

Hücre Dışı Veziküller ve Eksozom

Makbule Nihan SOMUNCU¹  Ayşe Gül ZAMANI² 
Mahmut Selman YILDIRIM³ 

¹Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Konya, Türkiye,
mnsomuncu@gmail.com (Sorumlu Yazar)

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Konya, Türkiye,
agzamani@yahoo.com

³Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Konya, Türkiye,
drmselman@gmail.com

Makale Bilgileri

ÖZ

Makale Geçmişi
Geliş: 03.08.2022
Kabul: 10.11.2022
Yayın: 26.08.2023

Anahtar Kelimeler:
Eksozom,
Hücre dışı vezikül,
Ultrasantrifüj.

İnsan vücudundaki tüm hücreler hem normal hem de patolojik süreçlerde hücre dışı ortama küçük moleküller salgılamaktadırlar. Hücre dışı veziküller olarak tanımlanan bu nanomoleküller, son dönemlerde giderek daha da önem kazanmıştır. ‘Bireysel tanı, takip ve tedavi stratejilerine paralel olarak hastalık biyobelirteçi veya ilaç adayı olabilirler mi?’ sorularına yönelik araştırmalara öncülük etmektedirler. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki, vücutta yer alan tüm hücrelerden ekstraselüler ortama salgılanan bu moleküller, her hücrenin kendi biyolojik karakterizasyonu ile eşdeğer olduğundan salgılandığı hücrenin kimliğini de yansıtmaktadırlar. Dolayısıyla vücut sıvılarında yer alan bu veziküller, hücreye ulaşamadığında veya hücre eldesinin zor olduğu durumlarda tanı, takip ve tedavide kullanılabilecek ve belki de girişimsel işlemlerin yerine geçebilecek biyobelirteç özelliği gösterebileceklerdir. Eksozom, insan vücudunda yer alan tüm hücreler tarafından hücre dışı ortama salgılanan veziküllerin en küçüğüdür. Taşıdıkları hücreler arası ve hücre içi kargo muhteviyatları ile haberleşme ve sinyal yollarında görevli olabilmeleri, lipid kompozisyonları ile hücre içine kolaylıkla girebilme potansiyelleri ve son çalışmalarda bildirilen DNA, RNA, miRNA, lncRNA gibi nükleik asit sekanslarına sahip olabilmeleri, biyobelirteç adayı olarak atfedilmelerine yol açmıştır.

Extracellular Vesicles and Exosomes

Article Info

ABSTRACT

Article History
Received: 03.08.2022
Accepted: 10.11.2022
Published: 26.08.2023

Keywords:
Exosome,
Extracellular
vesicles,
Ultracentrifuge.

Every cell of the human body excretes small vesicles and molecules to the extracellular environment both as the result of normal and pathologic processes. These nanomolecules, which are defined as extracellular vesicles, have gained more and more importance in recent years. They lead research on the questions of "Can they be disease biomarkers or drug candidates in parallel with individual diagnosis, follow-up and treatment strategies?" Previous studies showed that these molecules that are extracted to the extracellular environment by every cell, carry the characteristic identity of the cell of the origin. Thus these vesicles that can be found in body fluids have the possibility of replacing invasive procedures as a biomarker in cases in which acquiring the cells for diagnosis, follow-up, and treatment is problematic. The exosome is the smallest of the vesicles extracted into the extracellular environment by the human body's cells. Exosomes can play a role in communication and signal pathways by containing inter- and intracellular cargos and having the ability to easily enter cells because of their lipid compositions. Existence of the nucleic acid sequences such as DNA, RNA, miRNA, and lncRNA in exosomes has been reported in recent studies. In addition, insights into genomic sequences residing in exosomes have increased exosomal mRNA, protein, and enzyme studies.

Atıf/Citation: Somuncu, M. N., Zamani, A. G., & Yıldırım, M. S. (2023). Hücre Dışı Veziküller ve Eksozom. *Genel Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(2), 245-257.



"This article is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) (CC BY-NC 4.0)"

GİRİŞ

1. Ekstraselüler/Hücre dışı Veziküller Nasıl Keşfedildi?

Hücre dışı veziküller (EV), hücrelerden salınan bir çift lipid tabakası ile sınırlandırılmış nanomoleküler bir ailedir. Çoğalmaz, fonksiyonel bir çekirdek içermez ve farklı vücut sıvılarının kültür süpernatantlarında saptanabilir. Başlangıçta yapışkan hücre artıkları/atıkları oldukları düşünülmüş daha sonraları ise alternatif hücrelerarası haberleşme araçları oldukları anlaşılmıştır. Hücre iletişimi, hücreler arası çeşitli molekülleri iletebilme ve miRNA homeostazın korunmasında, inflamasyonun indüklenmesi ve onarımın teşvik edilmesinde çeşitli görevler üstlendikleri anlaşılmıştır (Bazzan ve ark., 2021). EV'lerin varlığından ve olası işlevinden ilk olarak, Chargaff ve West (1946)'da tromboplastin ve trombositleri incelerken şüphelenmiştir. Kan hücrelerinin çeşitli küçük parçalanma ürünlerinin pıhtılaşma özelliklerine katkıda bulunduğunu varsaymışlardır. Chargaff ve Wolf (1967) tarafından tanımlanan materyalin gerçekten de trombositlerden kaynaklanan lipid içeriği bakımından zengin, küçük partiküler olduğu elektron mikroskobu (EM) ile tanımlanmış, trombosit tozu olarak isimlendirilmiştir. Dolayısıyla EV'leri ve işlevlerini ilk tanımlayanın aslında Wolf (1967) olduğu düşünülebilir. Aaronson ve ark., 1971'de EM kullanarak, kamçılı bir alg olan *Ochromonas danica*'da türlü membranöz yapılar üretildiğini göstererek ilk ultrastrüktürel kanıtı rapor ettiler ve "Hücre içi ve hücre dışı veziküller" terimini ilk olarak kullandılar. Önemli olarak, veziküllerin ve diğer çift zarlı yapıların birkaç hücre organelinden ortaya çıktığını ve hücre için normal işleyiş süreciyle ilişkili olduğuna da değindiler. Ayrıca sağlam veziküllerin santrifüjleme ile elde edilebileceğini de açıkladılar. Bu ilk gözlemlere rağmen, 1970'ler boyunca, EV'lerin kökeni hakkında kesin bilgilerin eksikliği özellikle hücreden viral saçılma yoluyla mı oluştuğu yoksa ultrasantrifüjleme sırasında rastgele ölü hücre döküntülerinden mi geldiklerinin anlaşılamaması, bu konunun gizemli kalmasına yol açtı. 1970'lerin sonlarında EM ve kimyasal liziz kullanılarak yapılan çalışmalarda, fetal sığır serumunda 30 ila 60 nm arasında değişen bir trilaminar membranöz zarfa sahip çok sayıda uzun ve küresel mikroveziküller tanımlandı. Kökenlerine göre "plazma membranları", "hücre dışı membranlar" ve "mikroveziküller" olarak sınıflandırıldılar (Dalton, 1975). Daha sonraki çalışmalar, bunların virüs benzeri parçacıklar veya hücre artıkları olmadıklarını, hücre içi ve hücre dışı yapılardan türetildiğini doğruladı; ancak EV'lerin biyolojik kökeni, içeriği ve işlevi hakkında yine de pek bir bilgi yoktu. 1970'lerde Drazofila ve neosporalarda yapılan çalışmalarda hücreler arasında aktarılan DNA fragmanlarına atıfta bulunularak eksozom ("exo" = dış ve "soma" = vücut) terimi kullanılmaya başlandı (Fox ve ark., 1971; Mishra ve ark., 1973). Bununla birlikte, DNA parçalarının çift katlı zar katmanları ile ilişkisinin gösterilememiş olması, bu parçacıkların eksozomların veya hücre dışı veziküllerin erken bir tanımı olarak kabul edilmesini engelledi. EV'lerin trofik materyalin hücreler arası taşınmasındaki önemli rolü ilk olarak Trams ve ark., (1980) tarafından rapor edilerek plazma zarından "mikro veziküllerin" pul pul dökülmesine atıfta bulunmak için "eksozom" teriminin kullanılması önerildi. Bu yazarlar, EV oluşumu ve işlevi hakkında bilgi ve anlayışa önemli katkı yaptılar; membranöz veziküllerin pul pul dökülmesinin birçok farklı normal ve neoplastik hücrede meydana gelebileceği ve eksfoliyatif sürecin seçici olduğunu, lipid bileşimlerine dayalı olarak, mikroveziküllerin plazma zarının farklı, özgün alanlarından oluştuğunu rapor ettiler. Bununla birlikte Trams'in yayınına 1980'lerde sık sık atıfta bulunulmasına rağmen, "eksozom" terimi, 1986'ya kadar EV'leri belirtmek için bilimsel camia tarafından tekrar kullanılmadı (Bazzan ve ark., 2021). Johnstone ve ark., 1987'de retikülositlerin olgunlaşma sürecinde multiveziküler yapıların oluşumu ve salınımını tanımladıktan sonra, eksozom tanımı yeniden gündeme geldi. Çok spesifik bir hücre tipi olan retikülosit ile bu hücrelerin eski bileşenleri eksüze etmesinin bir yolu olarak görülerek bu yayını takip eden 10 yıl boyunca minimal düzeyde araştırıldı. Bilim insanları bu "garip" salgı yolunun gerçek varlığı konusunda şüpheli davrandılar. Bu aradan sonra mikroveziküllerin ve eksozomların birçok hücre tipinde mevcut olduğu gösterildi. 1996'da B lenfositler, 1998'de dendritik hücreler, trombosit ve 1991'de trombosit ve epitel hücreler ve 2005'te nöronlar (Heijne ve ark., 1999; Marzesco ve ark., 2005; Raposo ve ark., 1996; Wilson ve ark., 1991;) eksozom içerikleri ile gündeme geldi. Ayrıca immün aktivasyon ve adaptif immün yanıtların uyarılmasında önemli

rolleri olabileceğine dair elde edilen orijinal bulgular nedeniyle, immünoloji alanında eksozomlara karşı artan ilgi sonucunda çeşitli veriler ortaya kondu. Multiveziküler (MV) lümen içinde tomurcuklanma, fisyon ve segregasyon ile eksozom oluşumu, belirli süreçler tarafından yönetilmekteydi. Eksozom salınımı özgün hücre içi sinyallere yanıt olarak gerçekleşmekteydi (Bobrie ve ark., 2011; Cocucci ve ark., 2009; Thery ve ark., 2009). Günümüze gelindiğinde ise eksozomların memelilerde ve omurgasızlarda birçok farklı süreçte yer aldığı tanımlandı (Kalluri ve LeBleu 2019; Larabi ve ark., 2020). Bakir alan olarak değerlendirilen bu konuların, ilerde çeşitli hastalıkların tedavisinde, dokuların hızlı iyileşmesi ve yenilenmesi süreçlerinde etkin olarak kullanılacağı düşünülmektedir.

2. Hücreler Neden Ekstraselüler Veziküller Salırlar?

Hücrelerin EV'leri salgılayabilmesi için hücre sitoplazması içerisinde zarlı yapıda organellere sahip olması gerekir. Çekirdek zarı, golgi aygıtı, endoplazmik retikulum, endozom, lizozom gibi zarlı organeller sadece ökaryotik canlılarda bulunur. Bu nedenle prokaryotik canlılarda EV'ler salgılanmayabilir. Tüm ökaryotik hücreler haberleşme ağını kullanırlar. Hücrelerdeki iletişim, ekstraselüler ortama çeşitli moleküllerin salgılanmasıyla veya doğrudan etkileşim yoluyla gerçekleşir. Bunun yanısıra bir başka haberleşme yöntemi olarak ökaryotik hücrelerden hem uzak hem de yakındaki hücrelere ulaşabilen EV'leri salgılanır. Yani ökaryotik hücreler, iletişim, korunma ve genetik bilginin (DNA, mRNA ve RNA türevleri) paylaşılması amacıyla paketli veziküller kargolar üretir. Genetik bilginin paylaşılması amacıyla verici hücreye ait DNA, mRNA ve RNA türevleri alıcı hücrelere taşınır. Yapılan çalışmalarla işlevsel reseptörlerin ve ikincil mesajcıların da hedef hücrelere taşındığı gösterilmiştir. Böylece, hücreler birbirleri ile etkin bir şekilde haberleşirler. Bu yolla aynı zamanda kendi atık yönetimlerini de yaparlar ve EV'ler aracılığıyla, gereksiz veya toksik ürünleri hücre dışına atarak, kendilerini oluşabilecek iç ve dış streslere karşı korurlar (Bazzan 2021).

3. Ekstraselüler Veziküllerin Sınıflandırılması

EV, hücreler tarafından salgılanan tüm vezikül türleri için kullanılan küresel bir terimdir. EV'ler büyüklüklerine, üretilme süreçlerine ve fiziksel yapılarına göre sınıflandırılır. Bu sınıflandırmaya göre eksozomlar hücre dışı veziküllerin en küçükleridir.

3.1. Mikrovezikül

Hücre membranından tomurcuklanarak hücre dışına salınan moleküllerdir. Endozom aracılı veziküller köken aldıkları hücrenin membran bileşimini eksozomlardan daha iyi göstermektedirler. Mikroveziküller, 100-1000 nm boyutlarındadır. EM görüntüleri heterojendir (Bazzan ve ark., 2021; Ertekin 2020).

3.2. Ektozom

Boyutları ortalama 100-500 nm arasında değişen hücre zarının tomurcuklanması ile oluşan düzgün şekilli yapılardır. Eksozomlara göre daha büyüktürler (Bazzan ve ark., 2021; Ertekin 2020).

3.3. Onkozom

Kanser hücreleri tarafından salgılanan ve onkojenik mesajlarla, protein komplekslerini hücre aktaran, hücre zarından tomurcuklanma yoluyla türetilen büyüklüğü 100-400 nm arasında değişen hücre dışı veziküllerdir (Bazzan ve ark 2021; Ertekin 2020).

3.4. Apoptotik Vezikül

Apoptoz; kontrollü hücre ölüm yoludur. Bu süreçte hücreler, içeriklerinin sitoplazmaya geçmesini engellemek için apoptotik vezikülleri oluşturmaktadır. Hücresel içerik taşıyan veziküller, fagositoz yoluyla makrofajlar tarafından ortamdan uzaklaştırılır. Boyutları 1000- 5000 nm arasında değişen apoptotik veziküller şekil açısından heterojen özellik gösterir (Bazzan ve ark 2021; Ertekin 2020).

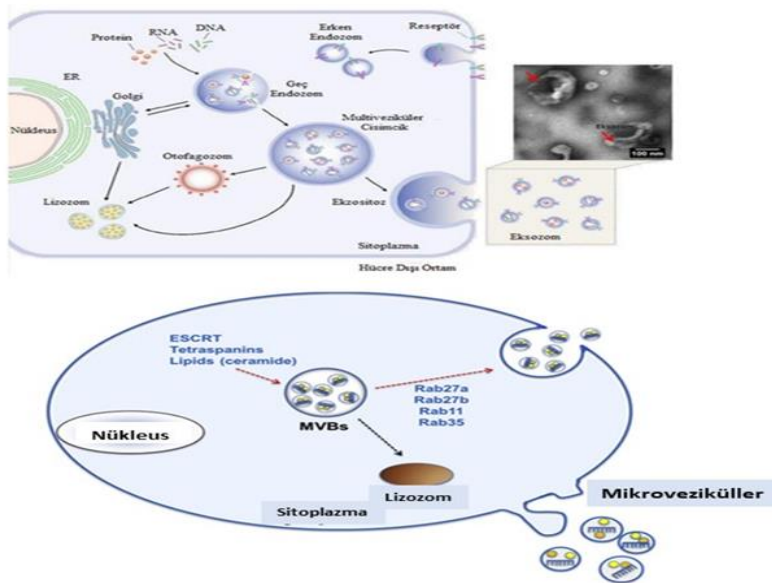
3.5. Eksozom

Boyutları 50-150 nm arasında değişen hücre dışı veziküllerdir. Hücresel organel içermeyen, az miktarda sitozol içeren, iki katlı lipid zar ile endositik türevlenmiş moleküllerdir. Vezikül olarak dış ortama salınırlar (Bazzan ve ark 2021; Ertekin 2020). İnsan vücudundaki hücreler gerek sağlıklı gerek patolojik süreçlerde hücre dışı ortama küçük veziküller salgılamaktadırlar.

Hücre dışı veziküller olarak tanımlanan bu nanoveziküller, son dönemlerde giderek daha da önem kazanan bireysel tanı, takip ve tedavi stratejilerine paralel olarak hastalık biyobelirteçi veya ilaç adayı olabilir mi sorusuyla yola çıkan araştırmalara öncülük etmektedirler. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki, vücutta yer alan tüm hücrelerden ekstraselüler ortama salgılanan bu nanoveziküller salgılandığı hücrenin kimliğini de yansıtmaktadırlar. Dolayısıyla vücut sıvılarında yer alan bu veziküller tanı, tedavi ve takipte hücreye ulaşamadığında veya hücre eldesinin zor olduğu durumlarda kullanılabilir ve belki de girişimsel işlemlerin de yerine geçebilecek biyobelirteç özelliği gösterebilirler.

Eksozom, hücre dışı ortama salgılanan veziküllerin en küçüğüdür. Taşıdıkları hücreler arası ve hücre içi kargo muhteviyatları ile haberleşme ve sinyal yollarında görev yapmaktadırlar. Lipid kompozisyonları ile hücre içine kolaylıkla girebilme potansiyelleri vardır. Eksozomlar, proteinleri ve genetik bilgiyi hücrelere taşıyarak hücre iletişimde anahtar role sahiptirler. Dolayısıyla RNA ve proteinlerin hedef hücrelere iletiminde ve bu hücrelerin biyolojik aktivitelerinde görev alarak gen ifadesini değiştirebilirler. Eksozomal bileşim, türevlendiği hücreye, hücrenin patofizyolojik özelliklerine bağlı olarak değişebilmektedir. Şimdiye kadar hücreler üzerine herhangi yıkıcı bir etkinlik göstermeyen bu veziküller, yenilenme ve farklılaşma rolleri ile öne çıkmaktadırlar. Ayrıca, genomik sekans muhteviyatları eksozomal mRNA, protein ve enzim araştırmalarının da her geçen gün artmasına neden olmuştur. Son dönem çalışmalarında kanser hücresi temelli onkozomlar, spesifik prostat kanser hücre serisinde gösterilen prostazomlar, tümör kökenli teksozomlar onkojenik biyobelirteç olma yolunda aday gösterilen başlıca eksozomlardandır. Kodlayan ve kodlamayan nükleik asit dizileri ile hücre dışı serbest DNA taşıyıcısı olabilme potansiyelleri nedeniyle de prenatal tanıda anne kanında fetal orjinli DNA analizleri için, eksozomlar çok önemli belirteç olarak görülmektedir.

3.5.1. Eksozom Üretimi ve Salınımı



Şekil 1. Eksozomların Oluşum Mekanizmaları (Ertekin 2020, Grunathan ve ark., 2019)

Hücreler, büyük molekülleri endositoz ile hücre içine taşıırken sentez ürünlerini ekzositoz ile dışarı verebilmektedirler. Makromoleküllerin ekzositoz aracılı dışarı salınımı yaygın olmakla birlikte, multiveziküler cisimciğin (MVB) plazma zarı ile füzyonuna bağlı içeriğinin dışarı gönderilmesi de bir ekzositoz mekanizmasını oluşturmaktadır. Eksozomlar bu yolla hücre dışına salınmaktadır (Şekil 1).

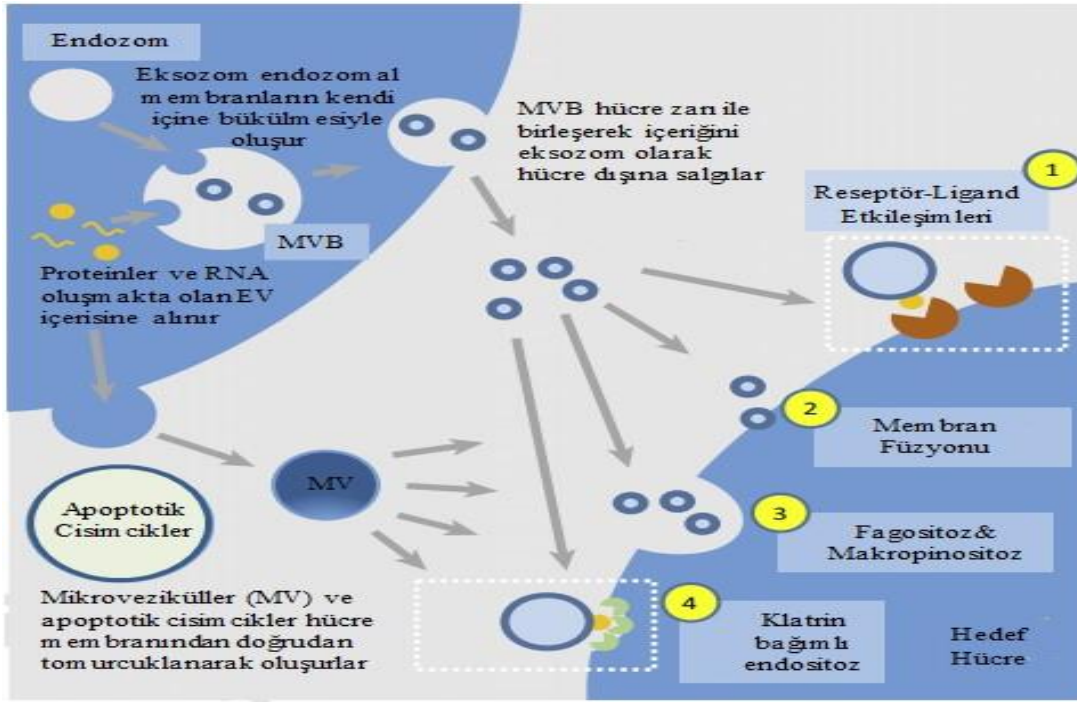
Eksozom oluşumunun ilk basamağında hücre zarının bir bölümü klatrin aracılı ve klatrinsiz endositoz ile hücre içine alınır ve sırasıyla erken endozom, geç endozom ve MVB oluşumu gerçekleşir (Chargaff ve West 1946; Gurunathan vd 2021). Erken endozom olgunlaşarak geç endozomu oluşturur. MVB gelişiminde, geç endozomun plazma zarının içeri doğru göçü ile tomurcuklanması en önemli basamaktır (Hessvik ve Llorente 2018). Böylece içerisinde çok sayıda kesecik/eksozom barındıran bir yapı ortaya çıkar. Erken endozom tomurcuklanarak geç endozom aşamasında intralüminal veziküller oluşturur. MVB'nin hücre zarı ile füzyonu sonucu kargo keseciklerini dış ortama salması ile eksozomlar dış ortama geçer (Gurunathan ve ark., 2021). Öte yandan tüm MVB içeriklerinin tamamı eksozom olarak salgılanmayabilir. Örneğin, MVB'lerin lizozomlarla birleşip parçalanmasıyla içerikleri hücrese geri dönüşüme gönderilebilir. Diğer bir metabolik yol ise özelleşmiş lizozom benzeri organellerin oluşumuna; melanozomlar, azurofilik granüllerin oluşumuna katkıda bulunmalarıdır. MVB'ler kolesterol düzeylerine metabolik yollar tercih ederler. MVB düşük kolestrol seviyesine sahip ise parçalanır, hücre organeli lizozomun yapısına katılır ve sonunda MVB içeriği hücrese geri dönüşüme gider. Daha yüksek kolestrole sahip olan MVB'ler ise plazma zarıyla birleşir ve MVB içeriği/eksozomlar hücrenin dışına salınır. Tüm bu süreçler sinyal yolları ile düzenlenir (Hessvik ve Llorente 2022).

Eksozomlar, trans-Golgi ağı yoluyla yapısal salınım ve indüklenabilir salınım olarak hücreden iki farklı mekanizma ile salgılanır (Devhare ve Ray 2018). Vezikül oluşturma sürecinde, endozomal sıralama kompleksi proteinlerinin (ESCRT'ler) koordinasyonu önemli roller oynar. ESCRT0, MVB salınımı için proteinleri işaretler ve ESCRTI proteinlerini endozomal membrana toplar, bu da ESCRTII ve ESCRTIII'ye davetiye çıkarır. Sonuçta MVB'lerin zarlarında bu üç protein toplanır. Eksozomla ilişkili ek proteinler, ALG-2 ile etkileşime giren protein X (Alix) gibi bu kompleksi stabilize eder. Bu kompleks proteinler, ATPase vakuolar protein sıralama 4 (Vps4) tarafından desteklenen bir vezikül tomurcuklanma makinesi oluşturur. ESCRTIII polimerik filament oluşumuna aracılık eder, bu da membran invaginasyonlarına yol açar ve bu durum intralüminal vezikül (ILV) oluşumu ile sonuçlanır (Tamai ve ark, 2012). Eksozomlarda ESCRT proteinlerinin varlığı, yüksek verimli protein analiz yöntemleri kullanılarak tanımlanmış ve ESCRT sisteminin temel bileşenlerinin varlığında ortaya çıkan bir azalmanın, ILV oluşumunu ve eksozomların salınmasını sekteye uğrattığı gösterilmiştir (Hirsova ve ark., 2016).

ILV oluşumu, proteolipidlerin ve tetraspaninlerin koordineli eylemleriyle kolaylaştırılan ESCRT yolağından bağımsız süreçler yoluyla da meydana gelebilir. Kolesterol, sfingosin ve seramidlerin Flotillin gibi bir grup proteinin koordinasyonla membran invajinasyonu teşvik ettiği ve CD9, CD63 ile CD81 gibi tetraspaninler açısından zengin mikro yapıları oluşturduğu gösterilmiştir (Bowers, 2020). ESCRT'ye bağımlı ve bağımsız eksozomlar aynı hücreden salgılanabilir ve genellikle farklı tipte kargolar içerir (Tauro, 2013). Eksozom salınımı ayrıca Rab guanozin trifosfatlar tarafından da kontrol edilir. Örneğin, Rab11, trans-Golgi ağından türetilen veziküllerle birleşerek MVB oluşumunu ve ardından plazma membran füzyonunu teşvik eder (Devhare ve Ray, 2018). Rab27a'nın düzeyinin düşmesinin hücre içi ve hücre dışı bulaşıcı hepatit C virüsü parçacıklarının oluşumunu engeller. Aynı zamanda, Rab27a'nın susturulması, eksozom protein içeriğini değiştirmeden kültür süpernatantında eksozom salınımını azaltır (Shrivastava ve ark., 2018; Yue ve ark., 2020).

3.5.2. Ekzozomların Hedef Hücre Tarafından Hücre İçine Alınması

Ekzozomların hedef hücreleri nasıl tanıdıkları ve hedef hücrelerin ekzozomları nasıl hücre içine alıp kabul ettiği hala araştırılan bir konudur. Günümüze kadar yapılan araştırmalar ekzozomların hedef hücreler tarafından reseptör-ligand etkileşimi ile, membran füzyonu ile, endositoz ve fagositoz mekanizmaları aracılığı ile alındığını göstermiştir (Yue ve ark., 2020) (Şekil 2).



Şekil 2. Ekzozomların Hedef Hücreler Tarafından Hücre İçine Alınma Mekanizmaları (Ertekin 2020)

3.5.3. Reseptör-Ligand Etkileşimleri

Ekzozomların üzerinde bulunan ligandlar, hedef/alıcı hücre reseptörlerine bağlanarak hücre içine alınma işlemini başlatırlar (Isaac ve ark., 2021). Birçok protein, ekzozomların hücrelere bağlanmasını sağlayan zara bağlı reseptörler olarak tanımlanmıştır

İntegrin-tetraspanin kompleksleri ve/veya ekzozomal efrin reseptörünün (Eph) alıcı hücrelerde ekspres edilmiş membran efrine bağlanması bu örneklerden biridir. Başka bir örnek, makrofajlar tarafından ekzozom içselleştirmeye aracılık edebilen kollajen yapılı (MARCO) makrofaj reseptörüdür (Isaac ve ark., 2021; Yue ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2018). Ek olarak, ekzozom membran proteinleri dolaşımdaki ekzozom kinetiğini modüle eder. İntravenöz ekzozom uygulamasından önce ekzozomların proteaz ile muamelesi sonucu yüzey proteinlerindeki kaybın kandan temizlenmede ya da hücreler tarafından ekzozomların kabul edilmesinde bir gecikmeye yol açtığı gösterilmiştir (Gurung ve ark., 2021). Ekzozom yüzey proteinleri, ana/üretim yapan hücrenin protein repertuarından etkilendiğinden, ekzozom membran bileşimi, hücrenin fizyolojik durumuna göre değişebilir. Ekzozomlar glikoproteinler açısından zengindir dolayısıyla doğal glikosilasyonun bozulması alıcı hücre tipini de değiştirebilir (Zhang ve Yang 2018). Glikosilasyonun doğrudan hücre tanıma ve/veya hücrelere aktif giriş rolü şu an için tam anlamıyla tanımlanamamıştır. Çalışmalarda, ekzozomların hedef hücrelere alınmasının hücre tipine özgün olabildiğine işaret edilmektedir. Pankreatik adenokarsinoma türevli ekzozomların, granülosit ve T hücrelerine göre peritoneal eksuda hücrelerince daha kolay taşındığı saptanmıştır (Mulcahy ve ark., 2014; Rana ve ark., 2012;

Zech ve ark., 2012). Bir diğer araştırmada, lenf nodu stromal orjinli eksozomların endotelial ve pankreatik hücreler aracılığı ile ana lenf nodu hücrelerinden daha etkin hücre içine alındığı gösterilmiştir (Parolini ve ark., 2009).

3.5.4. Membran Füzyonu

Membran füzyonu, hücre içeriğinin aktarılmasında eksozomların hedeflenen hücrelerin plazma zarı ile kaynaşarak kargo içeriklerini sitoplazmaya boşaltması esasına dayanmaktadır. Parolini ve ark. (2009), melanoma orjinli eksozomların düşük pH'da membran füzyonu aracılığı ile taşıma görevlerini tanımlamışlardır. Ayrıca, membran birleşiminin yapısında, eksozom içeriği ile benzer şekilde sfingomiyelin/gandliozid GM3 ve kavaolin-1 bulunduğu belirtilmektedir (Hessvik ve Llorente, 2017).

3.5.5. Endositoz

Endositoz, kltrin bağımlı, lipid-Salı aracılıklı, caveolin aracılıklı ve makropinositoz yoluyla gerçekleşebilir. Kltrin aracılı endositoz iyi anlaşılmış bir süreçtir ve bu yolun inhibisyonu, eksozomların alımını azaltır. Kltrin aracılı endositozda, kltrin kaplı veziküller oluşur. Çeşitli transmembran reseptörlerin ve ligandların bağlantısı da aşamalı bir şekilde gerçekleştirilir. Plazma zarının iç kısma bükümlenmesi birçok proteinin mebrana göçü ile indüklenir. Eksozom hücre içine alınır.

Kltrin aracılı endositozda önemli bir oyuncu olan Dynamin-2, invaginasyonları keserek membrandan ayırır. Dinamin-2 inhibisyonu, makrofajlar ve mikroglia hücreleri tarafından eksozom alımını azaltır. İçselleştirilmiş eksozom kaplamasız hale gelir (Isaac ve ark., 2021; Rana ve ark., 2012)

Lipid-salı aracılı endositoz: Lipid sallar, kolesterol, sfingolipidler ve glikosilfosfatidilinositol (GPI) bağlantılı proteinler açısından zengin, deterjana dirençli mikro membran bölgeleridir. Annexin AnxA2, hücre yüzeyindeki eksozomları belirli yapışık bölgelerde hareketsiz hale getirerek lipid sal aracılı endositozu destekler. Lipid sallarının bir bileşeni olan Flotillin, lipid sal aracılı endositozu da pozitif olarak düzenler (Isaac ve ark., 2021).

Kaveolin aracılıklı endositoz: Kaveolinler, kolesterol ve sfingolipidler içeren oldukça hidrofobik ve deterjana dirençlidir eksozomların içselleştirilmesini sağlar. Caveolin-1, 2 ve 3, kaveolanın ana yapısal proteinleridir. Eksozomların etrafını kaplarlar. Caveolin-1, epitel hücrelerinde eksozom alımını pozitif olarak düzenler ancak fibroblastlarda ve glioma hücrelerinde eksozom alımını negatif olarak düzenler. RhoA ve ARF6 'da bu mekanizmada görev alır (Parolini ve ark., 2009; Sandvig ve ark., 2008).

Makropinositoz, makropinozomlar olarak adlandırılan hücre içi bölmeler oluşturmak üzere sıkışan içe doğru plazma zarı girintisini indüklemek için aktin güdümlü lamellopodia kullanır. Kolesterol aracılı Rac1 GTPaz alımı, Na⁺/H⁻ iyonları değiştirici işlevi ve bazı durumlarda dinamin makropinositozu düzenler. Sonraki aşamada makropinozom olgunlaşır ve daha sonra bozunma veya plazma zarına geri dönüşüm için lizozom ile füzyon yoluyla içselleştirilir. Bu farklı eksozom girişi modları bir arada var olabilir (Kerr ve Teasdale, 2009).

3.5.6. Fagositoz

Fagositoz tipik olarak bakteri ve ölü hücreler gibi büyük parçacıkları içine alır, ancak eksozomlar gibi küçük parçacıkları da içselleştirebilir. Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K) ve fosfolipaz C (PLC) enzimleri aracılığı ile fagozom yapı kapatılır. Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, bu eksozom alımı yolunun immün sistem hücreleri ile kullanıldığı gösterilmiştir. Fagositoz, hücre zarına yerleşen resöptörlerin varlığında aktin aracılı endositoz çeşitidir. Eksozomlar için bir alım mekanizması olmasından daha çok yok edilmelerini sağlayan bir mekanizma oldukları düşünülmektedir. Konu halen araştırılmaktadır (Ertekin, 2020; Zhang ve ark., 2018)

4. Eksozomların Moleküler Bileşimi

ExoCarta eksozom veritabanıdır ve ilk olarak 2009 yılında tanımlanmıştır (Keerthikumar ve ark., 2015). Birden fazla organizmada eksozomlarda tanımlanan içeriklere ulaşılmasını sağlar. Eksozomal veritabanının son gelişmeleri göstermektedir ki; 41860 protein, 4946 mRNA, 2838 miRNA ve 1116 lipid eksozom nanoveziküllerin yapısında tanımlanmıştır (<http://www.exocarta.org>).

4.1. Protein Bileşimi

Eksozomlar sitozol, plazma membranı ve endositik yollarda görev yapan pekçok protein içermektedir. Ekstraselüler matrikste görevli, integrin, galaktin ve kollajen ayrıca epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), proteomik çalışmalarında eksozomal yapılar için tanımlanmıştır (Kourembanas ve ark., 2021). Eksozomlarda, aneksin ve flotillin gibi endozom oluşumu esnasında protein iletiminde rol oynayan ve membran füzyonunda görevli moleküller de bulunmaktadır. Öte yandan, hedef hücreler için tetraspaninler (CD9, CD63, CD37, CD81, CD82, CD53) ve MVB'den eksozom biyogenezinde rol oynayan ESCRT proteinleri, Alix ve TSG101 proteinlerini de içermektedir. İntegrin- α ,- β , P-selektin hücreler arası adezyon molekülü-I, CD146, CD9, CD18, CD11a, CD11b, CD11, D166 adezyon proteinleri, eksozomlarda görev yapmakta ve özgün hücre yüzey belirteçlerini oluşturmaktadır. Sitozolik Rab proteinleri, Hsp90, Hsc70, Hsp60, Hsp20, Hsp27 gibi ısı şok proteinleri ve GTPazlar eksozomlarda tanımlanan diğer proteinlerdir. Endozomal köken taşımalarına rağmen eksozomlar, endoplazmik retikulum, mitokondri veya Golgi cisimciğindeki proteinleri barındırmazlar (Hoehn ve ark., 1975) Eksozom protein içeriği Tablo 1'de görülebilir. En son sütunda eksozomlarda üstlendikleri görevler de özetlenmiştir (Tablo 1).

4.2. Lipid Bileşimi

Eksozomların lipid bileşimi, tümü plazma zarlarında bulunabilen sfingolipidler, kolesterol, fosfatidilserin, doymuş yağ asitleri ve seramidlerden oluşur. Eksozomal lipidler eksozomların türevlendikleri yapılara özgüdür. Eksozomların lipid içeriği ve fonksiyonları Tablo 2'de özetlenmiştir. Eksozomlar, biyolojik aktivitesi yüksek lipidlerin hedef hücrelere taşınmasında önem arz ederler (Keerthikumar ve ark., 2016).

4.3. Nükleik Asit Bileşimi

Eksozomlar için nükleik asit çalışmaları göstermektedir ki, eksozomlar mRNA ve miRNA içermektedirler. mRNA içerikleri ile hücre siklusu, anjiyogenez ve histon modifikasyonlarında rol almaktadır. *In vitro* araştırmalar, fare eksozomların RNA bileşimini, insana transforme edebildiklerini göstermektedir. Bu durum eksozomların genetik bilgi aktarımı yaptığını dolayısıyla hücre iletişimde büyük rollerinin olduğunu ortaya koymaktadır (Ertekin, 2020; Sharma ve ark., 2018).

5. Eksozom İzolasyon Teknikleri

Eksozomlar çoğunlukla laboratuvar ortamında kültüre edilen hücrelerden izole edilir. Analizler için kültür sıvısından (süpernatant) çeşitli izolasyon teknikleriyle eksozomlar elde edilir. Bunun dışında, çeşitli vücut sıvılarından; kan, idrar, tükürük, amniyon sıvısı, beyin-omurilik sıvısı, nazal salgılar ve anne sütünden de eksozomlara ulaşılır. Eksozom izolasyonunda genel olarak santrifüj yöntemi, kromatografi, filtreleme, polimere dayalı çöktürme ve immüno-affinite teknikleri kullanılmaktadır (Ertekin, 2020; Johnstone ve ark., 1987). Bu yöntemlerin hepsinin kendine özgü güçlü yanları ve sınırlamaları vardır.

İçlerinde en yaygın kullanılanı ise ultrasantrifüj yöntemidir. Bu yöntem kuvveti ve süresi giderek artan bir dizi santrifüj basamağından oluşur. İzolasyon için kullanılan sıvıların içinde eksozomlar dışında ölü ve canlı hücreler, hücresel atıklar, proteinler gibi boyutları ve yoğunlukları birbirinden farklı birçok ek materyal yer almaktadır. Her bir santrifüj basamağında bu bileşenlerden bir kısmı çöktürülür ve ortamdan uzaklaştırılır. Her basamak sonrası daha yüksek santrifüj hızında işleme devam edilir. Sonuçta eksozomların

ayırımı gerçekleşir. Ultrasantrifügasyon ile eksozom izolasyonu, hedef hücre ayırımında yüksek güvenilirlikli teknolojilerin başında gelmektedir. Ancak, santrifüj sürelerinin uzun olması, yüksek maliyet ve eksozomların santrifüj hızlarında zarar görebilmesi dikkat edilmesi gereken noktalaradır.

5.1. Ultrasantrifüj

Eksozom eldesinde altın standart olarak atfedilen bir izolasyon tekniğidir. Bu izolasyon yöntemi, difransiyel ve yoğunluk gradiyentine bağlı ultrasantrifüj olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Diferansiyel ultrasantrifüj, başlarda retikülositlerde eksozom izolasyonu için kullanılmış sonrasında They ve ark. (2009) çalışmasında standardizasyonu sağlanmıştır. Bu yöntemde hücre kültür süpernatani ardıl santrifüjleme ile çeşitli devir ve sürelerde ayrıştırılmaktadır. Her santrifüj basamağında ağırlık ve boyutça farklılık gösteren yapılar ayrıştırılmaktadır. Santrifüj sonucunda hücre ve atıklardan uzaklaştırılmış eksozomal içeriğe ulaşılır.

Yoğunluk gradiyent yönteminde ise örnekler sükröz içerikli gradiyent ortamı ile ultrasantrifüjlenir. Sonuçta tüp içinde, partiküller boyut, kütle ve yoğunluk farklılığına göre ayrıştırılır. Eksozom izole edilecek sıvı, yukarıdan aşağı yönde artan gradiyentte 100,000g/16 saat süresince santrifüjlenir. Santrifüjleme tamamlanınca, 1.10-1.18 g/mL yoğunlukta eksozom pelletleri ayrışırken, daha yoğun partiküller aşağı çökmektedir (Guerreiro ve ark., 2018; Popovic ve Marco, 2018).

5.2. Boyut Dışlama Kromatografisi

Boyut dışlama kromatografisi (SEC) ve jel geçirgenlik kromatografisi (GEC) tanımları genellikle birbirinin yerine kullanılır. Bu sıvı kromatografi analizi, polimer molekülleri boyuta göre ayırır ve polimer numunelerinin moleküler ağırlık dağılımını ölçebilir. Mutlak moleküler ağırlık ölçümleri, çok açılı ışık saçılım (MALS) saptaması kullanılarak gerçekleştirilir.

Büyükölçü ayırma kromatografisi eksozomların morfoloji ve fonksiyonuna zarar vermeden bileşenlerinin boyutlarına göre ayrılmasını sağlar. Bu yöntemle eksozomların diğer biyomoleküllerden ayrılması sağlanır (An ve ark., 2018). Araştırmacılar, kromatografinin eksozom eldesinde etkin olduğunu bildirmişlerdir.

5.3. Polimer Esaslı Çöktürme

Eksozom elde edilecek mayi veya hedef doku polimer esaslı sıvı ile karıştırılır. Çökeltme amacı ile polietilen glikol (PEG) polimerleri veya tuz çözeltileri örneğin sodyum asetat kullanılır. Daha sonra inkübasyon ve düşük hızda santrifüj aşamaları ile devam edilir. Santrifüjleme tamamlanınca, eksozom muhteviyatı tabana çökmüş haldedir. (Kurian ve ark., 2021).

5.4. İmmünoafinite Yöntemiyle İzolasyon

İmmünoafinite yöntemi ile izolasyon tekniğinde, hücre membranında yer alan reseptörler ile immünoçip eksozom ilişkisine dayalı bir izolasyon çeşitidir. Eksozomların zara bağlı antijenleri (reseptörleri) ile hareketsizleştirilmiş antikolar (ligandlar) arasındaki spesifik etkileşimleri sayesinde eksozomlar yakalanır. Yoğunluk ve boyuta dayalı olanlar gibi diğer spesifik olmayan izolasyon teknikleri kullanılarak izole edilen eksozomları daha da saflaştırmak için kullanılabilir. Saflaştırılan eksozomlardan nükleik asitler elde edilebileceği gibi eksozomal proteinler de biyolojik belirteç olabilir (Sharma ve ark., 2018).

5.5. Ultrafiltrasyon

Ultrafiltrasyon (UF) yöntemi, eksozom ayırma amacı ile kullanılan temel filtrasyon yöntemleri ile benzerdir. Dolayısıyla, bu yöntemde eksozomlar ağırlık ve boyut farkına dayalı membran filtreler aracılığıyla izole edilir. Hızlı ancak özel ekipman içeren bir izolasyon yöntemidir. Ayrıca, ultrafiltrasyon basıncı ile eksozomal içeriğin zarar görmesi ekarte edilmemelidir. Yapılan araştırmalarda, idrardan UF izolasyonu ile verimliliği etkin eksozom eldesi bildirilmektedir (Zhang ve ark., 2018; Zhang ve Yang, 2018).

6. SONUÇ

Son dönem tıp literatüründe öne çıkan, hastalıkların tanı, takip ve tedavisinde yeni belirteçlerin neler olabileceğini tartışan bir alandır; hücre dışı moleküller ve bunların en küçüğü olan ekzozomlar. İlginçtir ki atık olarak bildirilen eski dönemlerin hücre dışı partikülleri çağımız mikrovezikülleri, tıp ve teknoloji alanında, hücre yenilenmesinden, iletişimine, hücre kimliklendirmesinden, içeriklerinin taşınmasına, belki ileride biyolojik bir vektör olarak terapötiklerin hücre içine alınmasına kadar geniş bir spektrumda araştırılmaktadırlar.

Bu veziküllerin başlıcası olan ekzozomlar, nükleik asit içerikleri ve miRNA bileşenleri ile özellikle hücre bölünme, büyüme, proliferasyon ve farklılaşmasına dayalı, hücre temelli pek çok çalışmaya ışık tutacaktır. Boyutları küçük, ancak görev ve fonksiyon tanımlamaları halen yapılan ekzozomlar, bilim dünyasında her geçen gün literatüre eklenen yeni bir veri ile giderek yaygınlaşmaktadır.

7. SINIRLILIKLAR

Hücre dışı veziküller, hücrenin en küçük moleküler bileşenleridir. Bu doğrultuda, hangi vezikülün ne amaçla elde edileceği ilk belirlenmesi gereken parametredir. Çünkü, izolasyon, saflaştırma ve elde edilen vezikülün doğrulanması için etkin tekniğin seçilebilmesi bu şarta bağlıdır.

Finansal Destek

Finansal destek yoktur.

Çıkar Çatışması

Çıkar çatışması yoktur.

Yazar Katkıları

Tasarım: M.N.S. Veri Toplama veya veri girişi yapma: M.N.S. Analiz ve yorum: M.N.S., A.G.Z., M.S.Y. Literatür tarama: M.N.S., A.G.Z., M.S.Y. Yazma: M.N.S.

Yazma: MN Somuncu

KAYNAKLAR

- Aaronson, S., Behrens, U., Orner, R., & Haines, T. H. (1971). Ultrastructure of intracellular and extracellular vesicles, membranes, and myelin figures produced by *Ochromonas Danicæ*. *Journal of ultrastructure research*, 35(5), Danica30. [https://doi.org/10.1016/s0022-5320\(71\)80003-5](https://doi.org/10.1016/s0022-5320(71)80003-5)
- An, M., Wu, J., Zhu, J., & Lubman, D. M. (2018). Comparison of an Optimized Ultracentrifugation Method versus Size-Exclusion Chromatography for Isolation of Exosomes from Human Serum. *Journal of proteome research*, 17(10), 3599–3605. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00479>
- Bazzan, E., Tinè, M., Casara, A., Biondini, D., Semenzato, U., Cocconcelli, E., Balestro, E., Damin, M., Radu, C. M., Turato, G., Baraldo, S., Simioni, P., Spagnolo, P., Saetta, M., & Cosio, M. G. (2021). Critical Review of the Evolution of Extracellular Vesicles' Knowledge: From to Today. *International journal of molecular sciences*, 22(12), 6417. <https://doi.org/10.3390/ijms22126417>
- Bobrie, A., Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. (2011). Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 12(12), 1659–1668. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01225.x>
- Bowers, E. C., Hassanin, A., & Ramos, K. S. (2020). In vitro models of exosome biology and toxicology: New frontiers in biomedical research. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*, 64, 104462. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.02.016>
- Chargaff, E. ve West, R. (1946). The biological significance of thromboplastin protein of blood. *The Journal of bithromboplastinistry*, 166(1), 189–197.3. Wolf P. (1967). The nature and significance of platelet products in human plasma. *British journal hematology*, 13(3), 269–288. <https://doi.org/10.1111/hematology.141.1967.tb08741.x>
- Cocucci, E., Racchetti, G., & Meldolesi, J. (2009). Shedding microvesicles: artefacts no more. *Trends in cell biology*, 19(2), 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2008.11.003>

- Dalton A. J. (1975). Microvesicles and vesicles of multivesicular bodies versus "virus-like" particles. *Journal of the National Cancer Institute*, 54(5), 1137–1148. <https://doi.org/10.1093/jnci/54.5.1137>
- Devhare, P. B., & Ray, R. B. (2018). Extracellular vesicles: Novel mediator for cell to cell communications in liver pathogenesis. *Molecular aspects of medicine*, 60, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.11.001>
- Ertekin TS. (2020). Ekzozom yüklü sıkıştırılabilir kemik greftleri /Compressible bone gfts loaded by exosomes. <http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/handle/11655/22749?show=full>
- Fox, AS., Yoon, S. B., Gelbart, W. M. (1971). DNA-induced transformation in *Drosophila*: genetic analysis of transformed stocks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 68(2), 342–346. <https://doi.org/10.1073/pnas.68.2.342>
- Guerreiro, E. M., Vestad, B., Steffensen, L. A., Aass, H., Saeed, M., Øvstebø, R., Costea, D. E., Galtung, H. K., & Søland, T. M. (2018). Efficient extracellular vesicle isolation by combining cell media modifications, ultrafiltration, and size-exclusion chromatography. *PLoS one*, 13(9), e0204276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204276>
- Gurunathan, S., Kang, M. H., Jeyaraj, M., Qasim, M., & Kim, J. H. (2021). Correction: Gurunathan, S. et al. Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. *Cells* 2019, 8, 307. *Cells*, 10(2), 462. <https://doi.org/10.3390/cells10020462>
- Gurung, S., Perocheau, D., Touramanidou, L., & Baruteau, J. (2021). The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signaling. *Cell communication and signaling: CCS*, 19(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12964-021-00730-1>
- Heijnen, H. F., Schiel, A. E., Fijnheer, R., Geuze, H. J., & Sixma, J. J. (1999). Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and alpha granules. *Blood*, 94(11), 3791–3799. <https://ashpublications.org/blood/article/94/11/3791/260424/Activated-Platelets-Release-Two-Types-of-Membrane>
- Hessvik, N. P., & Llorente, A. (2018). Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 75(2), 193–208. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2595-9>
- Hirsova, P., Ibrahim, S. H., Verma, V. K., Morton, L. A., Shah, V. H., LaRusso, N. F., Gores, G. J., & Malhi, H. (2016). Extracellular vesicles in liver pathobiology: Small particles with big impact. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 64(6), 2219–2233. <https://doi.org/10.1002/hep.28814>
- Hoehn, H., Bryant, E. M., Karp, L. E., & Martin, G. M. (1975). Cultivated cells from diagnostic amniocentesis second-trimester pregnancies. II. Cytogenetic parameters as functions of clonal type and preparative technique. *Clinical genetics*, 7(1), 29–36. <https://europepmc.org/article/med/1176144> <http://www.exocarta.org>
- Isaac, R., Reis, F., Ying, W., & Olefsky, J. M. (2021). Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism. *Cell metabolism*, 33(9), 1744–1762. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.08.006>
- Johnstone, R. M., Adam, M., Hammond, J. R., Orr, L., & Turbide, C. (1987). Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *The Journal of biological chemistry*, 262(19), 9412–9420. <https://scirp.org/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2611292>
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6478), eaau6977. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- Keerthikumar, S., Chisanga, D., Ariyaratne, D., Al Saffar, H., Anand, S., Zhao, K., Samuel, M., Pathan, M., Jois, M., Chilamkurti, N., Gangoda, L., & Mathivanan, S. (2016). ExoCarta: A Web-Based Compendium of Exosomal Cargo. *Journal of molecular biology*, 428(4), 688–692. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.019>
- Kerr, M. C., & Teasdale, R. D. (2009). Defining macropinocytosis. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 10(4), 364–371. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00878.x>
- Kourembanas S. (2015). Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy. *Annual review of physiology*, 77, 13–27. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021014-071641>
- Kurian, T. K., Banik, S., Gopal, D., Chakrabarti, S., & Mazumder, N. (2021). Elucidating Methods for Isolation and Quantification of Exosomes: A Review. *Molecular biotechnology*, 63(4), 249–266. <https://doi.org/10.1007/s12033-021-00300-3>
- Larabi, A., Barnich, N., & Nguyen, H. (2020). Emerging Role of Exosomes in Diagnosis and Treatment of Infectious and Inflammatory Bowel Diseases. *Cells*, 9(5), 1111. <https://doi.org/10.3390/cells9051111>
- Marzesco, A. M., Janich, P., Wilsch-Bräuninger, M., Dubreuil, V., Langenfeld, K., Corbeil, D., & Huttner, W. B. (2005). Release of extracellular membrane particles carrying the stem cell marker prominin-1 (CD133) from neural progenitors and other epithelial cells. *Journal of cell science*, 118(Pt 13), 2849–2858. <https://doi.org/10.1242/jcs.02439>
- Mishra, N. C., & Tatum, E. L. (1973). Non-Mendelian inheritance of DNA-induced inositol independence in *Neurospora*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70(12), 3875–3879. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3875>
- Mulcahy, L. A., Pink, R. C., & Carter, D. R. (2014). Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *Journal of extracellular vesicles*, 3, 10.3402/jev.v3.24641. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24641>
- Popovic M, de Marco A. (2018) Canonical and selective approaches in exosome purification and their implications for diagnostic accuracy. *Translational Cancer Research*, vol. 7(Suppl 2), S209-S225. <https://tcr.amegroups.com/article/view/15820>

- Rana, S., Yue, S., Stadel, D., & Zöller, M. (2012). Toward tailored exosomes: the exosomal tetraspanin web contributes to target cell selection. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 44(9), 1574–1584. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.06.018>
- Raposo, G., Nijman, H. W., Stoorvogel, W., Liejendekker, R., Harding, C. V., Melief, C. J., & Geuze, H. J. (1996). B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *The Journal of experimental medicine*, 183(3), 1161–1172. <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161>
- Saeedi, S., Israel, S., Nagy, C., & Turecki, G. (2019). The emerging role of exosomes in mental disorders. *Translational psychiatry*, 9(1), 122. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0459-9>
- Sandvig, K., Torgersen, M. L., Raa, H. A., & van Deurs, B. (2008). Clathrin-independent endocytosis: from nonexistent to an extreme degree of complexity. *Histochemistry and cell biology*, 129(3), 267–276. <https://doi.org/10.1007/s00418-007-0376-5>
- Sharma, P., Ludwig, S., Muller, L., Hong, C. S., Kirkwood, J. M., Ferrone, S., & Whiteside, T. L. (2018). Immunoaffinity-based isolation of melanoma cell-derived exosomes from plasma of patients with melanoma. *Journal of extracellular vesicles*, 7(1), 1435138. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1435138>
- Shrivastava, S., Devhare, P., Sujjantarat, N., Steele, R., Kwon, Y. C., Ray, R., & Ray, R. B. (2015). Knockdown of Autophagy Inhibits Infectious Hepatitis C Virus Release by the Exosomal Pathway. *Journal of virology*, 90(3), 1387–1396. <https://doi.org/10.1128/JVI.02383-15>
- Tamai, K., Shiina, M., Tanaka, N., Nakano, T., Yamamoto, A., Kondo, Y., Kakazu, E., Inoue, J., Fukushima, K., Sano, K., Ueno, Y., Shimosegawa, T., & Sugamura, K. (2012). Regulation of hepatitis C virus secretion by the Hrs-dependent exosomal pathway. *Virology*, 422(2), 377–385. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2011.11.009>
- Tauro, B. J., Greening, D. W., Mathias, R. A., Mathivanan, S., Ji, H., & Simpson, R. J. (2013). Two distinct populations of exosomes are released from LIM1863 colon carcinoma cell-derived organoids. *Molecular&cellular proteomics MCP*, 12(3), 587–598. <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.021303>
- Théry, C., Ostrowski, M., & Segura, E. (2009). Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nature reviews. Immunology*, 9(8), 581–593. <https://doi.org/10.1038/nri2567>
- Trams EG, Lauter CJ, Salem Jr N, Heine U. Exfoliation of membrane ectoenzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim Biophys Acta*. 1981; 645: 63-70. 2. <https://www.sciencedirect.com/journal/biochimica-et-biophysica-acta-bba/biomembranes/vol/645/issue/1>
- Wilson, J. M., Whitney, J. A., & Neutra, M. R. (1991). Biogenesis of the apical endosome-lysosome complex during differentiation of absorptive epithelial cells in rat ileum. *Journal of cell science*, 100 (Pt 1), 133–143. <https://doi.org/10.1242/jcs.100.1.133>
- Yin, P., Lv, H., Li, Y., Deng, Y., Zhang, L., & Tang, P. (2017). Exosome-Mediated Genetic Information Transfer, a Missing Piece of Osteoblast-Osteoclast Communication Puzzle. *Frontiers in endocrinology*, 8, 336. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00336>
- Yue, B., Yang, H., Wang, J., Ru, W., Wu, J., Huang, Y., Lan, X., Lei, C., & Chen, H. (2020). Exosome biogenesis, secretion and function of exosomal miRNAs in skeletal muscle myogenesis. *Cell proliferation*, 53(7), e12857. <https://doi.org/10.1111/cpr.12857>
- Zech, D., Rana, S., Büchler, M. W., & Zöller, M. (2012). Tumor-exosomes and leukocyte activation: an ambivalent crosstalk. *Cell communication and signaling:CCS*, 10(1), 37. <https://doi.org/10.1186/1478-811X-10-37>
- Zhang, G., & Yang, P. (2018). A novel cell-cell communication mechanism in the nervous system: exosomes. *Journal of neuroscience research*, 96(1), 45–52. <https://doi.org/10.1002/jnr.24113>
- Zhang, P., Samuel, G., Crow, J., Godwin, A. K., & Zeng, Y. (2018). Molecular assessment of circulating exosomes toward liquid biopsy diagnosis of Ewing sarcoma family of tumors. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine*, 201, 136–153. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2018.05.007>

EXTENDED ABSTRACT

Every cell of the human body, excretes, small vesicles, and molecules to the extracellular environment both as the result of normal and pathologic processes. These nano molecules which are called extracellular vesicles are the focus of recent research that aim to determine new disease biomarkers and drugs to enable personalized diagnosis, follow-up, and treatment for patients. Previous studies showed that these molecules that are extracted to the extracellular environment by every cell, carry the characteristic identity of the cell of the origin. Thus these vesicles that can be found in body fluids have the possibility of replacing invasive procedures as a biomarker in which acquiring the cells for diagnosis, follow-up, and treatment is problematic.

Communication in cells occurs by the secretion of various molecules into the extracellular environment or by direct interaction. In addition, as another communication method, EVs are secreted from eukaryotic cells, which can reach both distant and nearby cells. That is, eukaryotic cells produce packaged vesicular cargoes for the purpose of communication, protection and sharing of genetic information (DNA, mRNA and RNA derivatives). In order to share genetic information, DNA, mRNA and RNA derivatives of the donor cell are transported to the recipient cells.

Thus, cells communicate effectively with each other. In this way, they also manage their own waste and protect themselves against internal and external stresses that may occur by throwing unnecessary or toxic products out of the cell through EVs.

The exosome is the smallest of the vesicles that are extracted into the extracellular environment by the cells of the human body. Exosomes can play a role in communication and signal pathways by containing inter and intracellular cargos and having the ability to easily because of their lipid compositions. Existence of the nucleic acid sequences such as DNA, RNA, miRNA, and lncRNA in exosomes have been reported in recent studies. In addition, insights into genetic sequence residing in exosomes have increased exosomal mRNA, protein, and enzyme studies. Prostatomes from the prostate cell line originated exosomes for being oncogenic biomarkers. On the other hand, exosomes are very important candidate biomarkers for fetal DNA analysis from maternal blood due to their potential to become extracellular free DNA carriers with coding and non-coding nucleic acid sequences. The biological identities, biogenesis, isolation, and purification methods of nano molecules are still not fully elucidated. This fact does not show parallelism with advancing technology and contradicts the hypothesis of “the patient before the disease” in medicine, thus preventing the prognostic, therapeutic, and diagnostic biomarker possibilities of the exosome.

Prominent in recent medical literature, it is a field that discusses what new markers might be in the diagnosis, follow-up and treatment of diseases; extracellular molecules and the smallest of them, exosomes. Interestingly, reported as waste extracellular particles of ancient times contemporary microvesicles, in the field of medicine and technology, from cell regeneration to communication, from cell identification, to transport of their contents, perhaps in the future as a biological vector, they are being investigated in a wide spectrum, up to the intracellular uptake of therapeutics.

Exosomes are mostly isolated from cells cultured in vitro. Exosomes are obtained from culture broth (supernatant) for analysis by various isolation techniques. Apart from this, from various body fluids; Exosomes are also reached from blood, urine, saliva, amniotic fluid, cerebrospinal fluid, nasal secretions and breast milk. An isolation technique attributed as the gold standard for exosome extraction is ultracentrifugation.

Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Department of Medical Genetics and Genetic Diseases Diagnostic Center performs chromosome analysis with long and short-termed culture techniques from postnatal and prenatal body fluids with the annual number of patients over three thousand five hundred with twenty years of cell and tissue culture laboratory experience. In addition, molecular cytogenetic analysis of a thousand patients on average for various solid tissue cancers such as breast, lung, colorectal cancers, adult and pediatric leukemias, and, genetic syndromes for patients with dysmorphic features are routinely conducted for diagnosis follow-up, and molecularly targeted drug treatments in our department and diagnostic center. Disease-related gene panels for an average of 5000 patients per year and DNA, RNA, mRNA related studies are also performed in our molecular genetics laboratory.

Our another publication shows the effect of exosomes on cell proliferation was original research article, which shows the importance of exosomes in cell cultures in terms of proliferation rate and efficiency, has been approved by the ethics committee dated 2020/2300.

In this review, we aimed to emphasize the importance of extracellular vesicles and exosomes based on our experience in the research project mentioned above. Exosomes, which are small in size but whose function definitions are still being made, are a research area that attracts the attention of the scientific world with new data every day. In line with all these literature and targets, “extracellular nanovesicles and exosomes are the subject of biomarker research for the diagnosis, follow-up, and treatment of diseases.