

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

UDİ HİNDİ (*Aquilaria agallocha*) EKSTRESİ
KULLANILARAK HİDROTERMAL OLARAK
SENTEZLENEN ÇİNKO OKSİT
NANOPARTİKÜLLERİNİN (ZnO NP) KURKUMİN VE
KAFEİK ASİT İLE MODİFİYE EDİLMESİ VE *İN VİTRO*
YARA İYİLEŞMESİ MODELİNDE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

Dt. Gülsüm TAŞLIÇUKUR

Periodontoloji Ana Bilim Dalı
Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Turgut DEMİR

ERZURUM
2025

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**UDİ HİNDİ (*Aquilaria agallocha*) EKSTRESİ KULLANILARAK
HİDROTERMAL OLARAK SENTEZLENEN ÇİNKO OKSİT
NANOPARTİKÜLLERİNİN (ZnO NP) KURKUMİN VE KAFEİK
ASİT İLE MODİFİYE EDİLMESİ VE *İN VİTRO* YARA
İYİLEŞMESİ MODELİNDE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dt. Gülsüm TAŞLIÇUKUR

Tez Savunma Tarihi : 07.08.2025

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Turgut DEMİR

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Recep ORBAK

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI

Onay

Bu çalışma yukarıdaki Jüri tarafından **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakültesi Kurum Eğitim Sorumlusu
Prof. Dr. Taner ARABACI

Uzmanlık Tezi
ERZURUM – 2025

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLOLAR DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Yara İyileşmesi	4
2.1.1. Hemostaz ve Koagülasyon Fazı	4
2.1.2. İnflamatuar Faz	6
2.1.2.1. Erken İnflamatuar Faz	6
2.1.2.2. Geç İnflamatuar Faz.....	7
2.1.3. Proliferatif Faz	8
2.1.4. Yeniden Şekillenme (Remodeling) ve Maturasyon Fazı	11
2.2. Periodontal Yara İyileşmesi.....	13
2.3. Oral Mukozadaki Yara İyileşmesi Farklılıkları	14
2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Bazı Mediyatörler.....	15
2.4.1. İnterlökin-1 Beta (IL-1 β)	17
2.4.2. Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta 1 (TGF- β 1)	18
2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	19
2.6. Kafeik Asit.....	20
2.7. Kurkumin	21

2.8. Nanoteknoloji.....	24
2.8.1. Diş Hekimliğinde Nanoteknoloji	25
2.9. Nanopartiküller	26
2.10. Çinko Oksit Nanopartikül (ZnO NP).....	28
2.10.1. Çinko Oksit Nanopartiküllerin Yara İyileştirme Aktivitesi.....	30
2.10.2. Çinko Oksit Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri.....	31
2.10.2.1. Fiziksel Yöntemler.....	32
2.10.2.2. Kimyasal Yöntemler	33
2.10.2.2.1. Hidrotermal Sentez Yöntemi	33
2.10.2.3. Biyolojik Yöntemler (Yeşil Sentez)	34
2.11. Udi Hindi (Aquilaria agallocha)	35
3. MATERYAL VE METOT.....	37
3.1. Udi Hindi Bitki Ekstresinin Hazırlanması	37
3.2. ZnO Nanopartiküllerin Yeşil Hidrotermal Sentezi.....	38
3.3. ZnO Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	40
3.4. ZnO Nanopartiküllerin Kurkumin ve Kafeik Asit ile Modifiye Edilmesi.....	41
3.5. Hücre Kültürü Deneyleri	42
3.5.1. İnsan Oral Fibroblast Hücre Kültürü	42
3.5.2. Örneklerin Hücre Canlılığı Üzerindeki Proliferatif Etkisinin Belirlenmesi	43
3.5.3. MTT Testi	43
3.5.4. Örneklerin Yara İyileştirici Özelliklerinin Scratch Assay (Tayini) ile İncelenmesi	44
3.6. Enzim Bağlı İmmünosorbent Test (ELISA) Analizleri	45
3.6.1. Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta 1 (TGF- β 1) ELISA Testi	45
3.6.2. İnterlökin-1 β (IL-1 β) ELISA Testi	45

3.7. İkili İmmunfloresans İncelemeler	46
3.8. İstatiksel Analiz	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. Çinko Oksit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	47
4.1.1. SEM Analizi	47
4.1.2. XRD Analizi	48
4.1.3. FTIR Analizi	49
4.2. Hücre Kültürü Bulguları	50
4.2.1. MTT Analizi	50
4.2.2. Scratch Assay Testi.....	56
4.3. ELISA Testi Bulguları	58
4.3.1. TGF- β 1 ELISA Bulguları	58
4.3.2. IL-1 β ELISA Bulguları	60
4.4. İmmunfloresans Analiz Bulguları.....	62
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	84
KAYNAKLAR	86
EKLER	114
EK-1. ETİK KURUL KARARI.....	114

TEŞEKKÜR

Öncelikle bir Türk kadını olarak bana hekimlik yapabilme ve bilime ulaşabilme imkanı sağlayan Mustafa Kemal ATATÜRK’e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan, tezimin planlanmasından bitimine kadar her adımında desteğini hiç esirgemeyen, öğrencisi olmaktan büyük bir onur duyduğum kıymetli hocam Prof. Dr. Turgut DEMİR’e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilimsel ve mesleki anlamda gelişimimde büyük katkısı olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Recep ORBAK, Prof. Dr. Cenk Fatih ÇANAKÇI, Prof. Dr. Alparslan DİLSİZ, Prof. Dr. Taner ARABACI, Doç. Dr. Tuğba AYDIN, Doç. Dr. Didem ÖZKAL EMİNOĞLU, Doç. Dr. Yelda ÖZKAN KARASU, Dr. Öğr. Üyesi Sema Nur SEVİNÇ GÜL ve Dr. Öğr. Üyesi Gurbet Alev ÖZTAŞ ŞAHİNLER’e,

Tez sürecinde desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU, Prof. Dr. Mustafa ÖZKARACA ve Öğr. Gör. Dr. Fatma YEŞİLYURT’a,

Uzmanlık süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum kıymetli asistan arkadaşlarıma, özverili hemşirelerimize, emekleriyle katkı sunan bölüm çalışanlarına ve değerli öğrencilerimize,

Sevgileri, şefkatleri ve bana olan güvenleriyle bugünlere gelmemi sağlayan; desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, evlatları olmaktan her zaman gurur duyduğum canım anneme ve babama, her zaman beni destekleyen kardeşlerime,

Lisans yıllarımdan bu yana her zaman yanımda olan, sevgisiyle en karanlık anlarımı aydınlatan, desteğini ve inancını hiç eksik etmeyen sevgili Dt. Barış KÜÇÜKERGÜLER’e,

Bu çalışmayı TDH-2024-14688 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dt. Gülsüm TAŞLIÇUKUR

ÖZET

Udi Hindi (*Aquilaria agallocha*) Ekstresi Kullanılarak Hidrotermal Olarak Sentezlenen Çinko Oksit Nanopartiküllerinin (ZnO NP) Kurkumin ve Kafeik Asit ile Modifiye Edilmesi ve İn Vitro Yara İyileşmesi Modelinde Etkilerinin İncelenmesi

Amaç: Yara iyileşmesi, hücresel ve moleküler düzeyde pek çok faktörün etkileşimini içeren karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte iyileşmeyi hızlandırabilecek terapötik ajanların geliştirilmesi klinik açıdan önem taşımakta olup, nanopartiküller ve bitkisel kökenli preparatlar sahip oldukları biyolojik aktiviteler nedeniyle dikkat çekici bir potansiyel sunmaktadır. Bu çalışmada, Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) ekstresi kullanılarak hidrotermal olarak sentezlenen çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnO NP), kurkumin (CUR) ve kafeik asit (CA) ile modifiye edilerek *in vitro* yara iyileşmesi modelindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Udi hindi ekstresi kullanılarak yeşil hidrotermal yöntemle ZnO NP'ler elde edildi. Sentezlenen nanopartiküller SEM, XRD, FTIR analizleri ile karakterize edildi. ZnO NP, ZnO NP+CUR ve ZnO NP+CA'nın 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 µg/mL konsantrasyonlarının insan oral fibroblast hücre canlılığı üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla 24 ve 72 saatlik iki farklı zaman aralığında MTT testi uygulandı. ZnO NP, ZnO NP+CUR, ZnO NP+CA'nın tüm konsantrasyonları yara iyileşme modeline uygulandı ve 6,18,24. saatlerde yara modellerinin mikroskop görüntüleri elde edildi. Çalışmadaki gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak incelendi.

Bulgular: MTT testi sonuçlarına göre, ZnO NP'lerin 20 ve 40 µg/mL, ZnO NP+CUR'un 5,10 ve 20 µg/mL, ZnO NP+CA'nın 20 ve 40 µg/mL konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde hücre proliferasyonunu artırdığı tespit edildi. ZnO NP+CA'nın 160 µg/mL konsantrasyonlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde hücre canlılığını azalttığı tespit edildi.

Sonuç: Elde edilen bulgular ZnO NP, ZnO NP+CUR, ZnO NP+CA'nın uygun konsantrasyonlarda yara iyileşme sürecinde potansiyel terapötik ajanlar olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Aquilaria agallocha*, çinko oksit nanopartiküller, kafeik asit, kurkumin, yara iyileşmesi, yeşil hidrotermal sentez

ABSTRACT

Modification of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) Synthesized Hydrothermally Using Agarwood (*Aquilaria agallocha*) Extract with Curcumin and Caffeic Acid, and Investigation of Their Effects on In Vitro Wound Healing Model

Aim: Wound healing is a complex process involving the interaction of numerous factors at cellular and molecular levels. The development of therapeutic agents that can accelerate this process holds significant clinical importance. Nanoparticles and plant-derived preparations offer noteworthy potential due to their diverse biological activities. This study aimed to investigate the effects of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs), synthesized hydrothermally using *Aquilaria agallocha* (agarwood) extract and subsequently modified with curcumin (CUR) and caffeic acid (CA), in an *in vitro* wound healing model.

Materials and Methods: ZnO NPs were synthesized via a green hydrothermal method using agarwood extract. The synthesized nanoparticles were characterized using SEM, XRD, and FTIR analyses. To assess the effects of ZnO NP, ZnO NP+CUR, and ZnO NP+CA at concentrations of 5, 10, 20, 40, 80, and 160 µg/mL on human oral fibroblast cell viability, an MTT assay was performed at two time intervals (24 and 72 hours). All concentrations of ZnO NP, ZnO NP+CUR, and ZnO NP+CA were applied to the wound healing model, and microscopic images of the wound areas were obtained at 6, 18, and 24 hours. Statistical analyses were conducted to evaluate differences among the groups.

Results: According to MTT assay results, ZnO NPs at 20 and 40 µg/mL, ZnO NP+CUR at 5, 10, and 20 µg/mL, and ZnO NP+CA at 20 and 40 µg/mL significantly enhanced cell proliferation. ZnO NP+CA at 160 µg/mL significantly reduced cell viability.

Conclusion: The findings suggest that ZnO NP, ZnO NP+CUR, and ZnO NP+CA, at appropriate doses, may serve as potential therapeutic agents in the wound healing process.

Keywords: *Aquilaria agallocha*, caffeic acid, curcumin, green hydrothermal synthesis, wound healing, zinc oxide nanoparticles

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Derece santigrat
%	: Yüzde
A. agallocha	: Aquilaria agallocha
Ag	: Gümüş
AIDS	: Edinilmiş bağışıklık yetmezliği sendromu
CA	: Kafeik asit
Caltech	: California institute of technology
cm⁻¹	: Santimetre üzeri eksi bir
CO₂	: Karbondioksit
CUR	: Kurkumin
DAYTAM	: Doğu Anadolu yüksek teknoloji uygulama ve araştırma merkezi
DM	: Diabetes mellitus
E. coli	: Escherichia coli
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ELISA	: Enzim bağlı immünosorbent testi
FBS	: Fetal bovine serum
FDA	: Food and drug administration
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FITC	: Fluorescein isothiocyanate
FT-IR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
g	: Gram
GEL	: Jelatin
HOF	: İnsan oral fibroblastı
IL	: İnterlökin

IL-1Ra	: İnterlökin-1 reseptör antagonisti
JCPDS	: Joint Committee on Powder Diffraction Standards
KBF	: Keratinosit büyüme faktörü
M	: Molarite
mg/kg	: Miligram/kilogram
mL	: Mililitre
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
ng/mL	: Nanogram/mililitre
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
NP	: Nanopartikül
OD	: Optik yoğunluk
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PCL	: Polikaprolakton
PDGF	: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
PGE2	: Prostaglandin E2
pH	: Asit baz ölçümü
PHMB	: Poliheksametilen biguanid hidroklorür
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
S. aureus	: Staphylococcus aureus
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
TIMP	: Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri

TNF-α	: Tumor nekroz faktör alfa
TR	: Texas red
UV	: Ultraviyole
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
XRD	: X-ışını difraksiyonu
Zn(NO₃)₂	: Çinko nitrat
ZnO	: Çinko oksit
ZnO NP	: Çinko oksit nanopartikül
ZnO@CA	: Kafeik asit ile fonksiyonlandırılmış ZnO nanoparçacıklar
$\mu\text{g/mL}$	: Mikrogram/mililitre
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
θ	: Bragg açısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. ZnO nanopartiküllerin dış hekimliğinde uygulamaları	29
Şekil 2.2. Nanopartiküllerin "aşağıdan yukarıya" ve "yukarıdan aşağıya" sentez yaklaşımları	31
Şekil 2.3. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri	32
Şekil 3.1. Udi hindi (<i>Aquilaria agallocha</i>) bitkisinin kök hali	37
Şekil 3.2. Udi hindi (<i>Aquilaria agallocha</i>) bitkisinin toz hali	37
Şekil 3.3. Sentezlenen ZnO nanopartiküller	38
Şekil 3.4. Bitki ekstresi hazırlamak için kullanılan reflüks sistemi	39
Şekil 3.5. Santrifüj cihazı	39
Şekil 3.6. Hidrotermal reaktör ısıtıcı ve çelik ünite	39
Şekil 3.7. Saf su arıtım cihazı	40
Şekil 3.8. Etüv cihazı	40
Şekil 3.9. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazı	41
Şekil 3.10. X-Işını Difraksiyonu (XRD) cihazı	41
Şekil 3.11. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) cihazı	41
Şekil 3.12. İnkübatör cihazı	42
Şekil 3.13. Santrifüj cihazı	42
Şekil 3.14. Class II biyogüvenlik kabini	43
Şekil 3.15. µQuant, Bad Friedrichshall, Biotek	44
Şekil 3.16. LEICA DFC295 Inverted mikroskop	45
Şekil 4.1. ZnO NP'lerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü	47
Şekil 4.2. ZnO NP'lerin XRD analizi grafiği	48
Şekil 4.3. ZnO NP'lerin FTIR analizi grafiği	49
Şekil 4.4. CUR'un 24 saat MTT analiz sonuçları	50

Şekil 4.5. CA'nın 24 saat MTT analiz sonuçları	51
Şekil 4.6. ZnO NP'nin 24 saat MTT analiz sonuçları	51
Şekil 4.7. ZnO NP + CUR'un 24 saat MTT analiz sonuçları	52
Şekil 4.8. ZnO NP + CA'nın 24 saat MTT analiz sonuçları	53
Şekil 4.9. ZnO NP'nin 72 saat MTT analiz sonuçları	54
Şekil 4.10. ZnO NP + CUR'un 72 saat MTT analiz sonuçları	55
Şekil 4.11. ZnO NP + CA'nın 72 saat MTT analiz sonuçları	56
Şekil 4.12. ZnO NP'nin yara modellerinin görüntüleri	57
Şekil 4.13. ZnO NP + CUR'un yara modellerinin görüntüleri	57
Şekil 4.14. ZnO NP + CA'nın yara modellerinin görüntüleri	57
Şekil 4.15. ZnO NP'nin TGF- β 1 ELISA testi bulguları	58
Şekil 4.16. ZnO NP + CUR'un TGF- β 1 ELISA testi bulguları	59
Şekil 4.17. ZnO NP + CA'nın TGF- β 1 ELISA testi bulguları	59
Şekil 4.18. ZnO NP'nin IL-1 β ELISA testi bulguları	60
Şekil 4.19. ZnO NP + CUR'un IL-1 β ELISA testi bulguları	61
Şekil 4.20. ZnO NP + CA'nın IL-1 β ELISA testi bulguları	62
Şekil 4.21. ZnO NP gruplarında IL-1 β ve TGF- β 1 floresans pozitiflikleri	63
Şekil 4.22. ZnO NP gruplarında IL-1 β pozitiflikleri	63
Şekil 4.23. ZnO NP gruplarında TGF- β 1 pozitiflikleri	64
Şekil 4.24. ZnO NP + CUR gruplarında IL-1 β ve TGF- β 1 floresans pozitiflikleri	65
Şekil 4.25. ZnO NP + CUR gruplarında IL-1 β pozitiflikleri	65
Şekil 4.26. ZnO NP + CUR gruplarında TGF- β 1 pozitiflikleri	66
Şekil 4.27. ZnO NP + CA gruplarında IL-1 β ve TGF- β 1 floresans pozitiflikleri	66
Şekil 4.28. ZnO NP + CA gruplarında IL-1 β pozitiflikleri	67
Şekil 4.29. ZnO NP + CA gruplarında TGF- β 1 pozitiflikleri	67

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 2.1. Bazı önemli büyüme faktörü ve sitokinlerin kaynağı ve görevleri..... 16

Tablo 2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler 20



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yara iyileşmesi, birbirini takip eden karmaşık süreçlerden oluşur ve dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen kronik inflamasyonda önemli bir rol üstlenmektedir (Kaplan et al., 2018). Yara iyileşmesi, hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme aşamalarını içeren, düzenli, dinamik ve karmaşık bir süreçtir (Kasuya & Tokura, 2014). Son yıllarda gerçekleştirilen birçok çalışmada, yara bakımında alternatif olarak kullanılabilecek bitkisel preparatlar ve nanopartiküllerin, yara iyileşme sürecindeki antimikrobiyal ve anti-inflamatuar etkileri terapötik yaklaşımlar kapsamında incelenmiştir (Mohanty & Sahoo, 2017; Niranjana et al., 2023).

Nanopartiküller, boyutsal farklılıklarına bağlı olarak 1–100 nm aralığında olup; hastalıkların erken tanı ve tedavisi, antimikrobiyal aktivite, tıbbi görüntüleme, kontrollü ilaç salınımı ve yara iyileşmesinin desteklenmesi gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır (Koul et al., 2021; Singh et al., 2016). Metal ve metal oksit nanopartiküller (gümüş, altın, çinko vb.), yara iyileşmesini hızlandırma, bakteriyel enfeksiyonları önleme ve tedavi etme, kullanım kolaylığı sağlama, sürekli nemli bir yara ortamı oluşturma ve pansuman değişim sıklığını azaltma gibi avantajları nedeniyle yara tedavilerinde kullanılmaktadır (Mihai et al., 2019).

ZnO nanopartiküller, yaygın kullanım alanına sahip metal oksit nanopartiküller arasında yer almakta olup; antikanser, antidiyabetik, antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve yara iyileştirici gibi çeşitli biyomedikal etkilere sahiptirler (Jiang et al., 2018). Bu nanopartiküller, yara bölgesine çinko temini sağlayarak hücrelere etkin biçimde nüfuz etmekte ve bağışıklık sistemini düzenleyerek tedavi edici etki göstermektedirler (Rajendran et al., 2018).

ZnO nanopartiküllerin sentezi için çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik prosedürler kullanılmıştır. Günümüzde nanopartiküllerin bitki yardımıyla biyolojik

olarak sentezlenmesi, kolay uygulanabilirliği, çevre dostu olması ve geniş antimikrobiyal etkinliği nedeniyle giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Janaki et al., 2015). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda çeşitli bitki ekstreleri kullanılarak ZnO NP'ler sentezlenmiştir, artırılmış antimikrobiyal etkileri ve yara iyileştirmeye katkıları çeşitli yara çalışmaları ile bildirilmiştir (Irfan et al., 2022; Metwally et al., 2022). Tez çalışmamızda, nanopartikül sentezinde indirgeyici bitkisel ajan olarak kullanılan Udi Hindi (*Aquilaria agallocha*) bitkisi; antioksidan, anti-diyabetik, anti-inflamatuar ve antibakteriyel özelliklere sahip olup saponinler, tanenler, terpenoidler ve flavonoidler gibi çeşitli biyoaktif bileşenler bakımından zengin bir içeriğe sahiptir (Alam et al., 2017).

Yara iyileşmesi sürecinde oksidatif stresin etkileri ile reaktif oksijen türlerinin denge halinde tutulmasının önemi gün geçtikçe daha iyi anlaşılmakta; bu bağlamda, antioksidan moleküllerin yara onarımını destekleyici rolleri, özellikle kronik yara yönetiminde terapötik hedefler olarak ön plana çıkmaktadır (Aksoy & Özakpınar, 2014). Kurkumin, zerdeçal bitkisinden elde edilen bitkisel kökenli bir polifenol olup; antioksidan, antimikrobiyal, anti-inflamatuar ve yara iyileştirici gibi terapötik etkilere sahiptir (Akbar et al., 2018; Sarıyer & Aksu, 2020). Kafeik asit, kahve, çay, zeytin gibi çeşitli gıdaların yanı sıra propoliste de bulunan önemli bir fenolik bileşiktir. Bu bileşik, belirgin anti-inflamatuar, antioksidan ve antikanserojenik özellikleriyle dikkat çekmektedir (Espíndola et al., 2019).

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızın hipotezi, Udi hindi (*A. agallocha*) bitki ekstresi kullanılarak yeşil hidrotermal sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin, kurkumin ve kafeik asit ile modifiye edilmesiyle oluşturulan yapıların yara iyileşme sürecine olumlu katkı sağlayabileceğidir.

Tez çalışmamızda, Udi hindi (*A. agallocha*) bitki ekstresi kullanılarak ilk kez yeşil hidrotermal sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin, bitkisel kaynaklı antioksidan

olduğu bilinen kurkumin ve kafeik asit ile modifiye edilerek insan oral fibroblast hücreleri üzerindeki yara iyileştirici etkilerinin *in vitro* şartlar altında incelenmesi ve bu olaylarda rol oynayan interlökin 1  (IL-1 ) ve transforme edici büyüme faktörü beta 1 (TGF- 1) biyobelirteçleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Yara, çeşitli faktörlerin etkisiyle (delici aletlerin yol açtığı mekanik hasarlar, travmalar, fiziksel ve kimyasal etkenler, mikroorganizmalar, cerrahi müdahaleler vb.) canlı dokunun normal anatomik yapısının ve işlevinin kaybolması olarak tanımlanmaktadır (Baktır, 2019; Tepebaşı & Calapoğlu, 2016).

Yara iyileşmesi, yaralanmanın gerçekleştiği andan itibaren başlayan pek çok hücre tipini (fibroblast, trombosit, makrofaj vb.) ve hücre matriksini içeren dinamik bir süreçtir (Robson et al., 2001). Yaralanmayla başlayan bu süreç, aylarca hatta yıllarca devam edebilen karmaşık bir dizi olaylar zinciridir. Yara iyileşmesi doğrusal bir seyir göstermez; içsel ve dışsal birçok faktörün etkisiyle süreç ilerleyebilir veya gerileyebilir (Wild et al., 2010). Yara iyileşmesi, temel olarak dört evreden oluşmaktadır. Bu evreler sırasıyla hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olarak adlandırılmaktadır (Baktır, 2019).

2.1.1. Hemostaz ve Koagülasyon Fazı

Yara iyileşme sürecinin ilk evresini oluşturan hemostaz ve koagülasyon fazı, vazokonstriksiyon ve geçici bir pıhtı oluşumu ile başlamakta; ardından vazodilatasyon, damar geçirgenliğinin artması ve inflamasyon evresinin başlamasıyla sonlanmaktadır (George Broughton et al., 2006). Bu fazın temel amacı, yara bölgesindeki damar bütünlüğünü koruyarak kan kaybını ve hayati organ hasarını önlemektir. İkincil amacı ise, iyileşmenin ilerleyen aşamalarında ihtiyaç duyulan hücrelerin göçünü destekleyecek geçici bir matriks oluşturmaktır (Velnar et al., 2009). Yaralanmaya verilen ilk vasküler yanıt, damar bütünlüğünün bozulmasıyla açığa çıkan endotelin etkisiyle damar düz kas hücrelerinde ani ve geçici bir vazokonstriksiyonun gerçekleşmesidir. Bu refleks vazokonstriksiyon, kanamanın azalmasını veya tamamen durmasını sağlamaktadır (Clemetson, 2012).

Yara bölgesinde gelişen vazokonstriksiyonun ardından azalan kan akışı, doku hipoksisi ve asidoza yol açmaktadır. Bu durum, nitrik oksit (NO), adenozin ve çeşitli vazoaaktif metabolitlerin üretimini uyarak refleks vazodilatasyona ve arteriyel damarların gevşemesine neden olmaktadır. Eş zamanlı olarak mast hücrelerinden salınan histamin, vazodilatasyonu ve vasküler geçirgenliği artırarak inflamatuvar hücrelerin yara matriksindeki ekstraselüler boşluğa geçişini kolaylaştırmaktadır. Bu mekanizma, yaraların erken dönemdeki hiperemik, kızarıklık ve ödemli bir görünüme sahip olmasını açıklamaktadır (Harper et al., 2014).

Vasküler endotelial hasar, subendotelial ekstraselüler matriksin açığa çıkmasına ve trombositlerin subendotelial kollajen ile von-Willebrand faktörüne bağlanarak endotele tutunmasına neden olmaktadır. Aktive olan trombositler, adenozin difosfat ve tromboksan A2 salgılayarak çevredeki trombositleri uyarmaktadır ve agregasyonu başlatmaktadır. Bu sürecin sonucunda birincil hemostatik tıkaç oluşmaktadır (Clemetson, 2012). Ancak fibrin tıkaçının oluşumu için hemostatik mekanizma tek başına yeterli değildir (Robson et al., 2001; Strecker-McGraw et al., 2007). Kanamanın kontrolü, hemostatik süreçlerle birlikte koagülasyon kaskadının intrinsek ve ekstrinsek yollarının aktive olması sonucu trombositlerin agregasyonu ve pıhtı oluşumu ile sağlanmaktadır (Baum & Arpey, 2005). Koagülasyon yolları sonucunda protrombin, trombine dönüşmektedir; trombin ise fibrinojeni fibrine çevirerek stabil pıhtının polimerizasyonunu sağlamaktadır. Pıhtı, çapraz bağlı fibrin lifleri içinde gömülü trombositleri içermektedir. Ayrıca pıhtıda daha az miktarda fibronektin, vitronektin ve trombospondin bulunmaktadır. Böylece ikincil hemostatik tıkaç oluşmaktadır. Yaralanma bölgesindeki bu pıhtı, aktive ve degranüle olmuş trombositlerden salınan sitokinler ve büyüme faktörleri için bir rezervuar görevi görmektedir (Martin, 1997; Opneja et al., 2019). Bu sitokinler ve büyüme faktörleri, hemostazın sağlanmasında ve

normal yara iyileşme sürecinde önemli görevler üstlenmektedir. Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) kemotaksiste, transforme edici büyüme faktörü β (TGF- β) ekstraselüler matriksin oluşumu ve yeniden şekillenmesinde, fibroblast büyüme faktörü (FGF) ile epidermal büyüme faktörü (EGF) reepitelizasyonda ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ise anjiyogeneizde kritik rol oynamaktadır (Barrientos et al., 2008; Opneja et al., 2019). Bu moleküller, yara iyileşme sürecinde önce nötrofilleri, ardından makrofajları, fibroblastları ve endotel hücrelerini aktive ederek yara bölgesine yönlendirmektedir (George Broughton et al., 2006).

2.1.2. İnflamatuar Faz

Hemostaz ve koagülasyon fazını, mikroorganizmalara karşı immün bariyer oluşturmak amacıyla gelişen humoral ve hücreli inflammatuar faz takip etmektedir. Bu faz, erken ve geç inflammatuar faz olmak üzere iki aşamada incelenmektedir (Hart, 2002).

2.1.2.1. Erken İnflamatuar Faz

Erken inflammatuar faz, kompleman kaskadının klasik ve alternatif yollarının aktivasyonu ile başlar. Bu durum, yaranın nötrofil granülositleri (polimorfonükleer lökositler) ile infiltrasyonuna yol açar ve nötrofiller yaralanmadan sonraki 24-48 saat içinde çeşitli kemoatraktanlar (hücre dışı matriks protein parçaları, TGF- β , kompleman bileşenleri (örn. C3a, C5a), bakterilerden kaynaklanan formil-metiyonil peptit ürünleri) tarafından yara bölgesine çekilir (Enoch & Leaper, 2008). Nötrofiller, hasar görmüş dokuları, yabancı partikülleri ve bakterileri fagositoz aracılığıyla parçalayarak ortamdan temizleme görevini üstlenir. Bu fagositik etkinlik, yara iyileşmesinin sonraki süreçleri açısından büyük önem taşımaktadır; çünkü akut yaralanmalarda bakteri yoğunluğunun fazla olması, iyileşme sürecini geciktirmektedir (Hart, 2002; Robson et al., 2001). Yüzey adezyon moleküllerinin düzenlenmesindeki değişiklikler başlar, nötrofiller sabit hale gelir ve yaranın çevresindeki postkapiller venüllerdeki endotel hücrelerine adezyona

başlar. Ardından, nötrofiller kan akışı sırasında yuvarlanma hareketi sergiler. Endotel hücreleri tarafından hızlı bir şekilde salınan kemokinler ve integrinler adezyon sürecini güçlü bir biçimde aktive eder. Nötrofillerin yuvarlanması durduktan sonra, diapedez olarak adlandırılan bir süreçle endotel hücrelerinin arasından geçerler (Flanagan, 2000; Hart, 2002). Nötrofiller, içerdikleri proteolitik enzimlerle yarayı bakterilerden arındırır ve doku debrislerini fagosite eder. Ayrıca reaktif oksijen radikalleri üreterek antimikrobiyal etkinliklerini gösterirler. Nötrofillerin ikincil rolü ise salgıladıkları sitokinlerle erken inflamatuvar fazın devamlılığını sağlamaktır. Özellikle önemli bir sitokin olan tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), nötrofil kemotaksisini artırır, anjiyogenez ve kollajen sentezi için gerekli olan makrofaj, fibroblast ve keratinositlerin büyüme faktörü ekspresyonunu stimüle eder (Teller & White, 2009). Yara bölgesindeki nötrofillerin aktivitesi birkaç gün içinde yeniden değişmektedir, çünkü görevlerini tamamlayan nötrofiller, yara iyileşmesinin bir sonraki aşamasına geçişte yara bölgesinden apoptoz yoluyla ve makrofajların fagosite etmesiyle uzaklaştırılır (Diegelmann & Evans, 2004; George Broughton et al., 2006; Robson et al., 2001).

2.1.2.2. Geç İnflamatuvar Faz

Geç inflamatuvar fazda, monositler, çeşitli kemoatraktanlar (kompleman, pıhtılaşma bileşenleri, immünoglobulin G fragmanları, kollajen ve elastin parçalanma ürünleri, sitokinler (örn. Lökotrien B₄, Platelet faktör IV, PDGF, TGF- β) tarafından yara bölgesine çekilir ve böylece bölgeye ulaşan kan monositleri fenotipik bir değişim geçirerek doku makrofajlarına dönüşür (Enoch & Leaper, 2008). Özellikle trombosit ve nötrofillerden salınan TGF- β , monositler için en güçlü kemotaktik maddelerden biridir (Alves et al., 2010). Makrofajlar, inflamatuvar sürecin sonraki aşamalarında (48-72 saat) bulunan en önemli hücrelerdir (Enoch & Leaper, 2008). Yara iyileşmesinin hem inflamatuvar hem de proliferatif fazları boyunca çeşitli görevler üstlenirler. Fagositik

hücreler olarak işlev görmelerinin yanı sıra hücre toplanması ve aktivasyonu, matriks sentezlenmesi, anjiyogenez ve remodeling için gerekli çok sayıda sitokin ve büyüme faktörünün birincil üreticisidirler (Teller & White, 2009). Ayrıca, makrofajlar yaranın debride edilmesine yardımcı olan proteolitik enzimler (örn. kollajenaz) salgırlar. Nötrofillerden farklı olarak yara iyileşmesinin vazgeçilmez hücreleri olan makrofajların yaradaki eksikliği hücrel debridmanın zayıflamasına, fibroblastların proliferasyonunun gecikmesine, anjiyogenezin yetersiz olmasına ve zayıf fibrozise yol açar (Enoch & Leaper, 2008). İnflamatuar sürecin geç evresinde yani yaralanmadan 72 saat sonra, interlökin 1'in (IL-1) etkisiyle yara bölgesine ulaşan son hücreler lenfositlerdir. IL-1, kollajen oluşumu, ekstraselüler matriks bileşenlerinin üretimi ve yıkımında rol oynayan kollajenaz enziminin düzenlenmesinde kritik bir işlev üstlenir (Hart, 2002).

2.1.3. Proliferatif Faz

Doku hasarının ardından hemostaz, koagülasyon ve inflamasyon süreçleri tamamlandığında immün yanıt oluşmuştur ve akut yara artık proliferasyon aşamasına doğru geçiş yapmaktadır (Velnar et al., 2009). Proliferatif faz, yaralanma sonrası yaklaşık 3. günde başlar ve 2-4 hafta sürmektedir. Bu faz fibroblast göçü, hücre dışı matriksin birikmesi, anjiyogenez ve granülasyon dokusu oluşumu ile karakterizedir. Proliferatif fazın ilerlemesiyle birlikte, geçici fibrin/fibronektin matriksinin yerini yeni oluşan granülasyon dokusu almaktadır (Enoch & Leaper, 2008). Yaralanmanın hemen ardından ilk üç gün boyunca, dokunun çevresindeki fibroblast ve miyofibroblast hücreleri proliferasyon için uyarılmaktadır (Ramasastry, 2005). Fibroblastların çoğalmasından sorumlu olan sitokinler ve büyüme faktörleri, başlıca trombositlerden ve aktif hale gelmiş makrofajlar tarafından üretilmektedir (Witte & Barbul, 1997). Daha sonra fibroblastlar TGF- β ve PDGF gibi faktörlerin etkisiyle yara bölgesine göç etmektedir (Goldman, 2004). Yara bölgesinde sayıları artan fibroblastlar matriks proteinleri, hyaluronik asit,

fibronektin, proteoglikan, tip1 ve tip3 prokollajen gibi matriks proteinleri üretmektedirler (Ramasastry, 2005; Robson et al., 2001). İlk haftanın sonunda, hücre göçünü daha da destekleyen ve onarım süreci için gerekli olan bol miktarda ekstraselüler matriks birikmektedir (Velnar et al., 2009). PDGF ve EGF, trombositlerin ve makrofajların sentezlediği fibroblastları uyaran ana sinyallerdendir. Halihazırda yara bölgesinde bulunan ve yara çevresinden gelen fibroblastlara kıyasla daha az proliferasyon yeteneğine sahip olan yara fibroblastları, kollajen sentezlemeye başlar ve yara kontraksiyonu için miyofibroblastlara dönüşmektedir. Bu dönüşüm makrofaj tarafından salgılanan TGF- β ile indüklenir (George Broughton et al., 2006). Miyofibroblastlar, hücre membranının altında kalın aktin demetleri barındırır ve psödopod uzantılarıyla ekstraselüler matrikste bulunan fibronektin ve kollajene bağlanırlar. Yara kontraksiyonu bu hücre uzantılarının geri çekilmesi sonucunda meydana gelir ve böylece yara kenarları birbirine yaklaştırılmış olur (Velnar et al., 2009). Daha sonra görevini tamamlayan fibroblastların bir kısmı apoptoz ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır (Greenhalgh, 1998).

Epitelizasyon sürecinde, epitelyal proliferasyon ve kemotaksis aktive edilmiş makrofajlar ve trombositler tarafından üretilen EGF ve TGF- α (dönüştürücü büyüme faktörü alfa) ile uyarılmaktadır (Grotendorst et al., 1989; Lawrence & Diegelmann, 1994). Epitelizasyon, yaralanmanın hemen ardından yara kenarlarından başlamaktadır ve ilk aşamada inflamatuvar sitokinler tarafından da tetiklenmektedir. IL-1 ve TNF-alfa, fibroblastlarda keratinosit büyüme faktörü gen ekspresyonunu yukarı yönlü düzenlemektedir (George Broughton et al., 2006). Fibroblastlar, komşu keratinositlerin yara bölgesine migrasyonunu, epidermiste proliferasyonunu ve farklılaşmasını teşvik eden keratinosit büyüme faktörü 1 (KBF-1), KBF-2 ve IL-6'yı sentezleyip salgılamaktadır (Smola et al., 1993; Xia et al., 1999). Bu süreçte yara kenarlarındaki keratinositler çoğalır ve proteazlarını kullanarak yara kenarı boyunca ekstraselüler matrikse göç ederler. Hücre

dışı matriksin mezenkimine ulaştıklarında yaranın iç kenarına sıkı bir şekilde yapışırlar ve yeni bir bazal membran oluşturmaya başlarlar. Bunu takiben başka bir sıra keratinosit, defekti doldurmak için yeni oluşan epitel hücrelerinin üzerinden geçer. Bu süreç, göç eden keratinositlerin birbirleriyle fiziksel temas kurmasına kadar devam eder. Komşu keratinositler temas ettiğinde temas inhibisyonu yoluyla göç etmeyi bırakırlar ve ince bir epitel tabakası oluşur. Bu reepitelizasyon yarayı enfeksiyon ve kurumaya karşı korur (Gantwerker & Hom, 2011).

Proliferatif fazda gerçekleşen bir diğer olay anjiyogenezdır. Anjiyogenez süreci endotel hücrelerin, yaraya yakın sağlam venüllerden çoğalması ve yeni kılcal damarları oluşturması ile karakterizedir (Witte & Barbul, 1997). Hipoksi, düşük pH ve laktik asit gibi yara mikroçevresindeki lokal faktörler oluşan yeni dokunun kanlanmasını sağlamak için gereken bileşenlerin salınmasını sağlar. Fibroblastlar, makrofajlar ve vasküler endotel hücreler birçok büyüme faktörünü (VEGF, FGF ve TGF- β) üreterek anjiyogenezi aktive eder (Diegelmann & Evans, 2004). Bunlara ek olarak endotel hücreleri, düşük oksijen basıncına yanıt olarak endotel NO sentaz aracılığıyla NO üretir, bu durum damar geçirgenliğinin ve yara bölgesine gelen kan akışının artmasına neden olur (Rand & Gellhorn, 2016). Endotel hücrelerinin ekstraselüler matrikste göç edebilmeleri için integrinleri ve matriks metalloproteinazları (MMP) eksprese etmeleri gerekir. İntegrinler, ekstraselüler matriks için ana hücre yüzey reseptörleridir ve VEGF, FGF ve TGF- β bu reseptörlerin hücre yüzeyindeki sayısını artırır. Birçok MMP'nin ekspresyonu, anjiyogenez sırasında endotelial göçünde görev alan VEGF, TNF- α , FGF-2 faktörleri tarafından uyarılır. MMP'ler, anjiyogenez sırasında bazal membranı ve ekstrasellüler matriksi parçalayarak aktive edilmiş endotel hücrelerinin göç etmesini sağlar (Baum & Arpey, 2005). Anjiyogenez sürecinde etkili olan matriks metalloproteinazlar arasında MMP-1, MMP-2, MMP-9 ve MMP-19 bulunmaktadır (Jackson, 2002).

Proliferasyon evresinin son fazı, granülasyon dokusu oluşumudur (Reinke & Sorg, 2012). Granülasyon dokusu; fibronektin, hyaluronik asit ve kollajenden oluşan gevşek geçici matriks içine gömülmüş fibroblastlar, makrofajlar ve yeni kan damarlarından oluşmaktadır (Greaves et al., 2013). Bu bağ dokusu matriksi makrofajlar, yeni kan damarları ve fibroblastlar için göç edebilecekleri bir zemin sağlar (Clark, 1985). Yara kenarlarından gelen kapiller filizler yara pıhtısını istila eder ve birkaç gün içerisinde yeni kılcal damarlardan oluşan bir mikrovasküler ağ meydana gelir (Velnar et al., 2009). Granülasyon dokusunun durumu genellikle yaranın iyileşme sürecini yansıtan önemli bir göstergedir. Sağlıklı granülasyon dokusu kolay kanamayan ve pembemsi kırmızı renktedir. Koyu renkli granülasyon dokusu, yaranın iskemik veya enfekte olduğuna işaret edebilir (Cutting & Harding, 1994).

2.1.4. Yeniden Şekillenme (Remodeling) ve Maturasyon Fazı

Yara iyileşmesinin son aşaması olan yeniden şekillenme (remodeling) ve maturasyon fazı, iki yıla kadar sürebilen uzun bir süreçtir. Bu faz, normal epitel dokusunun gelişimi ve skar dokusunun olgunlaşması ile sonuçlanmaktadır (Harper et al., 2014). Akut bir yaranın yeniden şekillenme süreci, normal iyileşmenin sağlanabilmesi için sentez ve yıkım arasındaki hassas dengeyi koruyan düzenleyici mekanizmalar tarafından titizlikle kontrol edilmektedir (Velnar et al., 2009). Bu faz, başta PDGF, TGF- β ve FGF olmak üzere çeşitli büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir (Clark, 1993; Pierce et al., 1991).

Yeniden şekillenme ve maturasyon fazının en belirgin özelliği, yara dokusunda kollajenin birikmesidir (Witte & Barbul, 1997). Ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesi, kollajen sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye dayanmaktadır. Kollajen sentezi, yaralanmayı takiben yaklaşık 21. güne kadar artış göstermektedir, bu süreden sonra ise kollajen sentez oranında azalma meydana gelmektedir (Baum & Arpey, 2005).

Yara iyileşmesi sürecinde kollajen sentezindeki artış, yalnızca fibroblast sayısındaki artıştan değil, aynı zamanda her bir hücrenin ürettiği kollajen miktarındaki belirgin artıştan da kaynaklanmaktadır (George Broughton et al., 2006). Kollajen sentezi ve yıkımı, çeşitli aktivatör ve inhibitör faktörler tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. MMP enzimleri, yara bölgesindeki fibroblast, makrofaj ve nötrofiller tarafından sentezlenmektedir ve kollajenin yıkımından sorumludur. Metalloproteinaz doku inhibitörlerinin (TIMP) aktivitesinin zamanla artmasıyla MMP aktivitesi azalmaktadır ve bu durum yeni matriks birikimini desteklemektedir (Mulder & Berg, 2002; Toy, 2005). Normal bir yara iyileşmesi için MMP ve TIMP arasındaki denge çok önemlidir (Monaco & Lawrence, 2003). Bu dengenin bozulması, aşırı veya yetersiz matriks oluşumuna ya da yaranın kapanmaması gibi komplikasyonlara yol açabilmektedir (Schultz & Mast, 1999).

Yara matriksinin yapısı, skar dokusunun yeniden şekillenmesiyle birlikte değişmektedir. Skar dokusu olgunlaştıkça kollajen fibrillerinin kalınlığı, fibriller arası bağlanma ve tip I kollajen miktarı artarken, tip III kollajen, su ve proteoglikan seviyesi azalmaktadır (Monaco & Lawrence, 2003). Yara gerim gücünde artış sentezlenen kollajen miktarı ile artmaktadır ve tip I kollajen artışı ile paralellik göstermektedir. Yara gerim gücü 1. haftada yalnızca %3 iken, 3. haftada %20'ye ulaşmaktadır. İyileşme sürecinin 3. ayında yara gerim gücü normalin %80'ine ulaşmaktadır; ancak bu hiçbir zaman normale dönmemektedir (George Broughton et al., 2006; Witte & Barbul, 1997).

İlk aşamalarda kabarık ve kırmızımsı bir görünüm sergileyen skar dokusu, olgunlaşma sürecinin ilerlemesiyle birlikte kanlanmanın azalmasına paralel olarak daha düz, soluk ve pürüzsüz bir görünüm kazanmaktadır (Flanagan, 2000). Yara iyileştikçe, fibroblastların ve makrofajların yoğunluğu apoptoz ile daha da azalmaktadır. Yeniden şekillenme (remodeling) ve maturasyon fazının sonucu, hücre ve kan damarı sayısı azalmış ve yüksek gerilme mukavemeti ile tamamen olgunlaşmış bir yara izidir (Velnar et al., 2009).

2.2. Periodontal Yara İyileşmesi

Periodontal yara iyileşmesi, normal yara iyileşmesine benzer şekilde hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme aşamalarını kapsamaktadır (Polimeni et al., 2006). Ancak bu süreç, normal yara iyileşmesinden farklı olarak mikrobiyal dental plak, avasküler mineralize diş yüzeyi, çeşitli özel hücre tipleri ve ataşman bağlantıları gibi birçok özgün faktörün bir arada bulunduğu karmaşık bir ortamda gerçekleşmektedir (Aukhil, 2000; McCulloch, 1993).

Periodontal yara iyileşme sürecinin sonunda hedeflenen durumlar; rejenerasyon, tamir, yeni ataşman veya reataşman oluşumudur. Rejenerasyon, yapısı ve işlevi bozulmuş dokunun tamamen yenilenmesini kapsayan biyolojik bir olaydır. Tamir ise, zarar görmüş dokunun biçim ve işlev yönünden eski dokunun yerini alacak şekilde yeni dokunun oluşmasını ve bu yapının devamlılığını sağlamayı ifade eder (Melcher, 1976; Polimeni et al., 2006). Yara alanındaki ekspozite kök yüzeyine tekrar kolonize olan hücre türü, rejenerasyon veya oluşan tamir dokusunun yapısının belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Melcher, 1976). Periodontal dokulardaki yara iyileşme sürecinde, kök yüzeyine komşu olan yara alanı; alveolar kemik hücreleri, periodontal ligament hücreleri, diş eti epitel hücreleri ve diş eti bağ dokusu mezenkimal hücreleri olmak üzere dört farklı hücre türü tarafından doldurulabilmektedir (Melcher, 1976). Bu süreçte ekspozite kök yüzeyinde; diş eti epitel hücreleri prolifer olursa uzun bir bağlantı epiteli, diş eti bağ dokusu hücreleri prolifer olursa bağ dokusu adezyonu oluşur ve buna bağlı olarak kök rezorpsiyonu meydana gelebilir. Eğer kemik hücreleri yara bölgesine göç edip ekspozite kök yüzeyinde çoğalır, kök rezorpsiyonu ve ankiloz oluşabilmektedir (Conte et al., 2005).

Klasik periodontal tedavi yöntemlerinin sonucunda, hücresel proliferasyonu takiben yara bölgesine ilk ulaşan epitel hücreleri ve fibroblastlar defekti doldurarak

periodontal rejenerasyonun oluşumunu engellemekte ve periodontal doku iyileşmesi tamir ile sınırlı kalmaktadır (Chen & Jin, 2010). Yara bölgesindeki kemik defektlerinde periodontal rejenerasyonu başlatmak için, periodontal ligament ve perivasküler hücrelerin ekspozite kök yüzeyi boyunca proliferasyonu sağlamak amacıyla mekanik bir bariyer kullanılmaktadır (Conte et al., 2005). Bariyer membranların kullanımı, epitel ve fibroblast göçünü önleyerek rejenerasyon için gerekli alanın korunmasını sağlar. Böylelikle uzun birleşim epiteli ataşmanın oluşumu engellenerek periodontal dokuların düzenli ve işlevsel şekilde yeniden oluşmasına olanak tanınır (Chen & Jin, 2010). Mevcut çalışmalar, periodontal dokuların proliferasyonunu ve göçünü destekleyen biyolojik etkenlerin tanımlanmasına ve bu etkenlerin yara mikroçevresini modifiye ederek periodonsiyumun sağlıklı iyileşmesini ve rejenerasyonunu desteklemek amacıyla kullanımına odaklanmaktadır (Polimeni et al., 2006).

2.3. Oral Mukozadaki Yara İyileşmesi Farklılıkları

Oral mukozadaki yara iyileşmesinin hücresel yönleri ile ilgili çok daha az bilgi bulunmaktadır ve mevcut bilgiler daha çok dermal yaraların iyileşmesi ile ilgili çalışmalardan elde edilmiştir (Polimeni et al., 2006; Wikesjö & Selvig, 1999). Oral mukozada meydana gelen yaralar, dermal yaralara oranla daha hızlı iyileşmekte ve daha az skar oluşumu ile karakterizedir (Szpadarska et al., 2003; Wong et al., 2009). Oral mukozada skar oluşumunun az olmasında birden fazla faktör etkili olmaktadır. Araştırmalar, oral yaraların dermal yaralara göre daha az immün hücre, kan damarı ve profibrotik hücre içerdiğini ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra, oral mukozanın reepitelizasyon oranının daha yüksek olduğu ve fibroblastların daha hızlı proliferasyon kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Glim et al., 2013). Bir diğer faktör ise, oral mukozadaki yaralarda tenascin-C proteinin uzun süreli birikiminin görülmesidir. Bu proteinin, izsiz yara iyileşmesinde ve dokunun yeniden şekillenmesinde görev aldığı

düşünülmektedir (Wong et al., 2009). Oral mukozadaki yara iyileşmesi, sürece olumsuz etkide bulunabileceği düşünülen milyonlarca mikroorganizmayı barındıran ağız sıvıları içinde gerçekleşmektedir (Politis et al., 2016). Bu süreçte, IL-1'in oral yaraların iyileşmesinde etkili olduğu ve oral kavitede bulunan kommensal bakterilere karşı savunma mekanizmasının düzenlenmesinde gerekli olduğu düşünülmektedir (Graves et al., 2001).

2.4. Yara İyileşmesini Etkileyen Bazı Mediyatörler

Büyüme faktörleri; hücre kemotaksisi, proliferasyonu, olgunlaşması ve farklılaşması gibi hücresel mekanizmaları düzenleyen ve düşük dozlarda dahi etkili olabilen protein yapısında moleküllerdir (Barrientos et al., 2008). Sitokinler ise hücresel süreçleri düzenleyici özellik taşıyan protein yapılardır. Çeşitli uyarılara yanıt olarak özel hücreler tarafından salgılanan sitokinler, hedef hücrelerin işlev ve davranışlarını etkileyebilmekte olup; bu etkiler sistemik veya lokal düzeyde gerçekleşebilmektedir. Sitokinler; hücre bölünmesi ve farklılaşması, hematopoez, bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, yara iyileşmesi, kemik oluşumu ve hücresel metabolizmanın şekillenmesi gibi çeşitli biyolojik işlevlerde görev almaktadır (Güneş, 1999).

Periodontal yara iyileşmesi karmaşık bir süreç olup, bu sürecin düzenlenmesinde sitokinler ve büyüme faktörleri kritik işlevler üstlenmektedir. İnflamasyon, yara iyileşme sürecinde önemli bir rol oynamaktadır ve kronik inflamasyon durumunda fibrozis oluşumu veya yara iyileşmesinde bozulmalar meydana gelmektedir. Bu bağlamda, inflamasyonun kontrolü ve modülasyonu, periodontal tedavi sonuçlarının iyileştirilmesi ve periodontal rejenerasyonun desteklenmesi açısından önemli bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Morand et al., 2017). TNF- α , IL-6, IL-1 β ve TGF- β periodontal yara iyileşmesinde önemli moleküller olup, çok çeşitli hücre tiplerinin (fibroblastlar, epitel hücreleri, osteoblastlar ve makrofajlar) göçünü, proliferasyonu ve farklılaşmasını

etkilemektedirler. Ayrıca, bu moleküller ekspresyon seviyelerine ve proinflamatuvar/anti-inflamatuvar dengenin düzensizliğine bağlı olarak, periodontal doku rejenerasyonunu olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Gulati et al., 2014). Yara iyileşme sürecinde görev alan başlıca büyüme faktörleri ve sitokinler Tablo 2.1’de verilmiştir (Öztopalan et al., 2017).

Tablo 2.1. Bazı önemli büyüme faktörü ve sitokinlerin kaynağı ve görevleri

	Kaynağı	Görevleri
PDGF	Makrofajlar, trombositler, endotel hücreleri, keratonosit, kondrositler, düz kas hücreleri	Makrofaj ve nötrofil kemotaksisi ve proliferasyonu, fibroblast proliferasyonu, anjiogenez stimülasyonu, remodellinge yardımcı olma
TGF-α	Makrofaj, epidermal hücreler	Nötrofillerin aktivasyonunu, fibroblastların mitogenezini ve anjiogenezin stimülasyonunu sağlar
TGF-β	Trombositler, makrofajlar, nötrofiller, lenfositler, birçok doku ve hücre	İnflamasyon, anjiogenez, reepitelizasyon ve bağ doku rejenerasyonu, kollajen sentezini uyarma
EGF	Trombosit, keratonosit, makrofaj, fibroblast	Epitel hücre ve fibroblast proliferasyonu, anjiogenez ve kolajenaz aktivitesini uyarmak, reepitelizasyonu arttırmak
FGF	Keratonosit, fibroblast, makrofaj, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, kondrositler	Anjiogenez uyarmak, endotel proliferasyonu ve motiliteyi arttırmak, neovaskülarizasyonu hızlandırmak
VEGF	Endotelial hücreler, makrofaj, keratonosit, fibroblast, düz kas hücreleri	Anjiogenez, sitokin sentez ve salınımı, düz kas hücre hiperplazisi, pıhtılaşma mekanizmasında rol oynar
IGF-I	Fibroblastlar, makrofajlar, hepatositler	PDGF ve FGF ile birlikte fibroblast proliferasyonunu uyarma, düz kas hücreleri, lenfositler ve kondrositler üzerinde uyarıcı etki yapma
TNF-α	Makrofajlar, T ve B hücreleri, büyük granüllü lenfositler	Fibroblast proliferasyonu, tümörler için sitotoksik
IL-1, IL-2	Makrofaj, nötrofil, bakteriyel ürünler, immun kompleksler, gama interferon, prostoglandin	Hemostaz, kollajen sentezi, proliferasyonda görevli, kemotaktik özelliğiyle epitel hücreleri ve tüm lökositleri etkiler
IL-3	T lenfositler, makrofajlar	Hematopoezi uyarır
IL-4	T helper hücreleri	B hücreleri ve IgE sentezini uyarır
IL-5	Th ₂ lenfositler	B lenfosit ve eozinofil stimülasyonu
IL-6	Th ₂ lenfositler	İnflamasyon
IL-7	Kemik iliği	Pre-B ve pre-T hücrelerini uyarır
IL-8	Fibroblastlar, endotel hücreler, monositler	T hücreleri ve nötrofil için kemotaktik faktördür
IL-10	Th ₂ hücreleri	Th ₁ hücrelerinin interferon- γ ve diğer sitokinlerin sentezini inhibe eder
IL-12	B hücreleri ve makrofajlar	İnferferon- γ sentezini uyarır ve IL-2 ile sinerjistir

2.4.1. İnterlökin-1 Beta (IL-1 β)

İnterlökin-1(IL-1) sitokin ailesi; IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-33, IL-36Ra, IL-36 α , β , γ , IL-37 ve IL-38 olmak üzere toplam 11 sitokin içermektedir (Dinareello, 2018). Bu sitokin ailesinin, inflamasyon ve bağışıklık süreçlerinde önemli rolleri bulunmaktadır (Mantovani et al., 2019). IL-1 β , çok fonksiyonlu bir sitokin olup akut ve kronik inflamasyon süreçlerinde kritik görevler üstlenmektedir. Genellikle monosit/makrofajlar ve polimorfonükleer fagositler tarafından sentezlense de; epitel hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, osteositler ve B lenfositler tarafından da sentezlenebilmektedir (Delaleu & Bickel, 2004). Biyolojik olarak aktif olmayan IL-1 β 'nın ilk formu olan pro-IL-1 β , doku hasarı ile ilişkili patojenlere veya moleküllere yanıt olarak sentezlenip salgılanmaktadır. İnflammasom olarak adlandırılan çoklu protein kompleksinde yer alan kaspaz-1, pro-IL-1 β 'yı aktif formu olan IL-1 β 'ya dönüştürmektedir (Bent et al., 2018; Lopez-Castejon & Brough, 2011; Mantovani et al., 2019). İnflamasyonla bağlantılı pek çok hastalığın başlıca etyolojik faktörlerinden biri olan IL-1 β , periodontal dokularda immün yanıtın başlamasında ve kontrol edilmesinde kritik bir rol üstlenmektedir (Liu et al., 2010). İnflamasyon bölgesinde bulunan IL-1 β , trombosit aktive edici faktör, Prostaglandin E2 (PGE2) ve NO sentezinde görev alan enzimleri uyarmaktadır. Bu artan mediyatörler, damar yapısında değişikliklere yol açarak enfeksiyon ve doku hasarının bulunduğu alanda kan akışını artırmaktadır (Taylor, 2010). IL-1 β , endotelyal hücrelerde hücreler arası adezyon molekülü-1 ve E-selektin gibi adezyon molekülünün ekspresyonunu artırmanın yanı sıra, IL-8 gibi kemokinlerin salınımını uyarak inflamatuvar hücrelerin etkilenen dokulara infiltrasyonunu sağlamaktadır (Taylor, 2010). IL-1 β , diş eti fibroblastları ve periodontal ligament hücrelerinden MMP salınımını artırarak bağ dokusunun yıkımına ve alveolar kemiğin rezorpsiyonuna yol açmaktadır (Cox et al., 2006). IL-1 β , osteoblastlarda nükleer faktör kappa B reseptör aktivatörü ligandı ekspresyonunu artırarak

osteoklastogenezi ve kemik rezorpsiyonunu indirekt olarak uyarmaktadır (Lorenzo et al., 2008). Ayrıca IL-1 β diş eti fibroblastlarından, periodontal ligament hücrelerinden ve osteoblastlardan PGE2 üretimini güçlü şekilde uyarak da kemik rezorpsiyonunu stimüle etmektedir (Lerner, 2006).

IL-1 β , yara iyileşmesinin düzenlenmesiyle ilişkili önemli proinflamatuvar sitokinlerden biridir (Oncul et al., 2007). İnflamatuvar bir hastalık olan Diabetes Mellitus (DM)'un yol açtığı hiperglisemi, makrofajların fazla miktarda IL-1 β salgılamasını tetikler. IL-1 β 'nın salgılanması, normal yara iyileşmesinde görev alan iyileştirici makrofaj fenotipinin oluşumunu engeller. Bunun sonucunda, kronik yara iyileşmesinde görülen proinflamatuvar makrofaj fenotipi korunur. Bu durum, DM'de proinflamatuvar yara ortamını destekler, inflamasyonun sürmesine neden olur ve yara iyileşme sürecini olumsuz etkileyerek geciktirir (Mirza et al., 2013; Mirza et al., 2014). Yapılan bir çalışmada, diyabetik ratlarda IL-1 β düzeylerinin düşürülmesinin yara iyileşme sürecini hızlandırabileceği gösterilmiştir (Sun et al., 2021).

2.4.2. Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta 1 (TGF- β 1)

TGF- β , yara iyileşme sürecinin inflamatuvar fazı, proliferatif fazı ve yeniden şekillenme fazında önemli görevleri olan bir mediyatördür (Pakyari et al., 2013). Bu süreçte TGF- β ; yara bölgesine hücre göçü ve çoğalması, hücre dışı matriks sentezi, anjiyogenez ve yeniden şekillenmenin de dahil olduğu sıralı olayların çoğunu düzenlemektedir (Amento & Beck, 2007). TGF- β , trombositlerin alfa granüllerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve yaralanma bölgesinde degranülasyon sırasında salınır. Makrofajlar üzerinde kemotaktik etkisi olan TGF- β , kendi salınımı makrofajlar içerisinde otokrin yolla düzenleyebilmektedir. Ayrıca TGF- β , monositlerden FGF, PDGF, TNF- α ve IL-1 gibi çeşitli büyüme faktörlerinin salgılanmasını da uyarır (Lawrence & Diegelmann, 1994). TGF- β , fibroblastlarda fibronektin ve proteoglikan

sentezini, keratinositlerde ise fibronektin sentezini uyarmaktadır. TGF- β , kollajen sentezinin en güçlü uyarıcısı olarak bilinmekte ve diğer faktörlerin kollagenaz aktivitesi üzerindeki uyarıcı etkisini azaltmaktadır. Ek olarak, epitel hücre proliferasyonunu da uyarır. Matriksin organizasyonuna katkıda bulunarak yara kontraksiyonunda görev alır ve bu sayede skar dokusunun yeniden şekillenmesinde rol oynar (Lawrence & Diegelmann, 1994; Sprugel et al., 1987).

TGF- β 'nın üç farklı izoformu bulunmakla birlikte, en yaygın ve biyolojik olarak aktif formu TGF- β 1'dir (Pakyari et al., 2013). TGF- β 1'in yara iyileşmesi sürecinde hipertrofik skar oluşumu ve fibrozis üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 izoformlarının yara iyileşmesi süreci üzerinde, ekspresyon profillerine bağlı olarak farklı etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Penn et al., 2012). Yapılan çalışmalarda, TGF- β 1'in aksine, TGF- β 3'ün yara iyileşmesi sırasında ve farklı dokularda (deri, dudak, ağız ve laringeal mukoza) anti-fibrotik bir etki gösterdiği ortaya konmuştur. Yara iyileşmesinin erken dönemlerinde TGF- β 3 seviyesinin TGF- β 1'den daha yüksek olduğu, ancak epitelizasyon sürecinin başlamasıyla birlikte TGF- β 1 seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir. TGF- β 2'nin ise TGF- β 1'e benzer aktivite sergilediği ve bu izoformun konsantrasyonundaki azalmanın skar oluşumunu azaltabileceği belirtilmiştir (Lichtman et al., 2016).

2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyebilecek çok sayıda faktör bulunmaktadır. Genel olarak, bu faktörler lokal ve sistemik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Lokal faktörler, doğrudan yaranın özelliklerini etkileyen etmenlerken; sistemik faktörler, bireyin genel sağlık durumuyla ilişkili olup iyileşme kapasitesini belirlemektedir. Bu faktörlerin birçoğu birbiriyle ilişkilidir ve sistemik faktörler, yara iyileşmesini lokal etkiler aracılığıyla etkilemektedir (Guo & DiPietro, 2010; Scardina et

al., 2013). Yara iyileşmesini etkileyen faktörler Tablo 2.2’de verilmiştir (Guo & DiPietro, 2010; Scardina et al., 2013).

Tablo 2.2. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

Genel Faktörler	Lokal Faktörler
• Yaş ve cinsiyet • Cinsiyet hormonları • Stres • İskemi • Diabet, fibrozis, keloid gibi hastalıklar • Obezite • Kemoterapi ve kortikosteroidler gibi kullanılan ilaçlar • Alkolizm ve sigara kullanımı • AIDS, kanser ve radyoterapi gibi bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlar • Beslenme	• Oksijenlenme • Enfeksiyon • Yabancı cisim varlığı • Kanlanma

Yara iyileşme sürecine çeşitli hücre tipleri katılmakta olup, belirli bir hücre tipinin hücrel aktiviteyi sürecin farklı aşamalarında değişebilmektedir. İyileşme sürecinin karmaşıklığı ve koordinasyonu, herhangi bir terapötik tedavinin doğru aşamaya uygun bir şekilde etki etmesini gerektirmektedir ki bu da tedavi yaklaşımları için büyük engeller oluşturmaktadır (Guo & DiPietro, 2010). Yaralanma sonrası ortaya çıkabilecek komplikasyonları kontrol altına almak ve hastanın yaşam konforunu artırmak amacıyla antiseptikler, antibakteriyel ajanlar, hemostatik maddeler ve biyoaktif materyaller gibi çeşitli yardımcı tedavi yöntemleri kullanılmıştır (Sezgin et al., 2019). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise yara bakımında alternatif tedavi yaklaşımları geliştirmek amacıyla ZnO nanopartiküller, bitkisel kaynaklı kurkumin ve kafeik asit gibi bileşiklerin yara iyileşmesi üzerindeki terapötik etkileri incelenmiştir (Chen et al., 2022; Salehi et al., 2024; Sukumaran et al., 2020).

2.6. Kafeik Asit

Kafeik asit (3,4-dihidroksisinnamik asit), çay, meyve ve kahve gibi günlük beslenmede önemli yer tutan bileşenlerde doğal olarak bulunan bir maddedir (Clifford,

2000; Gülçin, 2006). Kafeik asit, vücuda alındığında yaklaşık %95'i ince bağırsakta emilmektedir (Olthof et al., 2001).

Kafeik asidin hipokolesterolemik, anti-diyabetik ve anti-Alzheimer etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, hipertansiyonla ilişkili çeşitli enzimlerin aktivitesini düşürerek antihipertansif ve kardiyoprotektif özellikler sergilediği bildirilmektedir (Agunloye et al., 2019). Kafeik asit; güçlü antioksidan özelliğinin yanı sıra doku hasarını önleyici (doku koruyucu), immünomodülatör, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal etkilere de sahiptir (Sardi et al., 2016). Farmakolojik araştırmalar, kafeik asidin beyin iskemisine ve beyindeki oksidatif hasara karşı koruyucu etkiler sunduğunu, biyokimyasal değişimlerin yanı sıra davranışsal bozuklukları da engellediğini ortaya koymuştur (Zhou et al., 2006). Kafeik asidin güçlü antioksidan aktivitesi, kollajen üretimini artırarak erken yaşlanmayı önlemesine ek olarak antimikrobiyal aktivite de göstermektedir. Bu özellikleri, dermal hastalıkların tedavisinde umut verici bir ajan haline getirmektedir (Magnani et al., 2014). Ayrıca, topikal uygulamalarda kullanılan formülasyonlarda da kafeik asit, antioksidan etkisi ile ön plana çıkmaktadır (Magnani et al., 2014; Saija et al., 2000).

2.7. Kurkumin

Kurkumin, halk arasında zerdeçal olarak bilinen *Curcuma longa* bitkisinin rizomlarından elde edilen, sarı renkli ve güçlü antioksidan özelliklere sahip polifenol bir bileşiktir (Akbar et al., 2018; Sarıyer & Aksu, 2020). Kurkumin, geleneksel Hint ve Çin tıbbında diyabet, karaciğer rahatsızlıkları ve romatoid artrit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde; ayrıca lokal inflamasyonun azaltılması ve yara iyileşmesinin desteklenmesi amacıyla terapötik bir ajan olarak kullanılmaktadır (Fereydouni et al., 2019; Merrell et al., 2009). Günümüzde kurkumin, baharat ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmasının

yanı sıra, kozmetik, tekstil ve kâğıt endüstrilerinde renklendirici bir ajan olarak geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Sarıyer & Aksu, 2020).

Modern tıpta gerçekleştirilen çok sayıda çalışma, kurkuminin antikanserojenik, analjezik, antidiyabetik, anti-inflamatuar, antioksidan ve yara iyileştirici etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (Fereydouni et al., 2019; Merrell et al., 2009). Kurkumin bu biyolojik etkilerini; inflammatuar sitokinler, çeşitli transkripsiyon faktörleri, protein kinazlar, büyüme faktörleri ve diğer enzimler üzerindeki düzenleyici etkiler göstererek gerçekleştirmektedir (Zhou et al., 2011).

Kurkumin, anti-inflamatuar etkilerini çeşitli mekanizmalar aracılığıyla ortaya koymaktadır. Bu mekanizmaların en önemlilerinden biri, proinflammatuar bileşenlerin salınımını modüle eden Nükleer faktör kappa B (NF- κ B) aktivasyonunun inhibisyonudur (Singh & Aggarwal, 1995; Weber et al., 2006). Bunun yanı sıra, bu sürece proinflammatuar enzimler olan siklooksijenaz-2, 5- lipooksijenaz ve indüklenbilir nitrik oksit sentazın oluşumunun önlenmesi ve açığa çıkan enzimlere kurkuminin bağlanarak aktivitelerinin baskılanmasının da katkı sağladığı belirlenmiştir (Hong et al., 2004; Prasad et al., 2004). Elde edilen bulgular, kurkuminin anti-inflamatuar etkilerinin büyük ölçüde eikosanoid yolunun inhibisyonuyla gerçekleştiğini ortaya koymuştur (Rao, 2007). Kurkuminin anti-inflamatuar etkisini ortaya çıkarmada etkili olan bir diğer unsur ise transkripsiyon faktörlerinin aktivatör proteini-3 aktivasyonunu inhibe etmesidir. Ayrıca, kurkuminin inflamasyon sürecinde rol oynayan sitokinler (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α), monosit kemoatraktan proteini , migrasyon inhibitör proteini, protein kinazlar ve hücre yüzeyindeki adhezyon moleküllerinin üretimini baskılayarak anti-inflamatuar özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Jurenka, 2009).

Kurkumin, düşük dozlarda antikor yanıtlarını da artırabilir. Bu durum, kurkuminin immünomodülatör etkilerinin, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinin büyük önem

taşıdığı artrit, alerji, astım, ateroskleroz, kalp rahatsızlıkları, Alzheimer, diyabet ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde umut verici olabileceğini araştırmacılara düşündürmektedir (Jagetia & Aggarwal, 2007). Ayrıca son yıllarda, birçok çalışma kurkuminin inflamatuvar bir hastalık olan periodontitis tedavisinde potansiyel bir rolü olduğunu göstermiştir (Li et al., 2021). Kurkumin oral submüköz fibrozis, lökoplaki ve oral liken planus gibi çeşitli prekanseröz durumların tedavisinde de etkili bir bileşendir (Farid, 2016).

Kurkumin, süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve nitrik oksit gibi çeşitli reaktif oksijen türlerine karşı güçlü bir antioksidan olup, DNA'yı oksidatif hasara karşı korur (Sharma et al., 2005). Kurkumin, lipid peroksidasyonunu azaltmasının yanı sıra hücre içi glutatyon salınımını artırma ve demire bağlanabilme kapasitesi sayesinde antioksidan etkiler gösterebilmektedir (Aggarwal et al., 2007).

Kurkumin, anti-inflamatuvar ve antioksidan özellikleri sayesinde, yara iyileştirme potansiyeline sahip doğal bir bileşiktir (Hussain et al., 2017; Merrell et al., 2009). Kurkuminin, granülasyon dokusunun oluşumunu, doku yeniden şekillenmesini ve kollajen birikimini teşvik ederek yara iyileşmesini desteklediği ortaya konmuştur. Ayrıca, epitel rejenerasyonunu, fibroblast çoğalmasını ve vasküler yoğunluğu artırarak iyileşme sürecini hızlandırıcı bir etki göstermektedir (Fereydouni et al., 2019).

Ayrıca, kurkuminin özellikle yüksek dozlarda alındığında mide rahatsızlığı, ishal, baş ağrısı, döküntü yan etkilerinin olabileceği bildirilmiştir (Hewlings & Kalman, 2017).

Kurkuminin en önemli dezavantajı; suda çözünürlüğünün ve doku dağılımının düşük olması, kısa yarılanma ömrüne yol açan hızlı metabolizasyonu ve hızlı sistemik eliminasyon sonucu düşük biyoyararlanımıdır (Bansal et al., 2011). Bu sorunları yönetmek ve kurkuminin hem çözünürlüğünü hem de biyoyararlanımını artırmak amacıyla nanoformülasyonlar geliştirilmiştir (Jiang et al., 2020; Rafiee et al., 2019). Kurkuminin lipozom, nanopartikül ve nano-emülsiyon gibi nanoformülasyonları yara

iyileşmesinde kurkumin yüklü nanotaşıyıcılar olarak kullanılmaktadır (Kumari et al., 2022).

2.8. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji konsepti ilk olarak 1959 yılında Richard Feynman tarafından tanıtılmıştır. Modern nanoteknolojinin öncüsü olarak kabul edilen Feynman, 1959 yılında California Institute of Technology’de (Caltech) gerçekleştirilen Amerikan Fizikçiler Topluluğu toplantısında “There’s Plenty of Room at the Bottom” başlıklı bir konferans vermiş ve bu konuşmasında maddelerin atomik düzeyde manipülasyonunu konu edinmiştir. Bu kavram, birçok bilim insanına ilham vererek çeşitli alanlarda önemli ilerlemelere zemin hazırlamıştır (Hulla et al., 2015). “Nanoteknoloji” terimi ise ilk kez 1974 yılında Japon bilim insanı Norio Taniguchi tarafından Tokyo Üniversitesi’nde, materyallerin nanometre düzeyinde hassas bir şekilde tasarlanabilmesi yeteneğini ifade etmek amacıyla kullanılmıştır (Sahoo et al., 2017).

Nanoteknoloji, nano boyuttaki yapıların ve bileşenlerinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini inceleyen bir alandır. Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Nanoteknoloji Girişimi nanoteknolojiyi, en az bir boyutu bir ila 100 nanometre arasında olan maddenin manipülasyonu olarak tanımlar. Nanometre (nm), bir metrenin milyarda birine (10^{-9} metre) eşit olan bir uzunluk ölçü birimidir ve genellikle atomik ölçekteki boyutları ifade etmek için kullanılmaktadır (Ogle & Byles, 2015).

Nanoteknoloji, günümüzün en umut verici teknolojilerinden biridir. Nanoteknoloji, nanometre ölçeğindeki maddeleri gözlemleyerek, ölçerek, manipüle ederek, bir araya getirerek, kontrol ederek ve üreterek faydalı uygulamalara dönüştürme yeteneğidir (Bayda et al., 2019). Nanometre ölçeğindeki malzemeler; nanokristaller, nanoçubuklar, nanoteller, nanotüpler ve nanopartiküller (NP) gibi farklı kategorilere ayrılmaktadır (Esmeray & Özata, 2019). Nanomateryalleri diğer materyallerden ayıran

en temel iki özellik; kuantum etkisinin oluşması ve yüzey alanının artmasıdır. Materyalin nanometrik boyutlarda kuantum etkisi baskın hale gelerek materyalin manyetik, optik ve elektriksel özelliklerini değiştirebilmektedir (Drexler, 1992). Nanomalzemelerin üstün fiziksel özelliklerinden yararlanılarak çeşitli alanlarda (elektronik, savunma, tıp vb.) yeni ürünler geliştirilebilmektedir (Celep & Koç, 2007). Nanoteknoloji; savunma sanayi, uzay ve uçak teknolojileri, bilişim ve haberleşme sistemleri, enerji sistemleri, kimya, çevre, moleküler biyoloji, gen mühendisliği, medikal alan ve diş hekimliği olmak üzere birçok uygulama alanına sahiptir (Kürkçüoğlu et al., 2014).

2.8.1. Diş Hekimliğinde Nanoteknoloji

Nano diş hekimliği, nanoyapılı malzemeler kullanılarak ağız ve diş hastalıklarının teşhisi, tedavisi ve önlenmesi; ağrının giderilmesi ve ağız sağlığının iyileştirilmesi üzerine odaklanan bir bilim ve teknoloji dalı olarak tanımlanmaktadır (Sharma et al., 2010). Nanopartiküllerin diş hekimliğinde kullanımı aynı zamanda ‘nanodentistry’ olarak adlandırılmaktadır. Nanopartiküller remineralizasyon, antimikrobiyal aktivite, lokal anestezi, anti-inflamatuar etki, osteokonduktivite ve kök hücre farklılaşması gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır (Mok et al., 2020).

Nanomalzemeler, materyallerin elektriksel, kimyasal, mekanik ve optik özelliklerini geliştirebilir (Mitra et al., 2003). Örneğin, kompozit dolgu materyalleri ve adeziv sistemlerin içerisine nanopartiküllerin dahil edilmesi, restoratif materyalin gerilme ve basınç dayanımı gibi mekanik özelliklerini iyileştirebilmektedir. Bu durum, mikrosızıntının azalması ve dentin ile adeziv malzeme arasındaki bağ kuvvetinin artması yoluyla sekonder çürük oluşma riskini önemli ölçüde azaltmaktadır (Bapat et al., 2019).

Protetik diş tedavisi kapsamında, protezlerin yapısında bulunan nanopartiküller, protez stomatiti olasılığını azaltmakta ve aynı zamanda protezin kırılmalara karşı dayanıklılığını artırmaktadır (Moraes et al., 2021). Geleneksel polivinilsiloksan ölçü

materyalinin nanodoldurucularla birleştirilmesi, materyalin akıcılığını ve hidrofilik özelliklerini artırarak üstün detay hassasiyeti sunan bir ölçü materyalinin elde edilmesine olanak tanımıştır (Bhardwaj et al., 2014).

Titanyum implantların yüzeylerine uygulanan nanopartikül kaplamalar, antibakteriyel özellikleri sayesinde peri-implantitis enfeksiyonlarının oluşumunu engelleyebilmektedir (Bapat et al., 2019). Nanopartiküller, biyouyumlu olmaları nedeniyle osteojenik ajanlar olarak da işlev görebilmektedir. NP'ler, periodontal ligament hücrelerini uyarabilir ve periodonsiyumun rejenerasyonunda önemli bir rol oynayabilir (Bapat et al., 2019).

Periodontal tedavide ilaçların lokal uygulanması, tedavi başarısını artıran etkili bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Nanopartiküller, ilaç moleküllerini kapsüllemek için kullanılmaktadır ve periodontal hastalıktan etkilenen bölgelere lokal ilaç uygulamasını mümkün kılmaktadır. Bu yöntem kontrollü ilaç salınımı sağlayarak , ilacın hedef bölgeye seçici bir şekilde ulaştırılması ve doz kaynaklı yan etkilerin azaltılması gibi avantajlar sunar (Verma et al., 2018). Ayrıca, nanopartiküller kontrollü ilaç dağıtım sistemlerine eklendiğinde, tümör hücrelerinin apoptozuna neden olarak bu hücrelerin daha fazla yayılmasını önleyebilmektedir (Bapat et al., 2019).

2.9. Nanopartiküller

Nanopartiküller, 1 ila 100 nm boyut aralığındaki parçacıklar olarak tanımlanmaktadır (Schmalz et al., 2017). Nanopartiküller boyutlarından dolayı hacimsel materyallerden farklı fizikokimyasal özellikler göstermektedir. Bu farklılığın en temel iki sebebi; nano boyutta yüzey alanının artması ve kuantum etkisinin oluşmasıdır (Drexler, 1992). Nanopartiküllerin olağanüstü fizikokimyasal özellikleri; küçük boyutları (<100 nm), yüzey yapısı ve yüzey reaktivitesi, yüzeye bağlı gruplar ve yüzey kaplamaları, kimyasal bileşim saflığı, kristallliği ve elektronik özellikleri, çözünürlüğü, yüzey

morfolojisi, adsorbe edilen kimyasalların etkisi, şekil ve agregasyon gibi faktörlere bağlıdır (Hulkoti & Taranath, 2014). Nanopartiküller, içinde bulundukları ortam ve üretim yöntemlerine göre farklı boyut aralıklarına ve morfolojik özelliklere sahip olabilmektedir. Bu farklılıklar, nanopartiküllerin kullanım alanlarının çeşitlendirilmesi ve şekillendirilmesi açısından önem taşımaktadır (Ramsden, 2018). Nanopartiküller; sensörler, kataliz, elektronik, tekstil, uzay endüstrisi, kozmetik, gıda, eczacılık ve tıbbi uygulamalar gibi geniş bir yelpazede kullanım alanına sahiptir (Ahmed et al., 2017). Nanopartiküller, sahip oldukları karakteristik özellikler sayesinde sağlık alanında; kimyasal sensörler, kozmetik, antimikrobiyal aktivite, tıbbi görüntüleme, tümör tespiti, ilaç salınımı ve yara iyileşmesi gibi çeşitli uygulamalarda değerlendirilmektedir (Koul et al., 2021; Singh et al., 2016).

Nanopartiküller, şekil, boyut, kimyasal ve fiziksel özellikleri ile bileşenlerine bağlı olarak farklı türlere ayrılmakta ve farklı kategoriler altında sınıflandırılmaktadır. En yaygın kullanılan nanopartiküller arasında metal ve metal oksit nanopartikülleri, karbon bazlı nanopartiküller, yarı iletken nanoparçacıklar, polimerik nanoparçacıklar ve lipid tabanlı nanopartiküller bulunmaktadır (Kolahalani et al., 2019; Naseem & Durrani, 2021).

Metal oksit nanopartikülleri; fizik, kimya, tıp ve malzeme bilimi gibi birçok alanda önemli bir yere sahiptir. Elementler, farklı yapısal geometrilere ve yalıtkan, yarı iletken veya metalik özellikler gösterebilen elektronik bir yapıya sahip çeşitli oksit bileşikleri oluşturabilmektedir (Kumar et al., 2021). Nanoboyutlu inorganik metal oksitler, yüksek yüzey alanı/hacim oranı sayesinde düşük konsantrasyonlarda önemli biyolojik aktivitelere sahiptir. Benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahip olmalarının yanı sıra hem yüksek sıcaklık hem de basınç altında oldukça kararlı bir yapı sergilerler. Ayrıca, sağlıklı hücre ve dokular üzerinde toksik etki göstermedikleri kabul edilen nano boyuttaki inorganik metal oksitler, mükemmel terapötik ve teranostik potansiyelleri sayesinde

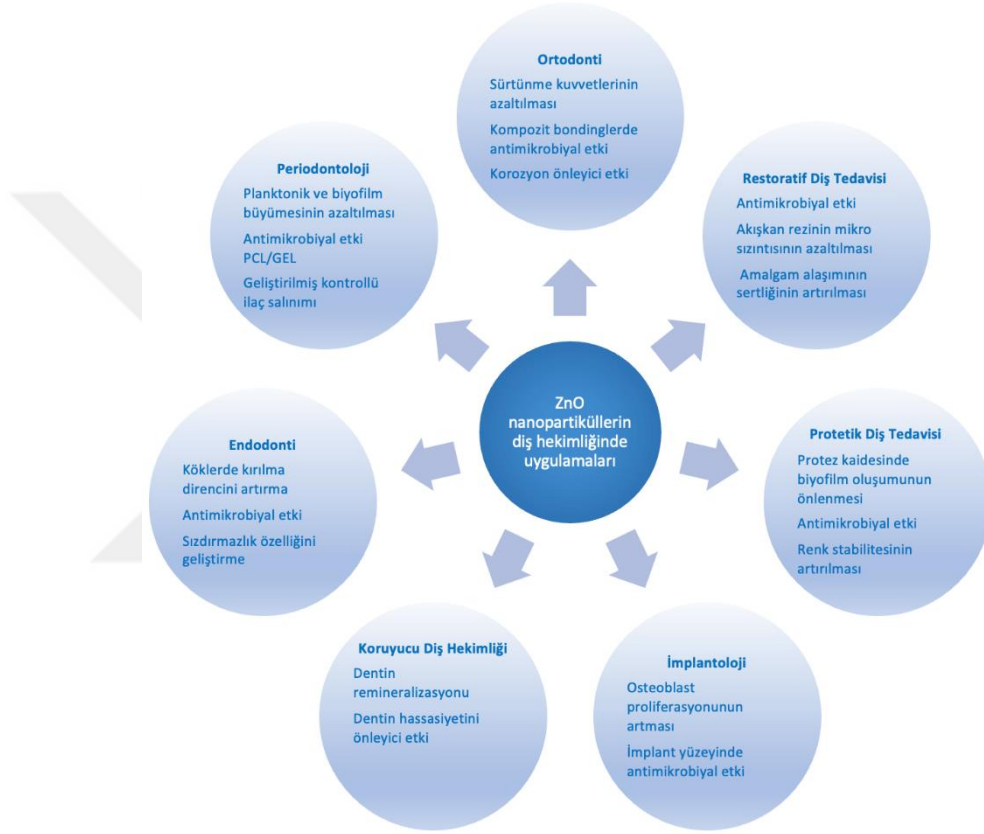
hastalıkların tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır (Manuja et al., 2021; Nikolic et al., 2021). Metal ve metal oksit nanopartiküllerin (gümüş, altın, çinko vb.) antibakteriyel ve anti-inflamatuar etkileri dikkat çekici olup yara bakımında reepitelizasyonu hızlandırmak gibi avantajlar sunmakta ve bu nedenle tercih edilmektedir (Blanco-Fernandez et al., 2021). Ayrıca metal esaslı nanopartiküller; yara bakımında kullanım kolaylığı, nemli yara yüzeyinin sürekliliğini sağlama ve daha az sıklıkla pansuman değişimi gibi avantajlar da sunmaktadır (Mihai et al., 2019). Metal oksit bazlı nanomalzemeler arasında; manganez oksit, demir oksit, titanyum oksit, seryum oksit, magnezyum oksit, alüminyum oksit, zirkonyum oksit ve çinko oksit yer almaktadır (Naseem & Durrani, 2021).

2.10. Çinko Oksit Nanopartikül (ZnO NP)

ZnO nanopartiküller, elektronik, optik ve biyomedikal alanlardaki geniş kullanım yelpazesi sebebiyle son yıllarda dikkat çekici bir ilgi görmektedir (Gunalan et al., 2012; Jin & Jin, 2019). Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA-Food and Drug Administration), ZnO nanopartiküllerini genellikle güvenli bir metal oksit olarak sınıflandırmaktadır (Dutta & Sugumaran, 2021). ZnO NP'ler, geniş bant aralığı (3.37 eV) sayesinde mükemmel yarı iletken özellik göstermektedir. Ayrıca, yüksek bağlanma enerjisi (60 meV), yüksek katalitik aktivite, optik, ultraviyole (UV) filtreleme, anti-inflamatuar ve yara iyileştirici gibi önemli özelliklere sahiptir. UV filtreleme özelliği sayesinde, güneş koruyucu kremler gibi kozmetik ürünlerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Agarwal et al., 2017). Metal oksit nanoparçacıkları içerisinde ZnO nanopartiküller, benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleriyle öne çıkmaktadır. ZnO NP'ler çeşitli biyolojik uygulamalarda antimikrobiyal, antioksidan, antifungal, anti-inflamatuar ve antikanser aktiviteler göstermektedir (Mohana & Sumathi, 2020). Ayrıca, ZnO NP'lerin antidiyabetik, yara iyileştirici, biyogörüntüleme, düşük toksisite ile ilaç taşıma ve UV ışınlarını engelleme gibi üstün özelliklere sahip olması, bu nanoparçacıkları

biyomedikal alanda daha ekonomik ve biyouyumlu bir materyal haline getirmektedir (Dutta & Sugumaran, 2021).

ZnO nanopartiküller; restoratif diş tedavisi, endodonti, protetik diş tedavisi, ortodonti, koruyucu diş hekimliği, implantoloji ve periodontoloji gibi birçok diş hekimliği dalında geniş kullanım alanına sahiptir (Şekil 2.1) (Pushpalatha et al., 2022).



Şekil 2.1. ZnO nanopartiküllerin diş hekimliğinde uygulamaları

İmplant yüzeylerinin ZnO NP'lerle kaplanması sonucunda, osteoblast hücrelerinde proliferasyon ve *Staphylococcus aureus*'a (*S. aureus*) karşı antimikrobiyal etkinin gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu özellikler, implant etrafındaki kemik gelişiminin teşvik edilmesi ve enfeksiyonun önlenmesi açısından katkı sağlamaktadır (Memarzadeh et al., 2015). Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu uygulamalarında, elektroeğrilmiş polikaprolakton (PCL) ve jelatin (GEL) kompozit membranlara ZnO NP'lerinin yüklenmesi, *S. aureus*'un planktonik ve biyofilm formlarında anlamlı düzeyde azalma

sağlamıştır. Bu lokal antibakteriyel özellikler, tedavilerin klinik prognozunda iyileşmeye yol açmıştır (Prado-Prone et al., 2020). Benzer şekilde, ZnO NP'ler, PCL ve PCL/GEL'den yapılmış elektroğrılmış membranlara dahil edildiğinde *Porphyromonas gingivalis* ve *Fusobacterium nucleatum* türlerine karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Buna bağlı olarak, daha başarılı ve öngörülebilir bir periodontal rejenerasyon sağlanmıştır (Münchow et al., 2015).

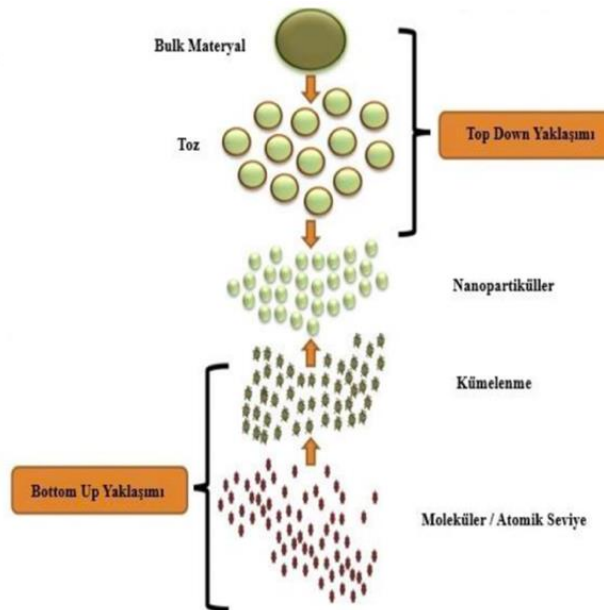
2.10.1. Çinko Oksit Nanopartiküllerin Yara İyileştirme Aktivitesi

Temel bir mikro besin elementi olan çinko, yara onarımında önemli rollere sahiptir. Çinko; fibrin pıhtı oluşumu, inflamatuvar yanıtın çözülmesi, hücre çoğalması, reepitelizasyon , granülasyon ve anjiyogenezisin indüklenmesi ile hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesi süreçlerine katkı sağlamaktadır (Lin et al., 2017; Nethi et al., 2019). ZnO nanopartiküller, yaralara uzun süreli çinko kaynağı sağlayarak, hücreye etkili bir şekilde nüfuz etme, bağışıklık sistemini modüle etme ve dezenfeksiyonu destekleme potansiyeline sahip, dikkat çekici yeni terapötik ajanlar olarak değerlendirilmektedir. ZnO NP'lerin arttırılmış antibakteriyel etkileri ve reepitelizasyona katkıları çeşitli yara iyileşme çalışmalarında rapor edilmiştir (Ågren et al., 1991; Rajendran et al., 2018). Gao ve arkadaşlarının fareler üzerinde gerçekleştirdikleri bir cilt yara modeli çalışmasında, ZnO nanoparçacıklarının başarılı yara kapanması, estetik yara iyileşmesi ve antimikrobiyal etki sağladığı bildirilmiştir (Gao et al., 2017). *S. aureus* ve *Escherichia coli* (*E. Coli*) ile enfekte olmuş yaraların tedavisinde, aljinat/nano-ZnO içeren kompozit bandajların iyileşmeyi destekleyici etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Mohandas et al., 2015). Balaure ve arkadaşları, yanıkların tedavisinde daha etkili bir yöntem geliştirmek ve sepsis vakalarının oranını azaltmak amacıyla, ZnO nanoparçacıkları, kollajen ve %1 oranında portakal esansiyel yağı içeren biyolojik olarak parçalanabilir bir matrisle yara örtüleri tasarlamıştır. Bu örtülerin, yaranın kapanma sürecini hızlandırdığı, hem in vitro

hem de *in vivo* ortamda bakteri çoğalmasını engellediği ve aynı zamanda mükemmel biyoyumluluk gösterdiği rapor edilmiştir (Balaure et al., 2019).

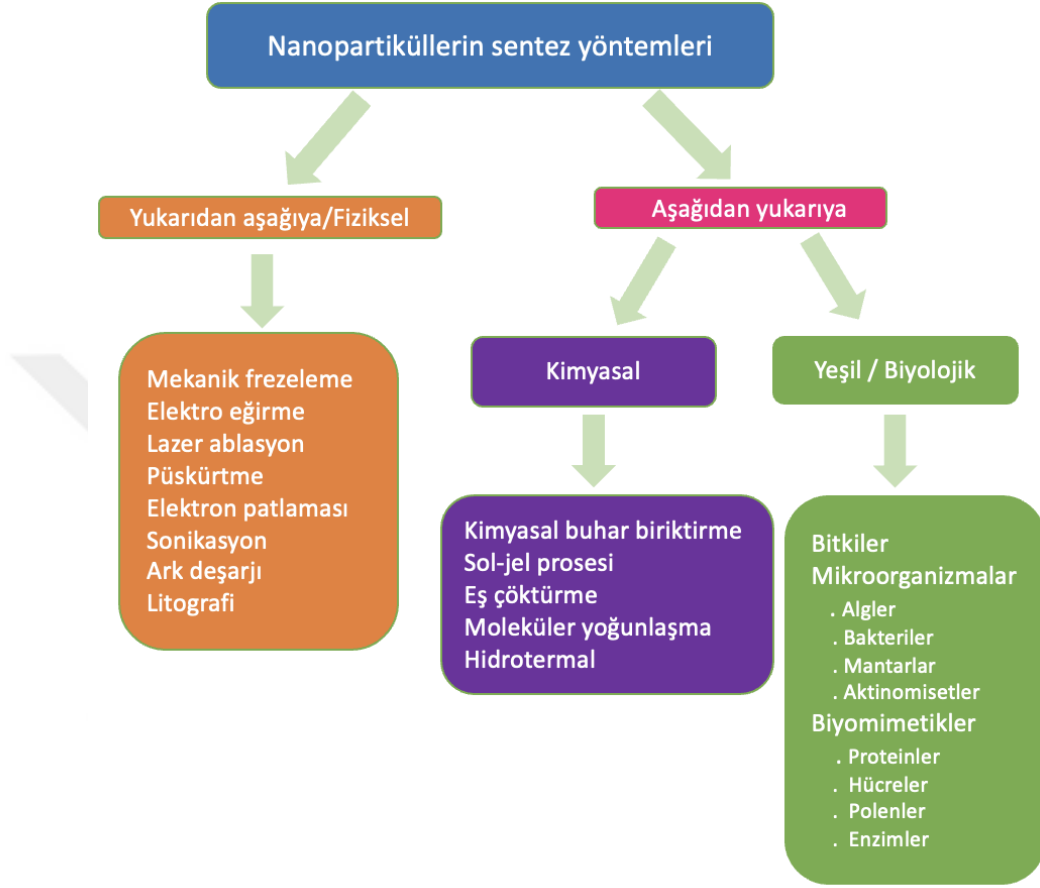
2.10.2. Çinko Oksit Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

Nanopartiküller, “yukarıdan aşağıya” (top-down) ve “aşağıdan yukarıya” (bottom-up) olmak üzere iki temel yaklaşımla sentezlenmektedir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımda, uygun kütle halindeki malzeme; öğütme, püskürtme, termal/lazer ablasyon gibi çeşitli teknikler kullanılarak boyut küçültme işlemleriyle daha küçük ve ince parçacıklara ayrıştırılmaktadır. Aşağıdan yukarıya yaklaşımda ise nanopartiküller; kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılarak atomların kendiliğinden birleşip yeni çekirdekler oluşturması ve bu çekirdeklerin nano boyutlu parçacıklara dönüşmesiyle sentezlenmektedir. Ek olarak aşağıdan yukarıya yöntemler arasında elektrokimyasal yöntemler, kimyasal indirgeme ve sono-ayırışma yöntemleri yer almaktadır (Gour & Jain, 2019). Nanopartiküllerin “aşağıdan yukarıya” ve “yukarıdan aşağıya” sentez yaklaşımları Şekil 2.2’de gösterilmektedir (Khanna et al., 2019).



Şekil 2.2. Nanopartiküllerin "aşağıdan yukarıya" ve “yukarıdan aşağıya” sentez yaklaşımları

Nanopartikül sentezi; fiziksel, kimyasal ve biyolojik (yeşil) sentez yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir (Baran et al., 2020). Nanopartiküllerin sentezlenmesinde kullanılan yöntemler Şekil 2.3’de gösterilmektedir (Altammar, 2023).



Şekil 2.3. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri

2.10.2.1. Fiziksel Yöntemler

Fiziksel yöntemde, yukarıdan aşağıya yaklaşımla yığın malzemeler nano ölçekli boyutlara ulaşınca kadar daha küçük parçacıklara ayrıştırılmaktadır. Bu yönteme örnek olarak; fiziksel buhar biriktirme, bilyalı öğütme ve lazer ablasyon gibi teknikler verilebilir (Weldegebräel, 2020). Ancak fiziksel yöntemlerle gerçekleştirilen nanopartikül sentezi, maliyetli ekipmanların yanı sıra yüksek sıcaklık ve basınç gerektirmektedir (Agarwal et al., 2017).

2.10.2.2. Kimyasal Yöntemler

Kimyasal nanopartikül sentez yöntemleri arasında mikroemülsiyon, çökeltme, kimyasal buhar biriktirme, sol-jel, solvotermal ve hidrotermal gibi yöntemler yer almaktadır (Brayner et al., 2010; Król et al., 2017). Araştırmacılar, ZnO nanopartiküllerin sentezinde genellikle kimyasal yöntemleri tercih etmektedir; çünkü bu yöntemler nanopartiküllerin boyutu, şekli ve bileşimi üzerinde yüksek hassasiyet ve daha iyi kontrol imkanı sağlamaktadır (Narwal et al., 2024). Kimyasal yöntemlerle gerçekleştirilen nanopartikül sentezinde çevreye ve canlılara zarar verebilecek toksik kimyasallar kullanılmaktadır (Parveen et al., 2016).

2.10.2.2.1. Hidrotermal Sentez Yöntemi

Hidrotermal sentez, genellikle 100 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ve 1 barın üzerindeki basınç koşullarında gerçekleşen reaksiyonları içeren bir yöntemdir (Rabenau, 1985). Çözücü olarak su kullanıldığında yöntem “hidrotermal”, organik çözücü kullanıldığında ise “solvotermal” terimi kullanılmaktadır (Li et al., 2016). Hidrotermal sentez, nanomalzemelerin hazırlanmasında en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Temel olarak, çözelti reaksiyonuna dayalı bir yaklaşımdır. Hidrotermal sentezde, nanomalzemelerin oluşumu oda sıcaklığından oldukça yüksek sıcaklıklara kadar geniş bir aralıkta gerçekleştirilebilmektedir. Hazırlanacak malzemelerin morfolojisini kontrolü, reaksiyondaki ana bileşenin buhar basıncına bağlı olarak düşük veya yüksek basınç koşulları kullanılarak sağlanabilmektedir. Bu yaklaşımla birçok nanomalzeme türü başarıyla sentezlenmiştir. Hidrotermal sentez yönteminin, diğer yöntemlere göre önemli avantajları bulunmaktadır. Bu yöntem, yüksek sıcaklıklarda kararlı olmayan nanomalzemelerin sentezine olanak tanır. Yüksek buhar basıncına sahip nanomalzemeler, hidrotermal yöntemle minimum malzeme kaybıyla üretilmektedir.

Sentezlenecek nanomalzemelerin bileşimleri ise sıvı faz veya çok fazlı kimyasal reaksiyonlar yoluyla iyi bir şekilde kontrol edilebilmektedir (Jayatissa et al., 2020). Uygun maliyetli, çevre dostu ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle hidrotermal yöntem, ortam koşullarında ZnO NP'lerinin sentezinde umut vadeden alternatif bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (Mishra et al., 2010).

2.10.2.3. Biyolojik Yöntemler (Yeşil Sentez)

Kimyasal ve fiziksel yöntemlere alternatif olarak sunulan yeşil sentez, enerji tüketiminin oldukça az olduğu, düşük maliyetli, toksik materyallerin kullanılmadığı ve çevre dostu bir sentez yöntemidir. Son yıllarda yaygın olarak kullanılan biyolojik yaklaşım sayesinde çeşitli şekil, boyut, içerik ve fizikokimyasal özelliklere sahip metalik/metal oksit nanopartiküller sentezlenebilmektedir. Nanopartiküllerin biyosentezi; bakteri, alg, mantar ve bitki özütü gibi biyolojik ajanlar kullanılarak tek adımda yapılabilmektedir (Alshameri & Owais, 2022).

Bitkiler, büyük ölçekte üretime olanak tanımlarının yanı sıra, farklı boyut ve şekillerde kararlı nanoparçacıkların elde edilmesini sağlamaları nedeniyle en çok tercih edilen nanopartikül sentez kaynaklarıdır (Agarwal et al., 2017; Qu et al., 2011). Bitkilerin yaprak, çiçek, kök, tohum ve sap gibi farklı kısımları nanopartiküllerin yeşil sentezinde kullanılmaktadır (Ochieng et al., 2015; Ramesh et al., 2015; Vanathi et al., 2014). Bu doğal bitki parçalarının ekstreleri, hem indirgeyici hem de kaplayıcı veya dengeleyici ajan olarak görev yapan bazı fitokimyasallar salgılamaktadır (Agarwal et al., 2017; Qu et al., 2011). Biyo-indirgeme, bitkiden salgılanan polisakkaritler, polifenolik bileşikler, vitaminler, amino asitler, alkaloidler ve terpenoidler gibi fitokimyasalların yardımıyla metal iyonlarının veya metal oksitlerin sıfır değerlikli metal nanoparçacıklara indirgenmesini içermektedir (Heinlaan et al., 2008; Qu et al., 2011). Metal iyonlarının indirgenmesiyle gerçekleşen nanopartikül oluşum süreci; bitki özütünün içerdiği aktif

biyomoleküllerin kombinasyonu ve konsantrasyonlarının yanı sıra, pH değeri, sıcaklık, reaksiyon süresi, konsantrasyon ve metal iyonunun elektrokimyasal özellikleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Makarov et al., 2014). Yakın dönemde, *Pongamia pinnata*, *Vitex trifolia*, *Limonium pruinosum*, *Cymbopogon citratus* ve *Pisonia alba* gibi çeşitli bitki özütleri kullanılarak sentezlenen ZnO NP'leri; etkili, çevre dostu ve benzersiz tıbbi özelliklere sahip olduklarını kanıtlamış ve ileri araştırmalarda kullanılmak üzere değerlendirilmiştir (Abdelbaky et al., 2023; Elumalai et al., 2015; MuthuKathija et al., 2023; Naiel et al., 2022; Sundrarajan et al., 2015). Ayrıca *Rubus ellipticus*, *Kalanchoe pinnata* ve *Aquilaria agallocha* gibi çeşitli bitkiler, Ag NP'lerin yeşil sentezinde kullanılmış ve bu nanoparçacıkların antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir (Devi & Ahmaruzzaman, 2017; Khanal et al., 2022; Mehata, 2021).

2.11. Udi Hindi (*Aquilaria agallocha*)

Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitkisi Thymelaeaceae familyasına aittir (Alam et al., 2015). *A. agallocha*, Güneydoğu Asya'ya özgü, yaprak dökmeyen bir bitkidir ve yaygın olarak aloe ağacı ya da agar ağacı olarak tanımlanmaktadır (K Yadav et al., 2013). *A. agallocha* bitkisinin öne çıkan biyoaktif bileşenleri arasında alkaloidler, saponinler, steroidler, terpenoidler, tanenler, flavonoidler ve fenolik bileşikler yer almaktadır (Satapathy et al., 2009). *A. agallocha* bitkisi; antioksidan, antidiyabetik, analjezik, antipiretik, anti-inflamatuar, antihistaminik, laksatif , antikanser, antimikrobiyal, antibakteriyel, anksiyolitik, sedatif ve antikonvülsan gibi birçok farmakolojik etki göstermektedir (Alam et al., 2015).

A. agallocha türünün tıbbi özelliklerine yönelik çeşitli araştırmalar yapılmıştır. *A. agallocha* yapraklarının etil asetat ekstraktının düşük konsantrasyon aralığında antioksidan etki gösterdiği; ancak daha yüksek konsantrasyonlarda bu etkinin azaldığı bildirilmiştir (Miles & Grisham, 1994). Chitre ve arkadaşlarının fareler üzerinde

gerçekleştirdiği inflamasyon deneylerinde, *A. agallocha*'nın etil asetat ekstraktının, fare pençesinde indüklenen inflamasyonu tedavi etmede diklofenak ile kıyaslandığında daha az yan etki göstererek etkili olduğu gözlemlenmiştir (Chitre et al., 2007). Ratlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, karragenan ile oluşturulan pençe ödemi üzerinde *A. agallocha* yağının etkisi incelenmiş ve elde edilen bulgular, 10 mg/kg dozunda diklofenak tedavisi uygulanan grupla karşılaştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda *A. agallocha* yağının inflamatuvar mediyatörlerin, özellikle prostaglandinlerin salınımını önleyerek güçlü bir anti-inflamatuvar etki sağladığı tespit edilmiştir (Rahman et al., 2012).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Udi Hindi Bitki Ekstresinin Hazırlanması

Udi hindi bitkisi Erzurum ili yerel bitkisel üreticiden temin edildi. 25 g toz halinde alınan udi hindi örnekleri 300 mL distile suya eklenerek 4 saat (500 rpm’de) reflüks edildi ve oda sıcaklığında bir gece karıştırıldı. Ardından karışım önce tülbentten, daha sonra 2 numaralı Wathman filtre kağıdından süzüldü ve 10.000 xg’ de 30 dakika boyunca santrifüjlendikten sonra sentez yapılarına kadar elde ettiğimiz bitki ekstresi +4°C’de bekletildi.



Şekil 3.1. Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitkisinin kök hali



Şekil 3.2. Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitkisinin toz hali

3.2. ZnO Nanopartiküllerin Yeşil Hidrotermal Sentezi

ZnO NP'lerin sentezi için, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (0,1 M) stok çözeltileri 50 mL destile suda hazırlandı. Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitki ekstraktı ilave edilerek 85°C'de 4 saat süreyle reaksiyona tabi tutuldu. Ardından reaksiyon ortamına sitrik asit ve üre ilave edildi ve 30 dakika süreyle 350 rpm'de karıştırıldı. Reaksiyon ortamının pH değeri 8.0 civarına ayarlandıktan sonra teflon kaplı paslanmaz çelik otoklavlara aktarıldı ve 180-200°C'de 8-10 saat boyunca tutuldu. Daha sonra doğal olarak oda sıcaklığına soğutuldu. Reaksiyon tamamladıktan sonra elde edilen sarımtırak katı ZnO NP'ler önce saf su daha sonra etanol ile yıkandı, filtrelendi ve 60°C'de fırınında vakum altında kurutuldu (Nadaroglu et al., 2017).



Şekil 3.3. Sentezlenen ZnO nanopartiküller



Şekil 3.4. Bitki ekstresi hazırlamak için kullanılan reflüks sistemi



Şekil 3.5. Santrifüj cihazı



Şekil 3.6. Hidrotermal reaktör ısıtıcı ve çelik ünite



Şekil 3.7. Saf su arıtım cihazı



Şekil 3.8. Etüv cihazı

3.3. ZnO Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

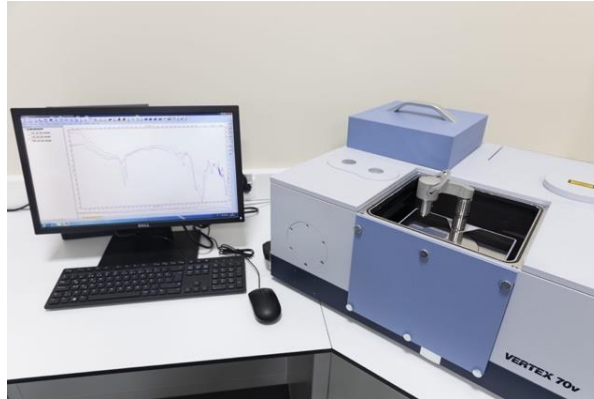
ZnO NP'lerin karakterizasyonu, Atatürk Üniversitesi, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM)'da gerçekleştirildi. ZnO NP'lerin karakterizasyonu için morfolojik analizi Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) analizi ile yapıldı. Bu amaçla, Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) Zeiss marka Sigma 300 model kullanıldı (Şekil 3.9). ZnO NP'lerin kristal yapısının analizi X-Işını Difraksiyonu (XRD) ile PANalytical marka Empyrean modeli kullanılarak yapıldı (Şekil 3.10). ZnO NP'lerin yapısal analizi, Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizi ile Bruker marka Vertex 70 modeli kullanılarak yapıldı (Şekil 3.11).



Şekil 3.9. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazı



Şekil 3.10. X-Işını Difraksiyonu (XRD) cihazı



Şekil 3.11. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) cihazı

3.4. ZnO Nanopartiküllerin Kurkumin ve Kafeik Asit ile Modifiye Edilmesi

ZnO NP, 1 mM/mL konsantrasyonlarında kurkumin ve kafeik asit ile modifiye edildi. 300 rpm 15 dakika süreyle karıştırıldı, ardından +4 °C’de bir gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonra 500 rpm’de 15 dakika santrifüjlendi, elde edilen ZnO

NP'ler saf su ile yıkandı ve bağlanmayan kurkumin ile kafeik asit uzaklaştırıldı. Son olarak, ZnO NP'ler kurutularak deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

3.5. Hücre Kültürü Deneyleri

3.5.1. İnsan Oral Fibroblast Hücre Kültürü

Çalışmamızda, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Bölümünden temin edilen insan oral fibroblast (HOF) hücre hattı kullanıldı. *In vitro* koşullarda gerçekleştirilen hücre kültürü çalışmalarında; hücrelerin büyüebilmeleri, yaşayabilmeleri ve proliferasyonu için Fetal bovine serum (FBS), antibiyotik (penisilin- streptomisin- amfotrisin B) ve RPMI 1640 besi ortamı kullanıldı. Hücreler %90 nem, 37°C ve %5 CO₂ ortamında inkübe edildi. HOF hücreleri sırası ile hücrelerin çözülmesi, çoğaltılması, pasajlanması ve dondurulması gibi rutin hücre kültürü basamaklarından geçirilerek deney hazırlıkları tamamlandı.



Şekil 3.12. İnkübatör cihazı



Şekil 3.13. Santrifüj cihazı



Şekil 3.14. Class II biyogüvenlik kabini

3.5.2. Örneklerin Hücre Canlılığı Üzerindeki Proliferatif Etkisinin Belirlenmesi

Kafeik asit (CA) ve Kurkumin (CUR) uygulanan gruplar için 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 μM 'lık dozlar belirlendi. Deney gruplarımızda ise ZnO NP, ZnO NP + CUR, ZnO NP + CA örnekleri için 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 $\mu\text{g/mL}$ dozları kullanıldı. HOF hücreleri ile kaplanan her kuyucuğa örnekler eklendi. Deney 24 saat ve 72 saat olmak üzere iki farklı zaman aralığında tasarlandı.

3.5.3. MTT Testi

Bu testin temelinde, MTT (3-(4,5-dimethyl thiazole 2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide) adlı, PBS'de çözünebilir bir madde bulunmaktadır. Canlı hücreler bu maddeyi işleyerek formazan kristallerine indirgerler. Ortaya çıkan mor renkli boya da spektrofotometre cihazı yardımıyla ilgili dalga boylarında ölçülür.

24 ve 72 saat olarak tasarlanan süreler tamamlandıktan sonra deneyler sonlandırıldı ve MTT testi yapıldı. MTT testi için bütün kuyucuklara 10 μL MTT solüsyonu verildi ve 4 saat inkübatörde bekletildi. MTT uygulandıktan sonra oluşan formazan kristallerini çözünür hale getirmek için dimetilsülfoksit her kuyucuğa 100 μL olacak şekilde ilave edildi. Daha sonra absorbans, spektrofometrede (μQuant , Bad

Friedrichshall, Biotek) 570 nm dalga boyunda ölçüldü. Veriler GraphPad Prism 8 programında one-way ANOVA yöntemiyle analiz edildi.

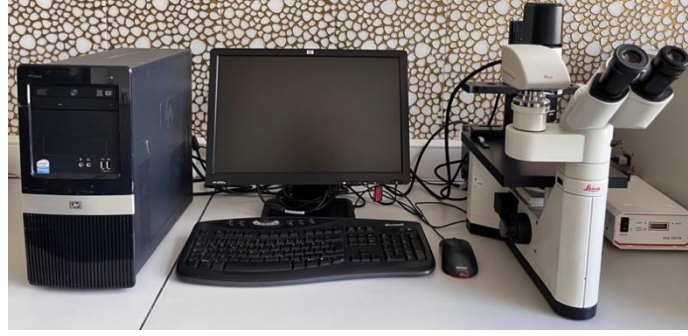
$$\text{Canlılık (\%)} = (\text{Deney kuyusunun absorbansı} / \text{Kontrol kuyucuğunun absorbansı}) \times 100$$



Şekil 3.15. µQuant, Bad Friedrichshall, Biotek

3.5.4. Örneklerin Yara İyileştirici Özelliklerinin Scratch Assay (Tayini) ile İncelenmesi

Hücre kültürü yara modeli deneyi, hücre canlılığına etkisi belirlenen ve canlılığı arttıran ZnO NP, ZnO NP + CUR, ZnO NP + CA nanopartiküllerinin belirlenen dozlarının hücre göçü ve proliferasyon yeteneğini incelemek için yapıldı. Bunun için HOF hücreleri, %10 FBS ile takviye edilmiş RPMI içinde büyütüldü. 2×10^5 hücre / kuyucuk, 48 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına ekildi ve kuyucuklar tek katman olarak %100 yoğunluğa ulaşana kadar inkübe edildi. Hücrelerin yeterli yoğunluğa erişmesinden sonra, hücresel tek tabaka 100 µL pipet ucu ile çizildi ve yapay bir doğrusal yara oluşturuldu. Kuyulara ZnO NP, ZnO NP + CUR, ZnO NP + CA'nın belirlenen dozları hazırlanarak eklendi. Belirli periyotlarda yara boyutu fotoğraflandı ve ilk kapanma gerçekleştiğinde deney sonlandırıldı. 36. saatte birçok grupta yaralar tamamen kapandı. Fotoğraf çekimleri için LEICA DFC295 inverted mikroskop kullanıldı.



Şekil 3.16. LEICA DFC295 Inverted mikroskop

3.6. Enzim Bağlı İmmünosorbent Test (ELISA) Analizleri

3.6.1. Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta 1 (TGF- β 1) ELISA Testi

Serum TGF- β 1 tayini, Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta-1 ELISA ticari kiti (Wuhan Feiyue Biotechnology Co., katalog no: FY-EU1013) kullanılarak gerçekleştirildi. Prosedürde belirtildiği gibi Mikro ELISA plaka şeritleri plaka çerçevesinden çıkarıldı. Seyreltilmiş standart, kör ve numune için kuyucukları belirlendi. Standart, kör ve numune örneklerinin her birinden 100 μ L kuyucuklara eklendi. Plaka, kit ile birlikte verilen kapatıcı ile kapatılıp 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Plaka 3 kez aspire edildi ve yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 μ L Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonunu eklendi ve 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Plaka 3 kez aspire edildi ve yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 μ L HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi ve tekrar 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Plaka 3 kez aspire edildi ve yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 μ L Substrat Reaktif (Substrate Reagent) eklendi. 37 °C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi. Her bir kuyucuğa 50 μ L Stop Solüsyonu eklendi. Her bir kuyucuğun optik yoğunluk (OD) değerleri, 450 nm'ye ayarlanmış mikrolaka okuyucu ile ölçüldü.

3.6.2. İnterlökin-1 β (IL-1 β) ELISA Testi

Serum IL-1 β tayini, İnterlökin-1 β ELISA ticari kiti (Wuhan Feiyue Biotechnology Co., katalog no: FY-EH1074S) kullanılarak gerçekleştirildi. Prosedürde belirtildiği gibi Mikro ELISA plaka şeritleri plaka çerçevesinden çıkarıldı. Seyreltilmiş standart, kör ve

numune için kuyucukları belirlendi. Standart, kör ve numune örneklerinin her birinden 50 µL kuyucuklara eklendi. Hemen ardından her bir kuyucuğa 50 µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Plaka 3 kez aspire edildi ve yıkandı. Her bir kuyucuğa 100 µL Substrat Reaktif eklendi ve 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi. Her bir kuyucuğa 50 µL Stop Solüsyonu eklendi. Her bir kuyucuğun OD değerleri, 450 nm'ye ayarlanmış mikropilaka okuyucu ile ölçüldü (Yerebakan et al., 2025).

3.7. İkili İmmunfloresans İncelemeler

Hücreler -20° C'de 5 dakika süreyle metanol ile fikse edilerek PBS ile yıkandı. Daha sonra oda ısısında 0.1% Triton X-100 içeren PBS ile 15 dakika bekletildi. Yıkama işleminden sonra 2%'lik BSA içeren PBS ile 60 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı. Tekrar yıkama işleminden sonra monoklonal IL-1β (Santa cruz, Katalog no. sc-52012) ve poliklonal TGFβ1 (Affbiotech, Katalog no. Af1027) primer antikoları ile 1/200 dilüsyon oranında +4°C'de bir gece inkübe edildi. PBS ile yıkanan hücreler goat anti-mouse Texas Red ve goat anti-rabbit FITC sekonder antikoları ile 1/50 dilüsyon oranında 1 saat süreyle oda ısısında karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı. Son olarak yıkanan hücrelerin üzerine 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) damlatılarak floresans mikroskopta (Zeiss Axio) incelendi. İncelemede rastgele 6 farklı sahadaki hücrelerin floresans pozitifliklerinin yoğunluğu Fiji Image J programı ile değerlendirildi (Guven et al., 2024; Kaplan et al., 2024).

3.8. İstatiksel Analiz

Elde edilen veriler GraphPad Prism 8 programında one-way ANOVA, post hoc Tukey testi ile analiz edildi. Önemlilik derecesi **p<0.001, *p<0.05 kabul edildi.

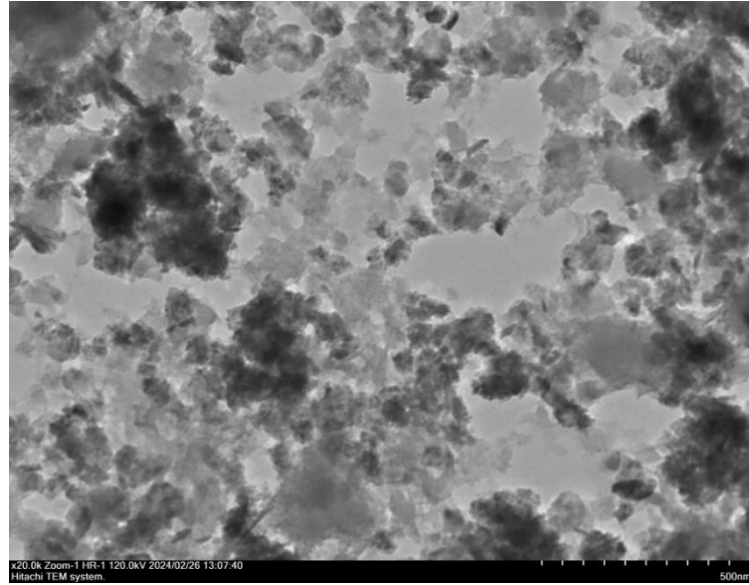
4. BULGULAR

4.1. Çinko Oksit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

ZnO NP'ler, *A. agallocha* ekstraktı indirgen ajan olarak kullanılarak yeşil hidrotermal sentez yöntemiyle elde edildi. Çalışmada, yeşil hidrotermal yöntemle sentezlenen ZnO NP'ler; Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizi, X-Işını Difraksiyonu (XRD) analizi ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) analizi teknikleri kullanılarak karakterize edildi.

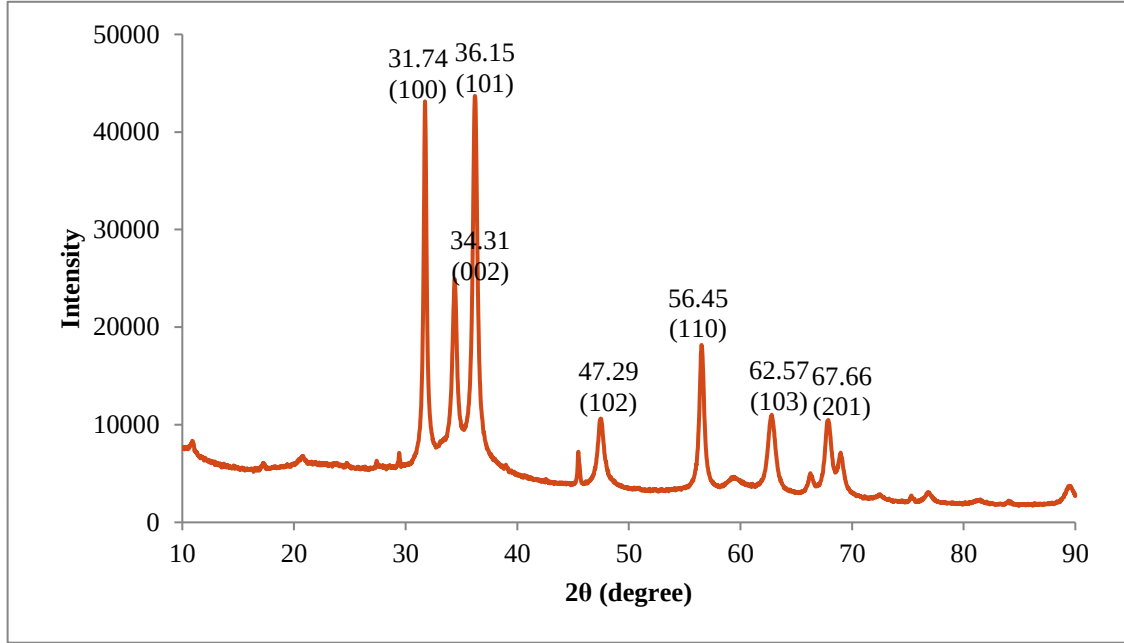
4.1.1. SEM Analizi

A. agallocha ekstraktı ile sentezlenen ZnO NP'lerin morfolojisini ve boyut detayını belirlemek için SEM analizi yapıldı ve SEM analiz görüntüleri Şekil 4.1'de verildi. Elde edilen SEM görüntülerinden, ZnO NP'lerin küresel yapıda oldukları ve 15 – 42 nm boyutlarında sentezlendikleri belirlendi. Ayrıca, ZnO NP'lerin birleşerek farklı boyutlarda çok fazla agregat oluşturmadığı gözlemlendi.



Şekil 4.1. ZnO NP'lerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü

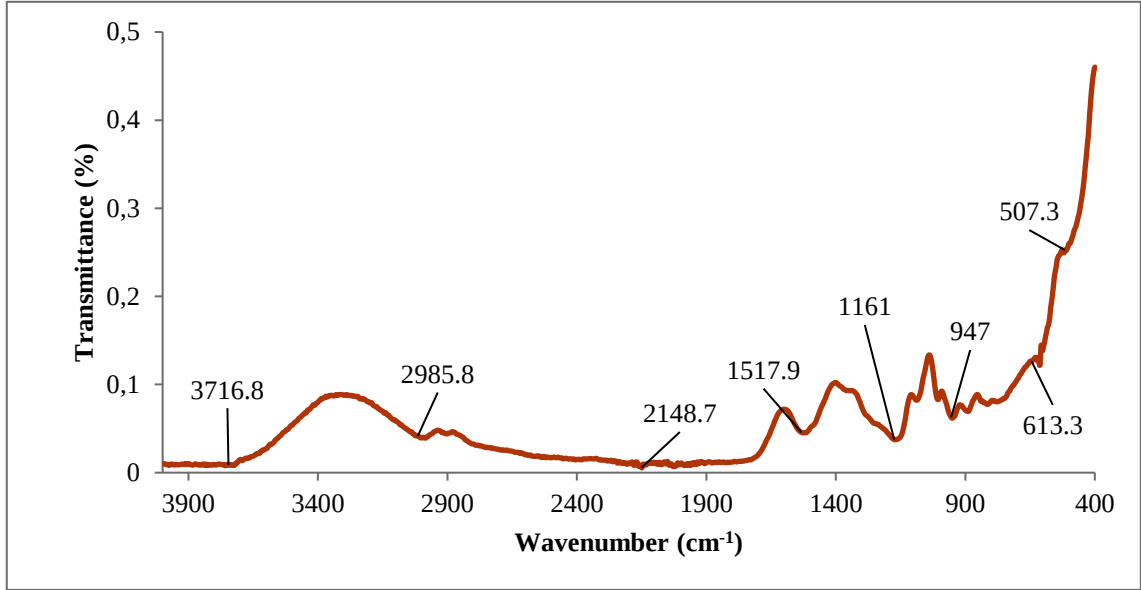
4.1.2. XRD Analizi



Şekil 4.2. ZnO NP'lerin XRD analizi grafiği

Sentezlenen ZnO NP'lerinin XRD spektrumu Şekil 4.2'de verildi. XRD spektrumunda ZnO NP'lere ait $2\theta = 31.74^\circ, 34.31^\circ, 36.15^\circ, 47.29^\circ, 56.45^\circ, 62.57^\circ, 67.66^\circ$ değerlerine ait karakteristik piklerin sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103), (201) düzlemlerine karşılık geldiği belirlendi. ZnO NP'lerin XRD analizine ait karakteristik piklerin, Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi (Joint Committee on Powder Diffraction Standards, JCPDS) verileriyle uyumlu olduğu ve ZnO NP'lerin wurtzite yapısında olduğu anlaşılmaktadır.

4.1.3. FTIR Analizi



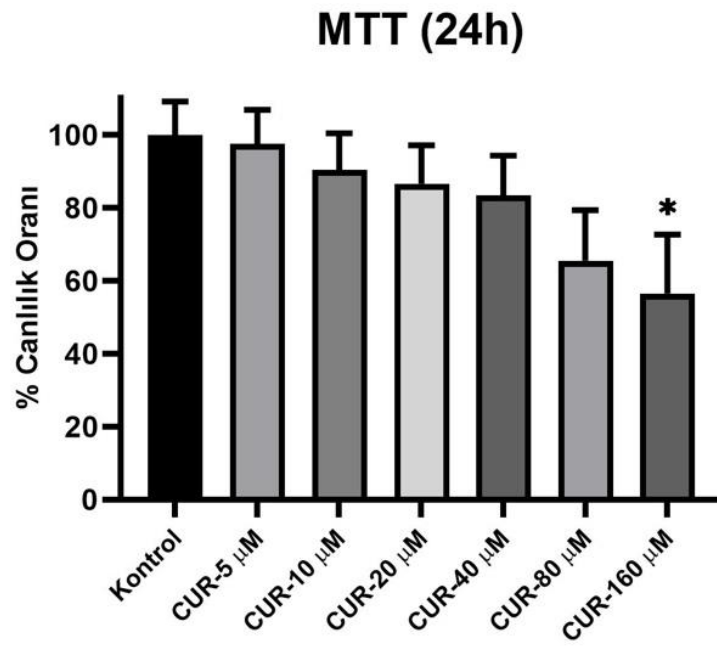
Şekil 4.3. ZnO NP'lerin FTIR analizi grafiği

Sentezlenen ZnO NP'lerin FT-IR spektrumu Şekil 4.3'te gösterilmektedir. FTIR spektrumunda 3716.8, 2985.8, 2148.7, 1517.9, 1161, 947, 613.3 ve 507.3 cm^{-1} 'de bantlar gösterilmiştir. FTIR spektrumundaki 3716.8 cm^{-1} 'de yer alan bant, serbest yapıdaki –OH gruplarına işaret etmektedir. Bu bant genellikle ZnO yüzeyinde adsorplanmış su moleküllerinden veya hidroksil gruplarından kaynaklanmaktadır. 2985.8 cm^{-1} 'de görülen tepe noktası, C–H gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. 2148.7 cm^{-1} 'de yer alan bant ise $\text{C}\equiv\text{C}$ (alkin) veya $\text{C}\equiv\text{N}$ (nitril) gruplarına aittir. 1517.9 cm^{-1} ve 1161 cm^{-1} 'de yer alan bantlar, C=C veya C–N titreşimlerine işaret edebilir. 947 cm^{-1} ve 613.3 cm^{-1} 'deki bantlar ise NP'lerin sentezini işaret eden Zn–O bağlarının titreşimleri bu aralıkta gözlenir. Özellikle 613 cm^{-1} civarındaki tepe, Zn–O bağlarına özgü olup ZnO nanoparçacıklarının varlığını doğrulamaktadır. 507.3 cm^{-1} 'de yer alan pik Zn–O bağlarına ait karakteristik bir banttır ve ZnO yapısının başarılı bir şekilde oluştuğunu göstermektedir.

4.2. Hücre Kültürü Bulguları

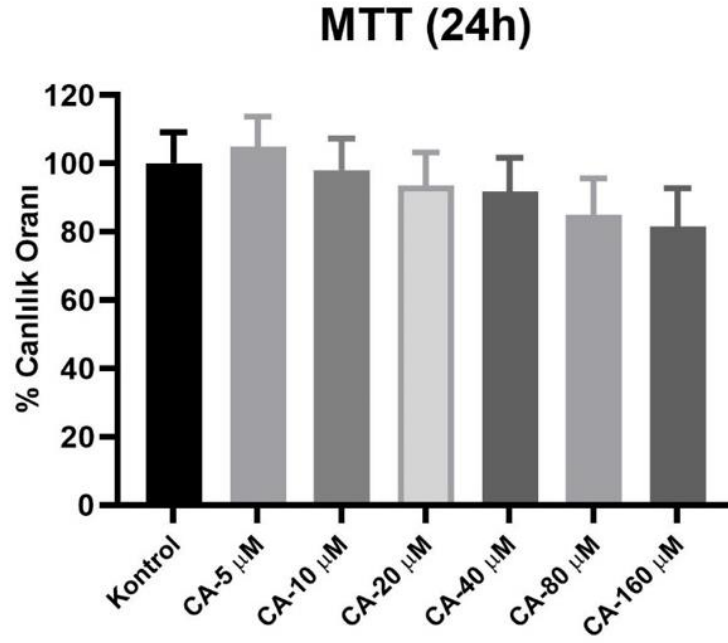
4.2.1. MTT Analizi

İnsan oral fibroblast (HOF) hücre hattında yara modeli oluşturularak kurkumin, kafeik asit ve ZnO nanopartikülleri hücre kültüründe kullanılmıştır. CUR ve CA'nın 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 μM 'lık dozlarının ilk olarak hücre kültüründe rejenerasyon yeteneğine bakılmıştır. Sonrasında ise ZnO NP'ler sentezlenerek 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 $\mu\text{g/mL}$ dozları hazırlanmıştır. Deneyler 24 saat ve 72 saat olmak üzere iki farklı zaman aralığında yapılmıştır. Süreler tamamlandığında deneyler sonlandırılmıştır ve MTT testi yapılmıştır.



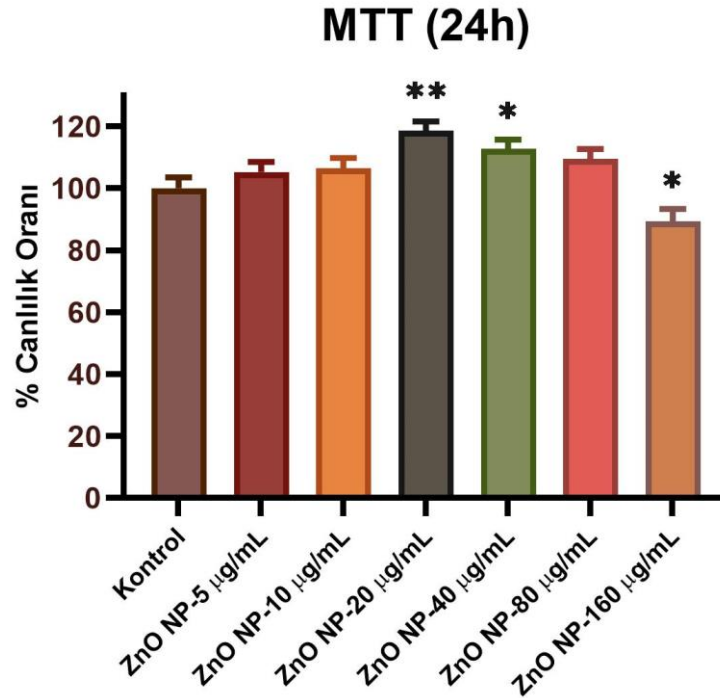
Şekil 4.4. CUR'un 24 saat MTT analiz sonuçları

Kurkuminin 24 saat MTT sonuçları Şekil 4.4'te verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. CUR- 160 μM (0.928 ± 0.23) dozu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).



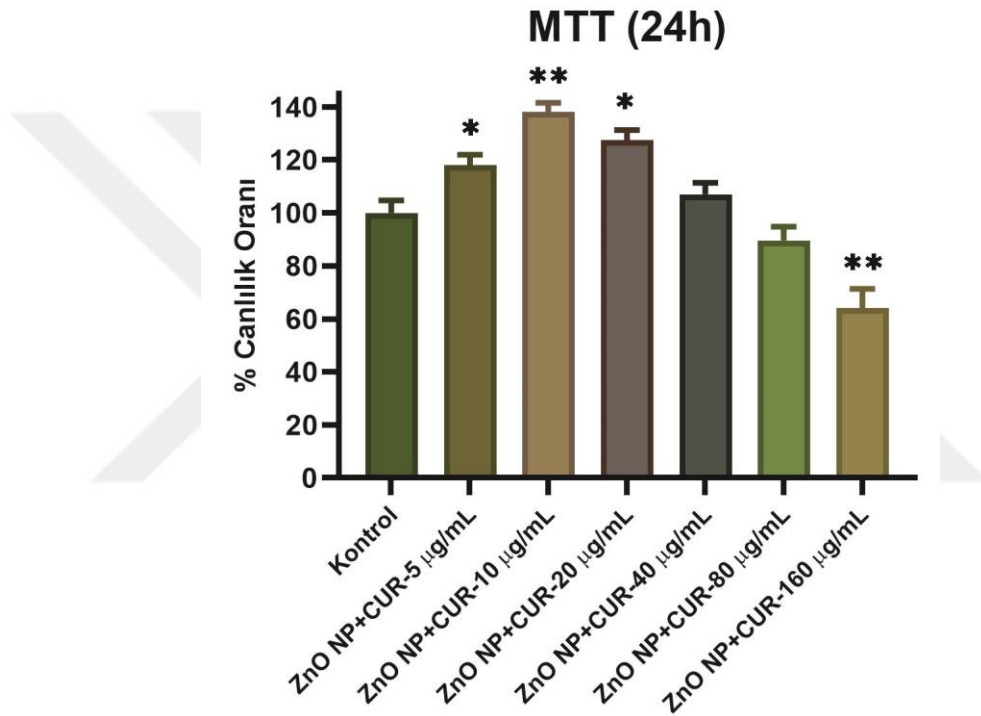
Şekil 4.5. CA'nın 24 saat MTT analiz sonuçları

Kafeik asidin 24 saat MTT sonuçları Şekil 4.5'te verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır.



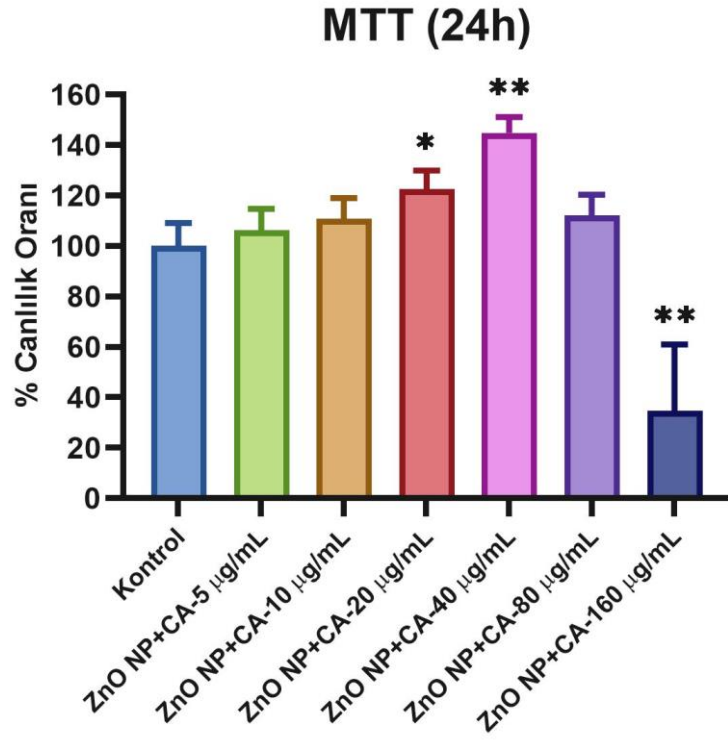
Şekil 4.6. ZnO NP'nin 24 saat MTT analiz sonuçları

ZnO NP'nin 24 saat MTT sonuçları Şekil 4.6'da verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. MTT testi sonuçlarına göre ZnO nanopartikülünün ZnO NP- 20 $\mu\text{g/mL}$ (1.068 ± 0.05) dozunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP- 40 $\mu\text{g/mL}$ (1.014 ± 0.06) ve ZnO NP- 160 $\mu\text{g/mL}$ (0.804 ± 0.08) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).



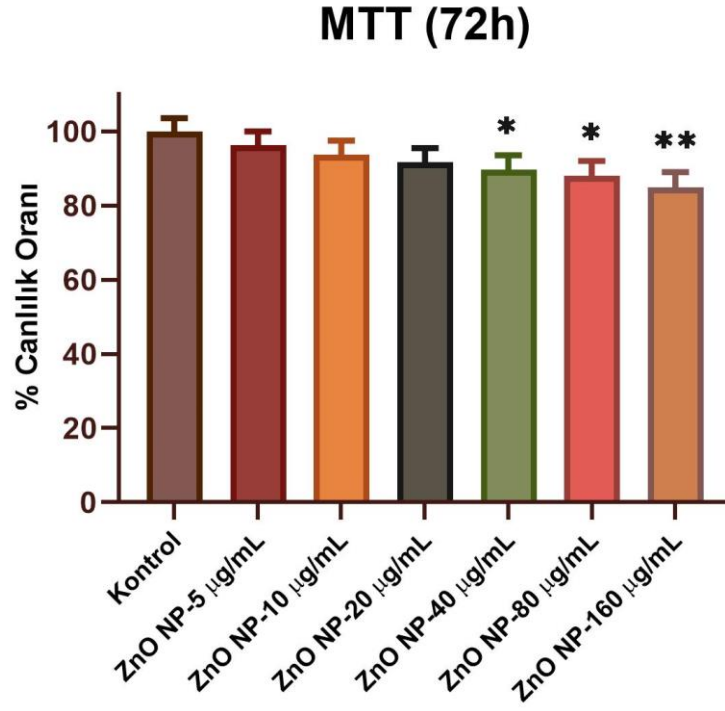
Şekil 4.7. ZnO NP + CUR'un 24 saat MTT analiz sonuçları

ZnO NP + CUR'un 24 saat MTT sonuçları Şekil 4.7'de verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. MTT testi sonuçlarına göre ZnO NP + CUR'un, ZnO NP + CUR- 10 $\mu\text{g/mL}$ (1.287 ± 0.06) ve ZnO NP + CUR- 160 $\mu\text{g/mL}$ (0.596 ± 0.11) dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP + CUR- 5 $\mu\text{g/mL}$ (1.100 ± 0.09) ve ZnO NP + CUR- 20 $\mu\text{g/mL}$ (1.118 ± 0.08) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).



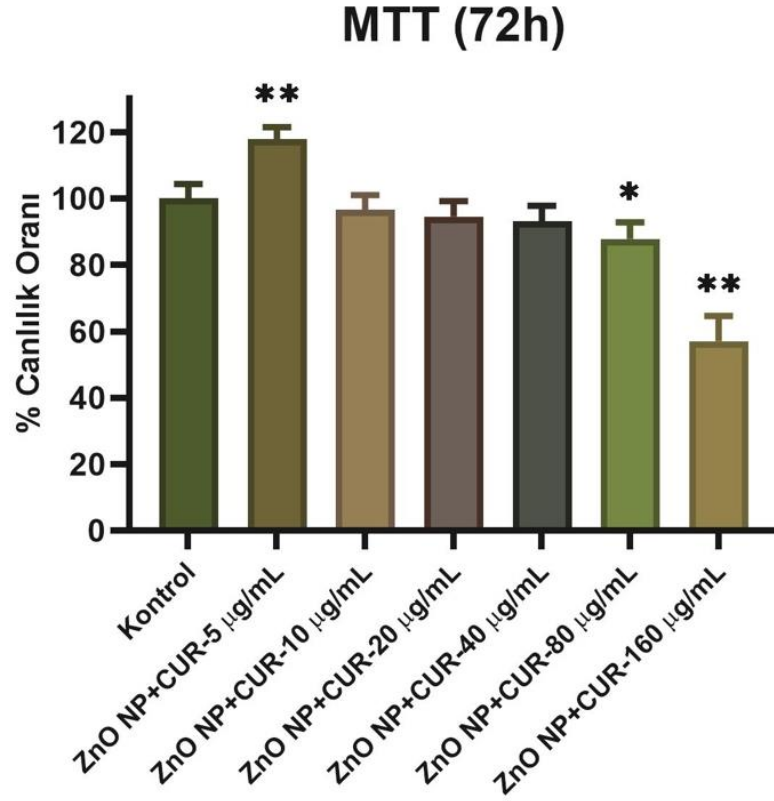
Şekil 4.8. ZnO NP + CA'nın 24 saat MTT analiz sonuçları

ZnO NP + CA'nın 24 saat MTT sonuçları Şekil 4.8'de verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. MTT testi sonuçlarına göre ZnO NP + CA'nın, ZnO NP+CA- 40 µg/mL (1.349 ± 0.16) ve ZnO NP + CA- 160 µg/mL (0.323 ± 0.02) dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP + CA- 20 µg/mL (1.141 ± 0.08) dozu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).



Şekil 4.9. ZnO NP'nin 72 saat MTT analiz sonuçları

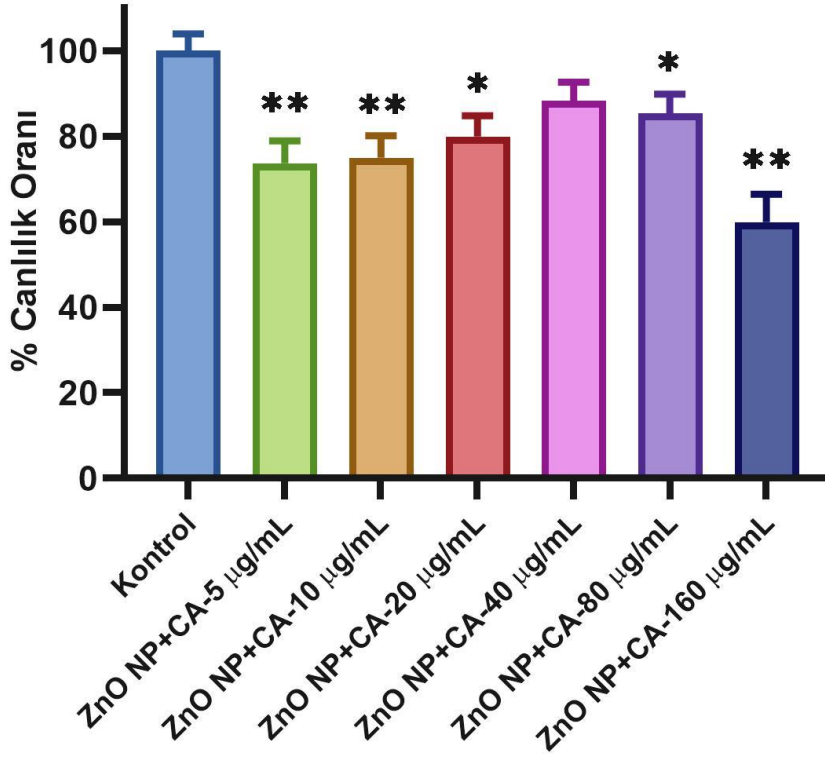
ZnO NP'nin 72 saat MTT sonuçları Şekil 4.9'da verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. MTT testi sonuçlarına göre ZnO nanopartikülünün ZnO NP- 160 µg/mL (1.001 ± 0.02) dozunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP- 40 µg/mL (1.058 ± 0.08) ve ZnO NP- 80 µg/mL (1.039 ± 0.05) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).



Şekil 4.10. ZnO NP + CUR'un 72 saat MTT analiz sonuçları

ZnO NP + CUR'un 72 saat MTT sonuçları Şekil 4.10'da verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. MTT testi sonuçlarına göre ZnO NP + CUR'un, ZnO NP + CUR- 5 µg/mL (1.381 ± 0.04) ve ZnO NP + CUR- 160 µg/mL (0.668 ± 0.12) dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP + CUR- 80 µg/mL (1.030 ± 0.11) dozu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).

MTT (72h)

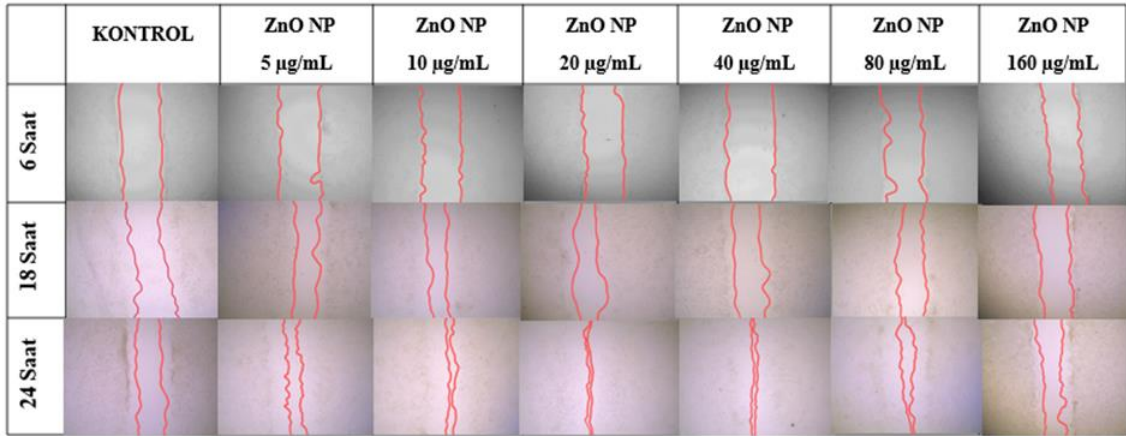


Şekil 4.11. ZnO NP + CA'nın 72 saat MTT analiz sonuçları

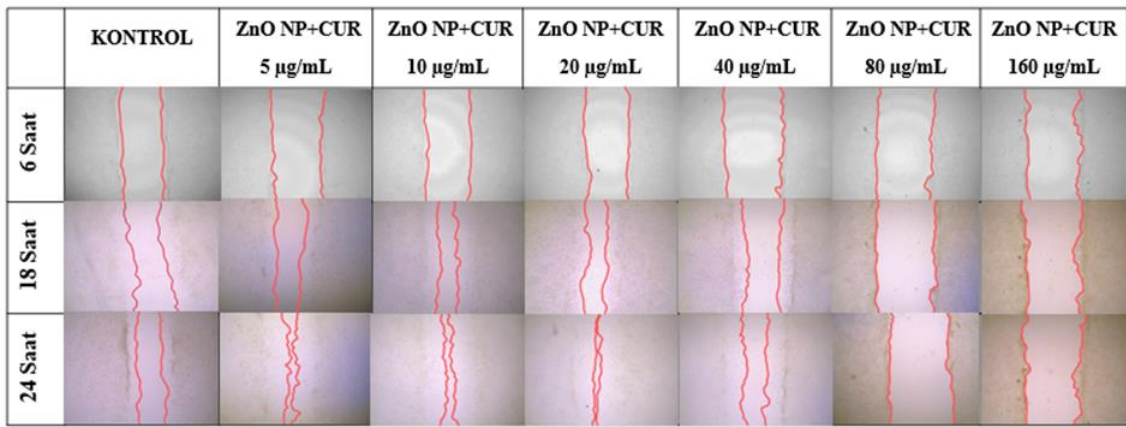
ZnO NP + CA'nın 72 saat MTT sonuçları Şekil 4.11'de verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. MTT testi sonuçlarına göre ZnO NP + CA'nın, ZnO NP + CA- 5 µg/mL (0.839 ± 0.03), ZnO NP + CA- 10 µg/mL (0.854 ± 0.04) ve ZnO NP + CA- 160 µg/mL (0.683 ± 0.15) dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP + CA- 20 µg/mL (0.911 ± 0.07) ve ZnO NP + CA- 80 µg/mL (0.972 ± 0.02) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).

4.2.2. Scratch Assay Testi

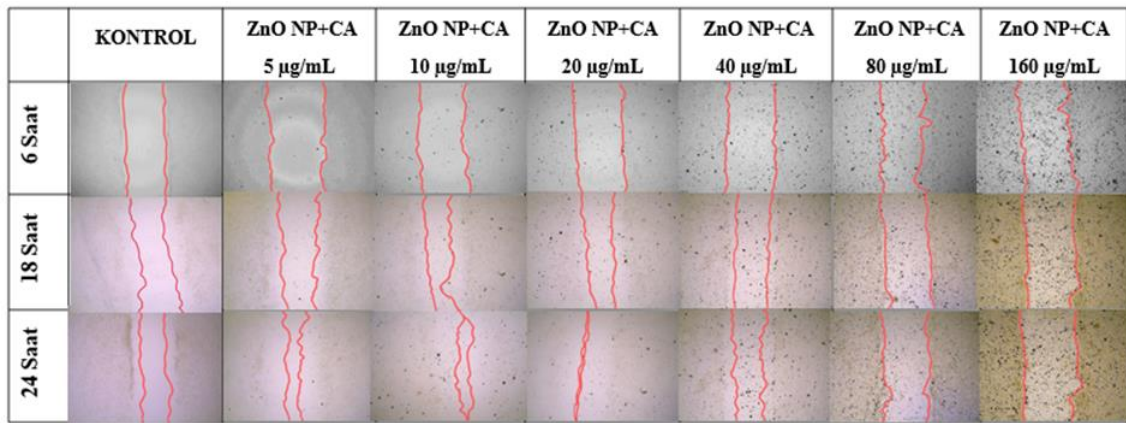
İnsan oral fibroblast hücrelerinde MTT sonuçları belli olduktan sonra yara modeli yapılmıştır. 6,18 ve 24 saatlerinde tüm dozlar için kuyucuktaki yaralar fotoğraflanmıştır. Sonuçları aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.12. ZnO NP'nin yara modellerinin görüntüleri



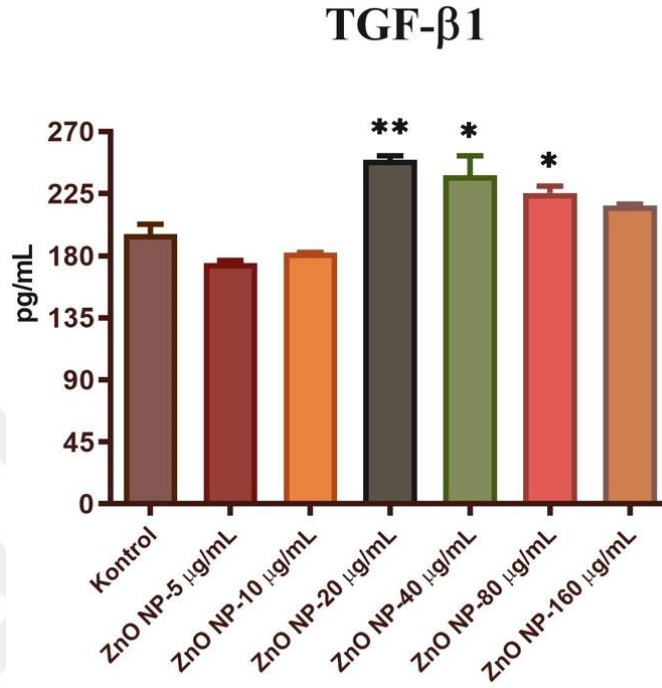
Şekil 4.13. ZnO NP + CUR'un yara modellerinin görüntüleri



Şekil 4.14. ZnO NP + CA'nın yara modellerinin görüntüleri

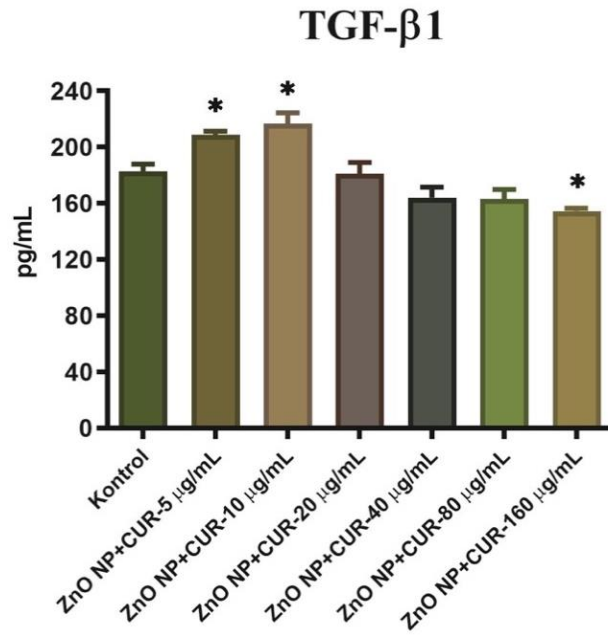
4.3. ELISA Testi Bulguları

4.3.1. TGF- β 1 ELISA Bulguları



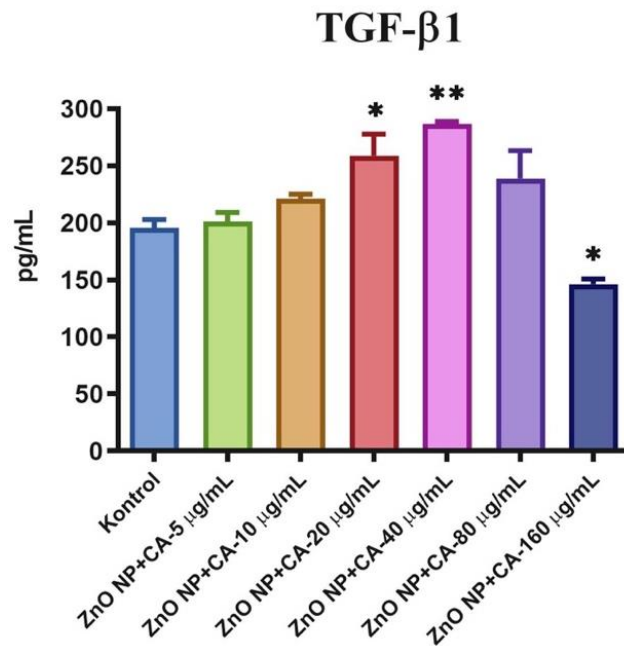
Şekil 4.15. ZnO NP'nin TGF- β 1 ELISA testi bulguları

ZnO NP'nin TGF- β 1 sonuçları Şekil 4.15'te verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. TGF- β 1 testi sonuçlarına göre ZnO nanopartikülünün ZnO NP-20 µg/mL dozunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP-40 µg/mL ve ZnO NP-80 µg/mL dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).



Şekil 4.16. ZnO NP + CUR'un TGF- β 1 ELISA testi bulguları

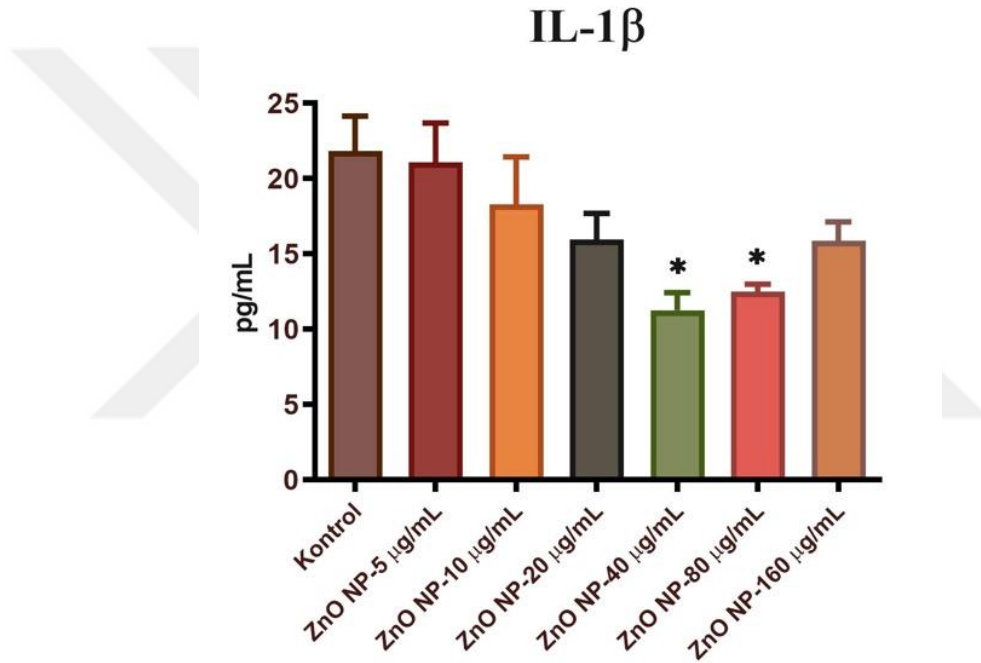
ZnO NP + CUR'un TGF- β 1 sonuçları Şekil 4.16'da verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. TGF- β 1 testi sonuçlarına göre ZnO NP + CUR'un, ZnO NP + CUR- 5 µg/mL, ZnO NP + CUR- 10 µg/mL ve ZnO NP + CUR- 160 µg/mL dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (*p<0.05).



Şekil 4.17. ZnO NP + CA'nın TGF- β 1 ELISA testi bulguları

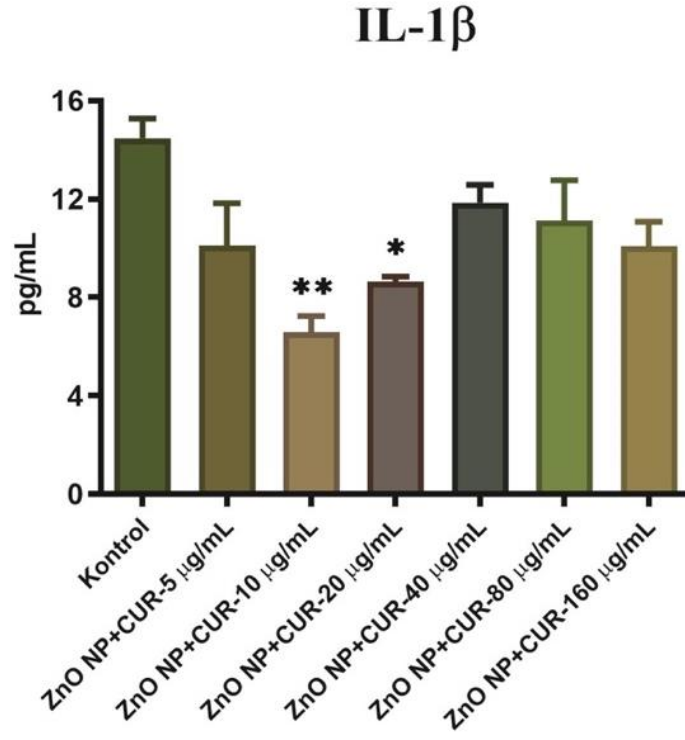
ZnO NP + CA'nın TGF- β 1 sonuçları Şekil 4.17'de verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. TGF- β 1 testi sonuçlarına göre ZnO NP + CA'nın, ZnO NP + CA- 40 μ g/mL dozunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (** $p < 0.001$). Aynı şekilde ZnO NP + CA- 20 μ g/mL ve ZnO NP + CA- 160 μ g/mL dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).

4.3.2. IL-1 β ELISA Bulguları



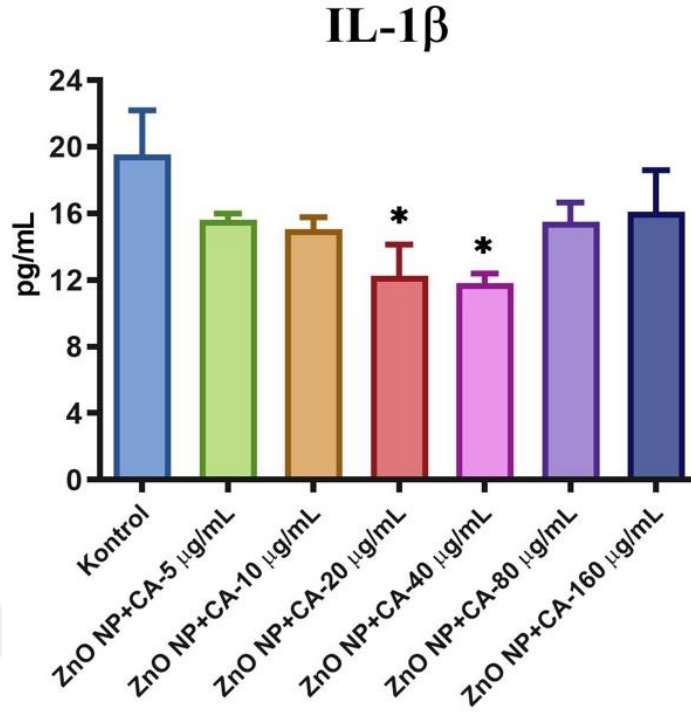
Şekil 4.18. ZnO NP'nin IL-1 β ELISA testi bulguları

ZnO NP'nin IL-1 β sonuçları Şekil 4.18'de verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. IL-1 β testi sonuçlarına göre ZnO nanopartikülünün, ZnO NP- 40 μ g/mL ve ZnO NP- 80 μ g/mL dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.05$).



Şekil 4.19. ZnO NP + CUR'un IL-1 β ELISA testi bulguları

ZnO NP + CUR'un IL-1 β sonuçları Şekil 4.19'da verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. IL-1 β testi sonuçlarına göre ZnO NP + CUR'un, ZnO NP + CUR- 10 µg/mL dozunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı olduğu belirlenmiştir (**p<0.001). Aynı şekilde ZnO NP + CUR- 20 µg/mL dozu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (*p<0.05).

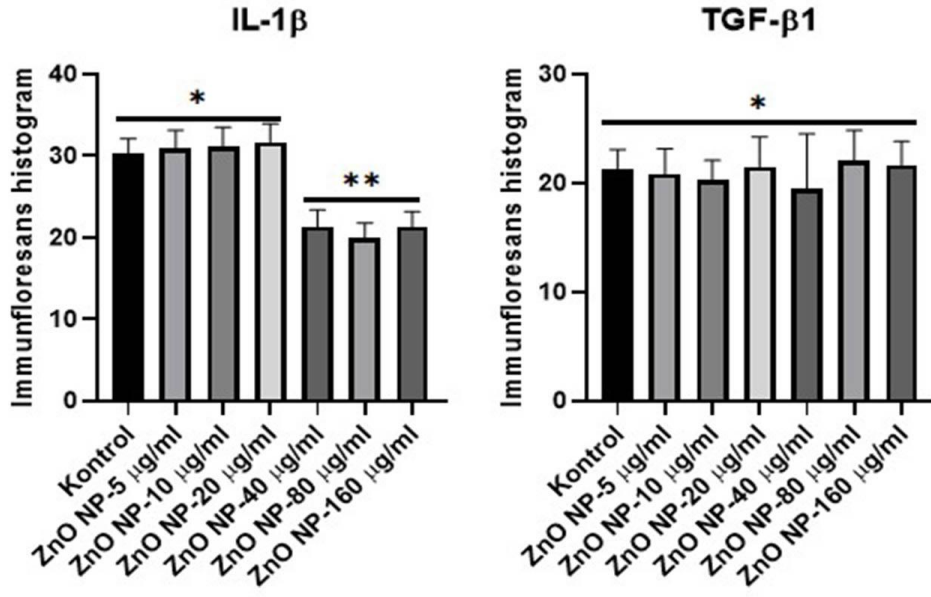


Şekil 4.20. ZnO NP + CA'nın IL-1 β ELISA testi bulguları

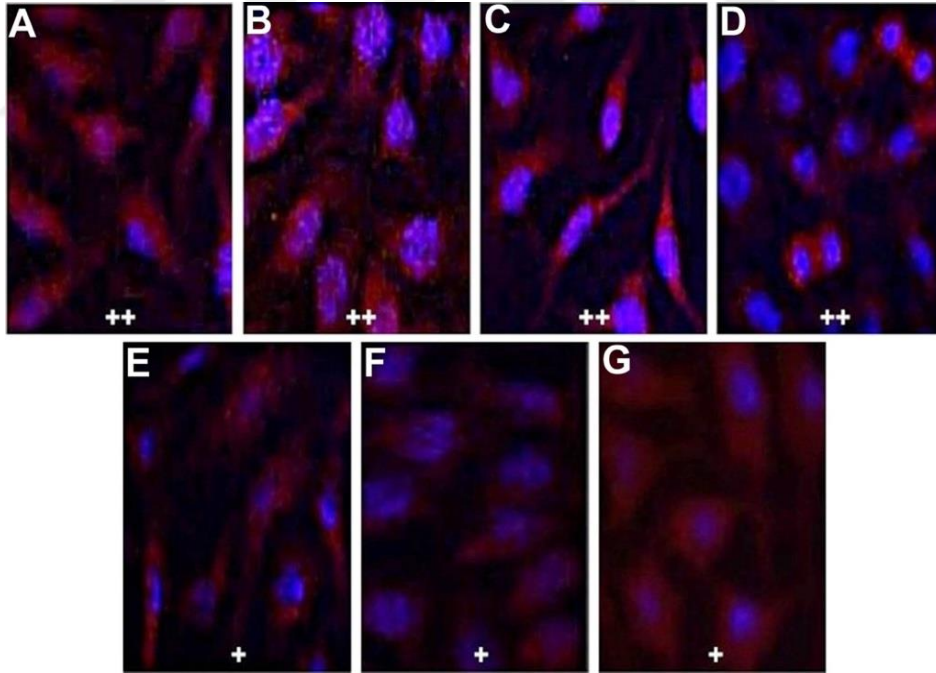
ZnO NP + CA'nın IL-1 β sonuçları Şekil 4.20'de verilmiştir. Bütün gruplar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. IL-1 β testi sonuçlarına göre ZnO NP + CA'nın, ZnO NP + CA-20 µg/mL ve ZnO NP + CA-40 µg/mL dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (*p<0.05).

4.4. İmmunfloresans Analiz Bulguları

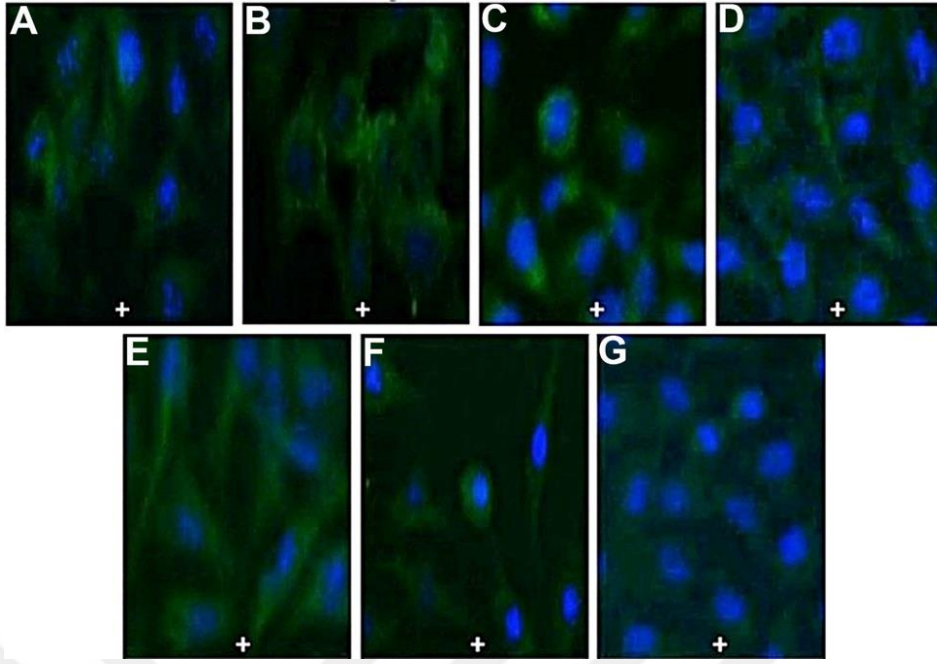
ZnO uygulanan hücrelerde TGF- β 1 pozitifliği açısından gruplar arasından istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilemezken, IL-1 β pozitiflikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edildi. Kontrol, ZnO NP- 5 µg/mL, ZnO NP- 10 µg/mL ve ZnO NP- 20 µg/mL gruplarındaki IL-1 β floresans pozitifliğinin, ZnO NP- 40 µg/mL, ZnO NP- 80 µg/mL ve ZnO NP- 160 µg/mL gruplarında azalmaya başladığı belirlendi (Şekil 4.21-4.23).



Şekil 4.21. ZnO NP gruplarında IL-1β ve TGF-β1 floresans pozitiflikleri.
*,** Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p <0.001)



Şekil 4.22. ZnO NP gruplarında IL-1β pozitiflikleri.
Kontrol (A), ZnO NP- 5 µg/mL (B), ZnO NP- 10 µg/mL (C) ve ZnO NP- 20 µg/mL (D) gruplarında orta, ZnO NP- 40 µg/mL (E), ZnO NP- 80 µg/mL (F) ve ZnO NP- 160 µg/mL (G) gruplarında hafif düzeyde. + (hafif). ++ (orta), **TR:** Texas Red

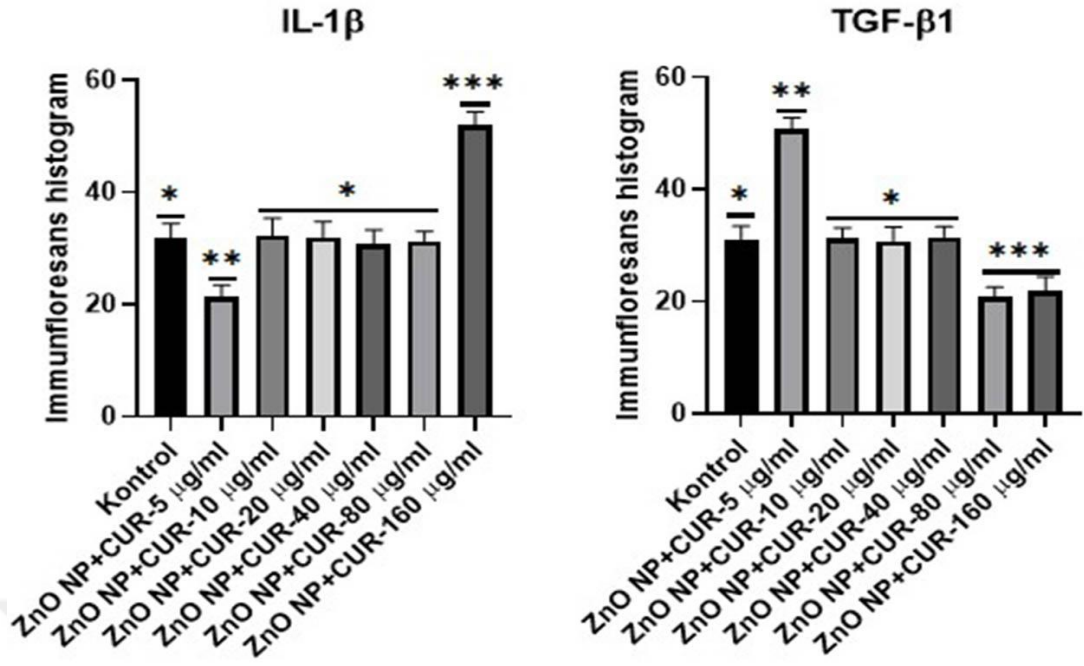


Şekil 4.23. ZnO NP gruplarında TGF-β1 pozitiflikleri.

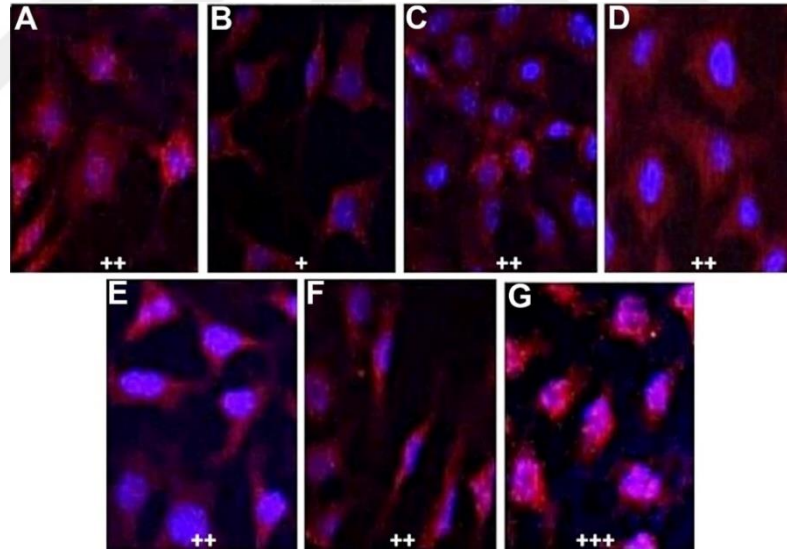
ZnO NP gruplarında TGF-β1 pozitiflikleri tüm gruplarda hafif düzeyde. Kontrol (A), ZnO NP-5 μg/mL (B), ZnO NP- 10 μg/mL (C), ZnO NP- 20 μg/mL (D), ZnO NP- 40 μg/mL (E), ZnO NP- 80 μg/mL (F) ve ZnO NP- 160 μg/mL (G) gruplarında hafif düzeyde (+). **FITC:** Fluorescein isothiocyanate

ZnO NP + CUR uygulanan gruplarda TGF-β1 düzeyi de en yüksek ZnO NP + CUR- 5 μg/mL grubundaydı. Diğer uygulama gruplarından, Kontrol, ZnO NP + CUR- 10 μg/mL, ZnO NP + CUR- 20 μg/mL, ZnO NP + CUR- 40 μg/mL’de orta, ZnO NP + CUR- 80 μg/mL, ZnO NP + CUR- 160 μg/mL’de ise hafif düzeyde TGF-β1 pozitiflikleri tespit edildi.

IL-1β düzeyleri açısından yapılan floresans boyamalar ile TGF-β1’nin floresans boyamaları kıyaslandığında araların çoğu gruplarda benzer şekilde gözlenen ters bir korelasyon vardı. IL-1β pozitiflikleri en hafif ZnO NP + CUR- 5 μg/mL grubunda, en şiddetli ZnO NP + CUR- 160 μg/mL grubunda diğer gruplarda ise orta düzeydeydi (Şekil 4.24-4.26).

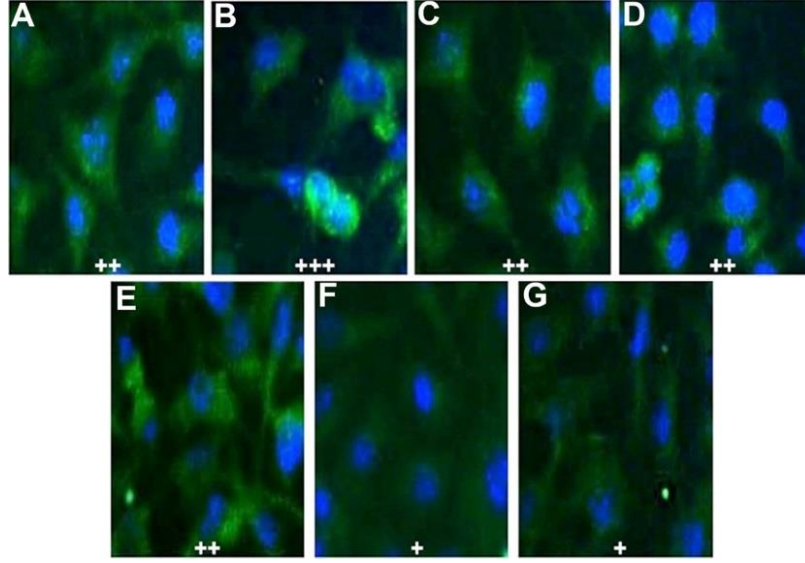


Şekil 4.24. ZnO NP + CUR gruplarında IL-1β ve TGF-β1 floresans pozitiflikleri.
*, **, *** Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p < 0.001)



Şekil 4.25. ZnO NP + CUR gruplarında IL-1β pozitiflikleri.

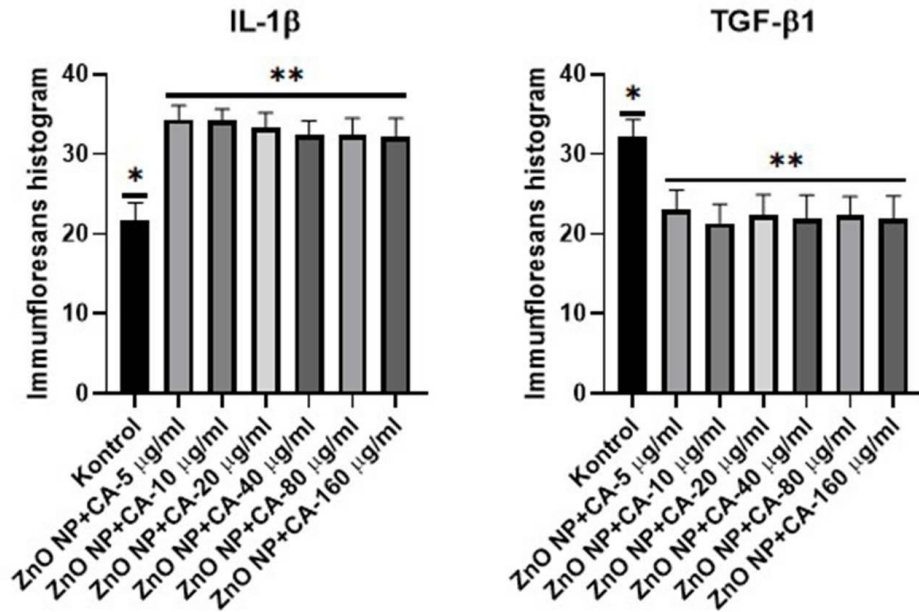
Kontrol (A) grubunda orta, ZnO NP + CUR- 5 µg/mL (B) grubunda hafif, ZnO NP + CUR- 10 µg/mL (C), ZnO NP + CUR- 20 µg/mL (D), ZnO NP + CUR- 40 µg/mL (E), ZnO NP + CUR- 80 µg/mL (F) gruplarında orta, ZnO NP + CUR- 160 µg/mL (G) grubunda şiddetli düzeyde. + (hafif). ++ (orta), +++(şiddetli). **TR:** Texas Red



Şekil 4.26. ZnO NP + CUR gruplarında TGF-β1 pozitiflikleri.

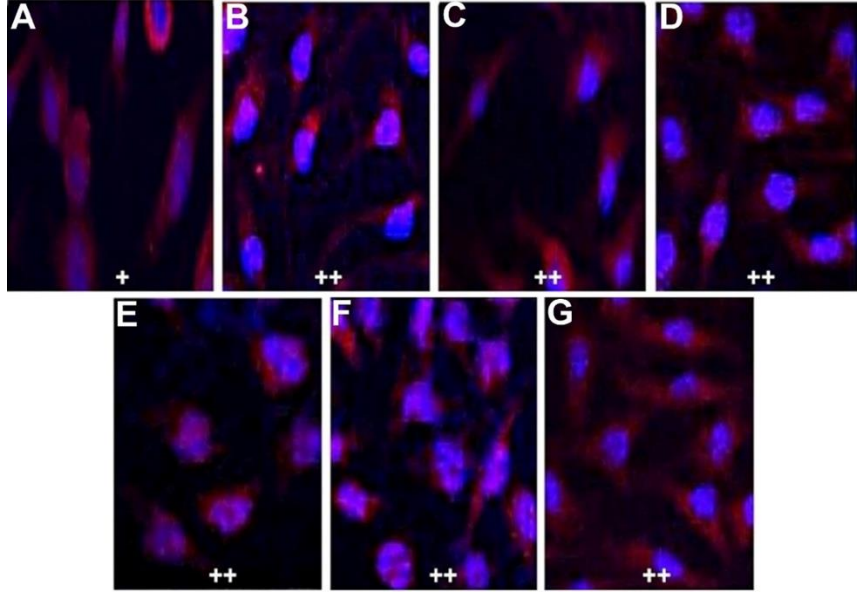
Kontrol (A) grubunda orta, ZnO NP + CUR- 5 µg/mL (B) grubunda şiddetli, ZnO NP + CUR- 10 µg/mL (C), ZnO NP + CUR- 20 µg/mL (D), ZnO NP + CUR- 40 µg/mL (E) gruplarında orta, ZnO NP + CUR- 80 µg/mL (F), ZnO NP +CUR- 160 µg/mL (G) grubunda hafif düzeyde. + (hafif). ++ (orta), +++(şiddetli). **FITC:** Fluorescein isothiocyanate

ZnO NP + CA uygulanan gruplarda istatistiksel farklılıklar ZnO NP + CUR ve ZnO NP gruplarına göre azdı. Kontrol grubunda TGF-β1 floresans pozitiflikleri diğer uygulama gruplarına göre daha fazla, IL-1β floresans pozitiflikleri ise diğer gruplarına göre daha azdı (Şekil 4.27- 4.29).



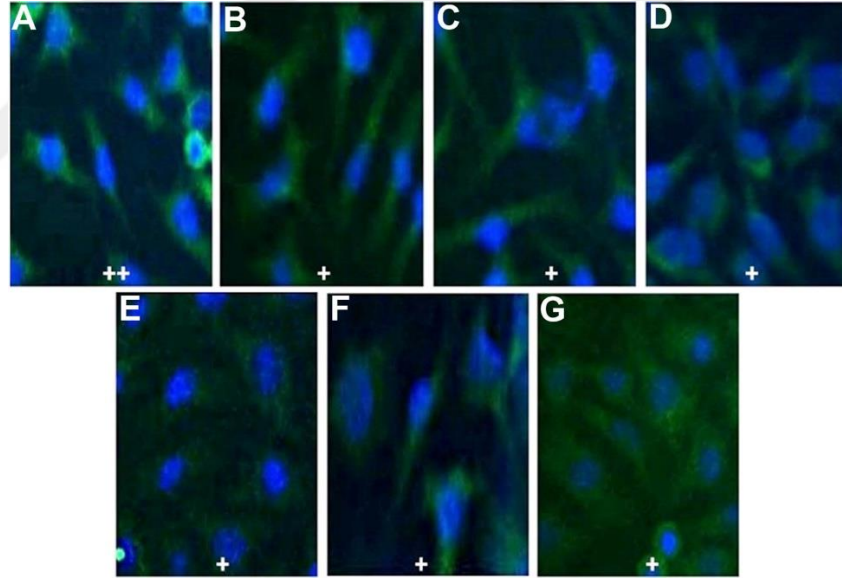
Şekil 4.27. ZnO NP + CA gruplarında IL-1β ve TGF-β1 floresans pozitiflikleri.

*** Gruplar arası farklılığı göstermektedir (p <0.001)



Şekil 4.28. ZnO NP + CA gruplarında IL-1 β pozitiflikleri.

Kontrol (A) grubunda hafif, ZnO NP + CA- 5 $\mu\text{g/mL}$ (B), ZnO NP + CA- 10 $\mu\text{g/mL}$ (C), ZnO NP + CA- 20 $\mu\text{g/mL}$ (D), ZnO NP + CA- 40 $\mu\text{g/mL}$ (E), ZnO NP + CA- 80 $\mu\text{g/mL}$ (F), ZnO NP + CA- 160 $\mu\text{g/mL}$ (G) gruplarında orta şiddetli düzeyde. + (hafif). ++ (orta), **TR:** Texas Red



Şekil 4.29. ZnO NP + CA gruplarında TGF- β 1 pozitiflikleri.

Kontrol (A) grubunda orta, ZnO NP + CA- 5 $\mu\text{g/mL}$ (B), ZnO NP + CA- 10 $\mu\text{g/mL}$ (C), ZnO NP + CA- 20 $\mu\text{g/mL}$ (D), ZnO NP + CA- 40 $\mu\text{g/mL}$ (E), ZnO NP + CA- 80 $\mu\text{g/mL}$ (F), ZnO NP + CA- 160 $\mu\text{g/mL}$ (G) gruplarında hafif düzeyde. + (hafif). ++ (orta), **FITC:** Fluorescein isothiocyanate

5. TARTIŞMA

Tez çalışmamızda, Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitki ekstresi kullanılarak ilk kez yeşil hidrotermal sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin ve bu nanopartiküllerin bitkisel kaynaklı fenolik bileşikler olan kurkumin ve kafeik asit ile modifiye edilmesiyle oluşan yapıların insan oral fibroblast hücreleri üzerindeki yara iyileştirici etkilerinin *in vitro* şartlar altında incelenmesi ve bu olaylarda rol oynayan biyolojik belirteçlerin salınımı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yara, bir dokunun normal anatomik yapı ve işlevinin hasar görmesi veya bozulması olarak tanımlanmaktadır (Robson et al., 2001). Yara iyileşmesi, doku bütünlüğünün bozulmasıyla fibroblastlar, trombositler, makrofajlar gibi çeşitli hücre tipleri ile ekstraselüler matriks bileşenlerinin etkileşimini içeren, ardışık evrelerden oluşan kompleks ve dinamik bir biyolojik süreçtir (Robson et al., 2001). Yara iyileşmesinde doku onarımı sırasıyla hemostaz ve koagülasyon, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme olmak üzere dört evrede gerçekleşmektedir (Velnar et al., 2009). Bu temel yara iyileşme prensibi, periodontal dokulardaki yara iyileşme süreci için de geçerlidir (Polimeni et al., 2006). Bu süreçte özellikle oral fibroblastlar, doku homeostazı, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesi, ekstraselüler matriks sentezi ve remodelasyon gibi çok sayıda fonksiyonu olan önemli bir hücresel faktördür. Bu özellikleriyle sadece bağ dokusu hücreleri değil, aynı zamanda potansiyel immünomodülatör ve terapötik hedefler olarak da değerlendirilmektedir (Chiquet et al., 2015). Tüm bu sebeplerden dolayı, bir maddenin terapötik ajan olarak uygunluğunun belirlenebilmesi için oral fibroblast hücreleri üzerindeki proliferatif ve sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Güncel literatürde, yara iyileşme süreçlerini desteklemeye yönelik alternatif tedavi yaklaşımları kapsamında, ZnO NP'lerin yanı sıra bitkisel kökenli antioksidan özellikler gösteren fenolik bileşiklerden kurkumin ve kafeik asidin yara onarımı üzerindeki terapötik potansiyelleri araştırılmıştır (Chen et al., 2022; Salehi et al., 2024; Sukumaran et al., 2020).

Nanoteknolojinin gelişmesiyle birlikte nanopartiküller diş hekimliğinde kullanım alanı bulmuştur ve bunlar arasında ZnO NP'ler dikkat çekmektedir (Pushpalatha et al., 2022). Günümüzde çinko oksit, periodontal pansumanların temel bileşenlerinden biridir (Baghani & Kadkhodazadeh, 2013). ZnO NP'ler benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle biyogörüntüleme, antikanser, antidiyabetik, antibakteriyel, anti-inflamatuar ve yara iyileşmesi gibi biyomedikal amaçlar için kullanılmaktadır (Dutta & Sugumaran, 2021). Mou ve arkadaşları, periodontitisin tedavisinde kullanılmak üzere minosiklin ve çinko oksit nanoparçacıkları içeren serum albümin mikroküreler geliştirmiş ve bu mikroküreleri Carbopol 940 bazlı bir hidrojel içerisine entegre ederek ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş periodontitis modelinde diş eti dokusunun iyileşmesinde yüksek düzeyde etkinlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Mou et al., 2019). Bu özellikler doğrultusunda ZnO NP'leri tez çalışmamızda etkili yara yönetimi ve biyouyumlu yapıları nedeniyle tercih edilmiştir.

Nanopartiküllerin sentezinde kullanılan geleneksel teknikler (kimyasal ve fiziksel metotlar), tehlikeli ve zararlı kimyasalların kullanılması nedeniyle hem yüksek maliyetlidir hem de çevre açısından ciddi riskler taşımaktadır. Bu kimyasalların varlığı, aynı zamanda insan sağlığı üzerinde çeşitli olumsuz etkilere yol açabilmektedir (Ahmed et al., 2017). Yeşil sentez ise bitkiler, bakteriler, mantarlar, algler, hücreler vb. kullanılarak nanopartiküllerin sentezlendiği çevre dostu, uygun maliyetli, biyouyumlu ve güvenli bir yaklaşımdır. Bu doğal suşlar ve bitki özleri hem indirgeyici ajan olarak hem

de kaplayıcı veya stabilizasyon maddesi olarak işlev gören bazı fitokimyasallar salgılamaktadır. Özellikle bitkiler büyük ölçekli, kararlı, şekil ve boyut olarak değişen nanopartiküllerin üretimine olanak tanıdıkları için nanopartikül sentezinde en çok tercih edilen kaynaklardır (Agarwal et al., 2017). Irfan ve arkadaşları (2022), *Acacia modesta* bitkisi kullanılarak yeşil sentez yoluyla elde ettikleri ZnO NP'lerinin, *E. coli* ve Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) gibi patojen bakterilere karşı güçlü bir antibakteriyel etki gösterdiğini bildirmiştir. Aynı çalışmada, söz konusu ZnO NP'lerle kaplanarak geliştirilen cerrahi sütürlerin, sıçanlarda oluşturulan insizyonel yara modelinde hızlı epitelizasyon, etkin yara kontraksiyonu, düşük inflamasyon düzeyi ve enfeksiyonsuz yara iyileşmesi sağladığı rapor edilmiştir (Irfan et al., 2022). Bu bulgular, yeşil sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin, sahip oldukları antibakteriyel ve biyolojik etkiler sayesinde yara iyileşmesini desteklediğini açıkça ortaya koymaktadır. Bu doğrultuda, çalışmamızda da mevcut literatürle uyumlu olarak yeşil sentez yöntemi tercih edilmiştir.

Hidrotermal sentez; basınç ve sıcaklığın birleşimiyle daha küçük ve boyut kontrollü nanopartiküllerin elde edilmesini sağladığından, yeşil sentezle birlikte kullanıldığında önemli avantajlar sunmaktadır. Ayrıca, ilave kimyasal madde kullanılmadığı için toksik etki oluşturmaz. Tüm bu özellikleriyle, diğer yöntemlere alternatif bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Li et al., 2016).

A. agallocha bitkisi, birçok farmakolojik aktiviteye sahip olup, antioksidan, antidiyabetik, analjezik, antipiretik, anti-inflamatuvar, antihistaminik, laksatif, antikanser, antimikrobiyal, antibakteriyel, anksiyolitik, sedatif etki ve antikonvülsan aktiviteler göstermektedir (Alam et al., 2015). *A. agallocha* bitkisinin öne çıkan biyoaktif bileşenleri arasında alkaloidler, saponinler, steroidler, terpenoidler, tanenler, flavonoidler ve fenolik bileşikler bulunmaktadır (Satapathy et al., 2009). Bu fitokimyasallar, metallerin metalik nanopartiküllere indirgenmesine yardımcı olmaktadır (Devi & Ahmaruzzaman, 2017).

Literatürdeki mevcut çalışmalar incelendiğinde, *A. agallocha* bitki ekstresinin ZnO NP'lerin yeşil sentezinde kullanımına dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Ag@AgCl (gümüş/gümüş klorür) nanopartikülleri ve Au@Ag@AgCl (altın/gümüş/gümüş klorür) hibrit nanopartiküllerin sentezinde kullanıldığı ve başarılı olduğu rapor edilmiştir (Devi & Ahmaruzzaman, 2017; Devi et al., 2016). Bu sonuçlar, *A. agallocha* bitkisinin hem kararlı hem de yararlı nanopartiküllerin sentezlenmesinde indirgeyici ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda sentezlenen ZnO NP'lerinin karakterizasyonu için SEM, XRD ve FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir. SEM analizi sonucuna göre ZnO NP'lerin küresel yapıda ve 15 – 42 nm boyutlarında olduğu belirlenmiştir. XRD spektrumunda, ZnO NP'lere ait $2\theta = 31.74^\circ, 34.31^\circ, 36.15^\circ, 47.29^\circ, 56.45^\circ, 62.57^\circ, 67.66^\circ$ değerlerine ait karakteristik piklerin sırasıyla (100), (002), (101), (102), (110), (103), (201) düzlemlerine karşılık geldiği belirlendi. ZnO NP'lerin XRD analizine ait karakteristik piklerin Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi (Joint Committee on Powder Diffraction Standards, JCPDS) veri bankasındaki JCPDS Kart No: 89-0510 kart ile uyumlu olduğu ve ZnO NP'lerin wurtzite yapısında olduğu anlaşılmaktadır. Elde edilen bulgular literatürde sentezlenen ZnO NP'lerin XRD bulguları ile uyumludur (Barzinjy & Azeez, 2020). FT-IR spektrumları incelendiğinde ise; ZnO NP'lerin yapısında fonksiyonel gruplar tespit edilmiştir. Özellikle 400-600 nm arasında ZnO NP'lerine ait karakteristik pikler dikkat çekmektedir. Sentezlenen ZnO NP'lere ait karakterizasyon sonuçlarının literatürde bildirilen verilerle uyumlu olduğu belirlenmiştir (Hussein & Mohammed, 2021).

Kafeik asidin çalışmamızda tercih edilme nedenleri arasında; doku hasarını önleyici, immünomodülatör, anti-inflamatuar, antimikrobiyal ve güçlü antioksidan özelliklere sahip olması yer almaktadır (Sardi et al., 2016). Nitekim literatürde yer alan bir çalışmada, kafeik asidin antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri sayesinde yara

iyileşmesi süreci üzerinde olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada, cilt kesisi oluşturulan fare modellerinde kafeik asidin yara dokusundaki lipid peroksidasyonunu, fosfolipaz A2 ve myeloperoksidaz aktivitelerini azalttığı; buna karşın kollajen-benzeri polimer sentezini artırdığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada gerçekleştirilen hücre kültürü deneylerinde ise kafeik asidin, fibroblastlarda kollajen üretimini uyardığı, reaktif oksijen türlerinin üretimini baskıladığı, PGE2 ve histamin gibi inflamatuvar mediyatörlerin salınımını inhibe ettiği rapor edilmiştir (Song et al., 2008). Bu bulgular, çalışmamızda kafeik asidin tercih edilmesini bilimsel olarak desteklemektedir.

Bu tez kapsamında kullanılan diğer bir ajan olan kurkuminin, yara iyileşmesi alanında dikkate değer bir potansiyele sahip olduğu literatürde bildirilmektedir. Anti-inflamatuvar, antioksidan ve antibakteriyel özellikleriyle iyi bilinen kurkumin, doku iyileşmesinin karmaşık sürecini desteklemek amacıyla çeşitli faydalar sunmaktadır. İnflamatuvar reaksiyonları azaltarak, zararlı serbest radikalleri ortadan kaldırarak ve mikrobiyal gelişimi engelleyerek iyileşme için uygun bir ortamın oluşmasına katkıda bulunur. Ayrıca, anjiyogenezisi artırma ve kolajen üretimini uyarma kapasitesi, kurkuminin vaskülarizasyonu ve doku rejenerasyonunu destekleyici rolünü daha da pekiştirmektedir (Kumari et al., 2022). Lim ve arkadaşlarının (2016) tavşan modeli üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, topikal kurkumin uygulamasının oral ülserlerin iyileşme sürecini kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde hızlandığı rapor edilmiştir (Lim et al., 2016). Benzer şekilde, Emiroğlu ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışmada, nazal mukoza travması oluşturulan ratlarda, topikal kurkumin uygulamasının inflamatuvar yanıtı azalttığı ve yara iyileşme sürecini hızlandığı bildirilmiştir (Emiroglu et al., 2017). Bu bulgular, kurkuminin yara iyileşmesindeki etkinliğini güçlü bir biçimde desteklemekte ve çalışmamızda kurkuminin tercih edilmesine yönelik bilimsel açıdan sağlam bir gerekçe oluşturmaktadır.

Çalışmamızda kurkumin, kafeik asit ve *A. agallocha* bitki ekstresi kullanılarak yeşil hidrotermal sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin insan oral fibroblast (HOF) hücreleri üzerindeki proliferatif ve sitotoksik etkilerini değerlendirebilmek amacıyla MTT testi uygulanmıştır. MTT testi, mitokondriyal aktivitesi süren canlı hücreleri tespit etmekte kullanılan, güvenilirliği yüksek ve uygulanması pratik bir yöntemdir. Bu test, yalnızca hücre proliferasyonu ve sitotoksitesinin değerlendirilmesinde değil, aynı zamanda hücrelerin aktivasyonunun belirlenmesinde de yaygın olarak kullanılan bir analiz yöntemidir (Mosmann, 1983; Sylvester, 2011).

Yapmış olduğumuz çalışmada, kurkumin ve kafeik asidin hücre canlılığı üzerindeki proliferatif etkisi, HOF hücrelerinde 24 saatlik bir süre boyunca 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 μM 'lık dozlarda MTT testi ile değerlendirildi.

5 μM konsantrasyonundaki CA uygulamasının HOF hücre canlılığında artışa yol açtığı gözlemlenmiş olmakla birlikte, gruplar arasında hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

CUR-160 μM 'lık dozu HOF hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmaya neden olmuştur. Benzer şekilde, Rujirachotiwat ve Suttamanatwong (2021) tarafından yapılan çalışmada da 0,1–20 μM kurkumin konsantrasyonlarının insan gingival hücrelerinin canlılığı üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadığı, buna karşın 30 ve 50 μM kurkuminin doz bağımlı sitotoksositeye neden olduğu bildirilmiştir. Her iki çalışma da düşük doz kurkuminin hücre canlılığı üzerinde toksik bir etki oluşturmadığını, ancak yüksek dozlarda hücre canlılığında azalma meydana geldiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bizim çalışmamızda kullanılan 80 ve 160 μM gibi daha yüksek dozlar, önceki çalışmada test edilmemiştir ve bu yönüyle mevcut çalışmamız literatüre katkı sağlamaktadır (Rujirachotiwat & Suttamanatwong, 2021).

ZnO NP'lerin 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 µg/mL dozları HOF hücrelerine uygulanmıştır ve 24-72 saatlik MTT testi sonuçları Şekil 4.6 ve 4.9'da gösterilmiştir. Tüm doz grupları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 24 saatlik MTT testi sonuçlarına göre 20 µg/mL ve 40 µg/mL dozlarının yüksek proliferatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. 72 saatlik MTT testi sonuçlarında ise hücrelerin bu süre zarfında kültür kuyucuklarını yeterli düzeyde doldurmuş olmaları nedeniyle hücre canlılığında ek bir artış gözlenmemiştir.

Şeker ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, hidrotermal yöntemle sentezlenen ZnO NP'lerin insan periodontal ligament fibroblastları ile fare dermal fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri 6, 24 ve 48 saatlik sürelerle *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. ZnO NP'lerinin 50–100 µg/mL konsantrasyonlarında her iki hücre tipinde de toksik etki gösterdiğini ve bu etkinin hem uygulanan doza hem de maruz kalma süresine bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir (Şeker et al., 2014).

Chen ve arkadaşlarının ZnO NP'lerin insan gingival fibroblast hücrelerinin proliferasyonu ve toksisitesi üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada, ZnO NP'lerin 5–25 µg/mL konsantrasyon aralığında hücre proliferasyonu üzerinde sınırlı bir etki gösterdiği, ancak konsantrasyonun 50 µg/mL'den üzerine çıkmasıyla birlikte hücre proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir (Chen et al., 2022). Bu bulgular doğrultusunda, ZnO NP'lerin biyomedikal uygulamalardaki kullanımı açısından doz ve maruz kalma süresinin dikkatle optimize edilmesi gerektiği hem tez çalışmamızda hem de literatürde bildirilen araştırmalarda açıkça ortaya konulmuştur.

Missier ve arkadaşlarının, limon özü kullanarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin, insan gingival fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini inceledikleri çalışmada, ZnO NP'ler 10–200 ng/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. MTT testi sonuçları, hücre canlılığının ZnO NP'lerin artan konsantrasyonuna bağlı olarak azalma eğilimi gösterdiğini ortaya koymakla birlikte, en

yüksek doz olan 200 ng/mL’de bile hücre canlılığının %84 düzeyinde korunabildiğini göstermiştir (Missier et al., 2024). Bu bulgular, tarafımızca yürütülen çalışmada elde edilen verilerle birlikte değerlendirildiğinde, gözlenen farklılığa Missier ve ark. çalışmasında ZnO NP’lerin ng/mL düzeyinde oldukça düşük konsantrasyonlarda uygulanmasının neden olabileceği düşünülmektedir.

In vitro yara iyileşmesi, Scratch testi (çizik testi) ile değerlendirilmiştir. Scratch testi, hücrelerin farklı koşullar altında göç ve çoğalma potansiyellerinin değerlendirildiği bir tekniktir. Bu yöntemde, tek bir tabaka halinde çoğalan hücrelerde bir mikropipet ucu kullanılarak yarayı taklit eden bir çizgi oluşturulur. Ardından, hücrelere terapötik veya toksik ajanlar uygulanarak pipet ucu ile oluşturulan yaranın kapanma miktarı ölçülür, kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilir (Keese et al., 2004). ZnO NP’lerin 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 µg/mL dozları yara iyileşme modeline uygulanmıştır. 6,18 ve 24. saatlerde hücreler fotoğraflanmıştır. ZnO NP’lerin fotoğrafları Şekil 4.12’de verilmiştir. Fotoğraflarda da görüldüğü üzere 20 µg/mL ve 40 µg/mL’lik dozların yara iyileşme sürecine olumlu katkı sağladığı gözlemlenmiştir.

Erdoğan ve Çevik (2023), ZnO NP’lerin *in vitro* yara iyileştirme etkilerini değerlendirmek amacıyla *Saccharomyces cerevisiae* sulu lizatını kullanarak mikrodalga yöntemiyle ZnO NP’leri sentezlemiştir. Çalışmalarında, ZnO NP’ler ile tedavi edilen L929 fare fibroblast hücrelerinde doz bağımlı toksik etki gözlenmediği ve 10, 100 ve 1000 µg/mL ZnO NP ile tedavi edilen L929 fare fibroblast hücrelerinde yara kapanma miktarının kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir (Erdoğan & Çevik, 2023).

Aydın ve ark. (2024), ZnO NP’lerin *in vitro* yara iyileştirme etkinliğini değerlendirmek amacıyla aynısafa (*Calendula officinalis* L.) bitkisinin çiçek özünü kullanarak yeşil sentez yöntemiyle ZnO NP’leri sentezlemiştir. Çalışmalarında farklı

konsantrasyonlardaki ZnO NP'lerin L929 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkilerini MTT testi ile değerlendirmiş ve ZnO NP'lerin düşük konsantrasyonlarda ($\leq 10 \mu\text{g/mL}$) L929 fibroblast hücrelerinde sitotoksosite oluşturmadığı, buna karşın yüksek konsantrasyonlarda hücre canlılığında belirgin bir azalma meydana getirdiği bildirilmiştir. *In vitro* yara iyileşme analizinde, $10 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda ZnO NP uygulanan hücrelerin, kontrol grubuna kıyasla daha iyi yara iyileştirme potansiyeli sergilediği belirlenmiştir (Aydin Acar et al., 2024).

Sezen ve ark. (2023), ZnO NP'lerin *in vitro* ortamda yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla, *Capparis spinosa* bitkisini kullanarak yeşil sentez yöntemi ile ZnO NP üretmiştir. MTT testi sonuçları, ZnO NP'lerin $2.5 \mu\text{g/mL}$ dozundan itibaren fibroblast hücreleri üzerinde toksik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. *In vitro* yara iyileşmesi analizlerinde ise, hücre proliferasyonunu desteklediği belirlenen düşük doz ZnO NP'ler kullanılmış ve bu dozlarla tedavi edilen tüm gruplarda, dimetil sülfoksit uygulanan gruba kıyasla daha hızlı yara kapanması sağlandığı tespit edilmiştir (Sezen et al., 2023). Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında, ZnO NP'lerin *in vitro* yara iyileşme potansiyelinin mevcut olduğu, ancak bu etkinin doza, sentez yöntemine, nanopartikül boyutuna, hücre tipine ve uygulama süresine bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterebileceği sonucuna varılabilir.

ZnO NP + CUR'un 5, 10, 20, 40, 80 ve $160 \mu\text{g/mL}$ dozları HOF hücrelerine uygulanmıştır ve 24-72 saatlik MTT sonuçları Şekil 4.7 ve 4.10'da gösterilmiştir. Tüm doz grupları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 24 saatlik MTT testi sonuçlarına göre 5, 10 ve $20 \mu\text{g/mL}$ dozlarının yüksek proliferatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. 72 saatlik MTT testi sonuçlarında $5 \mu\text{g/mL}$ dozu en yüksek proliferatif etkiyi göstermiştir. Bu durumun, $5 \mu\text{g/mL}$ dozunun proliferatif etkisini daha yavaş göstermesinden

kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Diğer dozlarda ise hücrelerin, geçen süre boyunca kuyucukları yeterli düzeyde doldurduğu gözlemlenmiştir.

Tüm bu sonuçların değerlendirilmesinin ardından, aynı dozlar yara iyileşme modeline uygulanmıştır. 6,18 ve 24. saatlerde hücreler fotoğraflanmıştır. ZnO NP + CUR 'un fotoğrafları Şekil 4.13'de verilmiştir. Fotoğraflarda görüldüğü üzere 5, 10 ve 20 µg/mL'lik dozların yara iyileşme sürecine olumlu katkı sağladığı gözlemlenmiştir.

ZnO NP + CUR kombinasyonu, elde edilen bulgular doğrultusunda sinerjistik bir etki göstererek düşük dozlarda dahi hücre proliferasyonunu uzun süreli olarak artırmıştır. Bu etki, ZnO NP'lerin kurkuminin düşük çözünürlük ve sınırlı biyoyararlanım problemlerini ortadan kaldırma potansiyelinden kaynaklanabilir. Ayrıca, bu nanokompozit sistemin sağladığı kontrollü salınım mekanizması, terapötik etkinin düşük dozlarda dahi sürdürülebilmesine olanak tanımış ve böylece doz bağımlı sitotoksosite riskinin azaltılmasına katkı sağlamış olabilir.

Literatürde Aslam ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği eksizyonel yara modeli çalışmasında, ZnO-kurkumin nanokonjugatları ile tedavi edilen sıçanların dermal bölgesinin morfolojik olarak normale yakın bir yapıya sahip olduğu bildirilmiştir. Bu grupta dermis tabakasında belirgin kolajen demetlerinin oluştuğu, ileri düzeyde fibrozis ve anjiyogenez gözlemlendiği, değişmiş kolajen matriks yapısının kontrol grubundaki normal dokuya benzer özellikler sergilediği rapor edilmiştir. Çalışmada, ZnO-kurkumin nanokompozit formülasyonunun tek başına ZnO veya kurkumin kullanımına kıyasla daha düşük dozlarda benzer biyolojik etkinlik sağlayabildiği; böylece tedavi etkinliği korunurken sitotoksik etkilerin de önemli ölçüde azaltılabildiği vurgulanmıştır (Aslam et al., 2022).

Mevcut çalışma sonuçlarımız ile Aslam ve ark. (2022) tarafından raporlanan bulgular birlikte değerlendirildiğinde, ZnO NP + CUR kombinasyonunun düşük dozlarda

yüksek terapötik etkinlik sağladığı, yara iyileşmesini hızlandırdığı ve sitotoksikite riskini azalttığı güçlü biçimde desteklenmektedir. Bu durum, söz konusu kombinasyonun hem etkinlik hem de güvenlik açısından yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu odaklı uygulamalarda umut verici bir strateji olabileceğini göstermektedir.

ZnO NP + CA'nın 5, 10, 20, 40, 80 ve 160 µg/mL dozları HOF hücrelerine uygulanmıştır ve 24-72 saatlik MTT testi sonuçları Şekil 4.8 ve 4.11'de gösterilmiştir. Tüm doz grupları kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 24 saatlik MTT testi sonuçlarına göre 20 µg/mL ve 40 µg/mL dozlarının yüksek proliferatif etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. 160 µg/mL dozunda hücreler üzerinde sitotoksik etki gözlenmiştir. 72 saatlik MTT testi sonuçlarında ise hücre canlılığında bir artış gözlenmemiştir.

Tüm bu sonuçların değerlendirilmesinin ardından, aynı dozlar yara iyileşme modeline uygulanmıştır. 6,18 ve 24. saatlerde hücreler fotoğraflanmıştır. ZnO NP + CA'nın fotoğrafları Şekil 4.14'de verilmiştir. Fotoğraflarda görüldüğü üzere 20 µg/mL'lik dozun yara iyileşme sürecine olumlu katkı sağladığı gözlemlenmiştir. Mevcut literatür incelendiğinde, ZnO NP ile kafeik asit kombinasyonunun yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini doğrudan inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Literatürde Choi ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, kafeik asit ile fonksiyonlandırılmış ZnO nanoparçacıklarının (ZnO@CA) hem güçlü antioksidan özellik gösterdiği hem de gram pozitif bakterilere (*S. aureus*) ve gram negatif bakterilere (*E. coli*) karşı belirgin antibakteriyel etki sergilediği bildirilmiştir (Choi et al., 2017). Yara iyileşme sürecinde enfeksiyonun önlenmesi ve oksidatif stresin azaltılması, iyileşmenin hızlanması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu doğrultuda, ZnO@CA gibi fonksiyonel nanoparçacıkların hem antimikrobiyal etki sağlaması hem de doku yenilenmesini desteklemesi nedeniyle yara örtüleri, hidrojel sistemleri ve doku mühendisliği iskeleleri gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılma potansiyeli

bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu tür nanomalzemelerin biyouyumluluğunun *in vivo* modellerde test edilmesi ve uzun vadeli güvenilirliğinin değerlendirilmesi gereklidir.

Yara modeli deneyleri tamamlandıktan sonra çalışmamızın son basamağında ZnO NP, ZnO NP+ CUR, ZnO NP+ CA'nın HOF hücrelerinde TGF- β 1 ve IL-1 β biyobelirteçleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla hem ELISA hem de immunoflorosans inceleme yöntemi kullanılmıştır.

IL-1 β hem akut hem de kronik inflamatuvar süreçlerde merkezi bir rol oynayan çok fonksiyonlu bir sitokindir. Başlıca monositler, makrofajlar ve polimorfonükleer fagositler tarafından üretilmekle birlikte; epitel hücreleri, fibroblastlar, keratinositler, osteositler ve B lenfositler gibi çeşitli hücresel kaynaklardan da sentezlenebilmektedir (Delaleu & Bickel, 2004). IL-1 β , yara iyileşme sürecinin düzenlenmesinde görev alan başlıca proinflamatuvar mediyatörlerden biri olarak öne çıkmaktadır (Oncul et al., 2007). Bununla birlikte, IL-1'in aşırı veya uzun süreli aktivitesinin yara iyileşme sürecini olumsuz etkileyebileceği ve bu nedenle uygun bir şekilde düzenlenmesinin sağlıklı ve dengeli bir yara iyileşme süreci için hayati önem taşıdığını belirtmek önemlidir (Mahmoud et al., 2024).

Elhabal ve arkadaşları (2024), *Althaea officinalis* çiçek özütü kullanılarak yeşil sentez yöntemiyle elde edilen ZnO NP'lerin diyabetik ratlarda oluşturulan yara modelinde IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyon düzeylerini anlamlı şekilde azalttığını rapor etmiştir (Elhabal et al., 2024).

Sunduğumuz tez çalışmasında elde edilen ELISA analiz sonuçlarına göre, ZnO NP'lerin 40 μ g/mL ve 80 μ g/mL dozlarında uygulanması, kontrol grubuna kıyasla IL-1 β düzeylerinde azalma sağlamıştır. Ayrıca, ZnO NP + CUR kombinasyonunun 10 μ g/mL ve 20 μ g/mL dozları ile ZnO NP + CA kombinasyonunun 20 μ g/mL ve 40 μ g/mL dozlarında IL-1 β düzeylerinde düşüş gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen

bulgular, literatürde bildirilen verilerle uyumlu olarak IL-1 β düzeylerinde bir azalma olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, mevcut bilimsel bilgilerle paralellik göstermektedir.

TGF- β , yara iyileşmesinin inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme evrelerinde kritik düzenleyici rollere sahip bir mediyatördür (Pakyari et al., 2013). Bu süreç boyunca TGF- β ; hücrelerin yara bölgesine göçü ve proliferasyonu, hücre dışı matriks bileşenlerinin sentezi, anjiyogenez ve dokunun yeniden şekillenmesi gibi ardışık biyolojik olayların pek çoğunu düzenlemektedir (Amento & Beck, 2007). TGF- β sinyal yolunun düzensizliği, kronik yara oluşumuna ve yara iyileşme sürecinin bozulmasına neden olabilir. Kronik yaralarda, TGF- β sinyal iletimindeki eksiklikler veya dengesizlikler, iyileşme sürecinin gecikmesine ve doku onarımının etkin bir şekilde gerçekleşememesine yol açabilir (Mahmoud et al., 2024).

Sezen ve ark. (2023) *Capparis spinosa* özütü ile sentezlenen ZnO NP'lerinin *in vitro* yara modeli üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada, ZnO NP uygulanan gruplarda TGF- β 1 ekspresyonunun arttığını ve bu durumun yara iyileşmesini desteklediğini göstermiştir (Sezen et al., 2023). Zhu ve ark. (2024) yaptıkları çalışmada, ZnO nanoparçacıkları ve poliheksametilen biguanid hidroklorür (PHMB) kombinasyonu ile oluşturulan hidrojelin, *S. aureus* ile enfekte edilmiş fare cilt yara modelindeki iyileştirici etkilerini değerlendirmiştir. Histolojik incelemeler, ZnO NP–PHMB hidrojelin tam epitel bütünlüğü sağladığını, epidermis altındaki yeni kıl folikülleri ve yağ bezlerinin sayısını artırdığını ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu belirgin şekilde azalttığını göstermiştir. Ayrıca, 7. günde ZnO NP–PHMB hidrojelin uyguladığı grupta, kontrol grubuna kıyasla EGF ve TGF- β 1 düzeylerinde anlamlı artış, TNF- α düzeylerinde ise belirgin bir azalma tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, ZnO NP–PHMB hidrojelin *S. aureus*

enfeksiyonunu etkin bir şekilde baskıladığını ve yara iyileşme sürecini hızlandırdığını ortaya koymuştur (Zhu et al., 2024).

Sunduğumuz tez çalışmasında elde edilen ELISA analiz sonuçlarına göre, ZnO NP'lerin 20 µg/mL, 40 µg/mL ve 80 µg/mL dozlarında uygulanması, kontrol grubuna kıyasla TGF-β1 düzeylerinde artış sağlamıştır. Benzer şekilde, ZnO NP + CUR kombinasyonunun 5 µg/mL ve 10 µg/mL dozlarında, ZnO NP + CA kombinasyonunun ise 20 µg/mL ve 40 µg/mL dozlarında TGF-β1 düzeylerinde yükselme saptanmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulgular, literatürde de ifade edildiği üzere, yara iyileşmesinde önemli bir rol oynayan TGF-β1 düzeylerinde artış meydana geldiğini ortaya koymuştur.

İmmunofloresans analiz yönteminin sonuçlarına göre ZnO NP, ZnO NP+CUR, ZnO NP+CA uygulamasının, IL-1β ve TGF-β1 düzeyleri üzerinde doza bağlı değişimler gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, düşük doz ZnO NP uygulamasının IL-1β düzeyinde artışa yol açtığını, buna karşın yüksek doz uygulamanın IL-1β düzeylerini azalttığını ortaya koymuştur. ZnO NP uygulanan hücrelerde TGF-β1 düzeyinde genel olarak artış eğilimi gözlenmekle birlikte, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. ZnO NP + CUR uygulanan gruplarda, IL-1β düzeylerine ilişkin floresan boyamalar ile TGF-β1 düzeyine ilişkin floresan boyamalar karşılaştırıldığında, çoğu grupta benzer şekilde gözlenen ters yönlü bir korelasyon saptanmıştır. Örneğin, yüksek doz 160 µg/mL ZnO NP + CUR uygulamasının IL-1β düzeyini artırırken TGF-β1 düzeyinde de azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. ZnO NP + CA uygulamasının ise kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda IL-1β düzeyini artırdığı, buna karşın TGF-β1 düzeylerini azalttığı saptanmıştır.

Sitokinler ve büyüme faktörlerinin sınırlı bilgiye dayalı, değişken ve karmaşık etkileşimleri, yara iyileşmesi araştırma bulgularının yorumlanmasını zorlaştırmaktadır.

IL-1 β ve TGF- β 1 arasındaki korelasyonun yara iyileşmesi sürecinde zamanlama ve denge açısından kritik öneme sahiptir. Dengenin bozulması durumunda, IL-1 β 'nın baskın kalması kronik yara oluşumuna, TGF- β 1'in aşırı baskınlığı ise skar dokusunun gelişimine yol açabilmektedir (Mahmoud et al., 2024). Ayrıca, TGF- β 1'in proinflatuar sitokinlerin (IL-1, IL-12, TNF- α) üretimini inhibe ettiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Steinsvoll et al., 1999). Bu veriler, IL-1 β ve TGF- β 1'in doz bağımlı olarak ters yönlü etkiler sergileyebileceğini düşündürmektedir. Dolayısıyla, bu iki molekülün yara iyileşme sürecinde karşılıklı olarak düzenleyici roller üstlendiği ve doku onarımındaki denge mekanizmasının önemli bir parçası olabileceği değerlendirilmektedir.

Ayrıca, immunofloresans ve ELISA teknikleri, protein düzeylerinin değerlendirilmesinde farklı prensiplere dayanan yöntemler olup elde edilen veriler arasında belirli ölçüde farklılıklar gözlenmesi olasıdır. İmmunofloresans yöntemi, hedef proteinin hücre veya doku içerisindeki lokalizasyonunu ve bağlanma yoğunluğunu mikroskopik düzeyde görselleştirerek nitel ve yarı kantitatif bilgi sunar (Guven et al., 2024; Kaplan et al., 2024). Buna karşılık ELISA, hücre süpernatantında serbest halde bulunan proteinlerin toplam miktarını kantitatif olarak ölçer (Yerebakan et al., 2025). Bu nedenle, hücre içi veya hücre zarı lokalizasyonuna sahip proteinlerin ekspresyon düzeyleri ile salınmış protein konsantrasyonları arasında farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Çalışmamızda da bu yöntemsel ayrım, IL-1 β ve TGF- β 1 düzeylerine ilişkin elde edilen sonuçlar arasındaki varyasyonun olası nedenlerinden biri olarak değerlendirilebilir.

Literatür incelendiğinde, bu çalışma insan oral fibroblast hücrelerinde oluşturulan yara iyileşmesi modelinde yeşil hidrotermal yöntemle sentezlenen ZnO NP'lerin ve bu nanopartiküllerin kurkumin ve kafeik asitle modifikasyonlarının kullanıldığı ilk çalışmadır.

Çalışmadan elde edilen sitotoksosite ve yara iyileşme analizleri, özellikle periodontoloji alanı başta olmak üzere diş hekimliği açısından umut vadeden sonuçlar sunmaktadır. Bununla birlikte, bulguların yalnızca *in vitro* koşullarda elde edilmiş olması araştırmanın önemli bir kısıtlılığıdır. Bu nedenle, biyosentez yöntemiyle elde edilen nanopartiküllerin rolünü daha kapsamlı şekilde değerlendirebilmek için ileri düzeyde hayvan deneyleri ve histolojik analizlere ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitki ekstresi kullanılarak güvenli, çevre dostu ve uygun maliyetli bir yaklaşım olan yeşil hidrotermal sentez yöntemiyle ZnO NP'ler başarıyla elde edildi.
2. MTT analizleri sonucunda, farklı konsantrasyonlarda uygulanan kafeik asidin insan oral fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerinde etkili olduğu belirlenmiş, ancak gruplar arasında hücre canlılığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.
3. MTT analizleri sonucunda, farklı konsantrasyonlarda uygulanan kurkuminin, en yüksek konsantrasyonda insan oral fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.
4. MTT sonuçlarına göre orta konsantrasyonlardaki ZnO NP'lerin kontrol grubuna kıyasla HOF hücrelerinin proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı ve yara iyileşmesi modelinde daha başarılı olduğu tespit edildi.
5. MTT sonuçlarına göre düşük ve orta konsantrasyonlardaki ZnO NP + CUR uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla HOF hücrelerinin proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı ve yara iyileşmesi modelinde daha başarılı olduğu tespit edildi.
6. MTT sonuçlarına göre orta konsantrasyonlardaki ZnO NP + CA uygulamalarının kontrol grubuna kıyasla HOF hücrelerinin proliferasyonunu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığı, en yüksek konsantrasyonda ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi. Yara iyileşmesi modelinde orta konsantrasyonlardaki ZnO NP + CA uygulamasının en başarılı grup olduğu belirlendi.

7. ELISA ve immunofloresans analizlerinden elde edilen bulgular, ZnO NP, ZnO NP + CUR ve ZnO NP + CA uygulamalarının HOF hücrelerinde IL-1 β ve TGF- β 1 salınımında doza bağımlı değişikliklere yol açtığını ortaya koymuştur.

Udi hindi (*Aquilaria agallocha*) bitki ekstresi kullanılarak yeşil hidrotermal yöntemle sentezlenen ZnO NP'lerin, sahip oldukları biyolojik aktivite ve potansiyel biyoyumluluk özellikleri sayesinde yara iyileşme süreçlerinde terapötik ajan olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

ZnO NP'lerin kurkumin ve kafeik asit gibi doğal bileşiklerle kombinasyonunun yara iyileşmesini hızlandıracak topikal formülasyonlar ve biyomedikal malzemelerin geliştirilmesinde önemli bir potansiyele sahip olduğu ortaya konmuştur.

Bununla birlikte, söz konusu nanopartiküllerin etkinlik ve güvenlik profillerinin gen düzeyinde ve *in vivo* koşullarda daha kapsamlı biçimde ortaya konulabilmesi için ileri düzey araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu kapsamda özellikle doz optimizasyonu, farklı hücre hatları ve hayvan modelleri üzerinde gerçekleştirilecek çalışmalar ile gözlenen biyolojik etkilerin altında yatan moleküler mekanizmaların ayrıntılı olarak incelenmesi büyük önem arz etmektedir. Böylece ZnO NP'lerin doğal antioksidanlarla birlikte kullanımının, yeni nesil anti-inflamatuar ve rejeneratif tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdelbaky, A. S., Mohamed, A. M., Sharaky, M., Mohamed, N. A., & Diab, Y. M. (2023). Green approach for the synthesis of ZnO nanoparticles using *Cymbopogon citratus* aqueous leaf extract: characterization and evaluation of their biological activities. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10(1), 63.
- Agarwal, H., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles—An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 406-413.
- Aggarwal, B. B., Sundaram, C., Malani, N., & Ichikawa, H. (2007). Curcumin: the Indian solid gold. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*, 1-75.
- Ågren, M. S., Chvapil, M., & Franzén, L. (1991). Enhancement of re-epithelialization with topical zinc oxide in porcine partial-thickness wounds. *Journal of Surgical Research*, 50(2), 101-105.
- Agunloye, O. M., Oboh, G., Ademiluyi, A. O., Ademosun, A. O., Akindahunsi, A. A., Oyagbemi, A. A., Omobowale, T. O., Ajibade, T. O., & Adedapo, A. A. (2019). Cardio-protective and antioxidant properties of caffeic acid and chlorogenic acid: Mechanistic role of angiotensin converting enzyme, cholinesterase and arginase activities in cyclosporine induced hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 450-458.
- Ahmed, S., Chaudhry, S. A., & Ikram, S. (2017). A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: a prospect towards green chemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 166, 272-284.

- Akbar, M. U., Zia, K. M., Akash, M. S. H., Nazir, A., Zuber, M., & Ibrahim, M. (2018). In-vivo anti-diabetic and wound healing potential of chitosan/alginate/maltodextrin/pluronic-based mixed polymeric micelles: curcumin therapeutic potential. *International journal of biological macromolecules*, 120, 2418-2430.
- Aksoy, H., & Özakpınar, Ö. B. (2014). Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18(3), 153-158.
- Alam, J., Mujahid, M., Jahan, Y., Bagga, P., & Rahman, M. A. (2017). Hepatoprotective potential of ethanolic extract of *Aquilaria agallocha* leaves against paracetamol induced hepatotoxicity in SD rats. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(1), 9-13.
- Alam, J., Mujahid, M., Rahman, M. A., Akhtar, J., Khalid, M., Jahan, Y., Basit, A., Khan, A., Shawwal, M., & Iqbal, S. S. (2015). An insight of pharmacognostic study and phytopharmacology of *Aquilaria agallocha*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(8), 173-181.
- Alshameri, A. W., & Owais, M. (2022). Antibacterial and cytotoxic potency of the plant-mediated synthesis of metallic nanoparticles Ag NPs and ZnO NPs: A review. *OpenNano*, 8, 100077.
- Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in microbiology*, 14, 1155622.
- Alves, C. C., Torrinas, R. S., Giorgi, R., Brentani, M. M., Logullo, A. F., Arias, V., Mauad, T., da Silva, L. F. F., & Waitzberg, D. L. (2010). Short-term specialized enteral diet fails to attenuate malnutrition impairment of experimental open wound acute healing. *Nutrition*, 26(9), 873-879.

- Amento, E. P., & Beck, L. S. (2007). TGF- β and wound healing. Ciba Foundation Symposium 157-Clinical Applications of TGF- β : Clinical Applications of TGF- β : Ciba Foundation Symposium 157,
- Aslam, Z., Roome, T., Razzak, A., Aslam, S. M., Zaidi, M. B., Kanwal, T., Sikandar, B., Bertino, M. F., Rehman, K., & Shah, M. R. (2022). Investigation of wound healing potential of photo-active curcumin-ZnO-nanoconjugates in excisional wound model. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 39, 102956.
- Aukhil, I. (2000). Biology of wound healing. *Periodontology 2000*, 22(1).
- Aydin Acar, C., Gencer, M. A., Pehlivanoglu, S., Yesilot, S., & Donmez, S. (2024). Green and eco-friendly biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Calendula officinalis* flower extract: Wound healing potential and antioxidant activity. *International wound journal*, 21(1), e14413.
- Baghani, Z., & Kadkhodazadeh, M. (2013). Periodontal dressing: a review article. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*, 7(4), 183.
- Baktır, G. (2019). Wound repair and experimental wound models. *Experimed*, 9(3), 130-137.
- Balaure, P. C., Holban, A. M., Grumezescu, A. M., Mogoşanu, G. D., Bălşeanu, T. A., Stan, M. S., Dinischiotu, A., Volceanov, A., & Mogoantă, L. (2019). In vitro and in vivo studies of novel fabricated bioactive dressings based on collagen and zinc oxide 3D scaffolds. *International journal of pharmaceutics*, 557, 199-207.
- Bansal, S. S., Goel, M., Aqil, F., Vadhanam, M. V., & Gupta, R. C. (2011). Advanced drug delivery systems of curcumin for cancer chemoprevention. *Cancer Prevention Research*, 4(8), 1158-1171.

- Bapat, R. A., Joshi, C. P., Bapat, P., Chaubal, T. V., Pandurangappa, R., Jnanendrappa, N., Gorain, B., Khurana, S., & Kesharwani, P. (2019). The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. *Drug discovery today*, 24(1), 85-98.
- Baran, M. F., Acay, H., & Keskin, C. (2020). Determination of antimicrobial and toxic metal removal activities of plant-based synthesized (*Capsicum annuum* L. Leaves), ecofriendly, gold nanomaterials. *Global Challenges*, 4(5), 1900104.
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*, 16(5), 585-601.
- Barzinjy, A. A., & Azeez, H. H. (2020). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using *Eucalyptus globulus* Labill. leaf extract and zinc nitrate hexahydrate salt. *SN Applied Sciences*, 2(5), 991.
- Baum, C. L., & Arpey, C. J. (2005). Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatologic surgery*, 31(6), 674-686.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.
- Bent, R., Moll, L., Grabbe, S., & Bros, M. (2018). Interleukin-1 beta—a friend or foe in malignancies? *International journal of molecular sciences*, 19(8), 2155.
- Bhardwaj, A., Bhardwaj, A., Misuriya, A., Maroli, S., Manjula, S., & Singh, A. K. (2014). Nanotechnology in dentistry: Present and future. *Journal of international oral health: JIOH*, 6(1), 121.
- Blanco-Fernandez, B., Castano, O., Mateos-Timoneda, M. Á., Engel, E., & Pérez-Amodio, S. (2021). Nanotechnology approaches in chronic wound healing. *Advances in wound care*, 10(5), 234-256.

- Brayner, R., Dahoumane, S. A., Yéprémian, C., Djediat, C., Meyer, M., Couté, A., & Fiévet, F. (2010). ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir*, 26(9), 6522-6528.
- Celep, Ş., & Koç, E. (2007). Nanoteknoloji ve tekstilde uygulama alanları. In: Institute of Science Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova
- Chen, F.-C., Huang, C.-M., Yu, X.-W., & Chen, Y.-Y. (2022). Effect of nano zinc oxide on proliferation and toxicity of human gingival cells. *Human & experimental toxicology*, 41, 09603271221080236.
- Chen, F.-M., & Jin, Y. (2010). Periodontal tissue engineering and regeneration: current approaches and expanding opportunities. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16(2), 219-255.
- Chiquet, M., Katsaros, C., & Kletsas, D. (2015). Multiple functions of gingival and mucoperiosteal fibroblasts in oral wound healing and repair. *Periodontology* 2000, 68(1), 21-40.
- Chitre, T., Bhutada, P., Nandakumar, K., Somani, R., Miniyaar, P., Mundhada, Y., Gore, S., & Jain, K. (2007). Analgesic and anti-inflammatory activity of heartwood of *Aquilaria agallocha* in laboratory animals. *Pharmacol Online*, 1, 288-298.
- Choi, K.-H., Nam, K. C., Lee, S.-Y., Cho, G., Jung, J.-S., Kim, H.-J., & Park, B. J. (2017). Antioxidant potential and antibacterial efficiency of caffeic acid-functionalized ZnO nanoparticles. *Nanomaterials*, 7(6), 148.
- Clark, R. A. (1985). Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. I. *Journal of the American academy of Dermatology*, 13(5), 701-725.
- Clark, R. A. (1993). Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. *The American journal of the medical sciences*, 306(1), 42-48.

- Clemetson, K. J. (2012). Platelets and primary haemostasis. *Thrombosis research*, 129(3), 220-224.
- Clifford, M. N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1033-1043.
- Conte, G., Nishimine, D., & Dault, S. (2005). Tissue engineering for periodontal regeneration. *Journal of the California Dental Association*, 33(3), 205-215.
- Cox, S., Eley, B., Kiili, M., Asikainen, A., Tervahartiala, T., & Sorsa, T. (2006). Collagen degradation by interleukin-1 β -stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases. *Oral Diseases*, 12(1), 34-40.
- Cutting, K., & Harding, K. (1994). Criteria for identifying wound infection. *Journal of wound care*, 3(4), 198-201.
- Delaleu, N., & Bickel, M. (2004). Interleukin-1b and interleukin-18: regulation and activity in local inflammation. *Periodontology 2000*, 35, 42a52.
- Devi, T. B., & Ahmaruzzaman, M. (2017). Bioinspired green and facile fabrication of Au@ Ag@ AgCl hybrid nanoparticles and their catalytic and antimicrobial properties. *ChemistrySelect*, 2(21), 5950-5957.
- Devi, T. B., Begum, S., & Ahmaruzzaman, M. (2016). Photo-catalytic activity of Plasmonic Ag@ AgCl nanoparticles (synthesized via a green route) for the effective degradation of Victoria Blue B from aqueous phase. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 160, 260-270.
- Diegelmann, R. F., & Evans, M. C. (2004). Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front biosci*, 9(1), 283-289.

- Dinareello, C. A. (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological reviews*, 281(1), 8-27.
- Drexler, K. E. (1992). *Nanosystems: molecular machinery, manufacturing, and computation*. John Wiley & Sons, Inc.
- Dutta, G., & Sugumaran, A. (2021). Bioengineered zinc oxide nanoparticles: Chemical, green, biological fabrication methods and its potential biomedical applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 66, 102853.
- Elhabal, S. F., Abdelaal, N., Saeed Al-Zuhairy, S. A. K., Elrefai, M. F. M., Elsaid Hamdan, A. M., Khalifa, M. M., Hababeh, S., Khasawneh, M. A., Khamis, G. M., & Nelson, J. (2024). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from *Althaea officinalis* flower extract coated with chitosan for potential healing effects on diabetic wounds by inhibiting TNF- α and IL-6/IL-1 β signaling pathways. *International journal of nanomedicine*, 3045-3070.
- Elumalai, K., Velmurugan, S., Ravi, S., Kathiravan, V., & Raj, G. A. (2015). Bio-approach: Plant mediated synthesis of ZnO nanoparticles and their catalytic reduction of methylene blue and antimicrobial activity. *Advanced Powder Technology*, 26(6), 1639-1651.
- Emiroglu, G., Ozergin Coskun, Z., Kalkan, Y., Celebi Erdivanli, O., Tumkaya, L., Terzi, S., Özgür, A., Demirci, M., & Dursun, E. (2017). The effects of curcumin on wound healing in a rat model of nasal mucosal trauma. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017(1), 9452392.
- Enoch, S., & Leaper, D. J. (2008). Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)*, 26(2), 31-37.

- Erdoğan, Ö., & Cevik, O. (2023). Investigation of the effects of zinc oxide nanoparticles synthesized by *Saccharomyces cerevisiae* aqueous lysate on in-vitro wound healing model. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 7(1), 127-135.
- Esmeray, E., & Özata, O. (2019). Use of nanoparticles in environmental engineering and synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) with basic laboratory materials. *Eur J Sci Technol*, 16, 521-527.
- Espíndola, K. M. M., Ferreira, R. G., Narvaez, L. E. M., Rosario, A. C. R. S., Da Silva, A. H. M., Silva, A. G. B., Vieira, A. P. O., & Monteiro, M. C. (2019). Chemical and pharmacological aspects of caffeic acid and its activity in hepatocarcinoma. *Frontiers in oncology*, 9, 541.
- Farid, R. M. (2016). A focus on curcumin local application in oral diseases management: mini review. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 6(1), 1.
- Fereydouni, N., Darroudi, M., Movaffagh, J., Shahroodi, A., Butler, A. E., Ganjali, S., & Sahebkar, A. (2019). Curcumin nanofibers for the purpose of wound healing. *Journal of cellular physiology*, 234(5), 5537-5554.
- Flanagan, M. (2000). The physiology of wound healing. *Journal of wound care*, 9(6), 299-300.
- Gantwerker, E. A., & Hom, D. B. (2011). Skin: histology and physiology of wound healing. *Facial plastic surgery clinics of North America*, 19(3), 441.
- Gao, Y., Han, Y., Cui, M., Tey, H. L., Wang, L., & Xu, C. (2017). ZnO nanoparticles as an antimicrobial tissue adhesive for skin wound closure. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(23), 4535-4541.
- George Broughton, I., Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7S), 12S-34S.

- Glim, J. E., van Egmond, M., Niessen, F. B., Everts, V., & Beelen, R. H. (2013). Detrimental dermal wound healing: what can we learn from the oral mucosa? *Wound repair and regeneration*, 21(5), 648-660.
- Goldman, R. (2004). Growth factors and chronic wound healing: past, present, and future. *Advances in skin & wound care*, 17(1), 24-35.
- Gour, A., & Jain, N. K. (2019). Advances in green synthesis of nanoparticles. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 844-851.
- Graves, D. T., Nooh, N., Gillen, T., Davey, M., Patel, S., Cottrell, D., & Amar, S. (2001). IL-1 plays a critical role in oral, but not dermal, wound healing. *The Journal of Immunology*, 167(9), 5316-5320.
- Greaves, N. S., Ashcroft, K. J., Baguneid, M., & Bayat, A. (2013). Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *Journal of dermatological science*, 72(3), 206-217.
- Greenhalgh, D. G. (1998). The role of apoptosis in wound healing. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 30(9), 1019-1030.
- Grotendorst, G. R., Soma, Y., Takehara, K., & Charette, M. (1989). EGF and TGF- α are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissue regeneration. *Journal of cellular physiology*, 139(3), 617-623.
- Gulati, M., Anand, V., Govila, V., & Jain, N. (2014). Host modulation therapy: An indispensable part of perioceutics. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 18(3), 282-288.
- Gunalan, S., Sivaraj, R., & Rajendran, V. (2012). Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens. *Progress in Natural Science: Materials International*, 22(6), 693-700.

- Guo, S. a., & DiPietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*, 89(3), 219-229.
- Guven, L., Kaplan, A. B. U., Yesilyurt, F., Cetin, M., Lacin, B. B., Ozkaraca, M., Yilmaz, M. A., Hacimuftuoglu, A., & Kaya, Y. (2024). The methanol extract of *Centaurea depressa* M. Bieb.-Containing nanoemulsion formulation: In vitro characterization and scratch assay. *Journal of drug delivery science and technology*, 99, 105923.
- Gülçin, İ. (2006). Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217(2-3), 213-220.
- Güneş, H. (1999). Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. *Turkish Journal of Biology*.
- Harper, D., Young, A., & McNaught, C.-E. (2014). The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*, 32(9), 445-450.
- Hart, J. (2002). Inflammation 1: its role in the healing of acute wounds. *Journal of wound care*, 11(6), 205-209.
- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H.-C., & Kahru, A. (2008). Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71(7), 1308-1316.
- Hewlings, S. J., & Kalman, D. S. (2017). Curcumin: A review of its effects on human health. *Foods*, 6(10), 92.
- Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J.-H., Chen, X., Sang, S., Lee, M.-J., & Yang, C. S. (2004). Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related β -diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A₂, cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis*, 25(9), 1671-1679.

- Hulkoti, N. I., & Taranath, T. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Hulla, J., Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: History and future. *Human & experimental toxicology*, 34(12), 1318-1321.
- Hussain, Z., Thu, H. E., Amjad, M. W., Hussain, F., Ahmed, T. A., & Khan, S. (2017). Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives. *Materials science and engineering: C*, 77, 1316-1326.
- Hussein, B. Y., & Mohammed, A. M. (2021). Green synthesis of ZnO nanoparticles in grape extract: Their application as anti-cancer and anti-bacterial. *Materials Today: Proceedings*, 42, A18-A26.
- Irfan, M., Munir, H., & Ismail, H. (2022). Characterization and fabrication of zinc oxide nanoparticles by gum Acacia modesta through green chemistry and impregnation on surgical sutures to boost up the wound healing process. *International journal of biological macromolecules*, 204, 466-475.
- Jackson, C. (2002). Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 11(3), 295-299.
- Jagetia, G. C., & Aggarwal, B. B. (2007). “Spicing up” of the immune system by curcumin. *Journal of clinical immunology*, 27, 19-35.
- Janaki, A. C., Sailatha, E., & Gunasekaran, S. (2015). Synthesis, characteristics and antimicrobial activity of ZnO nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 144, 17-22.
- Jayatissa, Y. X. G. A. H., Yu, Z., Chen, X., & Li, M. (2020). Hydrothermal synthesis of nanomaterials. *Journal of Nanomaterials*, 2019, NA-NA.

- Jiang, J., Pi, J., & Cai, J. (2018). The advancing of zinc oxide nanoparticles for biomedical applications. *Bioinorganic chemistry and applications*, 2018(1), 1062562.
- Jiang, T., Liao, W., & Charcosset, C. (2020). Recent advances in encapsulation of curcumin in nanoemulsions: A review of encapsulation technologies, bioaccessibility and applications. *Food Research International*, 132, 109035.
- Jin, S.-E., & Jin, H.-E. (2019). Synthesis, characterization, and three-dimensional structure generation of zinc oxide-based nanomedicine for biomedical applications. *Pharmaceutics*, 11(11), 575.
- Jurenka, J. S. (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Alternative medicine review*, 14(2).
- K Yadav, D., Mudgal, V., Agrawal, J., K Maurya, A., U Bawankule, D., S Chanotiya, C., Khan, F., & T Thul, S. (2013). Molecular docking and ADME studies of natural compounds of Agarwood oil for topical anti-inflammatory activity. *Current computer-aided drug design*, 9(3), 360-370.
- Kaplan, A. B. U., Yesilyurt, F., Guven, L., Cetin, M., Lacin, B. B., Ozkaraca, M., Yilmaz, M. A., Hacimuftuoglu, A., & Kaya, Y. (2024). Development and in vitro characterization nanoemulsion containing the methanol extract of *Hypericum linarioides* for wound healing: In vitro scratch assay. *South African Journal of Botany*, 168, 316-327.
- Kaplani, K., Koutsi, S., Armenis, V., Skondra, F. G., Karantzelis, N., Tsaniras, S. C., & Taraviras, S. (2018). Wound healing related agents: Ongoing research and perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 129, 242-253.
- Kasuya, A., & Tokura, Y. (2014). Attempts to accelerate wound healing. *Journal of dermatological science*, 76(3), 169-172.

- Keese, C. R., Wegener, J., Walker, S. R., & Giaever, I. (2004). Electrical wound-healing assay for cells in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(6), 1554-1559.
- Khanal, L. N., Sharma, K. R., Paudyal, H., Parajuli, K., Dahal, B., Ganga, G., Pokharel, Y. R., & Kalauni, S. K. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles from root extracts of *Rubus ellipticus* Sm. and comparison of antioxidant and antibacterial activity. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1), 1832587.
- Khanna, P., Kaur, A., & Goyal, D. (2019). Algae-based metallic nanoparticles: Synthesis, characterization and applications. *Journal of microbiological methods*, 163, 105656.
- Kolahalam, L. A., Viswanath, I. K., Diwakar, B. S., Govindh, B., Reddy, V., & Murthy, Y. (2019). Review on nanomaterials: Synthesis and applications. *Materials Today: Proceedings*, 18, 2182-2190.
- Koul, B., Poonia, A. K., Yadav, D., & Jin, J.-O. (2021). Microbe-mediated biosynthesis of nanoparticles: Applications and future prospects. *Biomolecules*, 11(6), 886.
- Król, A., Pomastowski, P., Rafińska, K., Railean-Plugaru, V., & Buszewski, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Advances in colloid and interface science*, 249, 37-52.
- Kumar, J. A., Krithiga, T., Manigandan, S., Sathish, S., Renita, A. A., Prakash, P., Prasad, B. N., Kumar, T. P., Rajasimman, M., & Hosseini-Bandegharai, A. (2021). A focus to green synthesis of metal/metal based oxide nanoparticles: Various mechanisms and applications towards ecological approach. *Journal of Cleaner Production*, 324, 129198.

- Kumari, A., Raina, N., Wahi, A., Goh, K. W., Sharma, P., Nagpal, R., Jain, A., Ming, L. C., & Gupta, M. (2022). Wound-healing effects of curcumin and its nanoformulations: a comprehensive review. *Pharmaceutics*, 14(11), 2288.
- Kürkçüoğlu, I., Köroğlu, A., Özkır, S. E., & Ateş, M. (2014). Nanoteknoloji kavramı ve dış hekimliğindeki uygulamaları. *SDU Journal of Health Science Institute/SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2).
- Lawrence, W. T., & Diegelmann, R. F. (1994). Growth factors in wound healing. *Clinics in dermatology*, 12(1), 157-169.
- Lerner, U. (2006). Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *Journal of dental research*, 85(7), 596-607.
- Li, J., Wu, Q., & Wu, J. (2016). Synthesis of nanoparticles via solvothermal and hydrothermal methods 12. In: Springer international publishing Switzerland.
- Li, Y., Jiao, J., Qi, Y., Yu, W., Yang, S., Zhang, J., & Zhao, J. (2021). Curcumin: A review of experimental studies and mechanisms related to periodontitis treatment. *Journal of periodontal research*, 56(5), 837-847.
- Lichtman, M. K., Otero-Vinas, M., & Falanga, V. (2016). Transforming growth factor beta (TGF- β) isoforms in wound healing and fibrosis. *Wound repair and regeneration*, 24(2), 215-222.
- Lim, Y. S., Kwon, S. K., Park, J. H., Cho, C. G., Park, S. W., & Kim, W. K. (2016). Enhanced mucosal healing with curcumin in animal oral ulcer model. *The laryngoscope*, 126(2), E68-E73.
- Lin, P.-H., Sermersheim, M., Li, H., Lee, P. H., Steinberg, S. M., & Ma, J. (2017). Zinc in wound healing modulation. *Nutrients*, 10(1), 16.

- Liu, Y.-C. G., Lerner, U. H., & Teng, Y.-T. A. (2010). Cytokine responses against periodontal infection: protective and destructive roles. *Periodontology 2000*, 52(1).
- Lopez-Castejon, G., & Brough, D. (2011). Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine & growth factor reviews*, 22(4), 189-195.
- Lorenzo, J., Horowitz, M., & Choi, Y. (2008). Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocrine reviews*, 29(4), 403-440.
- Magnani, C., Isaac, V. L. B., Correa, M. A., & Salgado, H. R. N. (2014). Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical methods*, 6(10), 3203-3210.
- Mahmoud, N. N., Hamad, K., Al Shibitini, A., Juma, S., Sharifi, S., Gould, L., & Mahmoudi, M. (2024). Investigating Inflammatory Markers in Wound Healing: Understanding Implications and Identifying Artifacts. *ACS Pharmacol Transl Sci*, 7(1), 18-27. <https://doi.org/10.1021/acsptsci.3c00336>
- Makarov, V., Love, A., Sinitsyna, O., Makarova, S., Yaminsky, I., Taliansky, M., & Kalinina, N. (2014). “Green” nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants. *Acta Naturae (англоязычная версия)*, 6(1 (20)), 35-44.
- Mantovani, A., Dinarello, C. A., Molgora, M., & Garlanda, C. (2019). Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. *Immunity*, 50(4), 778-795.
- Manuja, A., Kumar, B., Kumar, R., Chhabra, D., Ghosh, M., Manuja, M., Brar, B., Pal, Y., Tripathi, B., & Prasad, M. (2021). Metal/metal oxide nanoparticles: Toxicity concerns associated with their physical state and remediation for biomedical applications. *Toxicology Reports*, 8, 1970-1978.

- Martin, P. (1997). Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81.
- McCulloch, C. (1993). Basic considerations in periodontal wound healing to achieve regeneration. *Periodontology 2000*, 1(1), 16-25.
- Mehata, M. S. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using Kalanchoe pinnata leaves (life plant) and their antibacterial and photocatalytic activities. *Chemical Physics Letters*, 778, 138760.
- Melcher, A. (1976). On the repair potential of periodontal tissues. *Journal of periodontology*, 47(5), 256-260.
- Memarzadeh, K., Sharili, A. S., Huang, J., Rawlinson, S. C., & Allaker, R. P. (2015). Nanoparticulate zinc oxide as a coating material for orthopedic and dental implants. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 103(3), 981-989.
- Merrell, J. G., McLaughlin, S. W., Tie, L., Laurencin, C. T., Chen, A. F., & Nair, L. S. (2009). Curcumin loaded poly (ϵ -caprolactone) nanofibers: diabetic wound dressing with antioxidant and anti-inflammatory properties. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 36(12), 1149.
- Metwally, A. A., Abdel-Hady, A.-N. A., Haridy, M. A., Ebnalwaled, K., Saied, A. A., & Soliman, A. S. (2022). Wound healing properties of green (using Lawsonia inermis leaf extract) and chemically synthesized ZnO nanoparticles in albino rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(16), 23975-23987.
- Mihai, M. M., Dima, M. B., Dima, B., & Holban, A. M. (2019). Nanomaterials for wound healing and infection control. *Materials*, 12(13), 2176.
- Miles, A. M., & Grisham, M. B. (1994). [57] Antioxidant properties of aminosalicylates. In *Methods in enzymology* (Vol. 234, pp. 555-572). Elsevier.

- Mirza, R. E., Fang, M. M., Ennis, W. J., & Koh, T. J. (2013). Blocking interleukin-1 β induces a healing-associated wound macrophage phenotype and improves healing in type 2 diabetes. *Diabetes*, 62(7), 2579-2587.
- Mirza, R. E., Fang, M. M., Weinheimer-Haus, E. M., Ennis, W. J., & Koh, T. J. (2014). Sustained inflammasome activity in macrophages impairs wound healing in type 2 diabetic humans and mice. *Diabetes*, 63(3), 1103-1114.
- Mishra, S. K., Srivastava, R. K., Prakash, S., Yadav, R. S., & Panday, A. (2010). Photoluminescence and photoconductive characteristics of hydrothermally synthesized ZnO nanoparticles. *Opto-Electronics Review*, 18(4), 467-473.
- Missier, M. S., Ramakrishnan, M., Dinesh, S., Shanmugam, R., & Gurunathan, D. (2024). Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles and Its Cytotoxic Evaluation Using Human Gingival Fibroblast Cell Lines. *World*, 15(2), 103.
- Mitra, S. B., Wu, D., & Holmes, B. N. (2003). An application of nanotechnology in advanced dental materials. *The Journal of the American Dental Association*, 134(10), 1382-1390.
- Mohana, S., & Sumathi, S. (2020). Synthesis of zinc oxide using *Agaricus bisporus* and its in-vitro biological activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 104192.
- Mohandas, A., PT, S. K., Raja, B., Lakshmanan, V.-K., & Jayakumar, R. (2015). Exploration of alginate hydrogel/nano zinc oxide composite bandages for infected wounds. *International journal of nanomedicine*, 10(sup2), 53-66.
- Mohanty, C., & Sahoo, S. K. (2017). Curcumin and its topical formulations for wound healing applications. *Drug discovery today*, 22(10), 1582-1592.
- Mok, Z. H., Proctor, G., & Thanou, M. (2020). Emerging nanomaterials for dental treatments. *Emerging topics in life sciences*, 4(6), 613-625.

- Monaco, J. L., & Lawrence, W. T. (2003). Acute wound healing: an overview. *Clinics in plastic surgery*, 30(1), 1-12.
- Moraes, G., Zambom, C., & Siqueira, W. L. (2021). Nanoparticles in dentistry: A comprehensive review. *Pharmaceuticals*, 14(8), 752.
- Morand, D., Davideau, J. L., Clauss, F., Jessel, N., Tenenbaum, H., & Huck, O. (2017). Cytokines during periodontal wound healing: potential application for new therapeutic approach. *Oral Diseases*, 23(3), 300-311.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63.
- Mou, J., Liu, Z., Liu, J., Lu, J., Zhu, W., & Pei, D. (2019). Hydrogel containing minocycline and zinc oxide-loaded serum albumin nanoparticle for periodontitis application: preparation, characterization and evaluation. *Drug Delivery*, 26(1), 179-187.
- Mulder, G. D., & Berg, J. S. V. (2002). Cellular senescence and matrix metalloproteinase activity in chronic wounds: relevance to debridement and new technologies. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 92(1), 34-37.
- MuthuKathija, M., Badhusha, M. S. M., & Rama, V. (2023). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Pisonia Alba* leaf extract and its antibacterial activity. *Applied Surface Science Advances*, 15, 100400.
- Münchow, E. A., Albuquerque, M. T. P., Zero, B., Kamocki, K., Piva, E., Gregory, R. L., & Bottino, M. C. (2015). Development and characterization of novel ZnO-loaded electrospun membranes for periodontal regeneration. *Dental Materials*, 31(9), 1038-1051.

- Nadaroglu, H., Güngör, A. A., & Ince, S. (2017). Synthesis of nanoparticles by green synthesis method. *International Journal of Innovative Research and Reviews*, 1(1), 6-9.
- Naiel, B., Fawzy, M., Halmy, M. W. A., & Mahmoud, A. E. D. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Sea Lavender (*Limonium pruinatum* L. Chaz.) extract: characterization, evaluation of anti-skin cancer, antimicrobial and antioxidant potentials. *Scientific reports*, 12(1), 20370.
- Narwal, N., Katyal, D., Malik, A., Kataria, N., Bhardwaj, A. K., Rakib, M. R. J., & Kakakhel, M. A. (2024). Sustainable advances in the synthesis of waste-derived value-added metal nanoparticles and their applications. In *Green and sustainable approaches using wastes for the production of multifunctional nanomaterials* (pp. 17-33). Elsevier.
- Naseem, T., & Durrani, T. (2021). The role of some important metal oxide nanoparticles for wastewater and antibacterial applications: A review. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3, 59-75.
- Nethi, S. K., Das, S., Patra, C. R., & Mukherjee, S. (2019). Recent advances in inorganic nanomaterials for wound-healing applications. *Biomaterials science*, 7(7), 2652-2674.
- Nikolic, M. V., Vasiljevic, Z. Z., Auger, S., & Vidic, J. (2021). Metal oxide nanoparticles for safe active and intelligent food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 655-668.
- Niranjan, R., Kaushik, M., Prakash, J., Venkataprasanna, K., Prema, D., Christy, A., Pannerselvam, B., & Venkatasubbu, G. D. (2023). Chitosan based wound dressing patch loaded with curcumin tagged ZnO nanoparticles for potential wound healing application. *Inorganic Chemistry Communications*, 154, 110885.

- Ochieng, P., Iwuoha, E., Michira, I., Masikini, M., Ondiek, J., Githira, P., & Kamau, G. (2015). Green route synthesis and characterization of ZnO nanoparticles using *Spathodea campanulata*. *Int. J. Biochem. Phys*, 23(53), e61.
- Ogle, O., & Byles, N. (2015). Nanotechnology in dentistry today. *The West Indian Medical Journal*, 63(4), 344.
- Olthof, M. R., Katan, M. B., & Hollman, P. C. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of nutrition*, 131(1), 66-71.
- Oncul, O., Yildiz, S., Gurer, U. S., Yeniiz, E., Qyrdedi, T., Top, C., Gocer, P., Akarsu, B., Cevikbas, A., & Cavuslu, S. (2007). Effect of the function of polymorphonuclear leukocytes and interleukin-1 beta on wound healing in patients with diabetic foot infections. *Journal of Infection*, 54(3), 250-256.
- Opneja, A., Kapoor, S., & Stavrou, E. X. (2019). Contribution of platelets, the coagulation and fibrinolytic systems to cutaneous wound healing. *Thrombosis research*, 179, 56-63.
- Öztopalan, D. F., Işık, R., & Durmmuş, A. S. (2017). Yara iyileşmesinde büyüme faktörleri ve sitokinlerin rolü. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10(1), 83-88.
- Pakyari, M., Farrokhi, A., Maharlooei, M. K., & Ghahary, A. (2013). Critical role of transforming growth factor beta in different phases of wound healing. *Advances in wound care*, 2(5), 215-224.
- Parveen, K., Banse, V., & Ledwani, L. (2016). Green synthesis of nanoparticles: Their advantages and disadvantages. AIP conference proceedings,
- Penn, J. W., Grobbelaar, A. O., & Rolfe, K. J. (2012). The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: a review. *International journal of burns and trauma*, 2(1), 18.

- Pierce, G., Berg, J. V., Rudolph, R., Tarpley, J., & Mustoe, T. (1991). Platelet-derived growth factor-BB and transforming growth factor beta 1 selectively modulate glycosaminoglycans, collagen, and myofibroblasts in excisional wounds. *The American journal of pathology*, 138(3), 629.
- Polimeni, G., Xiropaidis, A. V., & Wikesjö, U. M. (2006). Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology* 2000, 41(1).
- Politis, C., Schoenaers, J., Jacobs, R., & Agbaje, J. O. (2016). Wound healing problems in the mouth. *Frontiers in physiology*, 7, 507.
- Prado-Prone, G., Silva-Bermudez, P., Bazzar, M., Focarete, M. L., Rodil, S. E., Vidal-Gutiérrez, X., García-Macedo, J. A., García-Pérez, V. I., Velasquillo, C., & Almaguer-Flores, A. (2020). Antibacterial composite membranes of polycaprolactone/gelatin loaded with zinc oxide nanoparticles for guided tissue regeneration. *Biomedical Materials*, 15(3), 035006.
- Prasad, N. S., Raghavendra, R., Lokesh, B., & Naidu, K. A. (2004). Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids*, 70(6), 521-528.
- Pushpalatha, C., Suresh, J., Gayathri, V., Sowmya, S., Augustine, D., Alamoudi, A., Zidane, B., Mohammad Albar, N. H., & Patil, S. (2022). Zinc oxide nanoparticles: a review on its applications in dentistry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 917990.
- Qu, J., Yuan, X., Wang, X., & Shao, P. (2011). Zinc accumulation and synthesis of ZnO nanoparticles using *Physalis alkekengi* L. *Environmental pollution*, 159(7), 1783-1788.
- Rabenau, A. (1985). The role of hydrothermal synthesis in preparative chemistry. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 24(12), 1026-1040.

- Rafiee, Z., Nejatian, M., Daeihamed, M., & Jafari, S. M. (2019). Application of curcumin-loaded nanocarriers for food, drug and cosmetic purposes. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 445-458.
- Rahman, H., Vakati, K., & Eswaraiah, M. C. (2012). In-vivo and in-vitro anti-inflammatory activity of Aquilaria agallocha oil. *International Journal of Basic Medical Sciences and Pharmacy (IJBMS)*, 2(1).
- Rajendran, N. K., Kumar, S. S. D., Houreld, N. N., & Abrahamse, H. (2018). A review on nanoparticle based treatment for wound healing. *Journal of drug delivery science and technology*, 44, 421-430.
- Ramasasthy, S. S. (2005). Acute wounds. *Clinics in plastic surgery*, 32(2), 195-208.
- Ramesh, M., Anbuvaran, M., & Viruthagiri, G. (2015). Green synthesis of ZnO nanoparticles using Solanum nigrum leaf extract and their antibacterial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 864-870.
- Ramsden, J. (2018). *Applied nanotechnology: the conversion of research results to products*. William Andrew.
- Rand, E., & Gellhorn, A. C. (2016). The healing cascade: Facilitating and optimizing the system. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics*, 27(4), 765-781.
- Rao, C. V. (2007). Regulation of COX and LOX by curcumin. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*, 213-226.
- Reinke, J., & Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European surgical research*, 49(1), 35-43.
- Robson, M. C., Steed, D. L., & Franz, M. G. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg*, 38(2), 72-140.
- <https://doi.org/10.1067/msg.2001.111167>

- Rujirachotiawat, A., & Suttamanatwong, S. (2021). Curcumin upregulates transforming growth factor- β 1, its receptors, and vascular endothelial growth factor expressions in an in vitro human gingival fibroblast wound healing model. *BMC oral health*, 21, 1-9.
- Sahoo, S., Parveen, S., & Panda, J. (2017). The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine in Cancer*, 775-806.
- Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., De Pasquale, A., Uccella, N., Barbuzzi, T., Paolino, D., & Bonina, F. (2000). In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. *International journal of pharmaceutics*, 199(1), 39-47.
- Salehi, M., Saeedi, M., Negarandeh, R., Savabi, A., Lotfizadeh, A., Hosseinnataj, A., & Molania, T. (2024). Evaluation of caffeic acid mucoadhesive tablets on minor recurrent aphthous stomatitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *BMC oral health*, 24(1), 210.
- Sardi, J. d. C. O., Gullo, F. P., Freires, I. A., de Souza Pitangui, N., Segalla, M. P., Fusco-Almeida, A. M., Rosalen, P. L., Regasini, L. O., & Mendes-Giannini, M. J. S. (2016). Synthesis, antifungal activity of caffeic acid derivative esters, and their synergism with fluconazole and nystatin against *Candida* spp. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 86(4), 387-391.
- Sarıyer, E. T., & Aksu, B. M. (2020). Kurkumin ve Gastrointestinal Sistem Hastalıkları. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 4(3), 194-205.
- Satapathy, A., Gunasekaran, G., Sahoo, S., Amit, K., & Rodrigues, P. (2009). Corrosion inhibition by *Justicia gendarussa* plant extract in hydrochloric acid solution. *Corrosion science*, 51(12), 2848-2856.

- Scardina, G., Carini, F., Noto, F., & Messina, P. (2013). Microcirculation in the healing of surgical wounds in the oral cavity. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 42(1), 31-35.
- Schmalz, G., Hickel, R., van Landuyt, K. L., & Reichl, F.-X. (2017). Nanoparticles in dentistry. *Dental Materials*, 33(11), 1298-1314.
- Schultz, G. S., & Mast, B. A. (1999). Molecular analysis of the environments of healing and chronic wounds: cytokines, proteases and growth factors. *Primary Intention*, 7, 7-15.
- Sezen, S., Ertuğrul, M. S., Balpınar, Ö., Bayram, C., Özkaraca, M., Okay, I. F., Hacımüftüoğlu, A., & Güllüce, M. (2023). Assessment of antimicrobial activity and In Vitro wound healing potential of ZnO nanoparticles synthesized with Capparis spinosa extract. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(55), 117609-117623.
- Sezgin, Y., Çetin, M. B., Bulut, Ş., Alptekin, N. Ö., & Börçek, P. (2019). Evaluating the effects of a topical preparation with dexpanthenol, silbiol, undecylenic acid, and lidocaine on palatal mucosa wound healing in a rat model. *Balkan Medical Journal*, 36(2), 88.
- Sharma, R. A., Gescher, A. J., & Steward, W. P. (2005). Curcumin: the story so far. *European journal of cancer*, 41(13), 1955-1968.
- Sharma, S., Cross, S. E., Hsueh, C., Wali, R. P., Stieg, A. Z., & Gimzewski, J. K. (2010). Nanocharacterization in dentistry. *International journal of molecular sciences*, 11(6), 2523-2545.
- Singh, P., Kim, Y.-J., Zhang, D., & Yang, D.-C. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in biotechnology*, 34(7), 588-599.

- Singh, S., & Aggarwal, B. B. (1995). Activation of transcription factor NF- κ B is suppressed by curcumin (diferuloylmethane)(*). *Journal of Biological Chemistry*, 270(42), 24995-25000.
- Smola, H., Thiekötter, G., & Fusenig, N. E. (1993). Mutual induction of growth factor gene expression by epidermal-dermal cell interaction. *The Journal of cell biology*, 122(2), 417-429.
- Song, H. S., Park, T. W., Sohn, U. D., Shin, Y. K., Choi, B. C., Kim, C. J., & Sim, S. S. (2008). The effect of caffeic acid on wound healing in skin-incised mice. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 12(6), 343-347.
- Sprugel, K., McPherson, J., Clowes, A., & Ross, R. (1987). Effects of growth factors in vivo. I. Cell ingrowth into porous subcutaneous chambers. *The American journal of pathology*, 129(3), 601.
- Steinsvoll, S., Halstensen, T., & Schenck, K. (1999). Extensive expression of TGF- β 1 in chronically-inflamed periodontal tissue. *Journal of clinical periodontology*, 26(6), 366-373.
- Strecker-McGraw, M. K., Jones, T. R., & Baer, D. G. (2007). Soft tissue wounds and principles of healing. *Emergency medicine clinics of North America*, 25(1), 1-22.
- Sukumaran, S. K., Vadakkekuttikal, R. J., & Kanakath, H. (2020). Comparative evaluation of the effect of curcumin and chlorhexidine on human fibroblast viability and migration: An: in vitro: study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 24(2), 109-116.
- Sun, X., Wang, X., Zhao, Z., Chen, J., Li, C., & Zhao, G. (2021). Paeoniflorin inhibited nod-like receptor protein-3 inflammasome and NF- κ B-mediated inflammatory reactions in diabetic foot ulcer by inhibiting the chemokine receptor CXCR2. *Drug Development Research*, 82(3), 404-411.

- Sundrarajan, M., Ambika, S., & Bharathi, K. (2015). Plant-extract mediated synthesis of ZnO nanoparticles using *Pongamia pinnata* and their activity against pathogenic bacteria. *Advanced Powder Technology*, 26(5), 1294-1299.
- Sylvester, P. W. (2011). Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. *Drug Design and Discovery: Methods and Protocols*, 157-168.
- Szpaderska, A., Zuckerman, J., & DiPietro, L. (2003). Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds. *Journal of dental research*, 82(8), 621-626.
- Şeker, Ş., Elçin, A. E., Yumak, T., Sınağ, A., & Elçin, Y. M. (2014). In vitro cytotoxicity of hydrothermally synthesized ZnO nanoparticles on human periodontal ligament fibroblast and mouse dermal fibroblast cells. *Toxicology in Vitro*, 28(8), 1349-1358.
- Taylor, J. J. (2010). Cytokine regulation of immune responses to *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology 2000*, 54(1).
- Teller, P., & White, T. K. (2009). The physiology of wound healing: injury through maturation. *Surgical Clinics of North America*, 89(3), 599-610.
- Tepebaşı, M. Y., & Calapoğlu, N. Ş. (2016). Yara İyileşmesinin Hücresel ve Moleküler Mekanizması (Cellular and Molecular Mechanism of Wound Healing). *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 23(4).
- Toy, L. (2005). Matrix metalloproteinases: their function in tissue repair. *Journal of wound care*, 14(1), 20-22.
- Vanathi, P., Rajiv, P., Narendhran, S., Rajeshwari, S., Rahman, P. K., & Venckatesh, R. (2014). Biosynthesis and characterization of phyto mediated zinc oxide nanoparticles: a green chemistry approach. *Materials Letters*, 134, 13-15.

- 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.
- Verma, S., Chevvuri, R., & Sharma, H. (2018). Nanotechnology in dentistry: unleashing the hidden gems. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 22(3), 196-200.
- Weber, W. M., Hunsaker, L. A., Roybal, C. N., Bobrovnikova-Marjon, E. V., Abcouwer, S. F., Royer, R. E., Deck, L. M., & Vander Jagt, D. L. (2006). Activation of NFκB is inhibited by curcumin and related enones. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 14(7), 2450-2461.
- Weldegebrerial, G. K. (2020). Synthesis method, antibacterial and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles for azo dyes in wastewater treatment: A review. *Inorganic Chemistry Communications*, 120, 108140.
- Wikesjö, U. M., & Selvig, K. A. (1999). Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontology 2000*, 19(1), 21-39.
- Wild, T., Rahbarnia, A., Kellner, M., Sobotka, L., & Eberlein, T. (2010). Basics in nutrition and wound healing. *Nutrition*, 26(9), 862-866.
- Witte, M. B., & Barbul, A. (1997). General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*, 77(3), 509-528.
- Wong, J. W., Gallant-Behm, C., Wiebe, C., Mak, K., Hart, D. A., Larjava, H., & Häkkinen, L. (2009). Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: evidence from the red Duroc pig model and humans. *Wound repair and regeneration*, 17(5), 717-729.

- Xia, Y. P., Zhao, Y., Marcus, J., Jimenez, P. A., Ruben, S. M., Moore, P. A., Khan, F., & Mustoe, T. A. (1999). Effects of keratinocyte growth factor-2 (KGF-2) on wound healing in an ischaemia-impaired rabbit ear model and on scar formation. *The Journal of pathology*, 188(4), 431-438.
- Yerebakan, M., Tuter, G., Bagriacik, E. U., Oruklu, N., & Guldurur, T. (2025). Evaluation of the anti-inflammatory, antioxidant and wound healing effects of pterostilbene in human gingival fibroblasts in vitro. *Odontology*, 1-9.
- Zhou, H., S Beevers, C., & Huang, S. (2011). The targets of curcumin. *Current drug targets*, 12(3), 332-347.
- Zhou, Y., Fang, S. h., Ye, Y. l., Chu, L. s., Zhang, W. p., Wang, M. l., & WEI, E. q. (2006). Caffeic acid ameliorates early and delayed brain injuries after focal cerebral ischemia in rats 1. *Acta pharmacologica sinica*, 27(9), 1103-1110.
- Zhu, J., Li, Y., Tang, Y., Fan, Y., Dai, S., Abbas, A., Xu, F., Wang, X., Zhang, W., & Zheng, Y. (2024). Therapeutic effect of ZnO NPs–polyhexanide-hydrogel on Staphylococcus aureus-induced skin wound infection in mice. *Journal of Biomaterials science, Polymer edition*, 35(10), 1571-1583.

EKLER

EK-1. ETİK KURUL KARARI



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Bölümü : Dekanlık
Servisi : Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/418
Konu : Etik Kurul Kararı

07.06.2024

Sayın: Prof. Dr. Turgut DEMİR
Diş Hekimliği Fakültesi
Periodontoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz “**Udi Hindi (Aquilaria agallocha) Ekstresi Kullanılarak Hidrotermal Olarak Sentezlenen Çinko Oksit Nanopartiküllerinin (ZnO NP) Kurkumin ve Kafeik Asit ile Modifiye edilmesi ve İn Vitro Yara İyileşmesi Modelinde Etkilerinin İncelenmesi**” isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı

Sorumlu Araştırmacı :

1. Prof. Dr. Turgut DEMİR

Yardımcı Araştırmacı :

1-Prof.Dr.Hayrunnisa NADAROĞLU

2-Prof.Dr.Mustafa ÖZKARACA

3-Dr.Fatma YEŞİLYURT

4- Arş. Gör. Gülsüm TAŞLIÇUKUR



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul25@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof. Dr. Turgut DEMİR
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Udi Hindi (Aquilaria agallocha) Ekstresi Kullanılarak Hidrotermal Olarak Sentezlenen Çinko Oksit Nanopartiküllerinin (ZnO NP) Kurkumin ve Kafeik Asit ile Modifiye edilmesi ve İn Vitro Yara İyileşmesi Modelinde Etkilerinin İncelenmesi'
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı:4 Karar No:63	Tarih:07.06.2024
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin BAP tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	