü

pEV'ler lipid–protein–nükleik asit kargoları ve biyouyumlu zar yapıları sayesinde antimikrobiyal ve konak-modülatör etkiler için giderek daha fazla araştırılmaktadır; son derlemeler pEV'lerin bakteriyel ve fungal patojenlere karşı potansiyelini öne çıkarmaktadır (Shan vd., 2024; Yi vd., 2023). *S.aureus* ve *P. aeruginosa* özelinde, GDEN'ler dahil çeşitli pEV'lerin antibakteriyel/antibiyofilm etki gösterebildiği ve hatta hibrit nano-platformlarda (ör. Pd–Pt ile birleştirilen GDEN'ler) güçlü antimikrobiyal performans sergilediği bildirilmiştir (Bahri vd., 2024; Qiao vd., 2022). Hayvan-kaynaklı EV'ler açısından, süt EV'leri'nin *S. aureus* büyümesini doğrudan inhibe ettiği ve antibiyotik taşıyıcısı olarak etkinliği artırabildiği gösterilmiştir; yakın tarihli çalışmalar mEV'lerin β -laktamlar gibi ajanlarla birlikte iç hücre içi *S. aureus* hedeflemede yararlı olabileceğini göstermektedir (J. Kumar vd., 2024; Sapugahawatte vd., 2024). Mezenkimal kök hücre (MSC)-türevi EV'ler ve epitel/immün hücre EV'leri, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel ve antibiyofilm etkiler, inflamasyon azaltımı ve akciğer enfeksiyonu modellerinde yük azalması ile ilişkilendirilmiştir (Bokka vd., 2020; Enayati vd., 2024). Fungal alanda, oral epitel hücrelerinden türeyen EV'lerin *Candida albicans*'a karşı doğrudan membran hasarı aracılığıyla antifungal etki gösterebildiği; ayrıca makrofaj-türevi belirli EV alt populasyonlarının *C. albicans* enfeksiyonlarında biyobelirteç/terapötik hedef olabileceği raporlanmıştır (Li vd., 2024). *C. albicans*'ta konak ve mantar kaynaklı EV'lerin rolü proteomik ve hastalık modelleriyle aydınlatılmaya devam ederken (Gandhi vd., 2022), pEV'lerin doğrudan *C. albicans* üzerine antifungal etkisini kantitatif olarak ortaya koyan birincil deneysel veri hâlâ sınırlıdır

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu tez çalışmasında bitkisel kaynaklı eksozom benzeri nanoparçacıkların izolasyonu, karakterizasyonu ve in vitro biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla çeşitli kimyasal, biyolojik ve fiziksel materyaller kullanılmıştır. Kullanılan tüm materyaller, kullanım amaçlarına göre aşağıda detaylandırılmıştır.

3.1.1 Bitkisel materyaller

Çalışmada kullanılacak bitkisel materyaller, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Halk Sağlığı Enstitüsü'ne bağlı Geleneksel, Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp Bölümü'ne ait Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesi'nden temin edilmiştir. Deneylerde kullanılacak iki farklı tıbbi bitki türü (*Lavandula spp.* ve *Equisetum spp.*) eksozom benzeri nanoparçacıkların kaynağı olarak seçilmiştir. Bitkiler, taze olarak toplanıp steril şartlarda yıkanmış ve homojenizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

3.1.2 Kimyasal maddeler ve çözeltiler

Bu çalışmada kullanılan başlıca kimyasallar ve işlevleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD
RIPA Buffer	Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD
Qubit™ Protein Standards 1, 2, 3 ve Reagent	Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, ABD
%4 Paraformaldehit (PFA)	Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD

Çizelge 3.1 Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler (devam)

DPBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD
%1 Uranyl Asetat	Electron Microscopy Sciences (EMS), Hatfield, ABD
Metanol, Su, Kloroform	Merck, Darmstadt, Almanya
Tripan Mavisi	Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD
DMSO (Dimetilsülfoksit)	Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD
RPMI (Roswell Park Memorial Institute)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD
FBS (Fetal Bovine Serum)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD
Penicillin-Streptomycin (Pen/Strep)	Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD
Trypsin-EDTA	Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD
Mueller-Hinton Broth	(MHB; Merck, Darmstadt, Almanya)

3.1.3 Biyolojik materyaller

İnsan Keratinosit Hücre Hattı Hücre Hattı (HACAT): Epidermal homeostaz ve yara iyileşme süreçlerinin modellenmesinde kullanılmıştır. Hücreler %10 FBS içeren RPMI besiyeri ile kültüre edilmiş ve %5 CO₂ ortamında 37°C'de inkübe edilmiştir.

İnsan Dermal Fibroblast Hücre Hattı (HDF): Cilt dokusunun rejenerasyonu ve yara iyileşmesinde önemli rol oynayan hücrelerdir. Eksozom uygulamalarının hücreler arası etkileşimler ve bağ doku yanıtları üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Hücreler %10 FBS içeren DMEM besiyeri ile kültüre edilmiş ve %5 CO₂ ortamında 37°C'de inkübe edilmiştir.

Bitkisel Eksozom Benzeri Nanopartiküller: HACAT ve HDF hücrelerine uygulanarak hücre canlılığı, yara iyileşmesi, anti-senesens etkisi, antimikrobiyal aktivitesi ve gen ekspresyonu analizlerinde test edilmiştir.

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853: Klinik izolat kökenli, sıklıkla antibiyotik direnç mekanizmalarının araştırılmasında kullanılan, Gram-negatif, fırsatçı patojen bir bakteridir. Antimikrobiyal testlerde kalite kontrol suşu olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Staphylococcus aureus ATCC 43300: Metisiline dirençli (MRSA) fenotipe sahip, Gram-pozitif patojen bir bakteridir. Antimikrobiyal direnç çalışmalarında ve in vitro duyarlılık testlerinde referans suşu olarak kullanılmaktadır.

Candida albicans ATCC 10231: İnsanlarda sık rastlanan mantar enfeksiyonlarının etkenlerinden biridir. Antifungal duyarlılık testlerinde ve patojenite çalışmalarında kullanılan standart maya suşudur.

3.1.4 Cihaz ve laboratuvar ekipmanları

Homojenizatör: Bitki materyallerinin parçalanarak homojen hale getirilmesi için kullanılmıştır.

Santrifüj ve Ultrasantrifüj (2.000g, 10.000g, 120.000g): Eksozom benzeri nanopartiküllerin izolasyonu için sırasıyla partikül uzaklaştırma ve çöktürme amacıyla kullanılmıştır.

Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre: İzole edilen eksozom benzeri nanopartiküllerin protein içeriğinin kantitatif olarak ölçülmesinde kullanılmıştır.

Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM): İzole edilen eksozom benzeri nanopartiküllerin morfolojik olarak görüntülenmesi ve boyut tayini için kullanılmıştır.

Formvar/Carbon Supported Copper Grids: TEM analizinde eksozom benzeri nanopartikülleri taşımak amacıyla kullanılmıştır.

Dinamik Işıık Saçılımı (DLS) Cihazı – Nanosizer: Eksozom benzeri nanopartiküllerin boyut dağılımı ve polidispersite indeksinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

GC-MS (Gaz Kromatografi – Kütle Spektrometresi): Eksozom benzeri nanopartiküllerin içeriğinde bulunan metabolitlerin ayrılması ve analiz edilmesi için kullanılmıştır.

MetaboAnalyst Yazılımı: GC-MS sonuçlarının analizinde; PCA ve ısı haritaları oluşturmak için kullanılmıştır.

TC20™ Automated Cell Counter (Bio-Rad): Hücre canlılığı ve yoğunluğunun otomatik sayımı için kullanılmıştır.

İnkübatör (%5 CO₂, 37°C): Hücrelerin uygun koşullarda büyütülmesi için kullanılmıştır.

Invert Mikroskop: Hücre morfolojisinin ve kültür yoğunluğunun izlenmesinde kullanılmıştır.

96 Kuyucuklu Plakalar: Hücre kültürü ve MTT testi için kullanılmıştır.

qPCR Cihazı: Gen ekspresyon analizlerinin gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır.

3.1.5 Moleküler biyoloji reaktifleri (qPCR)

cDNA Sentez Kiti: Eksozom uygulaması sonrası hücrelerden elde edilen RNA'nın cDNA'ya çevrilmesinde kullanılmıştır.

SYBR Green & Master Mix: qPCR sırasında DNA amplifikasyonu sağlamak için kullanılmıştır.

Gen Spesifik Primerler: FGF, MMP, Col1A1, Col1A2 ve IL-6 genlerinin ekspresyon seviyelerini değerlendirmek amacı ile tasarlanmışlardır.

3.2 Yöntem

Bu çalışma, atkuyruğu ve lavanta bitkilerinden elde edilen eksozom benzeri nanoveziküllerin, in vitro koşullarda, HACAT ve HDF hücre hattı üzerinde yara iyileştirme potansiyelinin ve antimikrobiyal etkilerinin değerlendirilmesini amaçlamaktadır. Ayrıca, bu nanoveziküllerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonu, sitotoksikite analizleri, hücresel senesens üzerine etkileri ve de antimikrobiyal testleri ile biyolojik etkinlikleri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Elde edilen bulgular, pEV tabanlı ile yara iyileştirme ve enfeksiyon kontrolünde yeni ve biyouyumlu bir tedavi yaklaşımının geliştirilmesine katkı sağlamayı hedeflemektedir.

3.2.1 Bitki materyali temini

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi (AYBÜ) Halk Sağlığı Enstitüsü, Geleneksel, Tamamlayıcı ve Entegratif Tıp Bölümü, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Yetiştirme Bahçesi'nden bitki materyali temini sağlanmıştır. Deneysel uygulamalar için pEV kaynağı olarak tıbbi bitkilerden atkuyruğu ve lavanta temin edilmiştir. Bitkiler taze olarak hasat edildikten sonra uygun sterilize koşullar altında muhafaza edilmiştir ve bu çalışmada her iki türün de çiçek kısımları kullanılmak üzere seçilmiştir.

3.2.2 Eksozom izolasyonu

Yapılacak araştırmalarda kullanılmak üzere pEV'lerin izolasyonu standardize edilmiş protokollerin uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sürecinin ilk gününde bitki örnekleri tartılarak %70'lik EtOH ile dezenfekte edilmiş ardından ddH₂O kullanılarak EtOH uzaklaştırılmıştır. Devamında bitki örnekleri PBS kullanılarak blender yardımı ile parçalanmış ve steril filtreler kullanılarak süzölmüştür. Süzülen örnekler steril falkonlara 45ml olacak şekilde bölünerek kademeli santrifüj için hazırlanmıştır. Kademeli santrifüj sonrası örnekler yeni steril falkonlara aktarılmış ultrasantrifüj aşamasına kadar beklemek üzere -20°C'de saklanmıştır (Şekil 3.1A). Ultrasantrifüj aşamasında falkonlarda saklanan

bitki örnekleri ultrasantrifüj tüplerine maksimum hacim miktarına kadar (yaklaşık olarak 80 mL) aktarılır ve tüpler kapatılmadan önce hassas terazide ölçüm yapılarak hacimleri eşitlenir. Tüplerin kapakları sabit bir kuvvet ile sıkıca kapatılır ve ardından ilk yıkama işlemi için cihaza yerleştirilir, örnekler 34.000 rpm’de yaklaşık olarak 2 saat santrifüjlenir. Devamında tüpler açılır içerisindeki sıvı boşaltılır yerine ddH₂O yeniden hacimleri eşitlenerek eklenir. Tüpler kuvvet ile kapatıldıktan sonra cihaza yerleştirilir ve ikinci yıkama işlemi için 34.000 rpm’de yaklaşık 1 saat daha santrifüjlenir. Yıkama işlemi sonunda sıvı yeniden boşaltılır ve tüplerin kenarında bulunan eksozomları parçalamak üzere totalde 700µL PBS aşamalı bir şekilde eksozom üzerinde pipetaj yapılarak uygulanır. Parçalanmış eksozomlar eppendorflara aktarılır (bu aşamada hala homojen bir yapıda olmayan eksozomlara kısa süreli sonikasyon uygulanır) (Şekil 3.1B).

Şekil 3.1 pEV'lerin izolasyon aşamaları

3.2.3 Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre kullanılarak protein miktarı belirlenmesi

Protein miktarı tayini Qubit™ Protein analiz kiti (Katalog Num: Q33211) kullanılarak Invitrogen™ Qubit™ 4 Florometre (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Ticari kit ile birlikte satın alınan üç farklı standart (Qubit Protein Standards 1, 2, 3) hazırlanmıştır. Kit protokolünde belirtildiği üzere her standart için 199 µL buffer ve 1 µL reagent kullanılarak karışım oluşturulmuş ve tüplere dağıtılmıştır. Ölçülecek protein örneği, RIPA buffer ile 1:1 oranında (5 µL RIPA + 5 µL örnek) seyreltilmiştir. Örnekler, 15-20 kez pipetaj yapılarak karıştırılmıştır. 1 dakika bekledikten sonra, 2 µL RIPA'lı örnek standart karışımına eklenmiştir. Tüm tüpler, karanlık bir ortamda 15 dakika bekletilmiştir. Ardından, ilk standartlar ölçülerek protein miktarı belirlenmiştir. Ölçüm sonuçları, RIPA ile sulandırma oranı dikkate alınarak 2 ile çarpılarak nihai protein miktarı hesaplanmıştır.

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

Eksozomların morfolojisini ve spesifik boyutunu karakterize etmek için Transmisyon Elektron Mikroskobu (FEI, Tecnai G2 S-TWIN, ABD) ile inceleme gerçekleştirilmiştir. Eksozomlar 10 dakika boyunca TEM ızgaralarının (Formvar/Carbon Supported Copper Grids) karbon kaplı yüzeyinde inkübe edilerek gride adsorblanmıştır. Daha sonra eksozomların ızgara üzerine sabitlenmesini sağlamak amacıyla %4 PFA ilave edilerek 5 dakika inkübasyon sağlanmış ve PFA'nın yıkama işlemi ile uzaklaştırılmasının ardından eksozomların zıt boyaması, 5 dakika boyunca %1 uranil asetat çözeltisi ile inkübe edilerek gerçekleştirilmiştir. 2 saatlik bir kurutma işleminin ardından TEM altında eksozom morfolojileri gözlemlenmiştir.

3.2.5 Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ile boyut dağılımının belirlenmesi

Eksozomlarının boyut dağılımı ve polidispersite indeksi, küresel parçacıkların Brown hareketinin neden olduğu saçılan ışık yoğunluğundaki değişiklikleri ölçen DLS tekniği ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla, eksozomlar hacimce 1:10 olacak şekilde DPBS ile

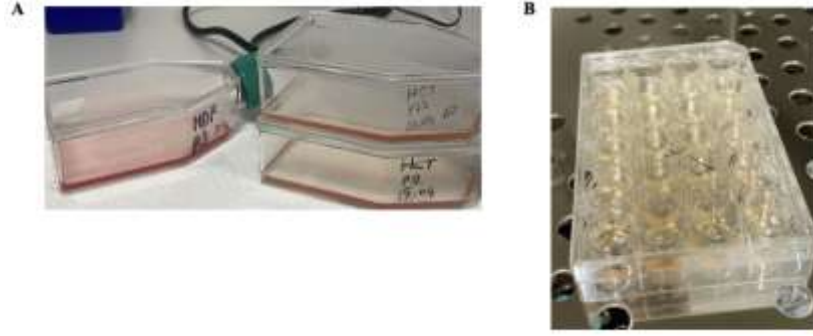
seyreltilmiş ve eksozomlar için Nanosizer (Malvern Panalytical, Birleşik Krallık) kullanılarak DLS spektrumları elde edilmiştir.

3.2.6 GC-MS analizi ve veri işleme

Metabolomik çalışmalar için metanol-su-kloroform sistemi ile izole edilen metabolitlerin gaz kromatografi-kütle spektrofotmetresi (GC-MS) ile analizlerinin gerçekleştirilmesi için söz konusu metabolitlerin türevlendirilmesi gerekmektedir. Türevlendirme ajanı olarak N-Metil-N-(trimetisil) trifluoroasetamid ve N-tert-bütildimetilsil-N-metiltrifluoroasetamid (MTBSTFA) denenecektir. GC-MS’de iyonlaşma için kullanılan yüksek enerji, bileşikleri küçük fragmentlere parçalamaktadır. Bu yüzden uygun fragmentin seçilmesi doğru analizlerin gerçekleştirilmesi için kritik rol oynamaktadır. Elde edilen spektrumlar Metaboanalyst gibi veri işleme ve biyoinformatik araçlar ile işlenmiş ve sonuçta gruplar arası ayrımları göstermek için İlksel Bileşen Analizi ve grupların ayrışmasına katkıda bulunan metabolitlerin belirlenmesi için ısı-harita grafikleri elde edilmiştir.

3.2.7 Hücre kültürü koşulları

Elde edilecek eksozomların biyolojik etkinliklerinin temel düzey hücre kültürü seviyesinde test edilmesi planlanmıştır. Bunun için laboratuvar altyapımızda HACAT hücre hattı ve HDF hücre hattı mevcuttur. HACAT hücreleri, epidermal homeostazisi ve bunun patofizyolojisini incelemek için yaygın olarak kullanılırken, bu hücreler, %10 FBS içeren RPMI besiyeri ile kültüre edilirler ve %5 karbondioksit içeren bir inkübatörde 37°C’de büyütülürler (Figür 3.2) Benzer şekilde İnsan deri fibroblastlarından türetilmiş olan HDF hücreleri, dermal matriks sentezi, yara iyileşmesi ve hücreler arası etkileşimlerin araştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadır. HDF hücreleri de benzer olarak, %10 FBS içeren DMEM besiyeri ile kültüre edilmiştir ve %5 karbondioksit içeren inkübatörde 37°C’de büyütülmüştür (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 (A) %10 FBS içeren hücrelerin besiyeri ile kültüre edilmesi. (B) %5 karbondioksit içeren inkübatörde 37°C’de büyütülmesi

3.2.8 Hücrelerin pasajlanması

Hücreler bir invert mikroskop yardımıyla morfolojik ve sayısal açıdan düzenli olarak incelenmiştir. Hücrelerin besi ortamları 2-3 gün aralıklarla taze besiyeri ile değiştirilmiştir.

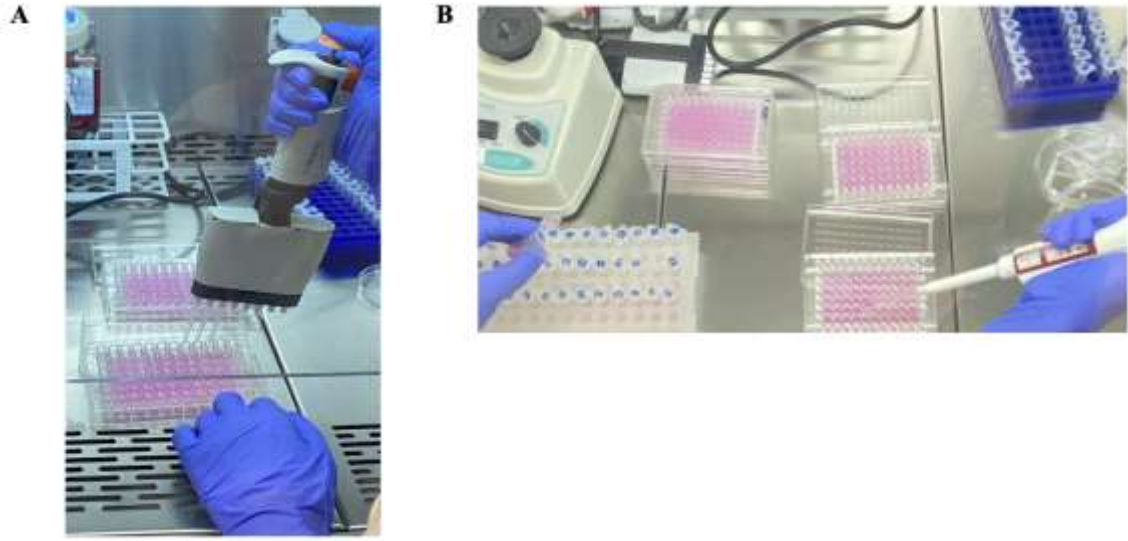
3.2.9 Hücre sayım işlemi

Mililitrede bulunan canlı hücre sayısının hesaplanabilmesi için Tripan mavisi ile boyama yöntemiyle hücre sayım işlemi gerçekleştirilmiştir. Sayma işlemi TC20™ Automated Cell Counter (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, ABD) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Üstel büyüme fazındaki hücreler 96 kuyucuklu plakalarda kuyu başına 1.0×10^5 hücre yoğunluğunda ekilerek ve %5 CO₂ içeren, nemlendirilmiş inkübatörde 37°C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir.

3.2.10 Hücrelere eksozom uygulaması için efektif dozun belirlenmesi (ec₅₀) ve hücrelere eksozomların uygulanması

Hücrelere uygulanacak olan optimum eksozomların doz ve sürelerinin belirlenmesi için ön deneme setleri kurulmuştur. Bu kapsamda hücrelere 1, 10, 50, 100, 200, ve 500 µg/mL ve 12, 24, 48, ve 72. saatte eksozom uygulaması yapılmıştır (Şekil 3.3). Uygun doz aralığı hücre canlılığını ölçen MTT testi aracılığıyla seçilerek hücresel yanıtları incelenmiştir.

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) bileşiğinin çözünmeyen bir formazan ürününe dönüştürülmesine dayanmaktadır. Aktif metabolizmaya sahip canlı hücreler MTT'yi formazana dönüştürürken ölü hücreler bu yeteneğini kaybeder ve sinyal gösteremezler. Bu nedenle renk oluşumu, yalnızca canlı hücrelerin yararlı ve uygun bir belirteci olarak hizmet etmektedir. 590 nm'de ölçülen absorbans, canlı hücrelerin sayısı ile orantılıdır. Tüm denemeler 3 teknik ve 3 biyolojik tekrar şeklinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3 Hücrelere eksozom uygulanması için efektif doz belirlenmesi amacıyla (A) hücrelerin ekilmesi ve (B) hücrelere PEV uygulaması

3.2.11 Atkuyruğu ve lavanta kaynaklı pev'lerin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin *in vitro* olarak incelenmesi

Yara iyileşmesi üzerine eksozomların etkilerini değerlendirmek amacıyla *in vitro* çizik testi uygulanmıştır. HACAT ve HDF hücreleri 6 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve %90 konfluens düzeyine ulaştıklarında, steril pipet ucu kullanılarak monolayer yüzeyinde çizik oluşturulmuştur. Ardından hücreler, belirlenen konsantrasyonlarda pEV'ler ile muamele edilerek 24, 48 ve 72. saatlerde düzenli aralıklarla izlenmiştir.

Tedavi sonrası hücre göçü ve yara kapanma süreci ters mikroskop altında gözlemlenmiş ve görüntülenmiştir. Çizik modeli kapsamında hücre migrasyonu, proliferasyonu ve yara

kapanma oranları ImageJ yazılımı kullanılarak kantitatif olarak ölçülmüş ve elde edilen veriler analitik değerlendirmeye tabi tutulmuştur.

3.2.12 Hücresel senesensin SA- β -Gal (β -Galaktosidaz) aktivitesi ile değerlendirilmesi

Senesens, Cell Senescence β -Galactosidase Staining Kit (Katalog No: K320-500, MedChemExpress (MCE), Monmouth Junction, NJ, USA) kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücreler yaklaşık %90 konfluens düzeyine ulaştığında kültür ortamı uzaklaştırılmış ve hücreler PBS ile yıkanmıştır. Ardından, β -galaktozidaz fiksatif çözeltisi ile oda sıcaklığında 10–15 dakika süreyle fikse edilen hücreler üç kez PBS ile yıkanmıştır. Negatif kontrol için boyama çözeltisi eklenmemiş hücreler kullanılmıştır.

Boyama solüsyonu, üretici talimatlarına göre hazırlanarak hücrelere uygulanmış ve inkübasyonun ardından senesens fenotipini yansıtan mavi formazan çökeltileri optik mikroskop altında değerlendirilmiştir. Görüntüler ImageJ yazılımı kullanılarak analiz edilmiş, β -galaktozidaz pozitif alanlar hücresel yüzey alanına normalize edilerek kantitatif olarak hesaplanmıştır.

3.2.13 Total Oksidan Statüsü (TOS) / Total Antioksidan Statüsü (TAS) ölçümleri ile redoks dengesinin değerlendirilmesi

HDF ve HACAT hücreleri, her bir flaskta 1×10^5 hücre yoğunluğunda olacak şekilde T25 flasklara ekilmiştir. Hücreler %90 konfluensiye ulaştığında, H-EV, L-EV veya S-EV (sinerjik grup) ile muamele edilmiştir.

24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinin ardından hücreler tripsin ile ayrılmış, elde edilen hücre lizatı 1000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra hücre pelletleri 1 mL soğuk PBS içerisinde süspanse edilmiştir.

Toplam antioksidan kapasite, ABTS-temelli kolorimetrik bir kit (E-BC-K801-M, Elabscience, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. 0–2 mmol/L aralığında, %60 etanol ile

hazırlanan standart dilüsyonları ile standart eğri oluşturulmuş ve 660 nm’de absorbanı değişimleri kaydedilmiştir.

Toplam oksidan seviyeleri ise kolorimetrik bir kit (E-BC-K802-M, Elabscience, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Hidrojen peroksit (H₂O₂) standartları, çift distile su ile 0–100 µmol/L aralığında hazırlanmış ve ölçümler 590 nm’de yapılmıştır.

Her iki analizde de örneklerin TOS ve TAS konsantrasyonları, optik yoğunluk değerleri üzerinden hesaplanan formüller kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.14 Gen ekspresyon analizleri (RNA izolasyonu ve cDNA sentezi)

Ticari kit kullanılarak ve üreticinin önermiş olduğu protokol adımları takip edilerek RNA’lar elde izole edilmiştir. Elde edilen RNA’ların saflık ve miktarları NanoDrop Lite spektrometre (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, ABD) ile ölçölmüştür. İzole edilen RNA’ların lambda değerlerinin 1.9-2,0 arasında olması izolasyon adımlarının başarılı bir şekilde geręekleřtięini ve sonraki adımlarda kullanılmak üzere doğru kalitede ve saflıktaki RNA’ların izole edildiğini doğrulamıştır. Takiben izole edilen RNA’ların integritilerinin kontrolünü sağlamak üzere RNA’lar %1’lik agaroz jelde yürütölerek göröntölönmüştir. Gen ifadesini ölçmek üzere tek iplikli RNA’lar cDNA’ya dönuştürölmüştür. cDNA eldesi için ticari kit kullanılarak üretici firmanın önermiş olduğu protokol adımları takip edilerek cDNA’lar sentezlenmiştir

3.2.15 Primer tasarımı

Hedef genler (Col 1A1, Col 1A2, FGF, MMP, IL-6) için primerler, Integrated DNA Technologies (IDT) PrimerQuest Tool çevrimiçi yazılımı kullanılarak tasarlanmıştır. Gen-spesifik bölgeler sečilerek tasarım sürecinde GC içeriği optimize edilmiştir (Çizelge 3.2). Amplikon uzunlukları ve potansiyel ikincil yapılar (saç tokaları, dimerizasyon) IDT algoritmaları kullanılarak kontrol edilerek hedef genler tasarlanamıştır. Tasarlanan primer dizileri, NCBI Primer-BLAST veritabanı aracılığıyla özgülölük ačilısından

doğrulanarak ticari olarak sentezlettirilmiştir. Devamında FGF, MMP, Col 1A1 Col 1A2 ve IL-6 genlerine ait tasarlanan primerler kullanılarak elde edilen cDNA'ların çoğaltımı sağlanmıştır.

Çizelge 3.2 Primerler, Integrated DNA Technologies (IDT) PrimerQuest Aracı kullanılarak tasarlanmış ve özgüllükleri Primer-BLAST veri tabanı aracılığıyla doğrulanmıştır. Tabloda, ilgili genler için ileri (F) ve geri (R) primer dizileri 5'→3' yönünde sunulmaktadır

	İleri Primer Dizileri (5'→3')	Geri Primer Dizileri (5'→3')
COL1A1	CTGCTGGACGTCCTGGTGAA	ACGCTGTCCAGCAATACCTTGAG
COL1A2	GAGGGCAACAGCAGGTTCACTTA	TCAGCACCACCGATGTCCAA
FGF (FGF-2)	GTGTGTGCTAACCGTTACCT	GCTCTTAGCAGACATTGGAAG
MMP (MMP-1)	TTGAAGCTGCTTACGAATTTGC	GAAGCCAAAGGAGCTGTAGATGTC
IL-6	TAGCCTCAATGACGACCTAAG	GTGGGGCTGATTGGAAACCT

3.2.16 qPCR analizi

cDNA örnekleri, gen-özümler primerler kullanılarak SYBR Green I boyası (Bio-Rad, ABD) ile amplifiye edilmiştir. qPCR reaksiyonları, CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, ABD) cihazında gerçekleştirilmiş ve gen ekspresyon seviyeleri nicel olarak değerlendirilmiştir.

3.2.17 Antibakteriyel ve antifungal aktivitenin belirlenmesinde mikrodilüsyon yöntemi

Antibakteriyel ve antifungal aktivitenin test edilmesinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde, CLSI (2008, 2009) standartları referans alınarak kısmen modifiye edilmiş bir yaklaşım izlenmiştir. Bu bağlamda, çalışmada test materyali olarak Mueller-Hinton Agar (MHA; Merck, Darmstadt, Almanya) plaklarında aktive edilen bakteri ve mantar suşları kullanılmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ve *Candida albicans* ATCC 10231 suşları için

antimikrobiyal aktivite testlerinde Mueller-Hinton Broth (MHB; Merck, Darmstadt, Almanya) tercih edilmiştir.

Bakteriyel suşlar için 24 saat, fungal suş için ise 48 saat süreyle 37 °C’de inkübasyonun ardından, MHA plaklarında gelişen kültürlerden 0.5 McFarland standardına uygun kültür süspansiyonları hazırlanmıştır. Kültür süspansiyonunun hazırlanmasının ardından, her bir mikrotitre plaka kuyusuna 150 µL MHB ortamı, bakteriyel suşlar için 5×10^5 CFU/mL ve fungal suş için $0.5\text{--}2.5 \times 10^3$ CFU/mL olacak şekilde (her bir kuyuya 15 µL) inoküle edilmiştir. Ayrıca, üç farklı test grubu ile negatif ve pozitif kontrol grupları da kuyulara eklenmiştir.

Bu bağlamda, test grupları bitkilerden izole edilip karakterize edilen ekstraselüler veziküllerin farklı konsantrasyonlarıyla oluşturulmuştur. Her bir örnek 10^9 vezikül/mL konsantrasyonunda hazırlanmış ve MHB ortamı, 10^5 , 10^6 ve 10^7 vezikül/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Pozitif kontrol kuyularında yalnızca ortam ve kültür inokulumu yer almıştır. İnokülasyon sonrası, bakteriyel kültürler için plaklar 24 saat boyunca 37 °C’de, fungal kültür için ise 48 saat boyunca 35 °C’de inkübe edilmiştir.

Optik yoğunluk (OD) ölçümleri, bakteriyel kültürler için 6., 12. ve 24. saatlerde; fungal kültür için ise 24. ve 48. saatlerde, 600 nm dalga boyunda çalışan bir mikrotitre plaka okuyucusu ile gerçekleştirilmiştir. Test gruplarındaki optik yoğunluk değerlerinde, kontrol gruplarına kıyasla gözlenen azalmalar, uygulanan veziküllerin potansiyel antimikrobiyal aktivitesi olarak yorumlanmıştır.

3.2.18 Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz

qPCR’den elde edilen veriler referans olarak B-Actin geni kullanılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ formülü ile normalize edilmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001). Daha sonra elde edilen bu veriler Multiple t testi kullanılarak Graphpad Prism 9.0.0.121 (<https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/>) yazılımı ile istatistiksel analiz yapılmış ve grafiğe dönüştürülmüştür. Antimikrobiyal çalışmalar için ise; veriler, ortalama $\pm$ standart sapma

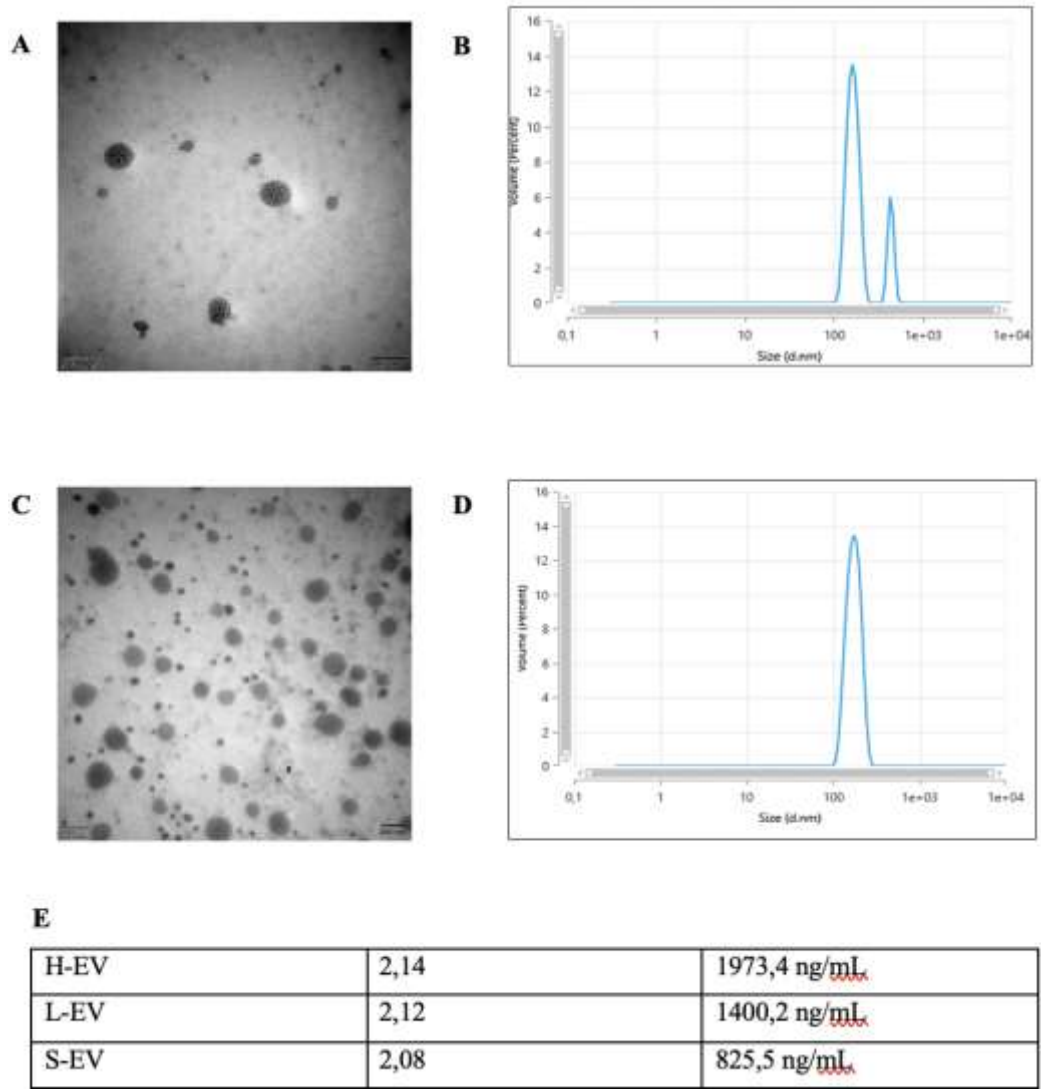
(SD) şeklinde ifade edilmiştir. Gruplar arası istatistiksel anlamlılık, kontrol grubu ile test grupları arasındaki çoklu karşılaştırmalar için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Dunnett'in post hoc testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm analizler, GraphPad Prism yazılımı (sürüm 8.0, GraphPad, Boston, MA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküller, hücreler arası iletişimde rol oynayan doğal yapılar olmaları ve biyolojik içerik taşıma kapasiteleri nedeniyle son yıllarda yoğun ilgi görmektedir. Zencefil (*Zingiber officinale*) (Zhu vd., 2015), üzüm (*Vitis vinifera*) (Savcı vd., 2021), turunçgiller (*Citrus spp.*)(Raimondo vd., 2015), gibi pek çok bitkiden elde edilen pEV'lerin morfolojik ve biyofiziksel özellikleri literatürde detaylı olarak rapor edilmiştir. Bununla birlikte, tıbbi bitkiler arasında önemli bir yere sahip olan atkuyruğu ve lavanta kaynaklı pEV'lere ilişkin veriler sınırlıdır. Bu bağlamda çalışmamız, söz konusu iki bitkiden elde edilen pEV'lerin temel fiziksel özelliklerini ortaya koyarak, literatürdeki bulgularla kıyaslama yolu ile biyolojik etkilerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmiştir.

4.1 pEV'lerin morfolojik analizi ve karakterizasyonu

Bu çalışmada, atkuyruğu ve lavanta bitkilerinden izole edilen eksozom benzeri veziküllerin morfolojik ve boyutsal özellikleri detaylı olarak incelenmiştir. İzolasyon sonrası gerçekleştirilen karakterizasyon analizleri, bu veziküllerin hem yapısal bütünlüklerini hem de tipik eksozomal morfolojilerini koruduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, her iki bitki türünden türetilen pEV'lerin nanometrik ölçekte istikrarlı yapılar oluşturduğunu, boyut dağılımlarında ise farklılıklar göstererek biyolojik çeşitlilik sunduğunu göstermektedir (Şekil 4.1). Bu ön değerlendirmeler, söz konusu pEV'lerin biyolojik fonksiyonellikleriyle ilişkili olabilecek yapısal nitelikleri anlamak açısından önemli ipuçları sağlamaktadır.



Şekil 4.1 *E. arvense* kaynaklı pEV'lerin TEM görüntüsü (A) ve DLS analizi (B); *L. angustifolia* kaynaklı pEV'lerin TEM görüntüsü (C) ve DLS analizi (D); pEV'lerin protein konsantrasyonları (E)

E. arvense örneğimizde DLS analizinde 161 nm'lik baskın popülasyon ve 430 nm'lik ikinci pik gözlenmiştir. Bu durum literatürde bildirilen bimodal dağılımlarla uyumludur. Örneğin, *Raphani Semen* (*Raphanus sativus*) kaynaklı nanoveziküllerde ~294 nm ve ~386 nm civarında iki ayrı popülasyon rapor edilmiştir (An vd., 2015; An vd., 2023). Benzer şekilde brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) kaynaklı nanoveziküllerde ~18 nm ve ~118 nm'lik iki ayrı boyut dağılımı gözlenmiştir (Urzi vd., 2023). Ginseng (*Panax ginseng*) kaynaklı eksozom-benzeri nanoveziküllerde ise ortalama boyut ~105.8 nm olmakla birlikte, ölçüm moduna bağlı olarak daha büyük partikül dağılımlarının varlığı da bildirilmiştir (Kim vd., 2022). Ayrıca PEV'ler üzerine yapılan kapsamlı derlemelerde,

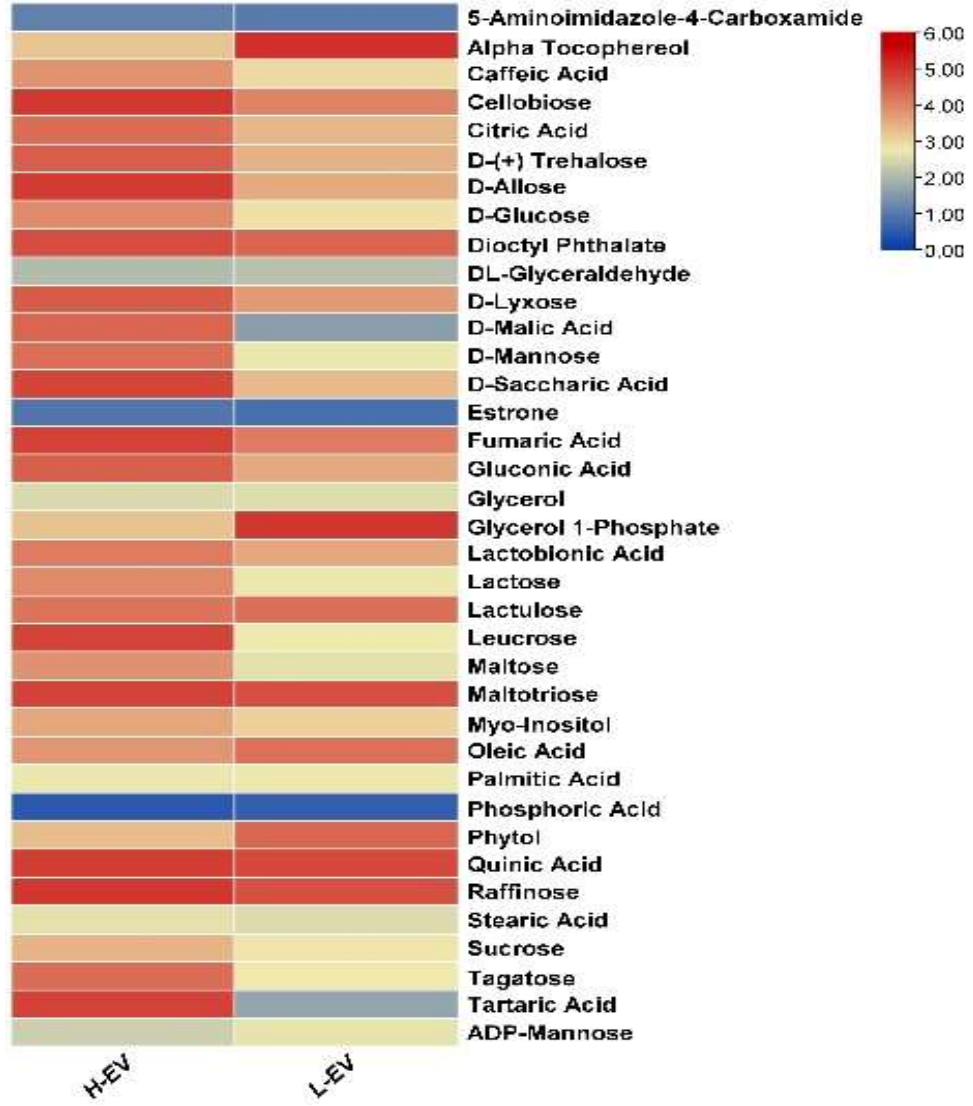
Elma (*Malus domestica*), Mısır (*Zea mays*), Yaban Mersini (*Vaccinium corymbosum*) gibi türlerde iki veya daha fazla popülasyon gözlemlendiği belirtilmiştir (Calzoni vd., 2024). Bu bulgular, *E. arvense* örneğimizdeki çift pikin, küçük boyutlu eksozom-benzeri nanoveziküller ile daha büyük mikrovezikül veya agregat alt popülasyonlarını temsil edebileceğini düşündürmektedir. Literatürde rapor edilen 50–500 nm arası değişen dağılımlar dikkate alındığında 430 nm pikin de biyolojik açıdan olağan sınırlar içerisinde değerlendirilebileceği, ancak TEM/NTA ve fraksiyonlama gibi yöntemlerle doğrulanmasının gerekli olduğu sonucuna varılabilir. *L. angustifolia* örneğimizde DLS analizi sonucu elde edilen 173 nm'lik tek pik, literatürde bildirilen monodisperse eksozom benzeri nanoveziküllerle uyumludur. Yapılmış güncel bir çalışmada lavanta kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerde ortalama boyutun 160.1 nm olduğu bildirilmiştir (Li vd., 2025). Bu bulgular, lavanta örneğimizin DLS analizinin, monodisperse ve biyolojik olarak aktif nanoveziküllerin varlığını desteklediğini göstermektedir. Bu veriler, *L. angustifolia* örneğimizin DLS analizinin, farklı bitkisel kaynaklı eksozomlarla benzer boyut özellikleri gösterdiğini ve bu türlerin biyolojik fonksiyonları açısından karşılaştırılabilir potansiyele sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, hem *L. angustifolia* hem de *E. arvense* kaynaklı eksozomların literatürdeki diğer bitki türleriyle uyumlu boyut aralıklarında olduğunu, ancak türlere özgü morfolojik çeşitlilik gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Mevcut sonuçların doğruluğunu artırmak için NTA gibi ek karakterizasyon tekniklerinin kullanılması önerilmektedir.

Çalışmamızda yapılan tekrarlanan ölçümler sonucunda, H-EV ve L-EV örneklerinin protein konsantrasyonlarının yaklaşık 13.200 µg/mL (13,2 mg/mL) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1E). Bu değerler, literatürde raporlanan bitki kaynaklı eksozom benzeri veziküllerin (pEV) protein konsantrasyonlarından anlamlı derecede yüksektir. Örneğin, Emmanuela ve ark. (2024), *Solanum nigrum* L. meyvelerinden izole edilen pEV'lerin protein konsantrasyonunu BCA yöntemi kullanarak 275,38 µg/mL olarak bildirmiştir (Emmanuela vd., 2024). Benzer şekilde, Iriawati ve Vitasasti (2024) tarafından yapılan çalışmada, papaya kaynaklı pEV'lerin BCA yöntemiyle ölçülen protein konsantrasyonlarının 1486–1761 µg/mL aralığında olduğu rapor edilmiştir (Iriawati vd., 2024).

Bu farklılıklar, kullanılan bitki kaynaklarındaki çeşitlilik ve uygulanan izolasyon ile protein tayin yöntemlerindeki farklılıklardan kaynaklanabilir (Emmanuela vd., 2024). Çalışmamızda elde edilen yüksek protein konsantrasyonları, uygulanan izolasyon protokolünün etkili vezikül saflaştırması sağladığını ve izolatların biyolojik işlevsellik açısından zengin içerik taşıdığını göstermektedir. Benzer şekilde, Bokka ve ark. (2020) tarafından domates kaynaklı eksozom benzeri veziküller üzerinde yürütülen bir çalışmada, protein miktar tayini için hem BCA hem de Qubit yöntemleri kullanılmış ve Qubit testinin daha güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Bu nedenle, söz konusu çalışmada yalnızca Qubit verileri dikkate alınmıştır (Bokka vd., 2020).

4.2 pEV'lerin sahip olduğu biyoaktif bileşenlerin metabolom analizi

Eksozom benzeri veziküllerin metabolomik içerikleri, biyolojik aktivitelerinin altında yatan mekanizmaları anlamada kritik bir rol oynamaktadır. Çalışmamızda H-EV ve L-EV fraksiyonlarının karşılaştırmalı analizi (Şekil 4.2) özellikle yara iyileşmesi ve hücrel yaşlanma ile ilişkili moleküllerin belirlenmesini sağlamıştır. GC-MS ile yapılan metabolomik incelemeler, her iki bitkinin pEV'lerinde çeşitli biyoaktif bileşiklerin bulunduğunu göstermiştir. Bu metabolitlerin yara iyileşmesi, antioksidan savunma ve antimikrobiyal etkilerle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Metabolomik analizler, her iki bitkinin pEV içeriğinde biyolojik olarak aktif pek çok metabolitin bulunduğunu ortaya koymuştur. Özellikle fenolik bileşikler, flavonoidler ve terpenoidlerin varlığı, bu yapılara potansiyel antioksidan, antimikrobiyal ve yara iyileştirici özellikler kazandırmaktadır.



Şekil 4.2 *E. arvense* ve *L. angustifolia* kaynaklı PEV'lerin metabolik profilleri

E. arvense'de daha önce uçucu yağ bileşikleri (ör. hexahydrofarnesyl acetone, thymol, trans-phytol) raporlanmışken, bizim çalışmamızda nadiren bildirilen uçucu olmayan metabolitler (5-aminoimidazole-4-carboxamide, α - tokoferol, organik asitler, şekerler) saptanmıştır. Özellikle TCA döngüsü ara ürünleri (sitrat, malat, fumarat) ve karbonhidrat metabolitleri (glukoz, trehaloz, mannoz, sakkaroz), artan enerji ihtiyacının karşılanması, redoks homeostazının korunması ve rejeneratif süreçlerin desteklenmesinde biyolojik açıdan anlamlıdır (Martínez-Reyes ve Chandel, 2020; Wu vd., 2024). Nitekim trehalozun keratinositlerde otofajiyi uyarak hücre göçünü ve yara kapanmasını hızlandırdığı (Jin vd., 2023), mannozun ise kolajen katlanması ve fibril organizasyonunda kritik rol oynadığı gösterilmiştir (Li vd., 2021).

H-EV metabolomunda tespit edilen stearik asit, epidermal bariyer stabilitesine katkı sağlarken; oleik asidin düşük dozlarda geçirgenliği artırıcı, yüksek dozlarda ise bariyer bozucu etkiler gösterebildiği raporlanmıştır (Bouwstra vd., 2023; Lin vd., 2018). L-EV metabolomunda öne çıkan α - tokoferol (E vitamini) ve kafeik asit, güçlü antioksidan özellikleriyle dikkat çekmiştir. α -Tokoferolün oksidatif stresi baskılayarak kolajen sentezini artırdığı ve yara kapanmasını hızlandırdığı (Bonferoni vd., 2018; Primabudi vd., 2025; Zhang vd., 2021), kafeik asit'in ise serbest radikal temizleyici ve antiinflamatuvar etkileriyle fibroblastlarda kollajen benzeri polimer sentezini artırdığı raporlanmıştır (Song vd., 2008). Bu bulgular, her iki bileşiğin sinerjik etkiyle proliferasyon, inflamasyon kontrolü ve matriks yeniden yapılanması gibi yara iyileşmesinde kritik mekanizmaları desteklediğini göstermektedir.

Ayrıca L-EV'lerde yüksek seviyelerde bulunan glycerol-1-phosphate, keratinositlerde gliserolipid biyosentezi için zorunlu bir öncül olup (Lewin vd., 2004; Wendel vd., 2009), cilt nem dengesi ve bariyer fonksiyonlarının korunmasında kritik rol oynamaktadır. Nitekim AQP3 eksik farelerde gliserol taşınımının bozulmasının cilt hidrasyonunu ve bariyer bütünlüğünü bozduğu, gliserol replasmanı ile bu etkilerin düzeldiği gösterilmiştir (Hara ve Verkman, 2003).

Sonuç olarak, literatür *L. angustifolia*'yı esasen uçucu bileşiklerle (linalool, linalyl asetat) ilişkilendirirken (Dong vd., 2020; Massoud vd., 2024) bizim çalışmamız fenolik asitler, vitaminler, organik asitler ve uzun zincirli lipidler gibi daha geniş bir metabolomik çeşitliliği ortaya koymuştur. Bu kapsamlı analiz, H-EV ve L-EV'lerin enerji metabolizması, antioksidan savunma ve doku onarımında farklı fakat birbirini tamamlayan biyokimyasal eksenler sunduğunu (Çizelge 4.1) ve böylece yara iyileşmesi ve yaşlanma süreçlerine potansiyel sinerjik katkılar sağlayabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.1 *E. arvense* ve *L.angustifolia* kaynaklı pEV’lerin içerikleri ve öne çıkan biyolojik etkileri

Bileşik Adı	Öne Çıkan Biyolojik Etkisi
5-Aminoimidazole-4-Carboxamide	AMPK aktivasyonu, metabolik ve proliferatif destek
Alpha-Tocopherol (E vitamini)	Güçlü antioksidan, membran koruyucu
Caffeic Acid	Antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar
Cellobiose	Prebiyotik potansiyel (sınırlı)
Citric Acid	Antimikrobiyal, pH düzenleyici
D-(+)-Trehalose	Hücre koruyucu, antioksidan, osmoprotektan
D-Allose	Anti-proliferatif, oksidatif stres düzenleyici
D-Glucose	Enerji kaynağı, proliferatif destek
Diethyl Phthalate	Toksik, endokrin bozucu
DL-Glyceraldehyde	Sitotoksik potansiyel, oksidatif stres indükleyici
D-Lyxose	İmmün yanıtla ilişkili, nadir şeker
D-Malic Acid	Metabolik destek, antioksidan
D-Mannose	Antiadhezyon etkili, antimikrobiyal
D-Saccharic Acid	Antioksidan potansiyel
Estrone	Östrojenik etki, proliferasyon artışı
Fumaric Acid	Antioksidan, antiinflamatuvar
Gluconic Acid	Antimikrobiyal, pH düzenleyici
Glycerol	Nemlendirici, hücre viabilitesi artırıcı

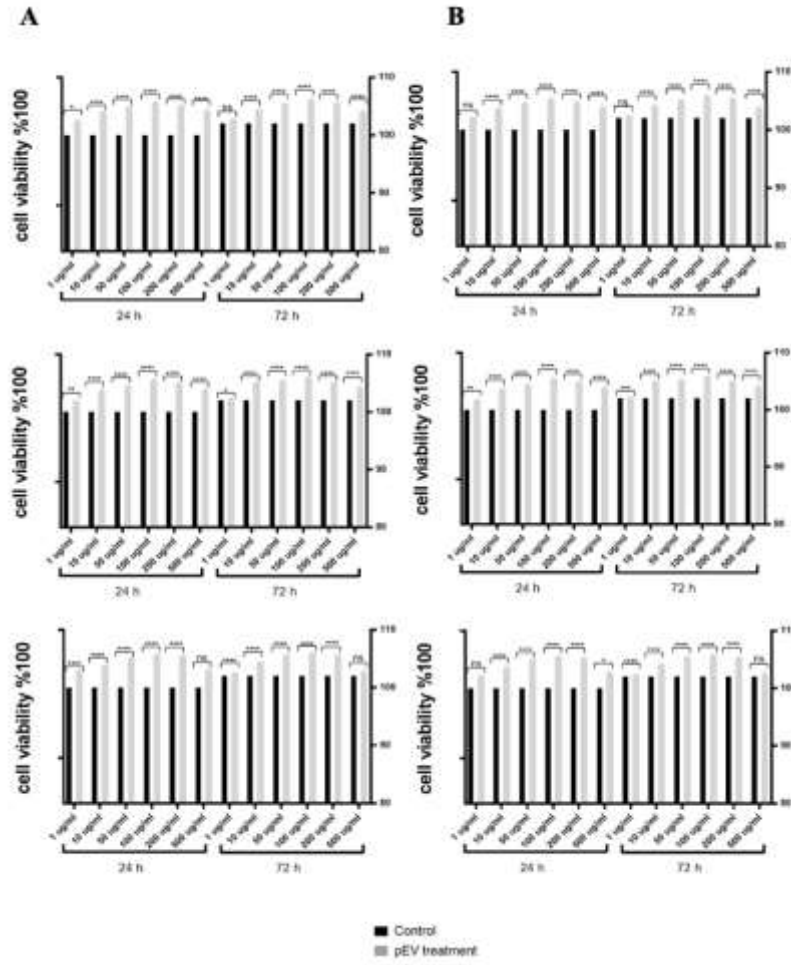
Çizelge 4.1 *E. arvense* ve *L.angustifolia* kaynaklı pEV’lerin içerikleri ve öne çıkan biyolojik etkileri (devam)

Glycerol 1-Phosphate	Hücre zarı stabilizasyonu, metabolik rol
Lactobionic Acid	Antioksidan, nemlendirici, yara iyileşmesini destekler
Lactose	Prebiyotik potansiyel
Lactulose	Prebiyotik, antiinflamatuvar
Leucrose	Glukoz homeostazı üzerinde etkili (sınırlı veri)
Maltose	Enerji kaynağı
Maltotriose	Prebiyotik potansiyel
Myo-Inositol	Hücre sinyal iletimi, antioksidan, proliferatif
Oleic Acid	Antiinflamatuvar, proliferatif, yara iyileştirici
Palmitic Acid	Hücre zarında yapısal rol, yüksek dozda inflamatuvar
Phosphoric Acid	Fosfat kaynağı, metabolik süreçlerde rol
Phytol	Antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal
Quinic Acid	Antioksidan, antiviral, antitümör etkiler
Raffinose	Prebiyotik, bağırsak sağlığına destek
Stearic Acid	Hücre zarında koruyucu, yüksek dozda inflamatuvar potansiyel
Sucrose	Enerji kaynağı, mikrobiyal substrat
Tagatose	Antioksidan, prebiyotik, düşük glisemik indeks
Tartaric Acid	Antioksidan, antimikrobiyal, pH düzenleyici
ADP-Mannose	Glikozilasyon süreçleri, proliferatif destek

4.3 Hücre Kültürü Çalışmaları

4.3.1 Hücrelere eksozom uygulaması için efektif doz belirlenmesi

Çalışmanın bir sonraki aşamasında, pEV'lerin insan deri hücreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu bağlamda, HACAT ve HDF hücre hatlarında test edilen pEV'lerin hücre fizyolojisi üzerindeki potansiyel etkileri incelenmiştir. Bu hücre tipleri, insan derisinin temel yapısal bileşenleri olan dermis ve epidermisi temsil etmektedir. İn vitro olarak, pEV'ler hücrelere 24 ve 72 saat boyunca 1, 10, 50, 100, 200 ve 500 µg/mL konsantrasyonlarında uygulanmıştır (Şekil 4.3). Hücre canlılığı, hücresel metabolik aktiviteyi yansıtan dehidrogenaz enzimlerinin aktivitesini ölçen MTT testi kullanılarak değerlendirilmiştir (Kamiloglu vd., 2020). Bu yöntem, uygulanan özütlerin hücre sağlığı ve potansiyel toksisite üzerindeki etkileri hakkında değerli veriler sağlamıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, hem H-EV'lerin hem de L-EV'lerin HACAT keratinositleri ve HDF dermal fibroblast hücreleri üzerinde 24 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri boyunca non-sitotoksik bir profil sergilediğini ortaya koymuştur. Tüm test konsantrasyonlarında (1, 10, 50, 100, 200 ve 500 µg/mL) hücre canlılığı değerleri %90'nın üzerinde seyretmiştir. Özellikle 24 saatlik maruziyetlerde, her iki eksozom grubunda da 100 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek hücre canlılığı oranı kaydedilmiştir. Bu bulgular, H-EV ve L-EV'lerin yalnızca sitotoksiste göstermemekle kalmayıp, belirli koşullarda hücresel metabolik aktiviteyi ve canlılığı artırma potansiyeline de sahip olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, her iki eksozom tipinin de hem keratinositler hem de dermal fibroblastlar tarafından kısa ve uzun süreli maruziyetlerde iyi tolere edildiği ve biyouyumluluk açısından yüksek bir uygulama potansiyeli sunduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.3 Farklı konsantrasyonlarda pEV uygulamasının 24 saat ve 72 saatlik inkübasyon sonrasında hücre canlılığı üzerindeki etkileri. (A) Yukarıdan aşağıya: H-EV, L-EV ve S-EV ile muamele edilen HDF hücreleri.(B) Yukarıdan aşağıya: H-EV, L-EV ve S-EV ile muamele edilen HaCaT hücreleri (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$, ns: önemsiz)

Önceki çalışmalarda da benzer şekilde, farklı bitkisel kaynaklardan izole edilen pEV'lerin biyoyoumluluk ve hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Örneğin, limondan elde edilen veziküllerin hem *in vitro* hem de *in vivo* deneylerde insan periferik kan mononükleer hücreleri (PBMC'ler) üzerinde sitotoksik etki oluşturmadığı rapor edilmiştir (Raimondo vd., 2022). Aynı şekilde, Balon Çiçeği (*Platycodon grandiflorus*) kökünden izole edilen veziküllerin HDF hücrelerinde proliferasyonu destekleyici özellik gösterdiği bildirilmiştir (Kim, Jang, ve Park, 2023). Papaya kaynaklı pEV'lerin ise 5, 10, 20, 50 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarının hiçbirinde sitotoksositeye neden olmadığı ve 5 $\mu\text{g/mL}$ 'de hücre canlılığının %103,7'ye ulaştığı belirtilmiştir (Iriawati vd., 2024)

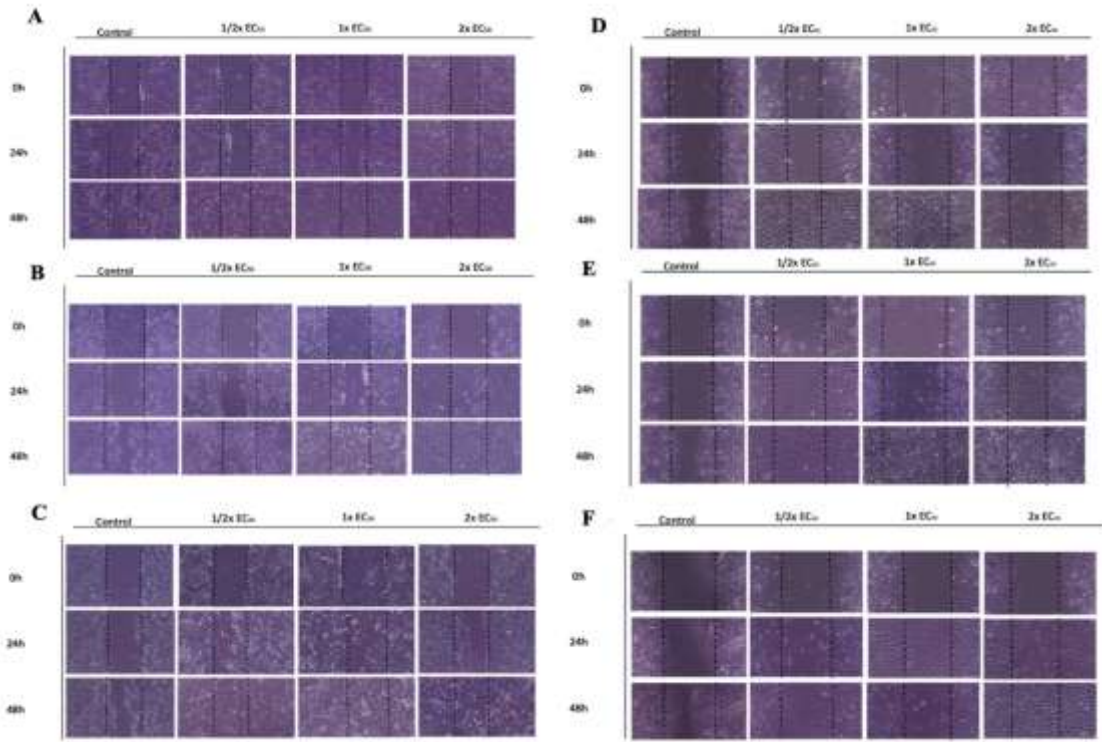
4.3.2 pEV uygulamasının hücre göçü ve yara iyileşmesi üzerine etkisi

Yara iyileşmesinde temel rol üstlenen hücre göçünü değerlendirmek amacıyla, HACAT ve HDF hücrelerinde in vitro çizik modeli uygulanmış ve ardından H-EV, L-EV ve S-EV'ler EC_{50} , yarım doz ($\frac{1}{2} EC_{50}$) ve iki kat doz ($2 \times EC_{50}$) seviyelerinde test edilmiştir (Şekil 4.4) . Kontrol grubuna herhangi bir pEV uygulanmamıştır.

HACAT hücrelerinde: H-EV grubunda, kontrol hücrelerinde 48. saatte yara kapanması %45.01'de kalırken, H-EV uygulanan tüm dozlarda tam kapanma (%100) sağlanmıştır. 24. saatte kapanma oranları $\frac{1}{2}$ dozda %17.75, 1 dozda %18.75 ve 2 dozda %23.61 olarak ölçülmüş; doz artışının erken dönemde hücre göçünü hafif şekilde hızlandırdığı gözlenmiştir. Mikroskobik görüntüler, H-EV'lerin özellikle 48. saatte hücre göçünü belirgin biçimde artırarak yara alanını tamamen kapattığını ortaya koymuştur. L-EV uygulamalarında da kapanma kontrol grubuna kıyasla daha hızlı gerçekleşmiştir. Kontrolde 48. saatte %42.44 kapanma gözlenirken, L-EV uygulanan tüm gruplarda bu süre sonunda tam kapanma elde edilmiştir. 24. saatte $\frac{1}{2}$ doz, 1 doz ve 2 doz gruplarında sırasıyla %33.34, %41.18 ve %46.47 oranlarında kapanma kaydedilmiştir. Özellikle yüksek doz L-EV uygulamasının erken dönemde en güçlü göç ve daralma etkisini sağladığı belirlenmiştir. S-EV grubunda, kontrol hücrelerinde 48. saatte kapanma %48.31 iken, $\frac{1}{2}$ doz ve 1 doz uygulamalarında tam kapanma sağlanmış; 2 dozda ise %88 kapanma gerçekleşmiştir. 24. saat sonuçlarında ise kapanma oranları $\frac{1}{2}$ dozda %41.75, 1 dozda %41.68 ve 2 dozda %28.32 olarak bulunmuş, orta dozun erken dönemde en etkili olduğu görülmüştür.

HDF hücrelerinde: Kontrol grubunda 48. saatte kapanma %49.58 iken, H-EV uygulanan tüm dozlarda tam kapanma gerçekleşmiştir. 24. saatte $\frac{1}{2}$ dozda %35.48, 1 dozda %31.27 ve 2 dozda %43.75 kapanma gözlenmiş; en yüksek kapanma 2 doz grubunda elde edilmiştir. Mikroskobik analizler, özellikle yüksek doz H-EV ile fibroblast göçünün belirgin biçimde arttığını göstermiştir. L-EV uygulamalarında, kontrol grubunda 48. saatte kapanma %33.33 iken, 1 doz ve 2 doz gruplarında tam kapanma gerçekleşmiştir. 24. saatte $\frac{1}{2}$ doz, 1 doz ve 2 dozda sırasıyla %25, %37.71 ve %35.86 kapanma oranları elde edilmiştir. Özellikle 1 ve 2 doz uygulamaları, kontrol grubuna kıyasla erken

dönemde kayda değer artış sağlamıştır. Görüntüleme analizleri, L-EV'lerin fibroblast tabakasında göçü hızlandırarak yara boşluğunu daha kısa sürede doldurduğunu doğrulamıştır. S-EV grubunda, kontrol hücrelerinde 48. saatte kapanma %57.32 iken, 2 dozda tam kapanma, 1 dozda ise %92 oranında kapanma elde edilmiştir. 24. saatte kapanma oranları 1/2 dozda %30, 1 dozda %44.60 ve 2 dozda %51.08 olarak bulunmuştur. Özellikle 2 doz S-EV uygulaması hem erken dönemde hızlı kapanma hem de 48. saatte tam iyileşme sağlamış, bu da sinerjik etkinin fibroblast göçünü ve proliferasyonunu artırdığını göstermiştir.



Şekil 4.4 A) HACAT-H-EV B) HACAT-L-EV C) HACAT-S-EV D) HDF-H-EV E) HDF-L-EV F)HDF-S-EV. Farklı konsantrasyonlarda pEV ile zenginleştirilmiş kültür ortamının yara iyileşmesi üzerindeki etkileri. Çizik iyileşme modeli kullanılarak hücre göçü 0., 24. ve 48. saatlerde mikroskopik görüntülerle değerlendirilmiştir

Bu çalışmada elde edilen bulgular, Jin ve arkadaşlarının (2025) diyabetik yara iyileşmesinde eksozomların terapötik potansiyelini ele alan kapsamlı derlemesiyle paralellik göstermektedir. Söz konusu derlemede, eksozomların özellikle yüksek glukoz koşullarında endotel hücre fonksiyon bozukluğunu geri çevirebildiği, HUVEC

hücrelerinde proliferasyon, migrasyon ve t p formasyonu kapasitesini artırarak anjiyogenezi yeniden aktive ettiği belirtilmiştir. Bu etkilerin, eksozomların taşıdığı miRNA'lar ( zellikle miR-126, miR-21 ve miR-132), büyüme faktörleri (VEGF, FGF2, HGF) ve antioksidan enzimlerin sinerjik katkısıyla gerçekleştiği ifade edilmektedir. Jin vd. (2025), eksozom aracılı bu rejeneratif etkinin yalnızca vask logenezi değil, aynı zamanda inflamasyonun üzülmesi, oksidatif stresin dengelenmesi ve fibroblast proliferasyonunun uyarılması gibi yara onarımının çoklu fazlarını desteklediğini vurgulamıştır. Benzer şekilde, çalışmamızda da bitki kaynaklı eksozom benzeri nanopartiküllerin endotel benzeri hücresel davranışları destekleyebilecek, oksidatif stres koşullarında hücre canlılığını koruyabilecek ve rejeneratif süreçleri güçlendirebilecek biyolojik aktivitelere sahip olduğu görülmüştür. Bu durum hem memeli hem de bitki kökenli veziküllerin, diyabetik yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu gibi kompleks süreçlerde çok katmanlı biyoterapötik araçlar olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir (Jin vd., 2025). Literatürde yer alan pEV odaklı çalışmalarda; Sarımsak (*Allium sativum*), Zencefil (*Zingiber officinale*), Elma (*Malus domestica*), Narenciye (*Citrus spp.*) ve Brokoli (*Brassica oleracea*) gibi bitkilerden elde edilen eksozomların, hücre proliferasyonunu, migrasyonu, anti-inflamatuar süreçleri ve kolajen sentezi gibi yeniden yapılandırıcı süreçleri modüle ederek yara iyileşmesini hızlandırabileceğini kanıtlamıştır. *Allium sativum* eksozomları, anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleriyle yara iyileşmesini destekler; hücreler arası iletişimi düzenleyerek inflamasyonu azaltır ve doku onarımını hızlandırır (Yu vd., 2025). *Zingiber officinale* eksozomları, içerdiği 6-gingerol ve 6-shogaol bileşenleri sayesinde inflamasyonu azaltarak yara iyileşmesini destekler (Zhuang vd., 2015). *Malus domestica* eksozomları, fibroblast proliferasyonunu ve kolajen üretimini artırarak yara iyileşmesini hızlandırır ve geleneksel kullanım bulgularıyla paralellik gösterir (Trentini vd., 2022). *Citrus spp.* eksozomları, fibroblast proliferasyonunu artırmak ve anti-inflamatuar etki sağlamak yoluyla yara iyileşmesini destekler (Li vd., 2025). Bu karşılaştırmalar, farklı bitkisel eksozomların biyolojik olarak yara iyileşmesini desteklediğini ve literatürdeki bulgularla paralellik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

pEV'lerin ve bitki özütlerinin, yara iyileşmesi süreçlerinde hücre proliferasyonu, migrasyonu, anti-inflamatuar etkiler ve kolajen sentezi gibi mekanizmaları modüle

ederek iyileşmeyi desteklediği bir çok farklı çalışmada kanıtlanmış olmakla birlikte; *E. arvense* bu bağlamda dikkat çekici bir bitkidir; içeriğindeki silika ve flavonoid bileşenler sayesinde diyabetik sıçan modellerinde %5 ve %10'luk merhem uygulamaları yara kapanma oranlarını %99,71 ve %99,93'e çıkararak dermal ve epidermal rejenerasyonu artırmış ve granülasyon doku kalınlığını iyileştirmiştir (Ozay vd., 2013). Benzer şekilde, %3'lük atkuyruğu merhemi epiziyotomi sonrası yara iyileşmesini hızlandırmış ve ağrı seviyelerini azaltmıştır (Asgharikhatoni vd., 2015). Ayrıca, *E. arvense* özütleri fibroblast kollajen sentezini artırarak diyabetik yaraların iyileşmesini desteklemiştir (Aguayo-Morales vd., 2023). *L. angustifolia* ise içerdiği linalool ve linalil asetat gibi bileşenlerle anti-inflamatuar ve antioksidan özellik gösterir. *L. angustifolia* esansiyel yağı içeren nanoemülsiyon kremler derin cilt yaralarının iyileşmesini hızlandırmış ve *L. angustifolia* eksozom benzeri nanoparçacıkları UVB kaynaklı cilt yaşlanmasına karşı koruyucu etkiler göstermiştir (Li vd., 2025). Özellikle sinerjik uygulamalarda yara kapanma oranlarının tekli uygulamalara kıyasla daha yüksek bulunması, bitkisel pEV'lerin hücre göçünü ve doku yenilenmesini güçlü şekilde desteklediğini göstermektedir. Bu sonuçlar, *L. angustifolia* yağının fibroblast farklılaşması ve kollajen sentezini artırdığına dair önceki verilerle (Mori vd., 2016) uyumlu olmakla birlikte, pEV formlarının kullanılmasıyla literatüre yeni bir biyolojik etki düzeyi eklenmiştir.

4.3.3 β -galaktosidaz aktivitesi ile hücre senesensin tayini

Bu çalışmada, bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin hücre senesens üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla HACAT ve HDF hücrelerinde in vitro senesens modeli oluşturulmuştur. Hücrelerde yaşlanma fenotipi, β -galaktosidaz (β -Gal) uygulaması ile indüklenmiş ve yaşlanma durumunun değerlendirilmesi amacıyla SA- β -gal boyaması gerçekleştirilmiştir. Uygulama sonrasında hücre kültürlerinde gözlenen renk değişimleri, senesens derecesinin görsel olarak belirlenmesinde temel değerlendirme kriteri olarak kullanılmıştır.

SA- β -gal boyama sonuçlarından elde edilen fenotipik veriler, pEV uygulamasının hem HACAT hem de HDF hücrelerinde senesens sürecini baskılayıcı etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Kontrol gruplarında, yaşlanma ile ilişkili olarak hücrelerin yassılaşması ve

yoğun mavi boyanma gözlenmiştir. Buna karşılık, pEV uygulanan gruplarda –özellikle $1 \times EC_{50}$ ve $2 \times EC_{50}$ dozlarında– mavi boyanma yoğunluğunda belirgin azalma ve hücre morfolojisinde anlamlı iyileşme tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

HACAT hücrelerinde yüksek doz H-EV uygulaması, yaşlanma göstergesi olan genişlemiş sitoplazmik yapıları ortadan kaldırarak daha kompakt ve iç şeklinde hücre morfolojisinin yeniden oluşumunu sağlamıştır. L-EV uygulaması boyanma yoğunluğunu doz bağımlı olarak azaltmış ve morfolojik iyileşmenin özellikle orta ve yüksek dozlarda belirginleştiği gözlenmiştir. Kombine uygulamalar ise her iki parametre açısından tekli uygulamalardan benzer ya da daha güçlü etkiler göstermiştir (Şekil 4.5A).

Benzer şekilde, HDF hücrelerinde kontrol grubunda gözlenen yoğun mavi boyanma ve düzensiz hücre morfolojisi, pEV uygulaması sonrası doza bağılı olarak azalmıştır. Uygulama yapılan gruplarda hücrelerin daha düzenli, uzamış ve sağlıklı bir morfoloji kazandığı görülmüştür (Şekil 4.5B). Bu bulgular, pEV’lerin SA- β -gal pozitif hücre oranını fenotipik düzeyde azalttığını ve yaşlanma ile ilişkili morfolojik değişiklikleri kısmen tersine çevirebildiğini göstermektedir.

Göreceli SA- β -galaktosidaz aktivitesi verileri, hem H-EV hem de L-EV uygulamalarının HACAT ve HDF hücrelerinde yaşlanma ile ilişkili biyokimyasal aktiviteyi anlamlı şekilde azalttığını ortaya koymuştur. Kontrol grubunda normalize edilmiş β -galaktosidaz aktivitesi değeri 1.0 olarak kabul edilirken, pEV uygulamaları tüm doz gruplarında bu değeri düşürmüştür.

HACAT hücrelerinde yüksek doz H-EV ($2 \times EC_{50}$) uygulaması, β -galaktosidaz aktivitesini en düşük seviyelere indirerek güçlü bir anti-senesens yanıt oluşturmuştur. L-EV uygulaması da aktiviteyi doz bağımlı şekilde azaltmış, yüksek dozda belirgin bir baskılama sağlamıştır. Kombine uygulamalar, her iki hücre hattında da tekli uygulamalara göre daha güçlü inhibitör etki göstermiştir.

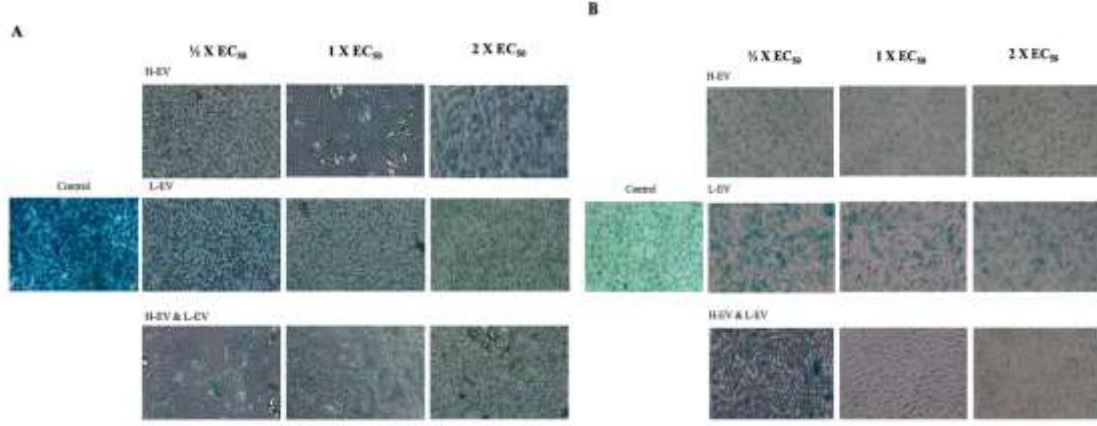
Benzer biçimde, HDF hücrelerinde tüm pEV uygulamaları kontrol grubuna kıyasla β -galaktosidaz aktivitesini düşürmüştür; özellikle yüksek doz kombine uygulama en düşük aktivite değerlerine ulaşmıştır. Bu sonuçlar, her iki bitkiden elde edilen pEV'lerin SA- β -gal aktivitesini doz bağımlı biçimde inhibe ettiğini ve hücrel yaşlanmanın biyokimyasal göstergelerini anlamlı ölçüde hafiflettiğini göstermektedir.

Şekil 4.6, bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin (pEV'lerin) HACAT ve HDF hücrelerinde senesens belirteçleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. HDF hücrelerinde (Şekil 4.6A), hem H-EV hem de L-EV uygulamaları, tüm dozlarda ($\frac{1}{2} \times EC_{50}$, $1 \times EC_{50}$, $2 \times EC_{50}$) ve kombine gruplarda kontrol grubuna kıyasla β -galaktosidaz aktivitesini azaltmıştır. Bu azalma, düşük dozlarda dahi gözlenmiş olup dermal fibroblastlarda pEV uygulamalarının senesens baskılama potansiyelini vurgulamaktadır. HACAT hücrelerinde (Şekil 4.6B) ise benzer bir azalma eğilimi izlenmiş, ancak bu düşüş fibroblastlara göre daha sınırlı kalmıştır. Bu durum, pEV'lerin anti-senesens etkilerinin hücre tipine bağlı olarak değişebileceğini ve fibroblastlarda daha belirgin olabileceğini düşündürmektedir.

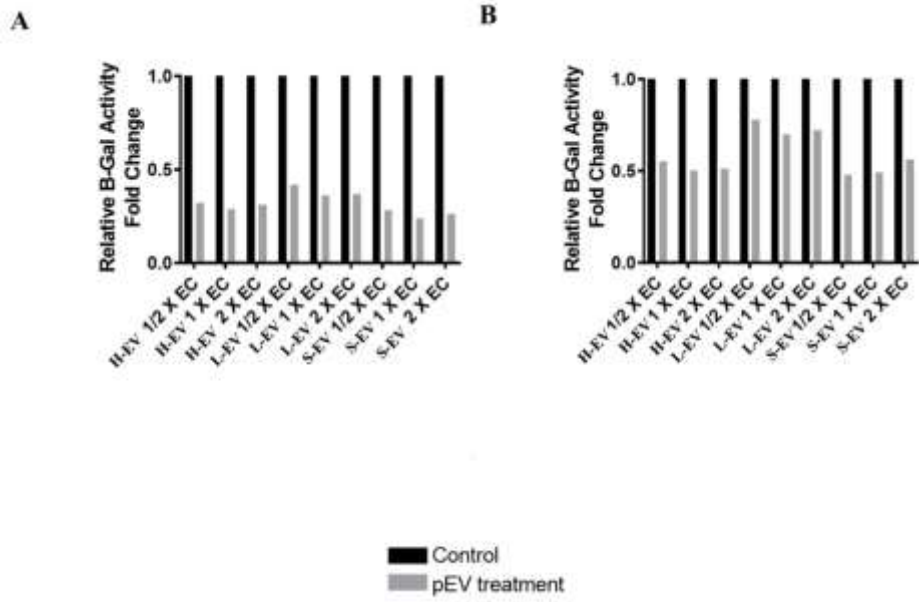
Benzer şekilde, Cho ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, *Panax ginseng* hücrelerinden türetilen eksozomların (GcEVs) UVB ışınına maruz bırakılan melanositlerde yaşlanma sürecini hafiflettiği bildirilmiştir. GcEV uygulaması, SA- β -gal aktivitesini doz bağımlı olarak azaltmış ve kök kaynaklı eksozomlardan (GrEVs) daha etkili bir anti-senesens etki göstermiştir. Ayrıca, yaşlanmış hücre morfolojisinin daha genç bir fenotipe dönüştüğü gözlenmiştir (Cho vd., 2021).

Buna ek olarak, Kim ve ark. (2023) tarafından yapılan başka bir çalışmada, Iris bitkisinden izole edilen eksozomların oksidatif stres kaynaklı hücrel yaşlanmaya karşı koruyucu etkileri incelenmiştir. Hidrojen peroksit (H_2O_2) ile uyarılan insan epidermal keratinositlerinde (nHEK) senesens hücre oranı belirgin şekilde artarken, Iris-eksozomlarıyla ön işlem uygulanan gruplarda bu oran anlamlı ve doz bağımlı biçimde azalmıştır. Ayrıca, hücre döngüsü inhibitörü p21 geninin ekspresyonunda da düşüş tespit edilmiştir. Bu bulgular, Iris-eksozomlarının hücre içi ROS üretimini azaltarak yaşlanma

ile ilişkili süreçleri hafifletme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir (Kim, Jang, ve Park, 2023)



Şekil 4.5 β -galaktozidaz (SA- β -gal) boyaması ile belirlenen hücresel yaşlanma üzerine pEV uygulamasının etkileri A) HACAT hücreleri, B) HDF hücreleri



Şekil 4.6 HDF (A) ve HACAT (B) hücrelerinde yaşlanma belirteci olan β -galaktozidaz (β -Gal) aktivitesi üzerine pEV uygulamasının etkisi

4.3.4 pEV'lerin antioksidan kapasiteleri ve oksidatif stresin modülasyonu

Literatürde, pEV'lerin hücre içi mekanizmalar ve gen ekspresyonu üzerinde etkili olarak doku onarımını desteklediği bildirilmiştir. Özellikle buğday ve greyfurt kaynaklı pEV'lerin kollajen sentezini artırdığı, fibroblast proliferasyonu ve migrasyonunu hızlandırdığı ve anjiyogenez süreçlerini desteklediği rapor edilmiştir. Bu çalışmalarla paralel olarak, pEV'lerin doğal antioksidan bileşenlerinin, reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerini azaltarak cilt yaşlanmasıyla ilişkili hücresel hasarı azalttığı ve kollajen üretimini uyardığı gösterilmiştir (Liu ve Wang, 2023; Savcı vd., 2021; Şahin vd., 2019; Yang vd., 2023).

Bu doğrultuda, çalışmamızda elde edilen pEV'lerin anti-senesens ve yara iyileştirici potansiyel sergilediği gözlemlenmiştir. Bu bulgular ışığında, H-EV ve L-EV'lerin antioksidan kapasitesi ve oksidatif stres üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. pEV'lerin, içerdiği biyoaktif bileşenler aracılığıyla hücresel antioksidan savunma sistemlerini destekleyerek oksidatif hasarı azaltma potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. pEV uygulamasının oksidan seviyeleri üzerindeki etkilerinin araştırılması, bu yapıların redoks homeostazı ve yaşlanma ile ilişkili moleküler mekanizmalar üzerindeki rollerini anlamak açısından önem taşımaktadır. Bu amaçla, senesens koşulları altında toplam oksidan statüsü (TOS) ölçümleri yapılarak pEV uygulamasının oksidatif yük üzerindeki düzenleyici etkisi değerlendirilmiştir (Şekil 4.7).

HDF hücrelerinde, senesens koşullarında toplam oksidan düzeyleri kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde artmıştır. pEV uygulaması, tüm bitki kaynaklı ve sinerjistik gruplarda bu artışı anlamlı derecede azaltmıştır ($p < 0.0001$). Benzer şekilde HACAT hücrelerinde senesens sonucu artan oksidan düzeyleri, pEV uygulamasıyla anlamlı biçimde düşmüştür. Her iki hücre tipinde de özellikle H-EV'lerin oksidan düzeylerini baskılamada daha etkili olduğu saptanmıştır.

Literatürde, limon suyu kaynaklı nanoveziküllerin (LNVs) oksidatif stres üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmada hem in vitro hem in vivo modellerde koruyucu etkiler gözlenmiştir. İnsan dermal fibroblastlarında yapılan deneylerde, 24 saatlik LNV ön

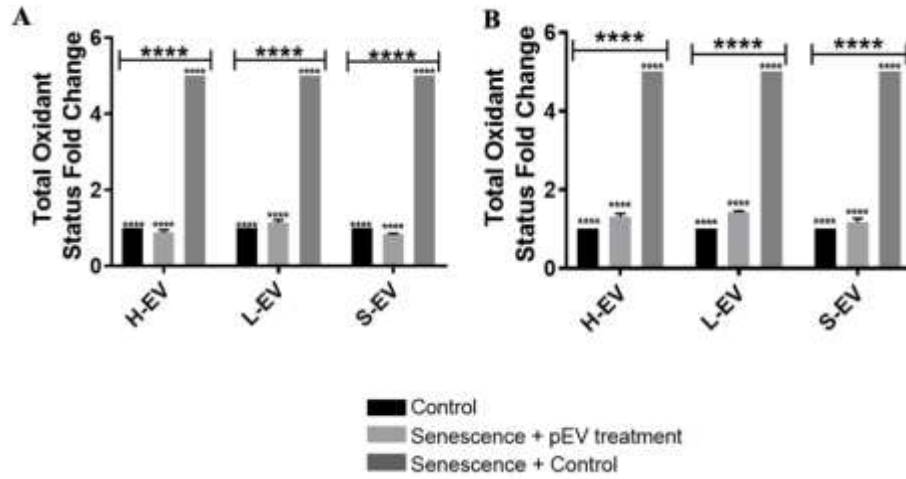
muamelesi, H₂O₂ ve UVB ile indüklenen oksidatif stres koşullarında hücre içi ROS düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır. Bu etki, AhR/Nrf2 sinyal yolunun aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Zebrafish embriyo modelinde yapılan in vivo testler de ROS düzeylerinde azalma ve LPS kaynaklı nötrofil migrasyonunun baskılanması ile bu sonucu desteklemiştir (Urzi vd., 2023). Benzer şekilde Kim ve ark. (2021), *Aloe vera* kaynaklı eksozomların (A-EVs) oksidatif stres altındaki HACAT hücrelerinde doza bağlı ROS azalması ve SOD aktivitesinde artış sağladığını bildirmiştir. Ayrıca, Nrf2 yolunun aktivasyonu ve HO-1, CAT, SOD gibi antioksidan genlerin anlamlı şekilde yukarı regülasyonu rapor edilmiştir (Kim vd., 2021).

Senesens koşullarında HDF hücrelerinin toplam antioksidan statüsü (TAS) kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde azalmıştır. pEV uygulaması, bu azalmayı tüm bitki kaynaklı ve sinerjistik gruplarda tersine çevirmiş, değerlerin kontrol grubunun üzerine çıkmasını sağlamıştır (Şekil 4.8) ($p < 0.0001$). Benzer şekilde, HACAT hücrelerinde pEV tedavisi, senesens nedeniyle azalan antioksidan kapasiteyi anlamlı düzeyde artırmıştır. Her iki hücre hattında da H-EV'ler ve sinerjistik kombinasyonlar, antioksidan kapasiteyi artırmada en etkili gruplar olarak öne çıkmıştır.

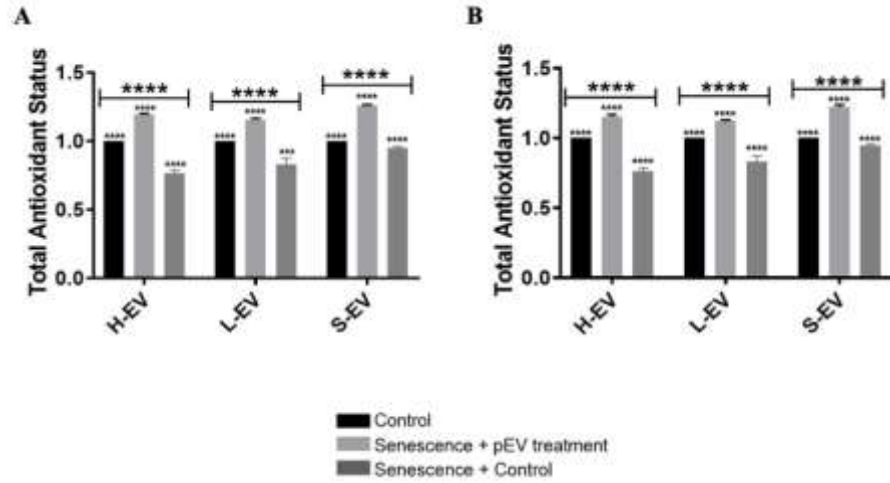
Raimo ve arkadaşlarının (2023) yaptığı bir çalışmada, Exocomplex® adı verilen ve kuşkonmaz, kiraz, üzüm, kivi, portakal, kan portakalı, limon, mango, papaya, greyfurt, bergamot ve domates gibi birçok bitkiden elde edilen pEV'leri içeren bir karışımın, H₂O₂ kaynaklı oksidatif hasar ve redoks dengesizliğini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, pEV karışımının yüksek biyoyararlanıma sahip doğal antioksidan bileşenler içerdiği ve “süper antioksidan” potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır (Di Raimo vd., 2024). Aynı araştırma grubunun bir yıl sonra yaptığı bir başka çalışmada ise, organik üzüm, kan portakalı, papaya, nar ve mandalina kaynaklı pEV karışımının H₂O₂ ile indüklenen redoks dengesizliğini düzelttiği, mitokondriyal homeostazı iyileştirdiği ve vimentin ile MMP-9 ekspresyonunu artırarak yara iyileşmesini desteklediği belirtilmiştir (Di Raimo vd., 2023). Ayrıca, Li ve ark. (2023), kırmızı mandalina kaynaklı pEV'lerin yüksek fenolik ve flavonoid içeriği nedeniyle güçlü antioksidan özellik sergilediğini ve H₂O₂ kaynaklı hücresel stres koşullarında antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahip olduğunu bildirmiştir (Li vd., 2023).

Oksidatif Stres İndeksi (OSI), hücre veya dokulardaki oksidatif stres düzeyini belirlemek için kullanılan önemli bir biyokimyasal parametredir. OSI, toplam oksidan statüsü (TOS) ile toplam antioksidan kapasite (TAC) oranı değerlendirilerek hesaplanır ve hücrel redoks dengesindeki bozulmaları nicel olarak yansıtır. Yüksek OSI değerleri, ROS üretimi ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin bozulduğunu ve oksidatif hasarın arttığını gösterir. Bu nedenle OSI ölçümleri, yaşlanma, kronik inflamasyon, dejeneratif hastalıklar ve yara iyileşmesi süreçlerinde oksidatif stresin rolünü anlamak açısından kritik öneme sahiptir (Tombulturk vd., 2024; Wang vd., 2023).

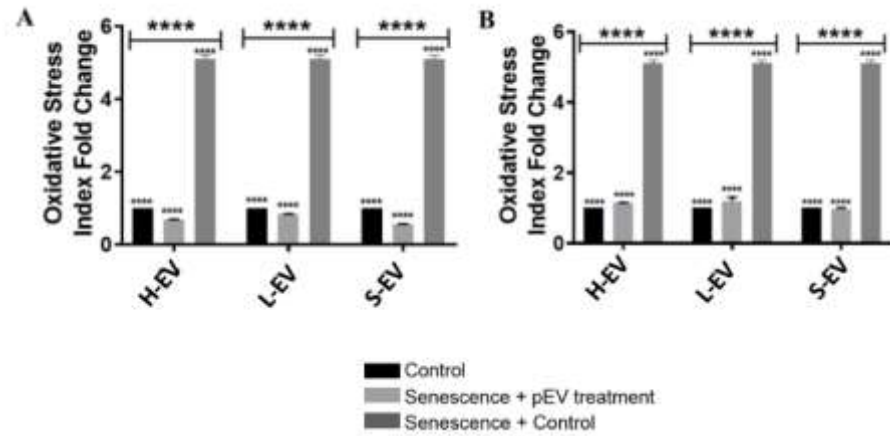
Bu doğrultuda, H-EV ve L-EV uygulamaları, her iki hücre hattında da senesensle indüklenen oksidatif stresi anlamlı şekilde azaltmıştır (Şekil 4.9). Bireysel veya sinerjistik olarak uygulandığında, her iki bitki türünden izole edilen pEV'lerin oksidatif stres indeksini düşürerek redoks dengesinin korunmasına katkı sağladığı saptanmıştır. Bu bulgular, farklı bitki türlerinden elde edilen pEV'lerin, hücrel yaşlanma süreçlerinde oksidatif stresi düzenlemede ve doku sağlığını korumada önemli bir rol üstlenebileceğini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.7 HDF (A) ve HACAT (B) hücrelerinde toplam oksidan seviyesi (TOS) üzerine pEV uygulamasının etkileri (***p < 0.001, ****p < 0.0001)



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



Şekil 4.9 HDF (A) ve HACAT (B) hücrelerinde oksidatif stres indeksi (OSI) üzerine pEV uygulamasının etkileri (****p < 0.0001)

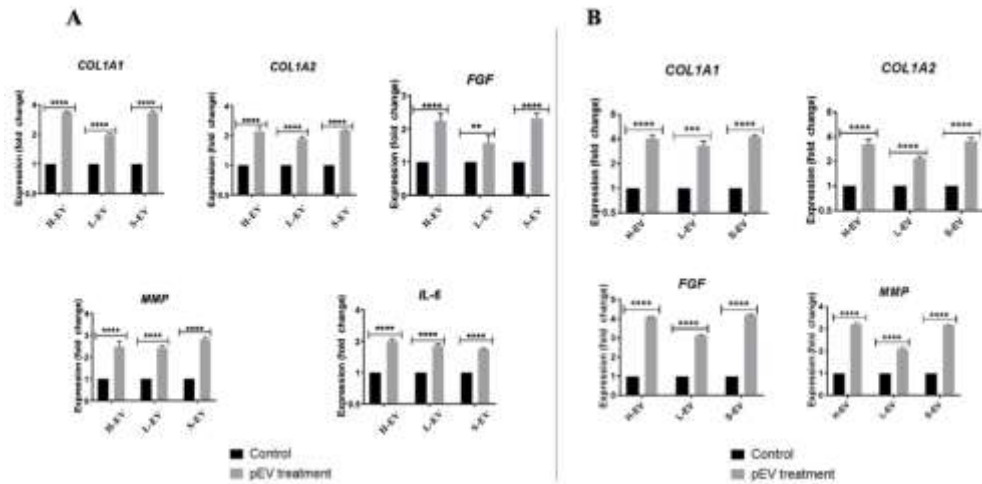
4.3.5 Gen ekspresyon analizleri

HACAT hücrelerinde *E. arvense* ve *L. angustifolia* kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin uygulamaları, kollajen gen ekspresyonu ve hücre proliferasyonu üzerinde belirgin etkiler göstermiştir (Şekil 4.10). *E. arvense* uygulamaları COL1A1 ve COL1A2 genlerinin ekspresyonunu anlamlı şekilde artırmış, FGF seviyeleri de hücre proliferasyonu ve yara iyileşmesini desteklemiştir. Ancak MMP ekspresyonunda gözlenen artış, kollajen yıkımının eş zamanlı olarak gerçekleşebileceğini göstermektedir. Lavanta pEV'leri de benzer şekilde kollajen genlerini ve FGF ekspresyonunu artırmış,

fakat MMP seviyelerinde artış gözlenmiştir. İlave olarak, HACAT hücrelerinde IL-6 ekspresyonu incelenmiş ve her iki bitki uygulamasında da artış gözlenmiştir; bu durum, inflamatuvar yanıtın aktif olabileceğine işaret etmektedir.

HDF hücrelerinde yapılan analizler, *E. arvense* ve *L. angustifolia* pEV'lerinin kollajen genleri ve FGF ekspresyonunu anlamlı şekilde artırdığını göstermiştir. *E. arvense* uygulamaları özellikle COL1A1 ve COL1A2 gen ekspresyonunda güçlü artışlar sağlamış, FGF seviyeleri de hücre proliferasyonunu desteklemiştir. *L. angustifolia* pEV'leri de kollajen sentezini artırmış, fakat bazı durumlarda MMP ekspresyonunda yükselmeler gözlenmiştir. HDF hücrelerinde IL-6 analizi yapılmamış olup, inflamatuvar potansiyel sadece HACAT sonuçları üzerinden değerlendirilmektedir. Genel olarak, her iki bitkinin pEV'leri HDF hücrelerinde doku yenilenmesini desteklerken, MMP artışı potansiyel doku yıkımı riskini göstermektedir.

Yapılan qPCR analizleri, hem H-EV hem de L-EV uygulamalarının, özellikle sinerjik koşullar altında, HACAT ve HDF hücrelerinde yara iyileşmesi ile ilişkili genetik programları anlamlı düzeyde modüle ettiğini göstermiştir.



Şekil 4.10 HACAT keratinositlerinde (A) ve HDF fibroblastlarında (B) H-EV ve L-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)

Bu bulgular, bitki kaynaklı nanoveziküllerin deri hücrelerinde rejeneratif yanıtları uyardığını bildiren güncel literatürle uyumludur (Chen vd., 2023; Wang vd., 2023). Her iki hücre hattında da kollajen genlerinin (COL1A1, COL1A2) ekspresyonu artmış; özellikle fibroblastlarda gözlenen daha güçlü artış, bu hücrelerin ekstraselüler matriks (ECM) sentezindeki fizyolojik rollerini desteklemiştir. Bu durum, çeşitli bitki kaynaklı veziküllerin tip I kollajen üretimini artırdığını gösteren deneysel verilerle örtüşmektedir. Örneğin, Hsu vd. (2025) tarafından yapılan bir çalışmada, glukorafanın açısından zengin Kara Lahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*) kökenli eksozom benzeri nanoveziküllerin, insan dermal fibroblastlarında (NB1RGB) tip I kollajen ekspresyonunu anlamlı düzeyde artırdığı rapor edilmiştir. Mikrodizi analizleri, ECM oluşumu ve kollajen sentezi ile ilişkili genlerde yukarı yönlü düzenlenme göstermiştir. Ayrıca, mikroRNA açısından zengin nanoveziküllerin fraksiyonunun, Smad7 ekspresyonunu baskılayarak kollajen üretimini teşvik ettiği belirtilmiştir (Hsu vd., 2010).

Her iki hücre hattında da FGF geninin anlamlı düzeyde artış göstermesi, pEV'lerin proliferatif ve migratif yanıtları destekleyen büyüme faktörü ortamını güçlendirdiğini göstermektedir. Bu durum, bitki kaynaklı veziküllerin keratinosit ve fibroblast migrasyonunu hızlandırarak yara kapanmasını teşvik ettiğini bildiren çalışmalarla uyumludur. Cho vd. (2022) tarafından yürütülen bir araştırmada, Gotu kola (*Centella asiatica*), Semizotu (*Portulaca oleracea*), Yeşil Çay (*Camellia sinensis*) yapraklarından ve on farklı *Panax ginseng* kökünden elde edilen eksozomların, özellikle FGF12 dahil olmak üzere FGF ailesi üyelerinin ekspresyonunu belirgin biçimde artırdığı gösterilmiştir. Bu etki, bitki kaynaklı eksozomların cilt sağlığında biyolojik olarak aktif bileşenler olarak kullanılabileceğini desteklemektedir (Cho vd., 2022).

MMP genlerindeki artış, yara iyileşmesinin ECM yıkımı ve yeniden yapılanma fazını temsil etmektedir. Bu fazda, MMP'ler kollajen liflerinin reorganizasyonu ve doku mimarisinin yeniden şekillenmesinde kritik rol oynamaktadır (Kandhwal vd., 2022; Krejner vd., 2016). Literatürde, eksozom veya EV uygulamalarının tip I kollajen sentezini artırırken MMP ekspresyonunu tamamen baskılamadığı, aksine ECM yeniden yapılanmasını kolaylaştırmak üzere MMP-1, MMP-3 gibi genlerin kollajen I ile birlikte arttığı bildirilmektedir (Naruskaitė vd., 2021). Benzer şekilde, Di Raimo vd. (2024)

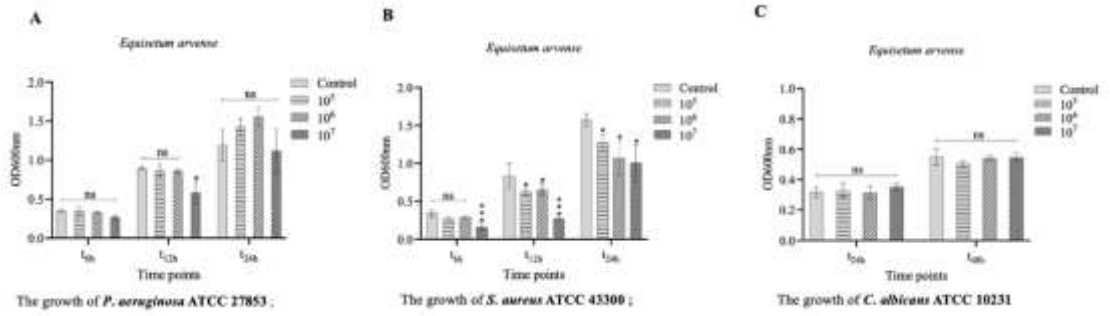
tarafından rapor edilen bir çalışmada, bitki kaynaklı EV uygulamalarının yara bölgelerinde hem kollajen I hem de MMP-9 ekspresyonunu artırdığı ve bunun ECM sentezi ile yıkımı arasında kontrollü bir denge oluşturduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, bu çalışmada da gözlenen kollajen sentezi ve MMP aktivitesindeki eşzamanlı artış, yara iyileşmesinin fizyolojik süreciyle uyumludur.

HACAT keratinositlerinde IL-6 ekspresyonundaki artış, stres koşullarında inflamatuvar yanıt aktivasyonuna işaret etmektedir. Ancak, pEV uygulaması bu artışı modüle etmiş ve inflamatuvar profili daha dengeli hale getirmiştir. Benzer şekilde, limon kökenli eksozomların, ERK/NF- κ B yolaklarını baskılayarak inflamasyonu azalttığı rapor edilmiştir (Raimondo vd., 2022).

Sonuç olarak, elde edilen bulgular, bitki kaynaklı eksozomların epidermal ve dermal hücrelerde rejeneratif süreçleri çok yönlü olarak düzenlediğini ortaya koymaktadır. Kollajen sentezi ve FGF ekspresyonundaki artışa paralel olarak, MMP ve IL-6 regülasyonu yara iyileşmesinin fizyolojik evreleriyle uyumlu bir şekilde gerçekleşmiştir. Özellikle sinerjik uygulamalar, tekli uygulamalara kıyasla daha güçlü biyolojik yanıtlar oluşturmuştur.

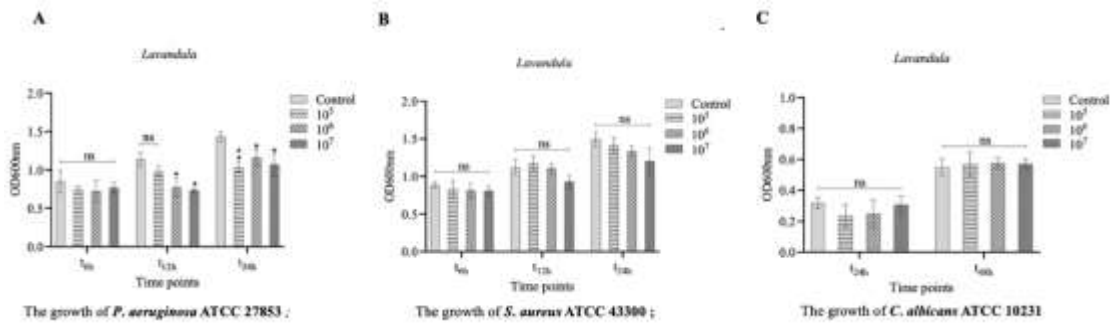
4.3.6 Antimikrobiyal ve antifungal aktivite

Antimikrobiyal ve antifungal aktivite testleri, pEV'lerin farklı mikroorganizmalara karşı değişen düzeylerde etkili olduğunu ortaya koymuştur. Mikrodilüsyon yöntemiyle yapılan testlerde: *E. arvense* pEV'leri, *S. aureus* ATCC 43300 üzerinde güçlü ve kalıcı inhibisyon sağlamıştır. *P. aeruginosa* üzerinde sınırlı etki gösterirken, *C. albicans* üzerinde anlamlı bir etki görülmemiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11 H-EV'lerin üç farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal ve antifungal etkileri.(A) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, (B) *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ve (C) *Candida albicans* ATCC 10231 suşlarının büyümesi, OD_{600 nm} ölçümleriyle 6., 12., 24. ve 48. saatlerde değerlendirilmiştir

L. angustifolia pEV'leri ise daha geç başlayan fakat zamana bağlı olarak artan bir antimikrobiyal etki göstermiştir. Özellikle 12. saatten sonra yüksek konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'un büyümesinde anlamlı azalma kaydedilmiş, bu etkinin 24. saatte daha da belirginleştiği tespit edilmiştir (Şekil 4.12). Bu sonuçlar, *L. angustifolia* pEV'lerinin zamanla artan fakat daha geç devreye giren bir antimikrobiyal mekanizmaya sahip olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 4.12 L-EV'lerin üç farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal ve antifungal etkileri.(A) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, (B) *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ve (C) *Candida albicans* ATCC 10231 suşlarının büyümesi, OD_{600 nm} ölçümleriyle 6., 12., 24. ve 48. saatlerde değerlendirilmiştir

Literatürde, *E. arvense* uçucu yağının hem *Staphylococcus aureus* hem de *Escherichia coli* üzerinde inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Radulović vd., 2006). Benzer şekilde, *L. angustifolia* uçucu yağının da *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* gibi patojen mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediği; özellikle metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşlarına karşı belirgin bir etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (Betlej vd., 2023). Saroj vd. (2024) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, nane yaprağı öz suyundan izole edilen bitki kaynaklı nanoveziküller (MENVs), okside aljinat ve kitosan içeren bir hidrojel formülasyonuna entegre edilerek “MENV HG” olarak adlandırılmıştır. Yapılan bakteri testlerinde *Micrococcus luteus* ve *E. coli* üzerinde anlamlı düzeyde inhibitör etkiler gözlenmiştir. *In vivo* sıçan yara modellerinde ise MENV HG uygulamasının, MENVs’lerin yara bölgesine kontrollü ve sürekli salınımını sağladığı, bu sayede kontrol grubuna kıyasla (87%) %99 oranında yara kapanması elde edildiği ve inflamatuvar yanıtların azaldığı bildirilmiştir (Saroj vd., 2025).

Benzer şekilde, Tan vd. (2024) tarafından yürütülen bir araştırmada, karahindiba kökenli bitki eksozom benzeri nanoveziküllerin *S. aureus* ekzotoksinlerine güçlü ve kararlı şekilde bağlandığı, bu sayede konak hücreleri toksin kaynaklı hasarlardan koruduğu ve *in vivo* koşullarda tam detoksifikasyon sağladığı belirlenmiştir (Tan vd., 2024).

5. SONUÇ

Bu çalışmanın bulguları, H-EV, L-EV ve S-EV uygulamalarının hem HDF hem de HACAT hücrelerinde biyolojik olarak anlamlı, çok işlevli etkiler sergilediğini ortaya koymuştur. Morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyon verileri, izole edilen pEV'lerin yüksek saflık, homojenlik ve protein içeriğine sahip olduğunu göstermiş, bu da biyolojik fonksiyonellik açısından güçlü bir potansiyeli doğrulamıştır.

Hücre canlılığı analizlerinde her iki pEV tipi de sitotoksik etki göstermemiş ve biyouyumluluk özellikleriyle öne çıkmıştır. EC₅₀ analizleri, bu veziküllerin hücre metabolik aktivitesini artırma kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir.

In vitro yara iyileşme modelinde, pEV uygulamaları hem keratinosit hem de fibroblast hücrelerinde hücre göçü ve proliferasyonunu belirgin biçimde hızlandırmış, özellikle sinerjik uygulamalarda daha yüksek yara kapanma oranları elde edilmiştir. Senesens modellerinde, SA- β -gal aktivitesindeki azalma ve morfolojik iyileşmeler, pEV'lerin hücre yaşlanmayı baskılama potansiyelini açıkça ortaya koymuştur.

Ayrıca, antioksidan kapasitedeki artış, oksidan yükündeki azalma ve oksidatif stres indeksinin düşüşü, pEV'lerin redoks homeostazının yeniden dengelenmesine ve hücre hasarına karşı koruyucu mekanizmaların güçlenmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir.

qPCR sonuçları, COL1A1/COL1A2 ve FGF genlerinin yukarı regülasyonu ile ECM sentezi ve proliferatif süreçlerin desteklendiğini ortaya koymuştur. Buna paralel olarak, MMP ve IL-6 gen ekspresyonundaki düzenlenme, yara iyileşmesinin fizyolojik yeniden şekillenme süreciyle uyumlu şekilde gerçekleşmiştir.

Genel olarak bu çalışma, pEV'lerin yalnızca oksidatif stres ve senesensin olumsuz etkilerini azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda doku rejenerasyonu, kollajen sentezi ve yara kapanmasını hızlandırdığını, dolayısıyla çok işlevli biyoterapötik adaylar olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Uygulanan tedaviler arasında özellikle H-EV'lerin etkilerinin tür spesifik ve zamana bağlı olarak anlamlı düzeyde değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar ayrıca bu veziküllerin yalnızca antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığını, aynı zamanda enfeksiyonların baskılanmasında ve konak yanıtının desteklenmesinde de potansiyel gösterdiğini ortaya koymuştur.

Sonuç olarak, elde edilen tüm veriler, bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin güvenli, biyouyumlu ve etkili doğal nanovezikül platformları olduğunu güçlü biçimde desteklemekte; bu yapılar, dermatoloji ve rejeneratif tıp alanlarında klinik araştırmalara taşınabilecek yüksek translasyonel potansiyele sahip adaylar olarak değerlendirilmektedir. Gelecekte yapılacak çalışmalar, bu veziküllerin in vivo biyodağılım profillerinin, stabilite özelliklerinin ve hedef dokuya özgül taşıma kapasitelerinin kapsamlı şekilde araştırılmasına odaklanmalıdır. Ayrıca, yükleme (cargo engineering) stratejileri kullanılarak bu doğal nanoveziküllerin belirli biyolojik moleküller (örneğin siRNA, miRNA, antioksidan veya anti-inflamatuar ajanlar) ile zenginleştirilmesi, terapötik etkinliklerinin artırılması açısından yeni bir araştırma alanı sunmaktadır. Kozmetik dermatoloji uygulamalarında ise, cilt yaşlanması, fotohasar ve yara iyileşmesinde pEV'lerin içeriğine bağlı "smart delivery system" olarak formülasyonlara entegre edilmesi yenilikçi yaklaşımlar arasında değerlendirilebilir.

Bununla birlikte, farklı bitki türlerinden elde edilen pEV'lerin karakterizasyon, standardizasyon ve üretim ölçeklenebilirliği konularında uluslararası düzeyde kabul gören metodolojik protokollerin oluşturulması gerekmektedir. Bu kapsamda ISEV kılavuzları doğrultusunda yapılacak ileri düzey multi-omik analizler (proteomik, lipidomik, metabolomik) ve biyosentetik mekanizmaların aydınlatılması, pEV'lerin biyolojik işlevlerinin daha derinlemesine anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Son olarak, insan klinik modellerinde yürütülecek güvenlik, farmakokinetik ve etkinlik

alışmalarının tamamlanmasıyla birlikte, bitki kaynaklı eksozom benzeri nanoveziküllerin farmasötik, kozmetik ve biyomedikal endüstride doğal, sürdürülebilir ve etik temelli nanoterapötikler olarak kullanıma sunulabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aabed, K., Mohammed, A. E., Benabdelkamel, H. et al. 2020. Antimicrobial Mechanism and Identification of the Proteins Mediated by Extracts from *Asphaltum punjabianum* and *Myrtus communis*. *ACS omega*, 5(48), 31019–31035.
- Aguayo-Morales, H., Sierra-Rivera, C. A., Claudio-Rizo, J. A., Cobos-Puc, L. E. 2023. Horsetail (*Equisetum hyemale*) extract accelerates wound healing in diabetic rats by modulating IL-10 and MCP-1 release and collagen synthesis. *Pharmaceuticals*, 16(4), 514.
- Almadani, Y. H., Vorstenbosch, J., Davison, P. G., Murphy, A. M. 2021. Wound Healing: A Comprehensive Review. *Semin Plast Surg*, 35(03), 141–144.
- An, Q., Ehlers, K., Kogel, K.-H., Van Bel, A. J., Hückelhoven, R. 2006. Multivesicular compartments proliferate in susceptible and resistant MLA12-barley leaves in response to infection by the biotrophic powdery mildew fungus. *New Phytologist*, 172(3).
- An, Q., Hückelhoven, R., Kogel, K.-H., Van Bel, A. J. E. 2006. Multivesicular bodies participate in a cell wall-associated defence response in barley leaves attacked by the pathogenic powdery mildew fungus. *Cellular Microbiology*, 8(6), 1009–1019.
- An, Q., van Bel, A. J., Hückelhoven, R. 2007. Do plant cells secrete exosomes derived from multivesicular bodies? *Plant Signaling & Behavior*, 2(1), 4–7.
- An, T., Qin, S., Xu, Y. et al. 2015. Exosomes serve as tumour markers for personalized diagnostics owing to their important role in cancer metastasis. *Journal of extracellular vesicles*, 4(1), 27522.
- An, Y., Xu, B.-t., Wan, S.-r. et al. 2023. The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. *Cardiovascular diabetology*, 22(1), 237.
- Andreu, Z., Yáñez-Mó, M. 2014. Tetraspanins in Extracellular Vesicle Formation and Function [Review]. *Frontiers in immunology*, Volume 5 - 2014.
- Arbabzadegan, N., Moghadamnia, A. A., Kazemi, S. et al. 2019. Effect of *Equisetum arvense* extract on bone mineral density in Wistar rats via digital radiography. *Caspian journal of internal medicine*, 10(2), 176.
- Arias, C. A., Murray, B. E. 2009. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century—a clinical super-challenge. *New England Journal of Medicine*, 360(5), 439–443.
- Arif, S., Larochelle, S., Moulin, V. J. 2020. PLGF-1 contained in normal wound myofibroblast-derived microvesicles stimulated collagen production by dermal fibroblasts. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 14(4), 427–438.
- Arraud, N., Linares, R., Tan, S. et al. 2014. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 12(5), 614–627.
- Arzi, A., Ahamehe, M., Sarahroodi, S. 2011. Effect of Hydroalcoholic Extract of *Lavandula officinalis* on. *Pakistan journal of biological sciences*, 14(11), 634–640.

- Asgharikhatooni, A., Bani, S., Hasanpoor, S., Mohammad Alizade, S., Javadzadeh, Y. 2015. The effect of *Equisetum arvense* (horse tail) ointment on wound healing and pain intensity after episiotomy: a randomized placebo-controlled trial. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 17(3), e25637.
- Badole, S., Kotwal, S. 2015. Biochemical, hematological and histological changes in response to graded dose of extract of *Equisetum arvense* in adult female wistar rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(8), 3321.
- Bahri, F., Mansoori, M., Vafaei, S. et al. 2024. A comprehensive review on ginger-derived exosome-like nanoparticles as feasible therapeutic nano-agents against diseases. *Materials Advances*, 5(5), 1846–1867.
- Baietti, M. F., Zhang, Z., Mortier, E. et al. 2012. Syndecan–syntenin–ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nature Cell Biology*, 14(7), 677–685.
- Barman, P. K., Koh, T. J. 2020. Macrophage Dysregulation and Impaired Skin Wound Healing in Diabetes [Mini Review]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, Volume 8 - 2020.
- Barradas, M., Anderton, E., Acosta, J. C. et al. 2009. Histone demethylase JMJD3 contributes to epigenetic control of INK4a/ARF by oncogenic RAS. *Genes & development*, 23(10), 1177–1182.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., Tomic-Canic, M. 2008. PERSPECTIVE ARTICLE: Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 585–601.
- Batrakova, E. V., Kim, M. S. 2015. Using exosomes, naturally-equipped nanocarriers, for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 219, 396–405.
- Battistelli, M., Falcieri, E. 2021. Apoptotic bodies: particular extracellular vesicles involved in intercellular communication. *Advances in Medical Biochemistry, Genomics, Physiology, and Pathology*, 473–486.
- Beauséjour, C. M., Krtolica, A., Galimi, F. et al. 2003. Reversal of human cellular senescence: roles of the p53 and p16 pathways. *The EMBO Journal*, 22(16), 4212–4222.
- Behnam, S., Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Tehrani, A. S. 2006. Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 71(3 Pt B), 1321–1326.
- Belting, M., Wittrup, A. 2008. Nanotubes, exosomes, and nucleic acid-binding peptides provide novel mechanisms of intercellular communication in eukaryotic cells: implications in health and disease. *J Cell Biol*, 183(7), 1187–1191.
- Berkovich, E., Lamed, Y., Ginsberg, D. 2003. E2F and Ras Synergize in Transcriptionally Activating p14ARF Expression. *Cell Cycle*, 2(2), 127–134.
- Betlej, I., Andres, B., Cebulak, T. et al. 2023. Antimicrobial properties and assessment of the content of bioactive compounds *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in Southern Poland. *Molecules*, 28(17), 6416.

- Bevilacqua, M. P., Poher, J. S., Wheeler, M. E., Cotran, R. S., Gimbrone, M. A., Jr. 1985. Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines. *The Journal of Clinical Investigation*, 76(5), 2003–2011.
- Bhatia, A., O'Brien, K., Chen, M., Woodley, D. T., Li, W. 2016. Keratinocyte-Secreted Heat Shock Protein-90alpha: Leading Wound Reepithelialization and Closure. *Advances in Wound Care*, 5(4), 176–184.
- Biernasiuk, A., Malm, A. 2023. Synergistic interactions between linalool and some antimycotic agents against *Candida* spp. as a basis for developing new antifungal preparations. *Applied Sciences*, 13(9), 5686.
- Biran, A., Zada, L., Abou Karam, P. et al. 2017. Quantitative identification of senescent cells in aging and disease. *Aging Cell*, 16(4), 661–671.
- Bissig, C., Lenoir, M., Velluz, M.-C. et al. 2013. Viral Infection Controlled by a Calcium-Dependent Lipid-Binding Module in ALIX. *Developmental Cell*, 25(4), 364–373.
- Blackburn, E. H. 2005. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. *FEBS Letters*, 579(4), 859–862.
- Bodnar, A. G., Ouellette, M., Frolkis, M. et al. 1998. Extension of Life-Span by Introduction of Telomerase into Normal Human Cells. *Science*, 279(5349), 349–352.
- Bokka, R., Ramos, A. P., Fiume, I. et al. 2020. Biomanufacturing of tomato-derived nanovesicles. *Foods*, 9(12), 1852.
- Bonferoni, M. C., Riva, F., Invernizzi, A. et al. 2018. Alpha tocopherol loaded chitosan oleate nanoemulsions for wound healing. Evaluation on cell lines and ex vivo human biopsies, and stabilization in spray dried Trojan microparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 123, 31–41.
- Bouwstra, J. A., Nadaban, A., Bras, W. et al. 2023. The skin barrier: An extraordinary interface with an exceptional lipid organization. *Progress in lipid research*, 92, 101252.
- Brahmbhatt, M., Gundala, S. R., Asif, G., Shamsi, S. A., Aneja, R. 2013. Ginger phytochemicals exhibit synergy to inhibit prostate cancer cell proliferation. *Nutrition and cancer*, 65(2), 263–272.
- Brito, S., Baek, M., Bin, B.-H. 2024. Skin Structure, Physiology, and Pathology in Topical and Transdermal Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 16(11), 1403.
- Broccoli, D., Smogorzewska, A., Chong, L., de Lange, T. 1997. Human telomeres contain two distinct Myb-related proteins, TRF1 and TRF2. *Nature Genetics*, 17(2), 231–235.
- Broughton, G. I., Janis, J. E., Attinger, C. E. 2006. Wound Healing: An Overview. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7S), 1e–S–32e–S.
- Buckle, J. 2003. *Clinical Aromatherapy: Essential Oils in Practice*. 2nd. New York, NY, USA: Churchill Livingstone Elsevier Science.

- But, V. M., Bulboacă, A. E., Rus, V. et al. 2023. Anti-inflammatory and antioxidant efficacy of lavender oil in experimentally induced thrombosis. *Thrombosis Journal*, 21(1), 85.
- Calzoni, E., Bertoldi, A., Cusumano, G. et al. 2024. Plant-derived extracellular vesicles: natural nanocarriers for biotechnological drugs. *Processes*, 12(12), 2938.
- Campisi, J. 2013. Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *Annual Review of Physiology*, 75(Volume 75, 2013), 685–705.
- Campisi, J., d'Adda di Fagagna, F. 2007. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8(9), 729–740.
- Čanadanović-Brunet, J. M., Četković, G. S., Djilas, S. M. et al. 2009. Radical scavenging and antimicrobial activity of horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(2), 269–278.
- Cao, J.-Y., Wang, B., Tang, T.-T. et al. 2021. Exosomal miR-125b-5p deriving from mesenchymal stem cells promotes tubular repair by suppression of p53 in ischemic acute kidney injury. *Theranostics*, 11(11), 5248.
- Caravia, X. M., López-Otín, C. 2015. Regulatory roles of miRNAs in aging. In *microRNA: Basic science: from molecular biology to clinical practice* (pp. 213–230). Springer.
- Carlson, M. A., Longaker, M. T. 2004. The fibroblast-populated collagen matrix as a model of wound healing: a review of the evidence. *Wound Repair and Regeneration*, 12(2), 134–147.
- Carneiro, D. M., Jardim, T. V., Araújo, Y. C. L. et al. 2019. *Equisetum arvense*: new evidences supports medical use in daily clinic. *Pharmacogn. Rev*, 13, 50–58.
- Carson, C. F., Mee, B. J., Riley, T. V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(6), 1914–1920.
- Cavanagh, H., Wilkinson, J. 2002. Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301–308.
- Cesare, A. J., Kaul, Z., Cohen, S. B. et al. 2009. Spontaneous occurrence of telomeric DNA damage response in the absence of chromosome fusions. *Nature Structural & Molecular Biology*, 16(12), 1244–1251.
- Che, Y., Shi, X., Shi, Y. et al. 2019. RETRACTED: exosomes derived from miR-143-overexpressing MSCs inhibit cell migration and invasion in human prostate cancer by downregulating TFF3. *Molecular therapy Nucleic acids*, 18, 232–244.
- Chen, S. X., Zhang, L.-J., Gallo, R. L. 2019. Dermal White Adipose Tissue: A Newly Recognized Layer of Skin Innate Defense. *Journal of Investigative Dermatology*, 139(5), 1002–1009.
- Chen, X., Xing, X., Lin, S. et al. 2023. Plant-derived nanovesicles: harnessing nature's power for tissue protection and repair. *Journal of nanobiotechnology*, 21(1), 445.

- Chen, X., Zhou, Y., Yu, J. 2019. Exosome-like nanoparticles from ginger rhizomes inhibited NLRP3 inflammasome activation. *Molecular Pharmaceutics*, 16(6), 2690–2699.
- Cheng, L., Wang, Y., Huang, L. 2017. Exosomes from M1-polarized macrophages potentiate the cancer vaccine by creating a pro-inflammatory microenvironment in the lymph node. *Molecular Therapy*, 25(7), 1665–1675.
- Childs, B. G., Baker, D. J., Kirkland, J. L., Campisi, J., van Deursen, J. M. 2014. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO reports*, 15(11), 1139–1153.
- 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.
- Cho, E. G., Choi, S. Y., Kim, H. et al. 2021. Panax ginseng-derived extracellular vesicles facilitate anti-senescence effects in human skin cells: an eco-friendly and sustainable way to use ginseng substances. *Cells*, 10(3), 486.
- Cho, J. H., Hong, Y. D., Kim, D. et al. 2022. Confirmation of plant-derived exosomes as bioactive substances for skin application through comparative analysis of keratinocyte transcriptome. *Applied Biological Chemistry*, 65(1), 8.
- Cipriano, R., Kan, C. E., Graham, J. et al. 2011. TGF- β signaling engages an ATM-Chk2-p53-independent RAS-induced senescence and prevents malignant transformation in human mammary epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(21), 8668–8673.
- Clayton, A., Turkes, A., Navabi, H., Mason, M. D., Tabi, Z. 2005. Induction of heat shock proteins in B-cell exosomes. *Journal of Cell Science*, 118(16), 3631–3638.
- Cole, M. A., Quan, T., Voorhees, J. J., Fisher, G. J. 2018. Extracellular matrix regulation of fibroblast function: redefining our perspective on skin aging. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 12(1), 35–43.
- Collado, M., Blasco, M. A., Serrano, M. 2007. Cellular Senescence in Cancer and Aging. *Cell*, 130(2), 223–233.
- 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(Volume 30, 2014), 255–289.
- Coppé, J.-P., Patil, C. K., Rodier, F. et al. 2008. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS biology*, 6(12), e301.
- Coppé, J.-P., Rodier, F., Patil, C. K. et al. 2011. Tumor suppressor and aging biomarker p16INK4a induces cellular senescence without the associated inflammatory secretory phenotype. *Journal of Biological Chemistry*, 286(42), 36396–36403.
- Costa, P., Gonçalves, S., Andrade, P. B., Valentão, P., Romano, A. 2011. Inhibitory effect of *Lavandula viridis* on Fe²⁺-induced lipid peroxidation, antioxidant and anti-cholinesterase properties. *Food chemistry*, 126(4), 1779–1786.

- d'Adda di Fagagna, F. 2008. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nature Reviews Cancer*, 8(7), 512–522.
- Dadgostar, P. 2019. Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infection and Drug Resistance*, 12(null), 3903–3910.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G. 2000. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2576–2581.
- Das, G., Patra, J. K., Baek, K.-H. 2016. Antibacterial Properties of Endophytic Bacteria Isolated from a Fern Species *Equisetum arvense* L. Against Foodborne Pathogenic Bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7. *Foodborne Pathogens and Disease*, 14(1), 50–58.
- Dauer, D. J., Ferraro, B., Song, L. et al. 2005. Stat3 regulates genes common to both wound healing and cancer. *Oncogene*, 24(21), 3397–3408.
- de Jong, O. G., van Balkom, B. W. M., Gremmels, H., Verhaar, M. C. 2016. Exosomes from hypoxic endothelial cells have increased collagen crosslinking activity through up-regulation of lysyl oxidase-like 2. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 20(2), 342–350.
- De Rapper, S., Van Vuuren, S., Kamatou, G., Viljoen, A., Dagne, E. 2012. The additive and synergistic antimicrobial effects of select frankincense and myrrh oils—a combination from the pharaonic pharmacopoeia. *Letters in applied microbiology*, 54(4), 352–358.
- de Rapper, S., Viljoen, A., van Vuuren, S. 2016. The In Vitro Antimicrobial Effects of *Lavandula angustifolia* Essential Oil in Combination with Conventional Antimicrobial Agents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016(1), 2752739.
- Demaria, M., O'Leary, M. N., Chang, J. et al. 2017. Cellular Senescence Promotes Adverse Effects of Chemotherapy and Cancer Relapse. *Cancer Discovery*, 7(2), 165–176.
- Deng, Z., Rong, Y., Teng, Y. et al. 2017. Broccoli-derived nanoparticle inhibits mouse colitis by activating dendritic cell AMP-activated protein kinase. *Molecular Therapy*, 25(7), 1641–1654.
- Denoyelle, C., Abou-Rjaily, G., Bezrookove, V. et al. 2006. Anti-oncogenic role of the endoplasmic reticulum differentially activated by mutations in the MAPK pathway. *Nature Cell Biology*, 8(10), 1053–1063.
- Desmoulière, A., Geinoz, A., Gabbiani, F., Gabbiani, G. 1993. Transforming growth factor-beta 1 induces alpha-smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *Journal of Cell Biology*, 122(1), 103–111.
- Di Micco, R., Fumagalli, M., Cicalese, A. et al. 2006. Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature*, 444(7119), 638–642.

- Di Raimo, R., Mizzoni, D., Aloï, A. et al. 2024. Antioxidant Effect of a Plant-Derived Extracellular Vesicles' Mix on Human Skin Fibroblasts: Induction of a Reparative Process. *Antioxidants*, 13(11), 1373.
- Di Raimo, R., Mizzoni, D., Spada, M. et al. 2023. Oral treatment with plant-derived exosomes restores redox balance in H₂O₂-treated mice. *Antioxidants*, 12(6), 1169.
- Diegelmann, R. F. 2003. Analysis of Collagen Synthesis. In L. A. DiPietro & A. L. Burns (Eds.), *Wound Healing: Methods and Protocols* (pp. 349–358). Humana Press.
- Dimri, G. P., Lee, X., Basile, G. et al. 1995. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(20), 9363–9367.
- Dobros, N., Zawada, K. D., Paradowska, K. 2023. Phytochemical Profiling, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Plants Belonging to the *Lavandula* Genus. *Molecules*, 28(1), 256.
- Dong, G., Bai, X., Aimila, A., Aisa, H. A., Maiwulanjiang, M. 2020. Study on lavender essential oil chemical compositions by GC-MS and improved pGC. *Molecules*, 25(14), 3166.
- Dormousoglou, M., Efthimiou, I., Antonopoulou, M. et al. 2022. Investigation of the genotoxic, antigenotoxic and antioxidant profile of different extracts from *Equisetum arvense* L. *Antioxidants*, 11(7), 1393.
- Doyle, L. M., Wang, M. Z. 2019. Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis. *Cells*, 8(7), 727.
- Dörr, J. R., Yu, Y., Milanovic, M. et al. 2013. Synthetic lethal metabolic targeting of cellular senescence in cancer therapy. *Nature*, 501(7467), 421–425.
- Eming, S. A., Martin, P., Tomic-Canic, M. 2014. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. *Science Translational Medicine*, 6(265), 265sr266–265sr266.
- Emmanuela, N., Muhammad, D. R., Iriawatiet al. 2024. Isolation of plant-derived exosome-like nanoparticles (PDENs) from *Solanum nigrum* L. berries and Their Effect on interleukin-6 expression as a potential anti-inflammatory agent. *PloS one*, 19(1), e0296259.
- Enayati, S., Halabian, R., Saffarian, P., Aghamollaei, H., Saeedi, P. 2024. Nisin-preconditioned mesenchymal stem cells combatting nosocomial *Pseudomonas* infections. *Regenerative Therapy*, 26, 161–169.
- Eren, A., İnci, Ş., Kırbağ, S. 2024. The antimicrobial and antioxidant effects of *Equisetum arvense* extracts. *Turkish Journal of Science and Technology*, 19(2), 373–378.
- Escola, J.-M., Kleijmeer, M. J., Stoorvogel, W. et al. 1998. Selective Enrichment of Tetraspan Proteins on the Internal Vesicles of Multivesicular Endosomes and on Exosomes Secreted by Human B-lymphocytes *. *Journal of Biological Chemistry*, 273(32), 20121–20127.

- Evangelou, K., Lougiakis, N., Rizou, S. V. et al. 2017. Robust, universal biomarker assay to detect senescent cells in biological specimens. *Aging Cell*, 16(1), 192–197.
- Ezure, T., Amano, S. 2007. Adiponectin and leptin up-regulate extracellular matrix production by dermal fibroblasts. *BioFactors*, 31(3-4), 229–236.
- Filipov, F., Chiorescu, E. 2021. *Equisetum arvense* L. as a bioindicator of acid soils.
- Finnson, K. W., Almadani, Y., Philip, A. 2020. Non-canonical (non-SMAD2/3) TGF- β signaling in fibrosis: Mechanisms and targets. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 101, 115–122.
- Freund, A., Orjalo, A. V., Desprez, P.-Y., Campisi, J. 2010. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends in Molecular Medicine*, 16(5), 238–246.
- Fujita, D., Arai, T., Komori, H. et al. 2018. Apple-derived nanoparticles modulate expression of organic-anion-transporting polypeptide (OATP) 2B1 in Caco-2 cells. *Molecular Pharmaceutics*, 15(12), 5772–5780.
- Fumagalli, M., Rossiello, F., Clerici, M. et al. 2012. Telomeric DNA damage is irreparable and causes persistent DNA-damage-response activation. *Nature Cell Biology*, 14(4), 355–365.
- Furie, B., Furie, B. C. 2008. Mechanisms of Thrombus Formation. *New England Journal of Medicine*, 359(9), 938–949.
- Gaertner, F., Massberg, S. 2016. Blood coagulation in immunothrombosis—At the frontline of intravascular immunity. *Seminars in Immunology*, 28(6), 561–569.
- Gandhi, J., Sushma, M. V., Rengan, A. K. et al. 2022. Proteomic profiling of exosomes in a mouse model of *Candida albicans* endophthalmitis. *Experimental Cell Research*, 417(2), 113222.
- Gangadaran, P., Rajendran, R. L., Oh, J. M. et al. 2020. Extracellular vesicles derived from macrophage promote angiogenesis In vitro and accelerate new vasculature formation In vivo. *Experimental Cell Research*, 394(2), 112146.
- Gao, C., Zhuang, X., Shen, J., Jiang, L. 2017. Plant ESCRT Complexes: Moving Beyond Endosomal Sorting. *Trends in Plant Science*, 22(11), 986–998.
- Gasecka, A., Nieuwland, R., van der Pol, E. et al. 2019. P2Y₁₂ antagonist ticagrelor inhibits the release of procoagulant extracellular vesicles from activated platelets. *Cardiol J*, 26(6), 782–789.
- Gaur, M., Dobke, M., Lunyak, V. V. 2017. Mesenchymal Stem Cells from Adipose Tissue in Clinical Applications for Dermatological Indications and Skin Aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 208.
- Geiger, A., Walker, A., Nissen, E. 2015. Human fibrocyte-derived exosomes accelerate wound healing in genetically diabetic mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 467(2), 303–309.
- Gholipour, E., Kahroba, H., Soltani, N. et al. 2022. Paediatric pre-B acute lymphoblastic leukaemia-derived exosomes regulate immune function in human T cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 26(16), 4566–4576.

- Gire, V., Dulić, V. 2015. Senescence from G2 arrest, revisited. *Cell Cycle*, 14(3), 297–304.
- Gire, V., Roux, P., Wynford-Thomas, D., Brondello, J. M., Dulic, V. 2004. DNA damage checkpoint kinase Chk2 triggers replicative senescence. *The EMBO Journal*, 23(13), 2554–2563.
- Golebiewska, E. M., Poole, A. W. 2015. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Reviews*, 29(3), 153–162.
- Gorgoulis, V., Adams, P. D., Alimonti, A. et al. 2019. Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell*, 179(4), 813–827.
- Gray-Schopfer, V. C., Cheong, S. C., Chong, H. et al. 2006. Cellular senescence in naevi and immortalisation in melanoma: a role for p16? *British Journal of Cancer*, 95(4), 496–505.
- Greening, D. W., Gopal, S. K., Mathias, R. A. et al. 2015. Emerging roles of exosomes during epithelial–mesenchymal transition and cancer progression. *Seminars in Cell & Developmental Biology*,
- 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*,
- Grégoire, V., Langendijk, J. A., Nuyts, S. 2015. Advances in radiotherapy for head and neck cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 33(29), 3277–3284.
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., Longaker, M. T. 2008. Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314–321.
- Gurunathan, S., Kang, M. H., Jeyaraj, M., Qasim, M., Kim, J. H. 2019. Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. *Cells*, 8(4).
- 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.
- Ha, D., Yang, N., Nadithe, V. 2016. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(4), 287–296.
- Hall, B. M., Balan, V., Gleiberman, A. S. et al. 2017. p16(Ink4a) and senescence-associated β -galactosidase can be induced in macrophages as part of a reversible response to physiological stimuli. *Aging (Albany NY)*, 9(8), 1867–1884.
- Halperin, W., Jensen, W. A. 1967. Ultrastructural changes during growth and embryogenesis in carrot cell cultures. *Journal of ultrastructure research*, 18(3-4), 428–443.
- Hara, M., Verkman, A. S. 2003. Glycerol replacement corrects defective skin hydration, elasticity, and barrier function in aquaporin-3-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(12), 7360–7365.

- Hardy, K., Sunnucks, K., Gil, H. et al. 2018. Increased Usage of Antiseptics Is Associated with Reduced Susceptibility in Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. *mBio*, 9(3), 10.1128/mbio.00894–00818.
- Hassiotis, C., Ntana, F., Lazari, D., Poullos, S., Vlachonasios, K. 2014. Environmental and developmental factors affect essential oil production and quality of *Lavandula angustifolia* during flowering period. *Industrial Crops and Products*, 62, 359–366.
- Hayflick, L. 1965. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research*, 37(3), 614–636.
- Hayflick, L., Moorhead, P. S. 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research*, 25(3), 585–621.
- He, B., Cai, Q., Qiao, L. et al. 2021. RNA-binding proteins contribute to small RNA loading in plant extracellular vesicles. *Nature Plants*, 7(3), 342–352.
- Hegedűs, C., Muresan, M., Badale, A. et al. 2020. SIRT1 Activation by *Equisetum Arvense* L. (Horsetail) Modulates Insulin Sensitivity in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Molecules*, 25(11).
- Henne, William M., Buchkovich, Nicholas J., Emr, Scott D. 2011. The ESCRT Pathway. *Developmental Cell*, 21(1), 77–91.
- Herbig, U., Ferreira, M., Condell, L., Carey, D., Sedivy, J. M. 2006. Cellular Senescence in Aging Primates. *Science*, 311(5765), 1257–1257.
- Herman, A., Tambor, K., Herman, A. 2016. Linalool affects the antimicrobial efficacy of essential oils. *Current microbiology*, 72(2), 165–172.
- Hessvik, N. P., Llorente, A. 2018. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(2), 193–208.
- Hewitt, G., Jurk, D., Marques, F. D. M. et al. 2012. Telomeres are favoured targets of a persistent DNA damage response in ageing and stress-induced senescence. *Nature communications*, 3(1), 708.
- Höög, J. L., Lötvall, J. 2015. Diversity of extracellular vesicles in human ejaculates revealed by cryo-electron microscopy. *Journal of extracellular vesicles*, 4(1), 28680.
- Hsu, C., Morohashi, Y., Yoshimura, S.-i. et al. 2010. Regulation of exosome secretion by Rab35 and its GTPase-activating proteins TBC1D10A–C. *Journal of Cell Biology*, 189(2), 223–232.
- Hurley, J. H. 2008. ESCRT complexes and the biogenesis of multivesicular bodies. *Current opinion in cell biology*, 20(1), 4–11.
- Hübsch, Z., Van Zyl, R., Cock, I., Van Vuuren, S. 2014. Interactive antimicrobial and toxicity profiles of conventional antimicrobials with Southern African medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 93, 185–197.
- Ibrahim, E. S., Mohamed, G. H., El-Gazar, A. F. 2022. Therapeutic effect of *Equisetum arvense* L. on bone and scale biomarkers in female rats with induced osteoporosis. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(12), 457–466.

- Inoue, K., Roussel, M. F., Sherr, C. J. 1999. Induction of *p19^{ARF}* tumor suppressor gene expression and cell cycle arrest by transcription factor DMP1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 3993–3998.
- Iriawati, I., Vitasasti, S., Rahmadian, F. N. A., Barlian, A. 2024. Isolation and characterization of plant-derived exosome-like nanoparticles from *Carica papaya* L. fruit and their potential as anti-inflammatory agent. *PloS one*, 19(7), e0304335.
- Jackson, W. M., Nesti, L. J., Tuan, R. S. 2011. Concise Review: Clinical Translation of Wound Healing Therapies Based on Mesenchymal Stem Cells. *Stem cells translational medicine*, 1(1), 44–50.
- Janis, J. E., Harrison, B. 2016. Wound Healing: Part I. Basic Science. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 138(3S), 9S–17S.
- Janowska-Wieczorek, A., Wysoczynski, M., Kijowski, J. et al. 2005. Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *International journal of cancer*, 113(5), 752–760.
- Jiang, D., Gong, F., Ge, X. et al. 2020. Neuron-derived exosomes-transmitted miR-124-3p protect traumatically injured spinal cord by suppressing the activation of neurotoxic microglia and astrocytes. *Journal of nanobiotechnology*, 18(1), 105.
- Jin, J., Zhu, K.-s., Tang, S.-m. et al. 2023. Trehalose promotes functional recovery of keratinocytes under oxidative stress and wound healing via ATG5/ATG7. *Burns*, 49(6), 1382–1391.
- Jin, W., Li, Y., Yu, M. et al. 2025. Advances of exosomes in diabetic wound healing. *Burns Trauma*, 13, tkae078.
- Jin, X., Zhang, J., Zhang, Y. et al. 2024. Different origin-derived exosomes and their clinical advantages in cancer therapy [Review]. *Frontiers in immunology*, Volume 15 - 2024.
- Ju, S., Mu, J., Dokland, T. et al. 2013. Grape exosome-like nanoparticles induce intestinal stem cells and protect mice from DSS-induced colitis. *Molecular Therapy*, 21(7), 1345–1357.
- Justice, J. N., Nambiar, A. M., Tchkonja, T. et al. 2019. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. *eBioMedicine*, 40, 554–563.
- Kamerkar, S., LeBleu, V. S., Sugimoto, H. et al. 2017. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*, 546(7659), 498–503.
- Kamijo, T., Zindy, F., Roussel, M. F. et al. 1997. Tumor Suppression at the Mouse *INK4a* Locus Mediated by the Alternative Reading Frame Product p19^{ARF}. *Cell*, 91(5), 649–659.
- Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., Capanoglu, E. 2020. Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers*, 1(3), 332–349.
- Kandhwal, M., Behl, T., Singh, S. et al. 2022. Role of matrix metalloproteinase in wound healing. *Am J Transl Res*, 14(7), 4391–4405.

- Kasper, S. 2013. An orally administered lavandula oil preparation (Silexan) for anxiety disorder and related conditions: an evidence based review. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*, 17(sup1), 15–22.
- Kennedy-Crispin, M., Billick, E., Mitsui, H. et al. 2012. Human Keratinocytes' Response to Injury Upregulates CCL20 and Other Genes Linking Innate and Adaptive Immunity. *Journal of Investigative Dermatology*, 132(1), 105–113.
- Kim, D.-K., Lee, J., Kim, S. R. et al. 2014. EVpedia: a community web portal for extracellular vesicles research. *Bioinformatics*, 31(6), 933–939.
- Kim, H., Wang, S. Y., Kwak, G. et al. 2019. Exosome-Guided Phenotypic Switch of M1 to M2 Macrophages for Cutaneous Wound Healing. *Advanced Science*, 6(20), 1900513.
- Kim, J., Li, S., Zhang, S., Wang, J. 2022. Plant-derived exosome-like nanoparticles and their therapeutic activities. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 17(1), 53–69.
- Kim, M., Jang, H., Kim, W., Kim, D., Park, J. H. 2023. Therapeutic Applications of Plant-Derived Extracellular Vesicles as Antioxidants for Oxidative Stress-Related Diseases. *Antioxidants*, 12(6), 1286.
- Kim, M., Jang, H., Park, J. H. 2023. Balloon flower root-derived extracellular vesicles: In vitro assessment of anti-inflammatory, proliferative, and antioxidant effects for chronic wound healing. *Antioxidants*, 12(6), 1146.
- Kim, M. K., Choi, Y. C., Cho, S. H., Choi, J. S., Cho, Y. W. 2021. The Antioxidant Effect of Small Extracellular Vesicles Derived from Aloe vera Peels for Wound Healing. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 18(4), 561–571.
- Kim, W. Y., Sharpless, N. E. 2006. The Regulation of *INK4*/*ARF* in Cancer and Aging. *Cell*, 127(2), 265–275.
- Kirkland, J. L., Tchkonja, T. 2017. Cellular Senescence: A Translational Perspective. *eBioMedicine*, 21, 21–28.
- Kobayashi, T., Stang, E., Fang, K. S. et al. 1998. A lipid associated with the antiphospholipid syndrome regulates endosome structure and function. *Nature*, 392(6672), 193–197.
- Koh, H. B., Kim, H. J., Kang, S.-W., Yoo, T.-H. 2023. Exosome-based drug delivery: translation from bench to clinic. *Pharmaceutics*, 15(8), 2042.
- Kolonics, F., Kajdácsi, E., Farkas, V. J. et al. 2020. Neutrophils produce proinflammatory or anti-inflammatory extracellular vesicles depending on the environmental conditions. *Journal of Leukocyte Biology*, 109(4), 793–806.
- Kooijmans, S. A., Vader, P., van Dommelen, S. M., van Solinge, W. W., Schiffelers, R. M. 2012. Exosome mimetics: a novel class of drug delivery systems. *International Journal of Nanomedicine*, 1525–1541.
- Kosaka, N., Izumi, H., Sekine, K., Ochiya, T. 2010. microRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk. *Silence*, 1(1), 7.

- Koulivand, P. H., Khaleghi Ghadiri, M., Gorji, A. 2013. Lavender and the Nervous System. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 681304.
- Kowal, J., Tkach, M., Théry, C. 2014. Biogenesis and secretion of exosomes. *Current opinion in cell biology*, 29, 116–125.
- Kozics, K., Srancikova, A., Sedlackova, E. et al. 2017. Antioxidant potential of essential oil from *Lavandula angustifolia* in in vitro and ex vivo cultured liver cells. *Neoplasma*, 64(4), 485–493.
- Köllisch, G., Kalali, B. N., Voelcker, V. et al. 2005. Various members of the Toll-like receptor family contribute to the innate immune response of human epidermal keratinocytes. *Immunology*, 114(4), 531–541.
- Krejner, A., Litwiniuk, M., Grzela, T. 2016. Matrix metalloproteinases in the wound microenvironment: therapeutic perspectives. *Chronic Wound Care Management and Research*, 3(null), 29–39.
- Krishnamurthy, J., Torrice, C., Ramsey, M. R. et al. 2004. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(9), 1299–1307.
- Kryvtsova, A. P. M., Koščová, J., Kohuch, T., Savenko, M., Spivak, N. 2021. Antimicrobial, antibiofilm-forming properties of *Equisetum arvense* L. shoot extracts. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants*, 4(1), 50–57.
- Kumar, J., Onteru, S. K., Singh, D. 2024. Deciphering the Drug Delivery Potential of Milk Exosome Nanovesicles for Aminobenzylpenicillin Therapeutic Efficacy against Contagious *Staphylococcus Aureus* in Bovine Mastitis. *Advanced Biology*, 8(6), 2300519.
- Kumar, M. A., Baba, S. K., Sadida, H. Q. et al. 2024. Extracellular vesicles as tools and targets in therapy for diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 27.
- Kwiatkowski, P., Łopusiewicz, Ł., Kostek, M. et al. 2020. The Antibacterial Activity of Lavender Essential Oil Alone and In Combination with Octenidine Dihydrochloride against MRSA Strains. *Molecules*, 25(1), 95.
- Lakkaraju, A., Rodriguez-Boulan, E. 2008. Itinerant exosomes: emerging roles in cell and tissue polarity. *Trends in cell biology*, 18(5), 199–209.
- Lässer, C., Seyed Alikhani, V., Ekström, K. et al. 2011. Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: uptake by macrophages. *Journal of translational medicine*, 9(1), 9.
- Lee, A. C., Fenster, B. E., Ito, H. et al. 1999. Ras Proteins Induce Senescence by Altering the Intracellular Levels of Reactive Oxygen Species *. *Journal of Biological Chemistry*, 274(12), 7936–7940.
- Levenson, S. M., Geever, E. F., Crowley, L. V. et al. 1965. THE HEALING OF RAT SKIN WOUNDS. *Ann Surg*, 161(2), 293–308.
- Lewin, T. M., Schwerbrock, N. M., Lee, D. P., Coleman, R. A. 2004. Identification of a new glycerol-3-phosphate acyltransferase isoenzyme, mtGPAT2, in mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 279(14), 13488–13495.

- Li, M., Wang, T., Tian, H. et al. 2019. Macrophage-derived exosomes accelerate wound healing through their anti-inflammation effects in a diabetic rat model. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 3793–3803.
- Li, Q., Zhao, H., Chen, W., Huang, P., Bi, J. 2019. Human keratinocyte-derived microvesicle miRNA-21 promotes skin wound healing in diabetic rats through facilitating fibroblast function and angiogenesis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 114, 105570.
- Li, S., Liu, F., Zhang, S. et al. 2025. Lavender Exosome-Like nanoparticles attenuate UVB-Induced Photoaging via miR166-Mediated inflammation and collagen regulation. *Scientific Reports*, 15(1), 21286.
- Li, S., Xv, Y., Sun, Y. et al. 2024. Macrophage-derived CD36⁺ exosome subpopulations as novel biomarkers of *Candida albicans* infection. *Scientific Reports*, 14(1), 14723.
- Li, S., Ye, Z., Zhao, L., Yao, Y., Zhou, Z. 2023. Evaluation of Antioxidant Activity and Drug Delivery Potential of Cell-Derived Extracellular Vesicles from *Citrus reticulata* Blanco cv. ‘Dahongpao’. *Antioxidants*, 12(9), 1706.
- Li, X., Jiang, C., Zhao, J. 2016. Human endothelial progenitor cells-derived exosomes accelerate cutaneous wound healing in diabetic rats by promoting endothelial function. *Journal of Diabetes and its Complications*, 30(6), 986–992.
- Li, Y., Wen, Q., Chen, H. et al. 2021. Exosomes derived from heat stroke cases carry miRNAs associated with inflammation and coagulation cascade. *Frontiers in immunology*, 12, 624753.
- Li, Z., Wang, H., Yin, H. et al. 2018. Arrowtail RNA for ligand display on ginger exosome-like nanovesicles to systemic deliver siRNA for cancer suppression. *Scientific Reports*, 8(1), 14644.
- Lin, T.-K., Zhong, L., Santiago, J. L. 2018. Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 70.
- Lindstedt, E., Sandblom, P. 1975. Wound healing in man: tensile strength of healing wounds in some patient groups. *Ann Surg*, 181(6), 842–846.
- Lipson, K. E., Wong, C., Teng, Y., Spong, S. 2012. CTGF is a central mediator of tissue remodeling and fibrosis and its inhibition can reverse the process of fibrosis. *Fibrogenesis & Tissue Repair*, 5(1), S24.
- Lis-Balchin, M., Hart, S. 1999. Studies on the mode of action of the essential oil of Lavender (*Lavandula angustifolia* P. Miller). *Phytotherapy Research*, 13(6), 540–542.
- Liu, Y.-J., Wang, C. 2023. A review of the regulatory mechanisms of extracellular vesicles-mediated intercellular communication. *Cell Communication and Signaling*, 21(1), 77.
- Lopez-Romero, J. C., González-Ríos, H., Borges, A., Simões, M. 2015. Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 795435.

- Lozano-Torres, B., Estepa-Fernández, A., Rovira, M. et al. 2019. The chemistry of senescence. *Nature Reviews Chemistry*, 3(7), 426–441.
- Luanda, A., Ripanda, A., Makangara, J. J. 2023. Therapeutic potential of *Equisetum arvense* L. for management of medical conditions. *Phytomedicine Plus*, 3(2), 100444.
- Macias-Paz, I. U., Pérez-Hernández, S., Tavera-Tapia, A. et al. 2023. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. *Revista Argentina de microbiología*, 55(2), 189–198.
- Madigan, M., Bender, K., Buckley, D., Sattley, W., Stahl, D. (2019). *Brock biology of microorganisms*. Fifteenth. In: Pearson Education Limited, United Kingdom.
- Makia, R., Al-Halbosi, M., Al-Mashhadani, M. 2022. Phytochemistry of the genus *Equisetum* (*Equisetum arvense*). *GSC Biol Pharm Sci*, 18, 283–289.
- Marchant, R., Peat, A., Banbury, G. 1967. The ultrastructural basis of hyphal growth. *New Phytologist*, 66(4), 623–629.
- Marchant, R., Robards, A. 1968. Membrane systems associated with the plasmalemma of plant cells. *Annals of Botany*, 32(3), 457–471.
- Martínez-Reyes, I., Chandel, N. S. 2020. Mitochondrial TCA cycle metabolites control physiology and disease. *Nature communications*, 11(1), 102.
- Mashouri, L., Yousefi, H., Aref, A. R. et al. 2019. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance. *Molecular cancer*, 18(1), 75.
- Massoud, R. I., Bouaziz, M., Abdallah, H. et al. 2024. Comparative Study on the Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oils of *Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia* Cultivated in Lebanon. *ACS omega*, 9(28), 30244–30255.
- Mathew-Steiner, S. S., Roy, S., Sen, C. K. 2021. Collagen in Wound Healing. *Bioengineering*, 8(5), 63.
- Matsuo, H., Chevallier, J., Mayran, N. et al. 2004. Role of LBPA and Alix in Multivesicular Liposome Formation and Endosome Organization. *Science*, 303(5657), 531–534.
- McCoy, J., Davis, J. (2021). *Lavender: History, taxonomy, and production*. NC State Extension: New Crops and Organics. NC State University, Raleigh, NC, USA. In.
- McKelvey, K. J., Powell, K. L., Ashton, A. W., Morris, J. M., McCracken, S. A. 2015. Exosomes: Mechanisms of Uptake. *Journal of Circulating Biomarkers*, 4, 7.
- Medzhitov, R. 2001. Toll-like receptors and innate immunity. *Nature reviews immunology*, 1(2), 135–145.
- Mi, B., Chen, L., Xiong, Y. et al. 2020. Saliva exosomes-derived UBE2O mRNA promotes angiogenesis in cutaneous wounds by targeting SMAD6. *Journal of nanobiotechnology*, 18(1), 68.

- Mittelbrunn, M., Gutiérrez-Vázquez, C., Villarroya-Beltri, C. et al. 2011. Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. *Nature communications*, 2(1), 282.
- Moradali, M. F., Ghods, S., Rehm, B. H. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 39.
- Mori, H.-M., Kawanami, H., Kawahata, H., Aoki, M. 2016. Wound healing potential of lavender oil by acceleration of granulation and wound contraction through induction of TGF- β in a rat model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 144.
- Möbius, W., Van Donselaar, E., Ohno-Iwashita, Y. et al. 2003. Recycling Compartments and the Internal Vesicles of Multivesicular Bodies Harbor Most of the Cholesterol Found in the Endocytic Pathway. *Traffic*, 4(4), 222–231.
- Mraz, M., Haluzik, M. 2014. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *Journal of Endocrinology*, 222(3), R113–R127.
- Mu, J., Zhuang, X., Wang, Q. et al. 2014. Interspecies communication between plant and mouse gut host cells through edible plant derived exosome-like nanoparticles. *Molecular nutrition & food research*, 58(7), 1561–1573.
- Munro, J., Stott, F. J., Vousden, K. H., Peters, G., Parkinson, E. K. 1999. Role of the Alternative INK4A Proteins in Human Keratinocyte Senescence: Evidence for the Specific Inactivation of p16INK4A upon Immortalization1. *Cancer research*, 59(11), 2516–2521.
- Murphy, A. M., Wong, A. L., Bezuhly, M. 2015. Modulation of angiotensin II signaling in the prevention of fibrosis. *Fibrogenesis & Tissue Repair*, 8(1), 7.
- Mykhailenko, O., Hurina, V., Herbina, N. et al. 2025. Phenolic Compounds and Pharmacological Potential of *Lavandula angustifolia* Extracts for the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *Plants*, 14(2), 289.
- Narauskaitė, D., Vydmantaitė, G., Rusteikaitė, J. et al. 2021. Extracellular Vesicles in Skin Wound Healing. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(8).
- Neisari, N., Sharifzadeh, A., Fasaee, B. N. et al. 2025. Evaluating the Antimicrobial and Antibiofilm Efficacy of Lavender Essential Oil and Linalool on Dual *Candida albicans* Biofilms With *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* From Canine External Otitis. *Veterinary Medicine and Science*, 11(3), e70407.
- Nelemans, L. C., Gurevich, L. 2020. Drug delivery with polymeric nanocarriers—cellular uptake mechanisms. *Materials*, 13(2), 366.
- Neurohr, G. E., Terry, R. L., Lengefeld, J. et al. 2019. Excessive Cell Growth Causes Cytoplasm Dilution And Contributes to Senescence. *Cell*, 176(5), 1083–1097.e1018.
- Nishio, M., Teranishi, Y., Morioka, K., Yanagida, A., Shoji, A. 2020. Real-time assay for exosome membrane fusion with an artificial lipid membrane based on enhancement of gramicidin A channel conductance. *Biosensors and Bioelectronics*, 150, 111918.

- Niu, P., Smagul, A., Wang, L. et al. 2015. Transcriptional profiling of interleukin-2-primed human adipose derived mesenchymal stem cells revealed dramatic changes in stem cells response imposed by replicative senescence. *Oncotarget*, 6(20), 17938–17957.
- Oh, E. J., Gangadaran, P., Rajendran, R. L. et al. 2020. Extracellular vesicles derived from fibroblasts promote wound healing by optimizing fibroblast and endothelial cellular functions. *Stem Cells*, 39(3), 266–279.
- Oh, H., Kim, D.-H., Cho, J.-H., Kim, Y.-C. 2004. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 421–424.
- Oniszczyk, A., Podgórski, R., Oniszczyk, T. et al. 2014. Extraction methods for the determination of phenolic compounds from *Equisetum arvense* L. herb. *Industrial Crops and Products*, 61, 377–381.
- Ostrowski, M., Carmo, N. B., Krumeich, S. et al. 2010. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nature Cell Biology*, 12(1), 19–30.
- Othman, M., San Loh, H., Wiart, C. et al. 2011. Optimal methods for evaluating antimicrobial activities from plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 84(2), 161–166.
- Ovadya, Y., Krizhanovsky, V. 2014. Senescent cells: SASPected drivers of age-related pathologies. *Biogerontology*, 15(6), 627–642.
- Owens, A. P., Mackman, N., Weber, C., Mause, S. 2011. Microparticles in Hemostasis and Thrombosis. *Circulation research*, 108(10), 1284–1297.
- Ozay, Y., Guzel-Ozay, S., Cimbiz, A., Gurlek-Olgun, E., Sabri Ozyurt, M. 2013. Effects of *Equisetum arvense* Ointment on Diabetic Wound Healing in Rats. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, 25(9), 234–241.
- Pallag, A., Filip, G. A., Olteanu, D. et al. 2018. *Equisetum arvense* L. Extract Induces Antibacterial Activity and Modulates Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Endothelial Vascular Cells Exposed to Hyperosmotic Stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018(1), 3060525.
- Pandur, E., Balatinácz, A., Micalizzi, G. et al. 2021. Anti-inflammatory effect of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) essential oil prepared during different plant phenophases on THP-1 macrophages. *BMC complementary medicine and therapies*, 21(1), 287.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T.-J., Cheng, Z. 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177–192.
- Parameshwaran, K., Almaghrabi, M., Govindarajulu, M., Clark, R. C., Dhanasekaran, M. 2022. Bioactives and Pharmacology of *Equisetum arvense* L. In *Bioactives and Pharmacology of Medicinal Plants* (pp. 429–440). Apple Academic Press.
- Parrinello, S., Samper, E., Krtolica, A. et al. 2003. Oxygen sensitivity severely limits the replicative lifespan of murine fibroblasts. *Nature Cell Biology*, 5(8), 741–747.

- Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F. et al. 2002. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721–726.
- Pegtel, D. M., Gould, S. J. 2019. Exosomes. *Annual review of biochemistry*, 88(1), 487–514.
- Pegtel, D. M., van de Garde, M. D., Middeldorp, J. M. 2011. Viral miRNAs exploiting the endosomal–exosomal pathway for intercellular cross-talk and immune evasion. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1809(11-12), 715–721.
- Perry, N., Perry, E. 2006. Aromatherapy in the Management of Psychiatric Disorders. *CNS Drugs*, 20(4), 257–280.
- PEYVANDI, F., BOLTON-MAGGS, P. H., BATOROVA, A., DE MOERLOOSE, P. 2012. Rare bleeding disorders. *Haemophilia*, 18(s4), 148–153.
- Phu, T. A., Ng, M., Vu, N. K., Bouchareychas, L., Raffai, R. L. 2022. IL-4 polarized human macrophage exosomes control cardiometabolic inflammation and diabetes in obesity. *Molecular Therapy*, 30(6), 2274–2297.
- Pohlman, T. H., Stanness, K. A., Beatty, P. G., Ochs, H. D., Harlan, J. M. 1986. An endothelial cell surface factor (s) induced in vitro by lipopolysaccharide, interleukin 1, and tumor necrosis factor-alpha increases neutrophil adherence by a CDw18-dependent mechanism. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 136(12), 4548–4553.
- Prashar, A., Locke, I. C., Evans, C. S. 2004. Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. *Cell Proliferation*, 37(3), 221–229.
- Primabudi, A. R. I., Budi, A. S., Nata'atmadja, B. S., Jassey, B. 2025. Topical Vitamin E (Alpha-tocopherol) from Red Palm Oil (*Elaeis guineensis*) Improved Full-thickness Wound Healing in Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*). *Biomolecular and Health Science Journal*, 8(1), 30–35.
- Qiao, Z., Zhang, K., Liu, J. et al. 2022. Biomimetic electrodynamic nanoparticles comprising ginger-derived extracellular vesicles for synergistic anti-infective therapy. *Nature communications*, 13(1), 7164.
- Radulović, N., Stojanović, G., Palić, R. 2006. Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(1), 85–88.
- Raimondo, S., Naselli, F., Fontana, S. et al. 2015. Citrus limon-derived nanovesicles inhibit cancer cell proliferation and suppress CML xenograft growth by inducing TRAIL-mediated cell death. *Oncotarget*, 6(23), 19514.
- Raimondo, S., Urzi, O., Meraviglia, S. et al. 2022. Anti-inflammatory properties of lemon-derived extracellular vesicles are achieved through the inhibition of ERK/NF-κB signalling pathways. *Journal of cellular and molecular medicine*, 26(15), 4195–4209.
- Raposo, G., Stoorvogel, W. 2013. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *Journal of Cell Biology*, 200(4), 373–383.

- Ratajczak, J., Wysoczynski, M., Hayek, F., Janowska-Wieczorek, A., Ratajczak, M. Z. 2006. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia*, 20(9), 1487–1495.
- Reiner, A. T., Witwer, K. W., van Balkom, B. W. M. et al. 2017. Concise Review: Developing Best-Practice Models for the Therapeutic Use of Extracellular Vesicles. *Stem cells translational medicine*, 6(8), 1730–1739.
- Reinke, J. M., Sorg, H. 2012. Wound Repair and Regeneration. *European Surgical Research*, 49(1), 35–43.
- Ridder, K., Keller, S., Dams, M. et al. 2014. Extracellular vesicle-mediated transfer of genetic information between the hematopoietic system and the brain in response to inflammation. *PLoS biology*, 12(6), e1001874.
- Robbins, P. D., Morelli, A. E. 2014. Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nature reviews immunology*, 14(3), 195–208.
- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., Gurtner, G. C. 2019. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665–706.
- Roller, S., Ernest, N., Buckle, J. 2009. The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillin-sensitive and-resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA). *The journal of alternative and complementary medicine*, 15(3), 275–279.
- Rolski, F., Czepiel, M., Tkacz, K. et al. 2022. T Lymphocyte-Derived Exosomes Transport MEK1/2 and ERK1/2 and Induce NOX4-Dependent Oxidative Stress in Cardiac Microvascular Endothelial Cells. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022(1), 2457687.
- Rome, S. 2019. Biological properties of plant-derived extracellular vesicles [10.1039/C8FO02295J]. *Food & Function*, 10(2), 529–538.
- Rowland, B. D., Denissov, S. G., Douma, S. et al. 2002. E2F transcriptional repressor complexes are critical downstream targets of p19^{ARF}/p53-induced proliferative arrest. *Cancer Cell*, 2(1), 55–65.
- Samuel, M., Bleackley, M., Anderson, M., Mathivanan, S. 2015. Extracellular vesicles including exosomes in cross kingdom regulation: a viewpoint from plant-fungal interactions [Opinion]. *Frontiers in plant science*, Volume 6 - 2015.
- Sánchez-López, C. M., Manzaneque-López, M. C., Pérez-Bermúdez, P., Soler, C., Marcilla, A. 2022. Characterization and bioactivity of extracellular vesicles isolated from pomegranate. *Food & Function*, 13(24), 12870–12882.
- Sandhu, N. S., Kaur, S., Chopra, D. 2010. *Equisetum arvense*: pharmacology and phytochemistry-a review. *Asian J Pharm Clin Res*, 3(3), 146–150.
- Sapugahawatte, D. N., Godakumara, K., Mäesaar, M. et al. 2024. Harnessing nature's defence: the antimicrobial efficacy of pasteurised cattle milk-derived extracellular vesicles on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(9), 4759.
- Sarkic, A., Stappen, I. 2018. Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. *Cosmetics*, 5(1), 11.

- Saroj, S., Saha, S., Ali, A. et al. 2025. Plant Extracellular Nanovesicle-Loaded Hydrogel for Topical Antibacterial Wound Healing In Vivo. *ACS Applied Bio Materials*, 8(1), 1–11.
- Savcı, Y., Kırbaş, O. K., Bozkurt, B. T. et al. 2021. Grapefruit-derived extracellular vesicles as a promising cell-free therapeutic tool for wound healing. *Food & Function*, 12(11), 5144–5156.
- Savina, A., Fader, C. M., Damiani, M. T., Colombo, M. I. 2005. Rab11 Promotes Docking and Fusion of Multivesicular Bodies in a Calcium-Dependent Manner. *Traffic*, 6(2), 131–143.
- Schlappack, T., Kappacher, C., Rainer, M., Huck, C. W., Bonn, G. K. 2022. New sensitive ambient mass spectrometric method combined with chemometric modelling for the analysis of *Equisetum palustre* L. contaminations in the traditional herb *Equiseti herba*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 30, 100396.
- Schoendorfer, N., Sharp, N., Seipel, T., Schauss, A. G., Ahuja, K. D. K. 2018. Urox containing concentrated extracts of *Crataeva nurvala* stem bark, *Equisetum arvense* stem and *Lindera aggregata* root, in the treatment of symptoms of overactive bladder and urinary incontinence: a phase 2, randomised, double-blind placebo controlled trial. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 42.
- Serrano, M., Lin, A. W., McCurrach, M. E., Beach, D., Lowe, S. W. 1997. Oncogenic *ras* Provokes Premature Cell Senescence Associated with Accumulation of p53 and p16^{INK4a}. *Cell*, 88(5), 593–602.
- Shan, J., Mo, J., An, C., Xiang, L., Qi, J. 2024. β -Cyclocitral from *Lavandula angustifolia* Mill. Exerts Anti-Aging Effects on Yeasts and Mammalian Cells via Telomere Protection, Antioxidative Stress, and Autophagy Activation. *Antioxidants*, 13(6), 715.
- Shan, L., Zhan, F., Lin, D. et al. 2022. SIRT1-Enriched exosomes derived from bone marrow mesenchymal stromal cells alleviate peripheral neuropathy via conserving mitochondrial function. *Journal of Molecular Neuroscience*, 72(12), 2507–2516.
- Shi, M., Sheng, L., Stewart, T., Zabetian, C. P., Zhang, J. 2019. New windows into the brain: Central nervous system-derived extracellular vesicles in blood. *Progress in neurobiology*, 175, 96–106.
- Simons, M., Raposo, G. 2009. Exosomes–vesicular carriers for intercellular communication. *Current opinion in cell biology*, 21(4), 575–581.
- Simpson, D. M., Ross, R. 1972. The neutrophilic leukocyte in wound repair: A study with antineutrophil serum. *The Journal of Clinical Investigation*, 51(8), 2009–2023.
- 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.
- Skotland, T., Hessvik, N. P., Sandvig, K., Llorente, A. 2019. Thematic Review Series: Exosomes and Microvesicles: Lipids as Key Components of their Biogenesis and

- Functions Exosomal lipid composition and the role of ether lipids and phosphoinositides in exosome biology. *Journal of Lipid Research*, 60(1), 9–18.
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D., Van Griensven, L. J. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11), 7532–7546.
- Song, H. S., Park, T. W., Sohn, U. D. et al. 2008. The effect of caffeic acid on wound healing in skin-incised mice. *The Korean journal of physiology & pharmacology: official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 12(6), 343.
- Srb, N., Talapko, J., Meštrović, T. et al. 2025. A Comprehensive Overview of *Candida albicans* as the Leading Pathogen in Vulvovaginal Candidiasis. *Journal of fungi*, 11(9), 632.
- Stamova, S., Ermenlieva, N., Tsankova, G., Georgieva, E. 2025. Antimicrobial Activity of Lavender Essential Oil from *Lavandula angustifolia* Mill.: In Vitro and In Silico Evaluation. *Antibiotics*, 14(7), 656.
- Stelmach, M., Klimowicz, A., Wróblewska, A. et al. 2025. Antioxidative and Photoprotective In Vitro Potential of *Lavandula Angustifolium*. *Applied Sciences*, 15(11), 6004.
- Stremersch, S., De Smedt, S. C., Raemdonck, K. 2016. Therapeutic and diagnostic applications of extracellular vesicles. *Journal of Controlled Release*, 244, 167–183.
- Subra, C., Laulagnier, K., Perret, B., Record, M. 2007. Exosome lipidomics unravels lipid sorting at the level of multivesicular bodies. *Biochimie*, 89(2), 205–212.
- Suga, H., Rennert, R. C., Rodrigues, M. et al. 2014. Tracking the Elusive Fibrocyte: Identification and Characterization of Collagen-Producing Hematopoietic Lineage Cells During Murine Wound Healing. *Stem Cells*, 32(5), 1347–1360.
- Szpadarska, A. M., Egozi, E. I., Gamelli, R. L., DiPietro, L. A. 2003. The Effect of Thrombocytopenia on Dermal Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 120(6), 1130–1137.
- Szpakowski, P., Ksiazek-Winiarek, D., Czapkowska, J. et al. 2023. Astrocyte-derived exosomes differentially shape T cells' immune response in MS patients. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7470.
- Şahin, F., Koçak, P., Güneş, M. Y. et al. 2019. In Vitro Wound Healing Activity of Wheat-Derived Nanovesicles. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 188(2), 381–394.
- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T. et al. 2021. *Candida albicans*—the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of fungi*, 7(2), 79.
- Tan, A., Rajadas, J., Seifalian, A. M. 2013. Exosomes as nano-theranostic delivery platforms for gene therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(3), 357–367.
- Tan, S., Liu, Z., Cong, M. et al. 2024. Dandelion-derived vesicles-laden hydrogel dressings capable of neutralizing *Staphylococcus aureus* exotoxins for the care of invasive wounds. *Journal of Controlled Release*, 368, 355–371.

- Tang, H., He, Y., Li, L. et al. 2019. Exosomal MMP2 derived from mature osteoblasts promotes angiogenesis of endothelial cells via VEGF/Erk1/2 signaling pathway. *Experimental Cell Research*, 383(2), 111541.
- Taylor, D. D., Homesley, H. D., Doellgast, G. J. 1980. Binding of specific peroxidase-labeled antibody to placental-type phosphatase on tumor-derived membrane fragments. *Cancer research*, 40(11), 4064–4069.
- Teng, Y., Ren, Y., Sayed, M. et al. 2018. Plant-derived exosomal microRNAs shape the gut microbiota. *Cell host & microbe*, 24(5), 637–652. e638.
- Théry, C., Ostrowski, M., Segura, E. 2009. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nature reviews immunology*, 9(8), 581–593.
- Théry, C., Zitvogel, L., Amigorena, S. 2002. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nature reviews immunology*, 2(8), 569–579.
- Tombulturk, F. K., Soydas, T., Kanigur-Sultuybek, G. 2024. Topical metformin accelerates wound healing by promoting collagen synthesis and inhibiting apoptosis in a diabetic wound model. *International Wound Journal*, 21(1), e14345.
- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., Fowler Jr, V. G. 2015. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 603–661.
- Trajkovic, K., Hsu, C., Chiantia, S. et al. 2008. Ceramide Triggers Budding of Exosome Vesicles into Multivesicular Endosomes. *Science*, 319(5867), 1244–1247.
- Trentini, M., Zanotti, F., Tiengo, E. et al. 2022. An apple a day keeps the doctor away: potential role of miRNA 146 on macrophages treated with exosomes derived from apples. *Biomedicines*, 10(2), 415.
- Trinh, X.-T., Long, N.-V., Van Anh, L. T. et al. 2022. A comprehensive review of natural compounds for wound healing: targeting bioactivity perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 9573.
- Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G. et al. 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(6), 2474–2478.
- Tucker, A., Hensen, K. 1985. The cultivars of lavender and lavandin (Labiatae).
- Tundis, R., Grande, F., Occhiuzzi, M. A. et al. 2023. *Lavandula angustifolia* mill. (Lamiaceae) ethanol extract and its main constituents as promising agents for the treatment of metabolic disorders: chemical profile, in vitro biological studies, and molecular docking. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 38(1), 2269481.
- Urzi, O., Cafora, M., Ganji, N. R. et al. 2023. Lemon-derived nanovesicles achieve antioxidant and anti-inflammatory effects activating the AhR/Nrf2 signaling pathway. *Iscience*, 26(7).
- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A. et al. 2007. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature Cell Biology*, 9(6), 654–659.

- van Amerongen, M. J., Harmsen, M. C., van Rooijen, N., Petersen, A. H., van Luyn, M. J. A. 2007. Macrophage Depletion Impairs Wound Healing and Increases Left Ventricular Remodeling after Myocardial Injury in Mice. *The American journal of pathology*, 170(3), 818–829.
- van der Pol, E., Böing, A. N., Harrison, P., Sturk, A., Nieuwland, R. 2012. Classification, Functions, and Clinical Relevance of Extracellular Vesicles. *Pharmacological Reviews*, 64(3), 676–705.
- van Dommelen, S. M., Vader, P., Lakhal, S. et al. 2012. Microvesicles and exosomes: opportunities for cell-derived membrane vesicles in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 635–644.
- van Niel, G., Charrin, S., Simoes, S. et al. 2011. The Tetraspanin CD63 Regulates ESCRT-Independent and -Dependent Endosomal Sorting during Melanogenesis. *Developmental Cell*, 21(4), 708–721.
- 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.
- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., Bezirtzoglou, E. 2021. Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041.
- Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V. 2009. The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542.
- 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.
- Vlassov, A. V., Magdaleno, S., Setterquist, R., Conrad, R. 2012. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(7), 940–948.
- 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.
- Waldenström, A., Ronquist, G. 2014. Role of exosomes in myocardial remodeling. *Circulation research*, 114(2), 315–324.
- Wallace, H., Basehore, B., Zito, P. *Wound Healing Phases*. 2021 Treasure Island. FL: StatPearls Publishing LLC.
- Wang, B., Zhuang, X., Deng, Z.-B. et al. 2014. Targeted Drug Delivery to Intestinal Macrophages by Bioactive Nanovesicles Released from Grapefruit. *Molecular Therapy*, 22(3), 522–534.
- Wang, F., Shang, Y., Fan, B., Yu, J.-Q., Chen, Z. 2014. Arabidopsis LIP5, a Positive Regulator of Multivesicular Body Biogenesis, Is a Critical Target of Pathogen-Responsive MAPK Cascade in Plant Basal Defense. *PLOS Pathogens*, 10(7), e1004243.

- Wang, P. 2018. H, Huang B-S, Horng H-C, Yeh C-C, Chen Y-J. Wound healing. *J Chin Med Assoc*, 2(81), 94–101.
- Wang, Q., Ren, Y., Mu, J.et al. 2015. Grapefruit-derived nanovectors use an activated leukocyte trafficking pathway to deliver therapeutic agents to inflammatory tumor sites. *Cancer research*, 75(12), 2520–2529.
- Wang, Q., Zhuang, X., Mu, J.et al. 2013. Delivery of therapeutic agents by nanoparticles made of grapefruit-derived lipids. *Nature communications*, 4(1), 1867.
- Wang, X., Zhang, M., Flores, S. R.et al. 2019. Oral gavage of ginger nanoparticle-derived lipid vectors carrying Dmt1 siRNA blunts iron loading in murine hereditary hemochromatosis. *Molecular Therapy*, 27(3), 493–506.
- Wang, Y., Liu, J., Ma, X.et al. 2019. Real-time imaging of senescence in tumors with DNA damage. *Scientific Reports*, 9(1), 2102.
- Wang, Y., Wei, Y., Liao, H.et al. 2023. Plant Exosome-like Nanoparticles as Biological Shuttles for Transdermal Drug Delivery. *Bioengineering*, 10(1), 104.
- Wei, F., Wang, A., Wang, Q.et al. 2020. Plasma endothelial cells-derived extracellular vesicles promote wound healing in diabetes through YAP and the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Aging (Albany NY)*, 12(12), 12002–12018.
- Wells, R., Truong, F., Adal, A. M., Sarker, L. S., Mahmoud, S. S. 2018. Lavandula essential oils: a current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender. *Natural Product Communications*, 13(10), 1934578X1801301038.
- Wendel, A. A., Lewin, T. M., Coleman, R. A. 2009. Glycerol-3-phosphate acyltransferases: Rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(6), 501–506.
- Werner, S., Krieg, T., Smola, H. 2007. Keratinocyte–Fibroblast Interactions in Wound Healing. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(5), 998–1008.
- Wilkinson, H. N., Hardman, M. J. 2020. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biology*, 10(9), 200223.
- Witkiewicz, A. K., Knudsen, K. E., Dicker, A. P., Knudsen, E. S. 2011. The meaning of p16ink4a expression in tumors. *Cell Cycle*, 10(15), 2497–2503.
- Witwer, K. W., Soekmadji, C., Hill, A. F.et al. 2017. Updating the MISEV minimal requirements for extracellular vesicle studies: building bridges to reproducibility. *Journal of extracellular vesicles*, 6(1), 1396823.
- Woelk, H., Schläpke, S. 2010. A multi-center, double-blind, randomised study of the Lavender oil preparation Silexan in comparison to Lorazepam for generalized anxiety disorder. *Phytomedicine*, 17(2), 94–99.
- Wolfram, J., Zhu, M., Yang, Y.et al. 2015. Safety of nanoparticles in medicine. *Current drug targets*, 16(14), 1671–1681.
- Woodley, D. T. 2017. Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis: Implications for Wound Healing. *Dermatologic Clinics*, 35(1), 95–100.

- Wu, W., Zhang, B., Wang, W. et al. 2024. Plant-derived exosome-like nanovesicles in chronic wound healing. *International Journal of Nanomedicine*, 11293–11303.
- Xiang, X., Chen, J., Jiang, T. et al. 2023. Milk-derived exosomes carrying siRNA-KEAP1 promote diabetic wound healing by improving oxidative stress. *Drug Delivery and Translational Research*, 13(9), 2286–2296.
- Xiao, J., Feng, S., Wang, X. et al. 2018. Identification of exosome-like nanoparticle-derived microRNAs from 11 edible fruits and vegetables. *PeerJ*, 6, e5186.
- Xiao, Q., Zhao, Z., Teng, Y. et al. 2022. BMSC-derived exosomes alleviate intervertebral disc degeneration by modulating AKT/mTOR-mediated autophagy of nucleus Pulposus cells. *Stem Cells International*, 2022(1), 9896444.
- Xu, J., Bai, S., Cao, Y. et al. 2020. miRNA-221-3p in Endothelial Progenitor Cell-Derived Exosomes Accelerates Skin Wound Healing in Diabetic Mice. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 13(null), 1259–1270.
- Xu, M., Pirtskhalava, T., Farr, J. N. et al. 2018. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nature Medicine*, 24(8), 1246–1256.
- Xu, Z., Xu, Y., Zhang, K. et al. 2023. Plant-derived extracellular vesicles (PDEVs) in nanomedicine for human disease and therapeutic modalities. *Journal of nanobiotechnology*, 21(1), 114.
- Yalçın, S., Bonabian, E. F. 2025. *Candida albicans* Impact on the Progression, Morphology, and Cellular Integrity of Biofilm Formation on the Surfaces of Implants; Current Knowledge and Future Perspectives. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 14(2), 620.
- Yáñez-Mó, M., Siljander, P. R.-M., Andreu, Z. et al. 2015. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *Journal of extracellular vesicles*, 4(1), 27066.
- Yang, B., Chen, Y., Shi, J. 2019. Exosome biochemistry and advanced nanotechnology for next-generation theranostic platforms. *Advanced materials*, 31(2), 1802896.
- Yang, C., Zhang, M., Merlin, D. 2018. Advances in plant-derived edible nanoparticle-based lipid nano-drug delivery systems as therapeutic nanomedicines. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(9), 1312–1321.
- Yang, C., Zhang, W., Bai, M. et al. 2023. Edible plant-derived extracellular vesicles serve as promising therapeutic systems. *Nano TransMed*, 2(2), 100004.
- Yao, K., Ricardo, S. D. 2016. Mesenchymal stem cells as novel micro-ribonucleic acid delivery vehicles in kidney disease. *Nephrology*, 21(5), 363–371.
- Yap, K. L., Li, S., Muñoz-Cabello, A. M. et al. 2010. Molecular Interplay of the Noncoding RNA *ANRIL* and Methylated Histone H3 Lysine 27 by Polycomb CBX7 in Transcriptional Silencing of *INK4a*. *Molecular Cell*, 38(5), 662–674.
- Yi, Q., Xu, Z., Thakur, A. et al. 2023. Current understanding of plant-derived exosome-like nanoparticles in regulating the inflammatory response and immune system microenvironment. *Pharmacological research*, 190, 106733.

- Yin, S., Chen, A., Ding, Y. et al. 2023. Recent advances in exosomal RNAs analysis towards diagnostic and therapeutic applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 158, 116840.
- Yousef, H., Alhaji, M., Fakoya, A. O., Sharma, S. 2025. *Anatomy, Skin (Integument), Epidermis*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Yu, C., Liu, Y., Yu, X. et al. 2025. Garlic-Derived Exosome-Like Nanovesicles: A Promising Natural Nanotherapy for Periodontitis via PHGDH/PI3K/AKT-Mediated Metabolic and Inflammatory Regulation. *International Journal of Nanomedicine*, 5551–5572.
- Yuan, Z., Petree, J. R., Lee, F. E.-H. et al. 2019. Macrophages exposed to HIV viral protein disrupt lung epithelial cell integrity and mitochondrial bioenergetics via exosomal microRNA shuttling. *Cell death & disease*, 10(8), 580.
- Yuana, Y., Koning, R. I., Kuil, M. E. et al. 2013. Cryo-electron microscopy of extracellular vesicles in fresh plasma. *Journal of extracellular vesicles*, 2(1), 21494.
- Zhang, B., Yin, Y., Lai, R. C. et al. 2014. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes. *Stem cells and development*, 23(11), 1233–1244.
- Zhang, H., Wang, S., Sun, M. et al. 2023. Exosomes as smart drug delivery vehicles for cancer immunotherapy. *Frontiers in immunology*, 13, 1093607.
- Zhang, H.-G., Grizzle, W. E. 2014. Exosomes: a novel pathway of local and distant intercellular communication that facilitates the growth and metastasis of neoplastic lesions. *The American journal of pathology*, 184(1), 28–41.
- Zhang, J., Chen, C., Hu, B. et al. 2016. Exosomes Derived from Human Endothelial Progenitor Cells Accelerate Cutaneous Wound Healing by Promoting Angiogenesis Through Erk1/2 Signaling. *Int J Biol Sci*, 12(12), 1472–1487.
- Zhang, M., Viennois, E., Prasad, M. et al. 2016. Edible ginger-derived nanoparticles: A novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Biomaterials*, 101, 321–340.
- Zhang, M., Viennois, E., Xu, C., Merlin, D. 2016. Plant derived edible nanoparticles as a new therapeutic approach against diseases. *Tissue Barriers*, 4(2), e1134415.
- Zhang, M., Wang, X., Han, M. K., Collins, J. F., Merlin, D. 2017. Oral administration of ginger-derived nanolipids loaded with siRNA as a novel approach for efficient siRNA drug delivery to treat ulcerative colitis. *Nanomedicine*, 12(16), 1927–1943.
- Zhang, M., Zhao, R., Wang, D. et al. 2021. Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its bioactive components are potential resources for health beneficial agents. *Phytotherapy Research*, 35(2), 711–742.
- Zhang, Y., Liu, Y., Liu, H., Tang, W. H. 2019. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell & bioscience*, 9(1), 19.
- Zhao, Z., Yu, S., Li, M., Gui, X., Li, P. 2018. Isolation of exosome-like nanoparticles and analysis of microRNAs derived from coconut water based on small RNA high-

- throughput sequencing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(11), 2749–2757.
- Zhou, M., Huang, H., Wang, D. et al. 2019. Light-triggered PEGylation/dePEGylation of the nanocarriers for enhanced tumor penetration. *Nano letters*, 19(6), 3671–3675.
- Zhou, X., Brown, B. A., Siegel, A. P. et al. 2020. Exosome-Mediated Crosstalk between Keratinocytes and Macrophages in Cutaneous Wound Healing. *ACS Nano*, 14(10), 12732–12748.
- Zhu, Y., Tchkonja, T., Pirtskhalava, T. et al. 2015. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell*, 14(4), 644–658.
- Zhuang, X., Deng, Z.-B., Mu, J. et al. 2015. Ginger-derived nanoparticles protect against alcohol-induced liver damage. *Journal of extracellular vesicles*, 4(1), 28713.
- Zia ur, R., Gurgul, A., Youn, I. et al. 2022. UHPLC-MS/MS-GNPS based phytochemical investigation of *Equisetum arvense* L. And evaluation of cytotoxicity against human melanoma and ovarian cancer cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(6), 103271.