



## Genel Bakış: Eksozomlar ve Bazı Parazit Protozoon Enfeksiyonlardaki Rollerini

Abdullah İNCİ, Mübeccel OKUR, Önder DÜZLÜ, Alparslan YILDIRIM

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

**Özet:** Ekstraselüler veziküller (EVs), eksozomlar da dahil olmak üzere hücreler arası doğrudan temas olmadan bilgi alışverişini mümkün kılan hücresel iletişimin temel araçlarından biri olarak bilinmektedirler. Eksozomlar, multivezikül cisimlerin (MVBs) plazma membranı ile kaynaşmasından sonra salınan, 30-100 nm çapında endositik kökenli nano keseciklerdir. EV'ler, çok yakın zamana kadar sadece hücresel metabolizmanın bir yan ürünü olarak görülürlerdi. Ancak son zamanlarda yapılan yeni keşifler ve üretilen yeni bilgiler bu algının değişmesine yol açmıştır. Bu yeni keşiflerde EV'lerin hücre-hücre iletişimi, sinyal iletimi, genetik materyallerin taşınması ve immün yanıt modülasyonu gibi geniş bir biyolojik aktivite yelpazesinde yer aldıkları gösterilmiştir. Farklı kökenlere sahip olan bu veziküller, düzenleyebildikleri proteinler, DNA, mRNA'lar ve miRNA'lar gibi biyoaktif molekülleri kendi kargolarıyla hedef hücrelere taşırlar ve hastalık patogenezinde de önemli rol oynarlar. Yakın zamandaki çalışmalar, Malaria, Chagas hastalığı ve uyku hastalığı gibi insan hastalıklarından sorumlu olanlar da dahil olmak üzere hücre içi ve hücre dışı gelişim aşamalarında protozoon parazitlerin de benzer mekanizmaları kullandıkları gösterilmiştir. Protozoon parazitler, kendi popülasyonları içerisinde iletişim kurmak, büyümeyi teşvik etmek, bulaşmaya neden olmak, konağın bağışıklık sisteminden kaçmak ve mikro çevreyi manipüle etmek için hücre dışı vezikülleri salgılamaktadırlar. Mevcut veriler ışığında, hastalıkların teşhisinde bir marker, tedavide hedeflenen bir terapötik ajan olarak görülmenin yanında konak patojen ilişkisi, ilaç dirençliliği ve aşı geliştirilmesinde kullanılabileceklerine dair geniş ve önemli bir bakış açısı sağlamıştır. Bu derlemede eksozomların biyogenezini, kompozisyonunu ve bazı protozoon enfeksiyonlardaki farklı rollerini üzerine güncel bilgilerin sunulması amaçlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Eksozomlar, ekstraselüler veziküller, parazit, protozoon

### An Overview: Exosomes and Their Roles in Some Parasite Protozoan Infections

**Summary:** Extracellular vesicles (EVs) are known to be one of the basic tools of cellular communication, making it possible to exchange information without direct cell-to-cell contact, including exosomes which are endocytic nano vesicles, 30-100 nm in diameter, released after the fusion of multivesicular bodies (MVBs) with the plasma membrane. EVs, until very recently, were only seen as a by product of cellular metabolism. However, recent discoveries and new information have led to this change. In these new discoveries, EVs have been shown to be involved in a wide range of biological activities such as cell-cell communication, signal transmission, transport of genetic material and immune response modulation. These vesicles, which have different origins, carry bioactive molecules such as proteins, DNA, mRNAs and miRNAs, and they can regulate to their target cells with their own cargoes and play an important role in disease pathogenesis. Recent studies have shown that protozoan parasites use similar mechanisms in intracellular and extracellular developmental stages including those responsible for human diseases such as Malaria, Chagas disease and sleeping sickness. The protozoan parasites secrete extracellular vesicles to communicate within their populations, encourage growth, cause transmission, run away from the immune system of the environment, and manipulate the microenvironment. In the light of available data, a marker in the diagnosis of diseases has provided a broad and important view that they can be used as a therapeutic agent targeted in therapy as well as in host pathogen association, drug resistance and vaccine development. In this review, it is aimed to present current information on the biogenesis, composition and different roles of exosomes in some protozoan infections.

**Key words:** Exosomes, extracellular vesicles, parasite, protozoa

### Giriş

Hücrelerarası iletişimde görev yapan eksozomlar, ilk olarak Pan ve Johnstone tarafından 1983 yılında tanımlanmıştır. Bu araştırmacılar, yaptıkları çalışmalarında koyun retikülositlerinin eritrositlere dönüşmesi sırasında, transferrin reseptörü-

nün kaybını ve transferrin reseptörünün endozomal orijinli nanoveziküllere dönüştüğünü keşfetmişlerdir (57). Hücrelerin, işlevlerini sürdürmek amacıyla birbirleriyle iletişim kurdukları bilinmektedir. Hücre içi iletişim, hücre-hücre teması veya lipidler, proteinler, nükleotidler gibi salgılanan spesifik moleküllerin değişimi yoluyla gerçekleştirilir (63). Son yirmi yılda, hücreler arasında etkileşim için yeni bir mekanizma olarak plazma

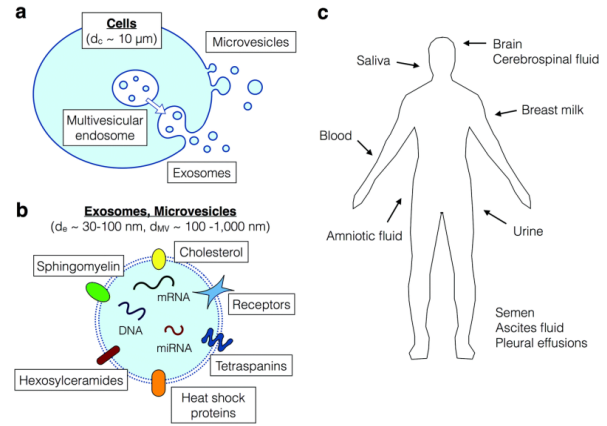
zarından köken alan ekstraselüler veziküllerin (EVs) keşfi, ökaryotik hücrelerdeki önemli biyolojik rollerinin anlaşılmasına yardımcı olmuştur. EV'ler, fosfolipid çift katmana bağlı oluşumlar olup, 0.1-1 µm arasında büyüklük gösteren nano veziküllerdir. Bu veziküller neredeyse tüm hücre tiplerinden izole edilmektedir (7). Bunlar ayrıca tükürük, kan, anne sütü, idrar, beyin omurilik sıvısı, bronko alveolar lavaj sıvısı ve sperma gibi vücut sıvılarında da bulunmaktadır (6,7). Proteinler, lipidler ve nükleik asitleri taşıyan EV'ler çeşitli fonksiyonlar, morfolojik özellikler ve biyogenez yolları açısından sınıflandırılmaktadır (79). Bu hücre dışı kesecikler, hücre kaynaklarına göre eksozomlar, multivezikül cisimler (MVBs), apoptotik cisimler, retrovirüs benzeri cisimler olarak adlandırılmaktadır (19). EV'ler, vektörlerle bulaşan parazitlerin yaşam döngülerinin eşeyli ve eşeysiz gelişme evrelerinde, parazitin değişik stratejiler geliştirerek değişik ortamlarda kalıcı olmalarına katkı sağlarlar. Bu tür karmaşık yaşam döngüsü stratejileri, değişen çevrelere hızlı adaptasyon gerektirir, parazitler bu değişikliklere cevap vermek ve konakta kalıcılık sağlamak için çeşitli stratejiler geliştirmiştir. EV'ler, konağın bağışıklık yanıtını düzenlemek ve parazit popülasyonunda algılama mekanizmaları sağlamak için parazit konak etkileşiminde belirgin bir rol oynamaktadır. Apicomplexan parazitlerden *Plasmodium*, *Babesia*, *Cryptosporidium*, *Isoospora*, *Sarcocystis* ve *Toxoplasma*, kinetoplastid parazitlerden *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma gambiense*, *Leishmania* spp.'lerde eksozom veya eksozom benzeri veziküllerin varlığı ve patojenitesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (47,53).

### Eksozomların biyogenez

Eksozomlar, endolizozomal yolağın bir parçası olarak oluşurlar; bu yol endositik veziküller, erken endozomlar, geç endozomlar ve lizozomlardan oluşmaktadır (39). İlk basamak, hücre yüzeyindeki proteinlerin, kathrin bağımlı veya kathrin bağımsız bir şekilde ortaya çıkabilen içe tomurcuklanma süreçleri ile endositozu içermektedir (76). Oluşan endositik veziküller, hafif iç asidik pH'ya sahip olan ve hücrenin dışında bulunan erken endozomlara aktarılır. Erken endozomlar protein maddesini değiştirerek ve buna bağlı olarak iç asidik pH'yı azaltarak geç endozomlara dönüşürler (77). MVB'leri oluşturmak için, çekirdeğin yakınında bulunan geç endozomlar, intraluminal veziküllere (ILVs) yol açan endosomal lümenlere geçerler. Aynı hücre içeri-

sinde farklı kolesterol düzeylerine sahip MVB popülasyonlarının bir arada bulunması iki farklı sonuç doğurmaktadır. Kolesterol bakımından zengin MVB'ler, eksozomları serbest bırakmak için plazma membranı ile kaynaşırken, kolesterol açısından zayıf MVB'ler, lizozomal yolda proteinleri bozmak için lizozomlarla kaynaşma eğilimindedir (Şekil 1) (63).

MVB'lerden eksozom oluşumu, şu ana kadar tanımlanmış iki yolla gerçekleşmektedir: 1. ESCRT (taşınma için gerekli endozomal sıralama kompleksleri) ve 2. ESCRT'den bağımsız mekanizmadır. ESCRT'ye bağlı mekanizma, ESCRT-0, I, II ve III gibi alt yapıları tarafından gerçekleştirilmektedir. ESCRT-0 kompleksi, hem ubikitlenmiş proteinleri endosomal membranda tanımlar ve ayırır. ESCRT-I ve ESCRT-II kompleksleri membran tomurcuklanmasına yardımcı olurlar. ESCRT-III ise MVB'ler içinde ILVs'in bölünmesiyle tomurcuklanma sürecini tamamlar (63). Son yıllarda eksozomların biyogenez ile ilgili birçok çalışma yapılmış olsa da bu mekanizmalar halen belirsizliğini korumaktadırlar.



Şekil 1. (a) Eksozom ve mikroveziküllerin hücrelerden biyogenez, (b) kompozisyonu ve (c) buldukları vücut sıvılarının gösterimi (41)

### Eksozomların kompozisyonu

Eksozomlar proteinler, karbonhidratlar, lipidler ve nükleik asitler gibi birçok biyomolekülleri içermektedir. Eksozom kompozisyonu dinamiktir ve hücrenin kökenine, fizyolojik ve patolojik durumuna ve hatta hücre salınma bölgesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (68).

EV kompozisyonu, yoğunluk ve boyutlarına göre farklılık göstermesi nedeniyle, farklı tiplerinin ayırt edilmesi de çok zordur. Bu zorluklar, belirli belirteçlerin olmaması nedeniyle artmaktadır.

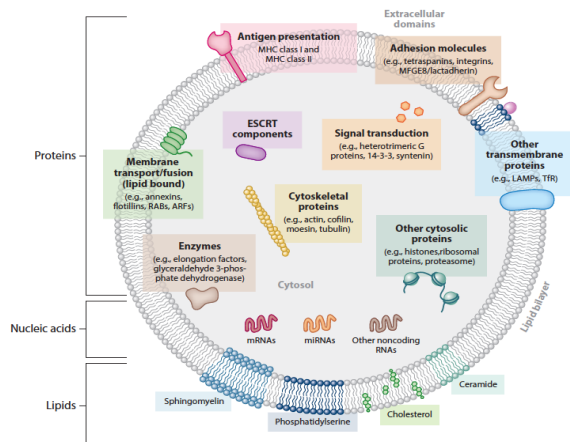
Bu nedenle, farklı EV alt popülasyonlarının bileşimine veya kökenlerine göre ayırt etme ve saflaştırma yöntemleri geliştirilmesi büyük bir zorluktur. Dahası hücreler, farklı kompozisyona sahip aynı tip EV'leri aynı anda salabilirler. Bu durum, farklı MVB alt popülasyonlarının varlığını veya MVB'ler içinde farklı ILV tiplerinin varlığını yansıtır. Bu çeşitliliğe bir örnek, apikal ve bazolateral yüzeylerden farklı protein kompozisyonu ile eksozomlar salgılayan epitel hücrelerinde gösterilmiştir. Aslında hücreler, tüm MVB içeriğini tek seferde serbest bırakmazlar ve potansiyel olarak hücre yüzeyinin tanımlanmış bölgelerinde lokal salınımına izin verirler. Son gelişmeler belirli EV çeşitlerinin üretiminin engellenebildiğini göstermiştir. Örneğin, protein Rab27a'nın inhibisyonu, CD63, ısı şok proteinleri 70 (HSP70), tumor susceptibility gene 101 (TSG101) ve Alix içeren eksozomların bir alt grubunun salgılanmasını azaltmaktadır. Buna karşılık Rab27a'nın inhibisyonu, CD9 ve milk fat globule-EGF factor 8 proteini (MFGE8) taşıyan veziküllerin salgılanmasını etkilememektedir. Farklı eksozom popülasyonlarında moleküler kompozisyon ve işaretlerin dağılımını karakterize etmek için daha fazla analiz gerekmektedir. EV'ler, yaygın olarak bir dizi proteini CD9, CD63, CD81, Alix, Rab11, TSG101 (tumor susceptibility gene 101), HSP70 ve 90, Annexin 1 ve 2 ile intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) bünyelerinde barındırırlar. Ayrıca eksosomlar, aynı zamanda tetraspanin proteinler gibi farklı proteinleri de içerirler. Örneğin, T hücrelerinden alınan eksozomlar T hücre reseptörü (TCR) ve yardımcı uyarıcı molekülleri içerirken, B hücrelerindeki eksozomlar B hücre reseptörü (BCR) içerir (Şekil 2) (9,25).

Eksozomların protein içeriği, çeşitli hücre tipleri ve vücut sıvılarından çeşitli tekniklerle (örneğin; Mass Spectrometry (MS), Western Blot, floresanla aktive hücre ayırma tekniği ve immünoelektron mikroskopu) kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Bu tekniklerle yapılan detaylı proteomik analiz sonucunda eksozomal proteinlerin (yaklaşık 19 protein) genel yapıları ortaya konmuştur (54). Bu analiz için dendritik hücreler (71), melanom hücreleri (55), idrar (23,60), mikrogliya (62), mast hücreleri (75), kolorektal kanser hücreleri (11,54), mezotelyoma hücreleri (27), beyin tümörü (24), oligodendrositler (43,44), trakeobronşiyal hücreler (40), hepatositler (15), nöroglia hücreleri (20), plazma (46), anne sütü (1), meme kanseri hücreleri (69), tükürük (22) ve embriyonik fibroblast hücreler ku-

lanılmıştır (38).

Öte yandan eksozomlarda yaygın olarak görülen bir sitozolik protein sınıfı da eksozom bağlama ve membran füzyonunu düzenleyen en küçük guanozin trifosfataz (GTPaz) ailesinden olan Rab proteinleridir (55). Aktif Rab'lar, vezikül naklinde rol oynayan proteinler ve vezikül füzyonunu akseptör membranlarla regüle eden protein kompleksleri ile etkileşirler (16). Erken endozomlarda lokalize olan Rab5, endositoz ve klatriin kaplı veziküllerin endozom füzyonuna aracılık eder. İlginç olarak, yeşil floresan protein (GFP) etiketli endozomal GTPazların kullanıldığı çalışmalarda, Rab GTPazların, farklı fonksiyonlara sahip membran alanlarının ayrılmasında görev aldığı gösterilmiştir (70). Rab'lara ek olarak, eksozomlar membran geçirgenliği ve füzyon olaylarına yardımcı olan aneksinler bakımından (aneksinler I, II, IV, V, VI, VII ve X1) zengindir (21).

Eksozomların lipid kompozisyonları, hücre kökeninin karakteristiğini yansıtır ve eksozom biyogenezinde hayati bir rol oynarlar (12). Lipid kompozisyonu ile ilgili analizler, dendritik hücrelerinde, mast hücrelerinde (45), retikülositlerde (78) ve B hücrelerinde (80) üretilen eksozomlar ile gerçekleştirilmiştir. Eksozomlar; fosfatidilserin, sfingomyelin, kolesterol ve seramid gibi spesifik lipidleri de taşımaktadırlar. İlginç olarak, MVB'lerin dahili membranlarında, lizofosfatidik asit (LBPA) gibi lipidlerle zenginleştirilmiş olduğu gösterilmiştir (42). LBPA eksozom biyogenezinde, özellikle de ILV oluşumunda ve endozomal kolesterolün kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır (12).



Şekil 2. EV'lerin genel kompozisyonu (13)

### Parazit protozoon enfeksiyonlarında ekstraselüler veziküller

Dünyada paraziter hastalıklar insan ve hayvan sağlığı açısından çok önemli olup, büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadırlar (35). Dünya Sağlık Teşkilatı "Tek Sağlık" konsepti çerçevesinde özellikle son yıllarda bu konu üzerine odaklanmış projeler ve mücadele stratejileri geliştirmiştir. Dünyada milyarlarca insan halen sonu ölümlü biten birçok parazitik hastalığa maruz kalmaktadır. Bunlar arasında çok sayıda ortaya çıkan (emerging) ve/veya yeniden ortaya çıkan (remerging) karakterli patojen protozoon (çoğu vektör-borne ve/veya zoonotik karakterli) insanlarda ciddi enfeksiyonlara yol açmaktadır. Bunların önemli bir kısmı, önemli ve ağır klinik tablolar ile yüksek oranda ölümlerden sorumlu tutulmaktadır. Maalesef, bu enfeksiyonlar çoğunlukla yoksul bölgelere özgü olduğu için ihmal edilmektedirler (30,36,37). Bu derleme ile alakalı olarak, parazit hastalıklarında, hem parazit-parazit etkileşimlerinde hem de parazit konak etkileşimlerinde etkili olan EV'lerin salınımına dair elde bilimsel veriler sunulmaktadır. EV'ler, konak vücuduna giren patojenin vücut içerisinde yayılımında ve konak bağışıklık sistemlerinin düzenlenmesinde kilit oyuncularındadır. Paraziter hücrelerden EV salınımı, bir dizi paraziter enfeksiyon üzerinde çalışılmıştır (49).

"İlkel hayvanlar" anlamında olan protozoonlar, lokomasyonlarına göre 4 ana gruba ayrılmış, oldukça karmaşık bir organizma grubudur: ameba, flagellates, ciliates ve sporozoa'dır. Yaklaşık 11.000 farklı türle, 70'i insanı etkileyen parazit protozoonlar farklı konaklar arasında sıklıkla değişen karmaşık yaşam döngüsü gösteren tek hücreli ökaryotik organizmaların farklı bir grubunu oluşturmaktadır. Amoebiasis, Malaria, Afrika ve Amerikan trypanosomiasis, leishmaniasis, toxoplasmosis, coccidiosis, cryptosporidiosis, theileriosis gibi hastalıklar dünyada farklı ülkelerde her yıl yüz milyonlarca klinik vakadan sorumludur (31). Burada EV'lerle ilgili veriler, apikompleksan ve kinetoplastid protozoonlar üzerine yoğunlaştırılmıştır (49).

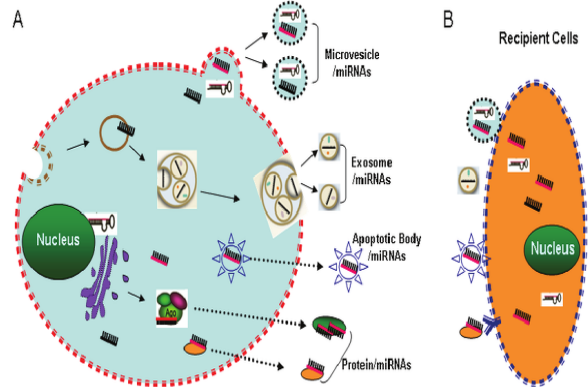
#### Hangi patojenler EV salınımı yapıyor?

EV salınımı, ökaryotik protozoon parazitlerin hem hücre dışı gelişme dönemlerinde hem de konak hücre içinde bulunduğu gelişme dönemlerinde yapılmaktadır (Şekil 3). Dolayısıyla EV'ler, hücre dışı patojenler tarafından salınanlar ve hücre içi patojenler tarafından üretilenler olarak iki gruba ayrılırlar. Bazı protozoon patojenler, hem hücre

içi hem de hücre dışı formlarda var olabilirler ki, böyle patojenler her iki durumda da veziküller üretebilir veya hücre içi bir durumda EV'lerin konakta üretiminde artışa neden olabilirler. *Trichomonas vaginalis*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp. ve ayrıca helmintler gibi ekstraselüler parazitler de EV salgırlarlar (50,66,73). Hücre içi patojenlerle enfekte edilmiş insan hücrelerinden *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii* ve *Leishmania* spp. gibi parazitler hem konak hem de parazit proteinleri içeren EV'leri salgırlar (5,10,48,52,61,65).

#### Ekstraselüler parazit EV'lerde neler bulunur ve neler yaparlar?

Konağın gen ekspresyonunu veya bağışıklığını düzenleyen faktörler, parazit kaynaklı EV proteomlarında bulunur. Bu EV'ler, sinyal dizileri bulunmayan, virülans faktörlerinin dağıtımına katılan, virülansı düzenleyen patojene özgü sekretuar ve ekskretuar proteinlerini içerir. Helmintler (50) ve *Leishmania* spp.'de (66) veziküler salgı mekanizması bir parazitin sekretojesinin % 50'sini oluşturabilir. *T. vaginalis*, *Leishmania* spp. ve *T. cruzi* kaynaklı EV'ler konağın gen ekspresyonunun regülasyonu için konak hücrelere dağıtılan RNA'ları içerir (4,66,73). *T. vagi-*



Şekil 3. miRNAs hücre salınımı (A) ve alınımı (B) (82)

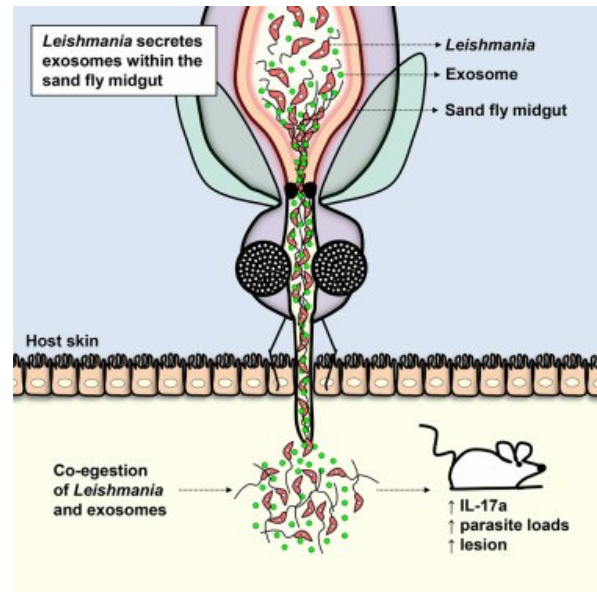
*nalis* ve *Leishmania* spp. EV'leri immün modülatördür ve parazit enfeksiyonuna yardımcı olması için konak hedef hücreler üzerinde başka etkilere sahiptir (66,73). *Leishmania* EV'lerin içeriği ve oluşturduğu enfeksiyon parazitin çevresine bağlı olarak değişiklik gösterir (66). Parazit EV'lerin etkileri *in vivo* ortamda da çalışılmıştır. *Leishmania* EV'leri ile alakalı olarak, parazitlerle mücadele öncesi farelerin tedavisi sırasında enfeksiyonu ve immünosüpresif IL-10 üretimini arttırdığı görülmüştür (67). Benzer şekilde, *T.*

*cruzi* kaynaklı EV'lerin parazit ile enfekte edilmeden önce, farelerde doku parazitizmini ve inflamasyonu arttırdığı gösterilmiştir. EV'lerin parazit enfeksiyonu için konak hücrelerde primer haber-ciler olarak görev yaptığı birkaç hücre dışı parazit için hipotez oluşturulmuştur. Parazit-parazit ve parazit-mikrobiyot etkileşimlerine ek olarak konağın bağışıklık sisteminin modülasyonu için EV'lerin derinlemesine araştırılması gereklidir (72).

#### **Hücre içi parazit kaynaklı EV'ler neler içerir ve ne yaparlar?**

Hücre içi patojenlerle enfekte edilmiş konak hücre kaynaklı EV'ler, genellikle bir parazit ve konak bileşenleri karışımını içermektedir. Üstelik virüs bulaşmış hücrelere benzer şekilde, parazit ile enfekte olmuş hücreler tarafından üretilen EV'ler, sağlıklı enfekte olmayan konak hücreler tarafından salgılanan EV'lere göre değişen konak proteini ve RNA içeriği barındırmaktadır (81). İnsanlar üzerinde yapılan birkaç çalışmada, *Plasmodium* türüyle enfeksiyon sırasında çeşitli konak hücre tipleri tarafından üretilen yüksek EV seviyelerinin olduğu belirtilmiştir (47). *Plasmodium falciparum* ile enfekte eritrositlerden elde edilen EV'lerin, parazitin hayatta kalma mücadelesi, transmisyonu ve gametositlerin farklılaşmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (47,48,65). Ayrıca EV'ler, ilaç direncini gösterebilirler. Çünkü transjenik *P. falciparum* parazitler tarafından üretilen EV'ler bir ilaç direnci belirteci kodlayan DNA'yı aktarabilir (65). Parazit iletişiminin kolaylaştırılmasının yanı sıra, parazitlenmiş hücreler tarafından indüklenen EV'ler konağın yanıtını etkileyebilir. Güçlü sitokin yanıtları, *P. falciparum* ile enfekte kan hücreleri tarafından üretilen EV'leri internalize eden konak makrofajları tarafından oluşturulur (48). Diğer yandan *T. gondii* ile enfekte fibroblastlardan salınan EV'ler, nörolojik aktiviteyi değiştirme potansiyeline sahip eşsiz bir dizi mRNA ve miRNA transkripsiyon paketi sunarlar (61). Ayrıca yakın zamanda EV'lerin, DNA, ribozomal RNA'lar, dairesel RNA'lar (circRNA'lar), uzun kodlamayan RNA (lncRNA) ve mikro RNA (miRNA)'lar gibi nükleik asitleri birlikte taşıyabileceği keşfedilmiştir. miRNA'lar transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunda önemli düzenleyicilerdir, ancak başka roller de oynayabilirler. Son kanıtlar, miRNA'ların belirli koşullar altında Toll benzeri reseptörleri (TLR) aktive edebileceği hipotezini desteklemektedir. TLR'ler bazı protozoon türlerinde de saptanmıştır. *Trypanosoma*

*cruzi*'de TLR2 ve TLR9, *Leishmania donovani*'de TLR2 ve TLR3, *Trichomonas vaginalis*'de TLR2, TLR4 ve TLR9, *Toxoplasma gondii*'de TLR2 ve TLR11, *Cryptosporidium parvum*'da TLR2 ve TLR4, *Plasmodium berghei*'de TLR2 ve TLR9, *Babesia bovis*'te TLR9 ve TLR11 varlığı gösterilmiştir (29,34,59). Saf *Leishmania* eksozomlarına maruz bırakılan makrofajlar tarafından salgılanan EV'ler, makrofajlarda bağışıklık-ilişkili genlerin ekspresyonunu modüle edebilir (26). Öte yandan, enfekte olmuş konak hücrelerde, protozoon parazit tarafından salınan ekstraselüler veziküller, enfeksiyona karşı kona-



**Şekil 4.** *Leishmania*'nın eksozom sekresyonu (3)

ğın bağışıklık yanıtını geliştirir (Şekil 4) (5). Apicomplexan'ların benzersiz salgı organellerine farklı protein popülasyonları sağlayan başka salgı yolları vardır. Proteinler, bu salgı organellerinden parazit içindeki farklı konumlara ve işgal edilen konak hücrelere salgılanır (33). Burada *Theileria*, *Toxoplasma* ve *Plasmodium*'daki salgı organellerine ilişkin kanıtlar mevcuttur. Fakat *Cryptosporidium*, *Eimeria* ve *Babesia* gibi diğer Apikompleksan parazitlerinde konak hücrelerine salgılanan parazit proteinleri henüz bulunmadığından bu sistemler hakkında halen belirsizlik mevcuttur. *Theileria*'nın konak hücrelerine girme sürecindeki *Eimeria*, *Toxoplasma* veya *Plasmodium* gibi diğer Apicomplexan parazitlerinden oldukça farklıdır. *Theileria* sporozoitleri konak hücreye herhangi bir oryantasyonda ve parazitin aktin sitoskeletonuna bağ-

lı olmayan bir sürede girebilirler. Bu istila süreci boyunca, parazitin roptri ve microsphere organelleri görev alır. *Toxoplasma* ve *Plasmodium*'dan farklı olarak bu salgı organellerinin, parazit bağlama ve konak hücre içine girmesi, daha ziyade konağın plazma membranların (HPM)'dan parazit kaçışına ve ardından serbest mikrotübüllerin parazit çevresinde polimerleştilmesine karıştığı düşünülmektedir. Böylece, *Theileria*'yı çevreleyen konak zarı, istilanın hemen ardından kopar ve salınan parazit bir parazitofor vakuolden (PVM) ziyade konağın sitoplazmasında yaşayan çok çekirdekli şizontları meydana getirir. Parazit proteinlerin PVM'den geçmesi *Toxoplasma* ve *Plasmodium* proteinlerinin aksine farklı olarak konak hücre ile etkileşime girmesi ve modifikasyonu nispeten kolaylaşır. Konak hücrelerin ölümsüzleştirilmesinin konak sitoplazmasından salınan proteinlerin ya da konak sitoplazması ile doğrudan temas halinde olan parazit yüzeyi üzerinde bulunan proteinlerin sebep olduğu düşünülmektedir (64). Sonuç olarak, parazit ile enfekte konak hücrelerden EV'ler tanı için biyolojik belirteç olarak veya aşı geliştirilmesi için yararlı olabilirler (74).

#### **EV'ler ve perspektif**

EV'ler, hücrelerarası iletişim, sinyal iletimi ve gen düzenlenmesinde etkili araçlardır. Bu nedenle, muhtemelen patojenlerin yol açtığı enfeksiyonların belirlenmesinde önemli rol oynarlar. EV'lerin, rekabetçi ortamlarda patojenlerin konak hücreye yerleşmesinde de yardımcı olabilecekleri de ileri sürülmüştür (73). Bir patojenin temel savunmayı modüle etmek için ön hazırlık yaptığı gibi, hücre dışı parazitler tarafından salgılanan veziküller ile parazit için kolaylıkla erişilemeyen konak hücrelerle etkileşime girebilir. Birkaç parazitten salgılanan EV'lerin insan konak hücreleri tarafından internalize edilebileceği gösterilmiştir (48,50,65,67,73). EV'ler ayrıca, kolonizasyonu destekleyerek ve konağın bağışıklık yanıtını modüle ederek parazit enfeksiyonunun korunması için bir kriter olabilir. İnsan konak kaynaklı EV'lerin enfeksiyon üzerindeki potansiyeli çok az ilgi görmüştür. Özellikle *T. cruzi* metasiklikleri, kompleman aracılı lizasyondan kaçınmak için insan kan hücresinden üretilen veziküller ile salgılanmayı ve bunlarla kaynaşmayı uyarabildiği gösterilmiştir (10). Konak EV'leri, parazitin gen ifadesini veya davranışını etkileyip etkilemediği henüz keşfedilmeyi bekleyen heyecan verici bir alandır. EV'lerin konak-parazit, parazit-parazit ve parazit-mikrobiyat

etkisinin araştırılması gelecekteki bu dinamik mikrobiyal topluluklardaki salgılanmış veziküller için ilave fonksiyonların ortaya çıkacağı tahmin edilmektedir.

EV'leri tanısal, teşhis ve klinik araçlar olarak kullanmak umut verici yeni araştırma uygulamaları sunmaktadır. Veziküller, kan, idrar, tükürük ve diğer vücut sıvılarından kolaylıkla izole edilmektedir (63). Bu nedenle patolojik veya fizyolojik durumda salgılanmış EV'ler, kaynak hücrenin proteini veya RNA belirteçlerini içermesinden dolayı bu veziküller analiz edilebilir. Bu durumda EV'lerin hayvan modelleri üzerinde uygulanan ilaçların etkinliği, invaziv olmadan patojen yanıtının izlenmesini mümkün kılabilir veya parazit enfeksiyonlardaki EV tiplerinin rolleri belirlenebilir. Örneğin, antibiyotik ile tedavi edilen hayvanlardaki bakteriyel EV'lerin boyut ve içeriğindeki değişiklikler, enfekte olmuş konaktaki sıvıları analiz ederek tespit edilebilir (44). Tam bu noktada EV'lerin antimikrobiyal direncin (AMR) göstergesi bir biyolojik belirteç olarak değerlendirilebilme potansiyelleri de keşfedilmesi gereken bir başka alandır. Öte yandan çeşitli çevre koşullarında EV içeriğini ve salımını daha fazla araştırmak bulaşıcı durumları karakterize etmek için EV'lerin potansiyel kullanımını yönlendirecektir. EV'lerin bir başka heyecan verici potansiyel kullanım alanı aşılardır. Parazitlerden gelen EV'ler veya patojenlerden üretilen proteinler ve RNA, konak hücrelerden salınan EV'lerin aşı iletim sistemleri olarak kullanılabilir. *P. yoelli* ve *T. gondii* enfekte konak hücrelerden gelen parazit orijinli EV'lerin hayvanları bu enfeksiyonlara karşı koruduğu gösterilmiştir (2,52). Böylece, EV'ler hem enfeksiyon hem de aşı adayları için biyolojik belirteç olarak kullanılabilir. Enfeksiyon biyolojisinde EV'lerin işlevlerini anlama ve kavranması ile ilgili çalışmalar yürütülmektedir (74).

#### **Apicomplexa**

Apikomplexa, endosimbiyotik orijinli bir organel, apikoplast ve hücrenin istilasında yer alan roptriler ve micronemler adı verilen salgı organellerinden oluşan apikal bir kompleksin varlığı ile karakterize, hayvanlarda tek hücreli parazitlerin geniş ve farklı bir infrafilumdur. Apicomplexa, yedi cinsi (*Plasmodium*, *Babesia*, *Cryptosporidium*, *Isoospora*, *Cyclospora*, *Sarcocystis* ve *Toxoplasma*) ve insanlara bulaşan 5.000'den fazla adlandırılmış türden oluşur (8,32,56).

#### **Plasmodium spp.**

Sıtmda, farklı hücrelerden EV'lerin salınması,

fare modellerinde ve insan enfeksiyonlarında tanımlanmıştır. İnsan üzerinde yapılan çalışmalarda, *P. vivax* ve *P. falciparum* tarafından enfeksiyon süresince dolaşımdaki EV'lerin yükseldiği gösterilmiştir (8,56,58). Bu çalışmalarda dolaşımdaki EV'lerin seviyeleri ateş ve serebral disfonksiyonlar gibi klinik bulgularla korelasyon göstermiş ve EV'lerin sıtma patogenezinde rol oynadığını düşündürmüştür (14,17).

#### **Trypanosoma spp.**

*Trypanosoma* türleri, muhtemelen konakdaki patojenin hayatta kalmasını ve replikasyonunu sağlayarak, parazit-konak etkileşiminde önemli rol oynayan hücre dışı ortamda farklı vezikül tipleri üretebilir ve salabilirler. Bu veziküller direkt olarak konak hedef hücrelerle etkileşim kurabilir, konağın bağışıklık sistemi üzerinde uzun süreli etkiler gösterebilir ve kendi yaşam döngüsü geçişlerini teşvik edebilirler (18,49).

Paraziter hastalıklara karşı terapötik maddeler olarak eksozomların kullanımı konusunda öncülük eden çalışmalar ilk defa *T. gondii*'de bildirilmiştir (2). Dendritik hücrelerin (DC), kültür yüzeylerinden elde edilen eksozomlar ve *T. gondii* antijenleri in vitro olarak çalışılmıştır. *T. gondii* işaretli eksozomlar, farelerin aşılmasında ve daha sonra öldürücü ve ölümcül dozlarla karşı kullanılmıştır. Aşılınmış fareler, *T. gondii*'ye karşı spesifik humoral ve hücresele bağışıklık yanıtları ortaya çıkarmıştır ve ayrıca ölümcül doza meydan okuyan farelerin %70'ine yakın bölümleri korunmuştur. İncelenen hayvanların beyinlerinde, ölümcül dozlarla karşı kullanılan farelerde kist sayısının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Pro-inflamatuvar yanıtların stimülasyonu daha sonra *in vitro* ve *in vivo* olarak *T. gondii*-enfekte makrofajlardan elde edilen eksozomlar bildirilmiş ve DC türevi etiketli eksozomların koruyucu etkinliğinin hamilelik döneminde daha yüksek olduğu fare modelinde gösterilmiştir (49).

#### **Cryptosporidium spp.**

*Cryptosporidium parvum*, zorunlu fırsatçı intraselüler patojendir. Önceki çalışmalar, *C. parvum* tarafından oluşturulan enfeksiyonun, parazitizmi kontrol etmek için miRNA'ların transkripsiyonunu düzenleyen bir TLR-4'e bağımlı yol oluşturduğunu göstermiştir. Dikkat çekici bir şekilde enfeksiyonun, anti-parazit peptidlerini yönlendiren konak bağırsak epiteli eksozomlarının salınımını uyardığını ortaya koymuştur. Ayrıca gastrointestinal parazitik enfeksiyonları kontrol etmek için önemli bir mekanizma olarak bağırsak lumi-

nal hücrelerinden eksozomların salınımını gösteren çalışmalar da mevcuttur (28,49,51).

#### **Sonuç**

Sonuç olarak bu derlemede, eksozomlar ve diğer ekstraselüler mikroveziküllerin, hücrelerarası iletişim, sinyal iletimi, immun yanıt gibi birçok hücresele fonksiyonlarda görev aldıkları; ayrıca kan ve idrar gibi kolay ulaşılabilen biyolojik sıvılardan izole edilebildiklerinden bahsedilmiştir. Bununla birlikte eksozomların konak ve patojen ilişkisinde, enfeksiyonun patogenezinde veya patofizyolojik süreçlerde görev aldıkları vurgulanmıştır. Ek olarak, eksozomlardaki moleküler içerik baz alınarak bunların yaraların iyileşmesinde promotör etki yaptıkları ve çeşitli hastalıkların tedaviye verdikleri yanıtlarda da ilişkili oldukları görülmüştür. Öte yandan eksozomlar ve diğer EV'lerin enfeksiyöz teşhis aracı olarak kullanılabilceğini, bu nedenle onları klinik tanı uygulamaları için "ideal" biyolojik belirteç haline getirmektedir. Bulaşıcı hastalıkların teşhisinde eksozom kullanımı nispeten yeni olmasına karşın, belirteçlerin hem konak hem de patojen açısından mevcut zorlukların üstesinden gelebilmek için uygulanabilir yeni bir yol açacağı tahmin edilmektedir. Bu alanda ilerleme kaydedilmesi eksozomların tanıda, terapötik uygulamalarda, ilaç direncinde özellikle kanser tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı oluşan dirençliliğin saptanmasında ve aşı yaklaşımlarının geliştirilmesinde ileriki çalışmalar için heyecan verici bir potansiyele sahip oldukları değerlendirilmiştir.

#### **Kaynaklar**

1. Admyre C, Johansson SM, Qazi KR, Filen JJ, Lahesmaa R, Norman M, Neve EP, Scheynius A, Gabrielsson S. Exosomes with immune modulatory features are present in human breast milk. *J Immunol* 2007; 179(3): 1969-78.
2. Aline F, Bout D, Amigorena S, Roingeard P, Dimier-Poisson I. *Toxoplasma gondii* antigen-pulsed-dendritic cell-derived exosomes induce a protective immune response against *T. gondii* infection. *Infect Immun* 2004; 72(7): 4127-37.
3. Atayde VD, Aslan H, Townsend S, Hassani K, Kamhawi S, Olivier M. Exosome secretion by the parasitic protozoan *Leishmania* within the sand fly midgut. *Cell Rep* 2015; 13(5): 957-67.
4. Bayer-Santos E, Lima FM, Ruiz JC, Almeida IC, da Silveira JF. Characterization of the small RNA content of *Trypanosoma cruzi*

- extracellular vesicles. *Mol Biochem Parasitol* 2014;193(2): 71-4.
5. Bhatnagar S, Shinagawa K, Castellino FJ, Schorey JS. Exosomes released from macrophages infected with intracellular pathogens stimulate a proinflammatory response in vitro and in vivo. *Blood* 2007; 110(9): 3234-44.
  6. Bobrie A, Colombo M, Raposo G, Théry C. Exosome secretion: Molecular mechanisms and roles in immune responses. *Traffic* 2011; 12(12): 1659-68.
  7. Buzas EI, György B, György N, Falus A, Gay S. Emerging role of extracellular vesicles in inflammatory diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2014; 10(6): 356-64.
  8. Campos FM, Franklin BS, Teixeira-Carvalho A, Filho AL, de Paula SC, Fontes CJ, Brito CF, Carvalho LH. Augmented plasma micro-particles during acute *Plasmodium vivax* infection. *Malar J* 2010; 9(1): 327.
  9. Campos JH, Soares RP, Ribeiro K, Andrade AC, Batista WL, Torrecilhas AC. Extracellular vesicles: Role in inflammatory responses and potential uses in vaccination in cancer and infectious diseases. *J Immunol Res* 2015; Article ID: 832057.
  10. Cestari I, Ansa-Addo E, Deolindo P, Inal JM, Ramirez MI. *Trypanosoma cruzi* immune evasion mediated by host cell-derived microvesicles. *J Immunol* 2012; 188(4): 1942-52.
  11. Choi DS, Lee JM, Park GW, Lim HW, Bang JY, Kim YK, Kwon KH, Kwon HJ, Kim KP, Gho YS. Proteomic analysis of microvesicles derived from human colorectal cancer cells. *J Proteome Res* 2007; 6(12): 4646-55.
  12. Chu Z, Witte DP, Qi X. Saposin C-LBPA interaction in late-endosomes/lysosomes. *Exp Cell Res* 2005; 303(2): 300-7.
  13. Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2014; 30: 255-89.
  14. Coltel N, Combes V, Wassmer SC, Chimini G, Grau GE. Cell vesiculation and immunopathology: Implications in cerebral malaria. *Microbes Infect.* 2006; 8(8): 2305-16.
  15. Conde-Vancells J, Rodriguez-Suarez E, Embade N, Gil D, Matthiesen R, Valle M, Elortza F, Lu SC, Mato JM, Falcon-Perez JM. Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes. *J Proteome Res* 2008; 7(12): 5157-66.
  16. Corbeel L, Freson K. Rab proteins and Rab-associated proteins: Major actors in the mechanism of protein-trafficking disorders. *Eur J Pediatr* 2008; 167(7): 723-9.
  17. Couper KN, Barnes T, Hafalla JC, Combes V, Ryffel B, Secher T, Grau GE, Riley EM, de Souza JB. Parasite-derived plasma micro-particles contribute significantly to malaria infection-induced inflammation through potent macrophage stimulation. *PLoS Pathog* 2010; 29; 6(1): e1000744.
  18. Deolindo P, Evans-Osses I, Ramirez MI. Microvesicles and exosomes as vehicles between protozoan and host cell communication. *Biochem Soc Trans* 2013; 41(1): 252-7.
  19. El Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, Wood MJ. Extracellular vesicles: Biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2013; 12(5): 347-57.
  20. Fevrier B, Vilette D, Archer F, Loew D, Faigle W, Vidal M, Laude H, Raposo G. Cells release prions in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(26): 9683-8.
  21. Futter CE, White IJ. Annexins and endocytosis. *Traffic* 2007; 8(8): 951-8.
  22. Gonzales PA, Pisitkun T, Hoffert JD, Tchapyjnikov D, Star RA, Kleta R, Wang NS, Knepper MA. Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(2): 363-79.
  23. Gonzalez-Begne M, Lu B, Han X, Hagen FK, Hand AR, Melvin JE, Yates JR. Proteomic analysis of human parotid gland exosomes by multidimensional protein identification technology (MudPIT). *J Proteome Res* 2008; 8(3): 1304-14.
  24. Graner MW, Alzate O, Dechkovskaia AM, Keene JD, Sampson JH, Mitchell DA, Bigner DD. Proteomic and immunologic analyses of brain tumor exosomes. *FASEB J* 2009; 23(5): 1541-57.
  25. Gutiérrez-Vázquez C, Villarroja-Beltri C, Mittelbrunn M, Sánchez-Madrid F. Transfer of extracellular vesicles during immune cell-cell interactions. *Immunol Rev* 2013; 251(1): 125-42.
  26. Hassani K, Olivier M. Immunomodulatory impact of *Leishmania*-induced macrophage exosomes: a comparative proteomic and functional analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7(5): e2185.
  27. Hegmans JP, Bard MP, Hemmes A, Luider



- TM, Kleijmeer MJ, Prins JB, Zitvogel L, Burgers SA, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. Proteomic analysis of exosomes secreted by human mesothelioma cells. *Am J Pathol* 2004; 164(5): 1807-15.
28. Hu G, Gong AY, Roth AL, Huang BQ, Ward HD, Zhu G, Larusso NF, Hanson ND, Chen XM. Release of luminal exosomes contributes to TLR4-mediated epithelial antimicrobial defense. *PLoS Pathog* 2013; 9(4): e1003261.
29. İnci A, Bişkin Z. Toll-like reseptörler ve protozoon enfeksiyonlarındaki rolleri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2007; 4(2): 121-8.
30. İnci A, Düzlü Ö. Vektörler ve vektörlerle bulaşan hastalıklar. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2009; 6(1): 53-63.
31. İnci A, İça A, Yıldırım A, Düzlü Ö. Memelilerin (yabani) önemli paraziter hastalıkları- I: Protozoon enfeksiyonları. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2008; 5(1): 51-60.
32. İnci A, Şahingöz Demirpolat G, Yıldırım A, Düzlü Ö. Apicomplexan protozoonlarda apicoplast. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2017; 14(1): 49-59.
33. İnci A, Uyanık F. Babesia Türlerinin Moleküler Biyolojisi. Özcel MA, Tanyüksel M, Eren H. eds. *Moleküler Parazitoloji*. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, 2009; ss. 549-82.
34. İnci A, Yavuz A, Yıldırım A, Düzlü Ö, Bişkin Z. Sığır theileriosis'inde metastaz. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2012; 9(2): 113-22.
35. İnci A, Yazar S, Tunçbilek AS, Canhilal R, Doğanay M, Aydın L, Aktaş M, Vatanserver Z, Özdarandeli A, Özbel Y, Yıldırım A, Düzlü Ö. Vectors and vector-borne diseases in Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2013; 60: 281-96.
36. İnci A, Yıldırım A, Düzlü Ö, Doğanay M, Aksoy S. Tick-borne diseases in Turkey: A review based on one health perspective. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10(12): e0005021.
37. İnci A, Yıldırım A, Düzlü Ö. The current status of ticks in Turkey: A 100-year period review from 1916 to 2016. *Türkiye Parazitoloj Derg.* 2016; 40(3): 152-57.
38. Ji H, Erfani N, Tauro BJ, Kapp EA, Zhu HJ, Moritz RL, Lim JW, Simpson RJ. Difference gel electrophoresis analysis of ras-transformed fibroblast cell-derived exosomes. *Electrophoresis* 2008; 29(12): 2660-71.
39. Keller S, Sanderson MP, Stoeck A, Altevogt P. Exosomes: From biogenesis and secretion to biological function. *Immunol Lett* 2006; 107(2): 102-8.
40. Kesimer M, Scull M, Brighton B, Demaria G, Burns K, O'Neal W, Pickles RJ, Sheehan JK. Characterization of exosome-like vesicles released from human tracheobronchial ciliated epithelium: A possible role in innate defense. *FASEB J* 2009; 23(6): 1858-68.
41. Ko J, Carpenter E, Issadore D. Detection and isolation of circulating exosomes and microvesicles for cancer monitoring and diagnostics using micro-/nano-based devices. *Analyst* 2016; 141(2): 450-60.
42. Kobayashi T, Gu F, Gruenberg J. Lipids, lipid domains and lipid-protein interactions in endocytic membrane traffic. *Semin Cell Dev Biol* 1998; 9(5): 517-26.
43. Krämer-Albers EM, Bretz N, Tenzer S, Winterstein C, Möbius W, Berger H, Nave KA, Schild H, Trotter J. Oligodendrocytes secrete exosomes containing major myelin and stress-protective proteins: trophic support for axons? *Proteomics Clin Appl* 2007; 1(11): 1446-61.
44. Kuehn MJ, Kesty NC. Bacterial outer membrane vesicles and the hostpathogen interaction. *Genes Dev* 2005; 19(22): 2645-55.
45. Laulagnier K, Motta C, Hamdi S, Roy S, Fauvelle F, Pageaux JF, Kobayashi T, Salles JP, Perret B, Bonnerot C, Record M. Mast cell- and dendritic cell-derived exosomes display a specific lipid composition and an unusual membrane organization. *Biochem J* 2004; 380(1): 161-71.
46. Looze C, Yui D, Leung L, Ingham M, Kaler M, Yao X, Wu WW, Shen RF, Daniels MP, Levine SJ. Proteomic profiling of human plasma exosomes identifies PPARgamma as an exosome-associated protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 378(3): 433-8.
47. Mantel PY, Marti M. The role of extracellular vesicles in *Plasmodium* and other protozoan parasites. *Cell Microbiol* 2014; 16(3): 344-54.
48. Mantel PY, Hoang AN, Goldowitz I, Potashnikova D, Hamza B, Vorobjev I, Ghiran I, Toner M, Irimia D, Ivanov AR, Barteneva N, Marti M. Malaria-infected erythrocyte-derived microvesicles mediate cellular communication within the parasite population and with the host immune system. *Cell Host Microbe* 2013; 13(5): 521-34.

49. Marcilla A, Martin-Jaular L, Trelis M, de Menezes-Neto A, Osuna A, Bernal D, Fernandez-Becerra C, Almeida IC, Del Portillo HA. Extracellular vesicles in parasitic diseases. *J Extracell Vesicles* 2014; 3(1): 25040.
50. Marcilla A, Trelis M, Cortés A, Sotillo J, Cantalapiedra F, Minguez MT, Valero ML, Sánchez del Pino MM, Muñoz-Antoli C, Toledo R, Bernal D. Extracellular vesicles from parasitic helminths contain specific excretory/secretory proteins and are internalized in intestinal host cells. *PLoS One* 2012; 7(9): e45974.
51. Marti M, Johnson PJ. Emerging roles for extracellular vesicles in parasitic infections. *Curr Opin Microbiol* 2016; 32: 66-70.
52. Martin-Jaular L, Nakayasu ES, Ferrer M, Almeida IC, Del Portillo HA. Exosomes from *Plasmodium yoelii*-infected reticulocytes protect mice from lethal infections. *PLoS One* 2011; 6(10): e26588.
53. Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics* 2010; 73(10): 1907-20.
54. Mathivanan S, Lim JW, Tauro BJ, Ji H, Moritz RL, Simpson RJ. Proteomic analysis of A33-immunoaffinity-purified exosomes released from the human colon tumor cell line LIM1215 reveals a tissue-specific protein signature. *Mol Cell Proteomics* 2009; 9(2): 197-208.
55. Mears R, Craven RA, Hanrahan S, Totty N, Upton C, Young SL, Patel P, Selby PJ, Banks RE. Proteomic analysis of melanoma-derived exosomes by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics* 2004; 4(12): 4019-31.
56. Nantakomol D, Dondorp AM, Krudsood S, Udomsangpetch R, Pattanapanyasat K, Combes V, Grau GE, White NJ, Viriyavejakul P, Day NP, Chotivanich K. Circulating red cell derived microparticles in human malaria. *J Infect Dis* 2011; 203(5): 700-6.
57. Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: Selective externalization of the receptor. *Cell* 1983; 33(3): 967-78.
58. Pankoui Mfonkeu JB, Gouado I, Fotso Kuate H, Zambou O, Amvam Zollo PH, Grau GE, Combes V. Elevated cell-specific microparticles are a biological marker for cerebral dysfunctions in human severe malaria. *PLoS One* 2010; 5: e13415.
59. Paschon V, Takada SH, Ikebara JM, Sousa E, Raeisossadati R, Ulrich H, Kihara AH. Interplay between exosomes, micRNAs and toll-like receptors in brain disorders. *Mol Neurobiol* 2016; 53(3): 2016-28.
60. Pisitkun T, Shen RF, Knepper MA. Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(36): 13368-73.
61. Pope SM, Lasser C. *Toxoplasma gondii* infection of fibroblasts causes the production of exosome-like vesicles containing a unique array of mRNA and miRNA transcripts compared to serum starvation. *J Extracell Vesicles* 2013; 2: 22484.
62. Potolicchio I, Carven GJ, Xu X, Stipp C, Riese RJ, Stern LJ, Santambrogio L. Proteomic analysis of microglia-derived exosomes: metabolic role of the aminopeptidase CD13 in neuropeptide catabolism. *J Immunol* 2005; 175 (4): 2237-43.
63. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol* 2013; 200(4): 373-83.
64. Ravindran S, Boothroyd JC. Secretion of proteins into host cells by apicomplexan parasites. *Traffic* 2008; 9(5): 647-56.
65. Regev-Rudzki N, Wilson DW, Carvalho TG, Sisquella X, Coleman BM, Rug M, Bursac D, Angrisano F, Gee M, Hill AF, Baum J, Cowman AF. Cell-cell communication between malaria-infected red blood cells via exosome-like vesicles. *Cell* 2013; 153(5): 1120-33.
66. Silverman JM, Clos J, de'Oliveira CC, Shirvani O, Fang Y, Wang C, Foster LJ, Reiner NE. An exosome-based secretion pathway is responsible for protein export from *Leishmania* and communication with macrophages. *J Cell Sci* 2010; 123(6): 842-52.
67. Silverman JM, Clos J, Horakova E, Wang AY, Wiesgigl M, Kelly I, Lynn MA, McMaster WR, Foster LJ, Levings MK, Reiner NE. *Leishmania* exosomes modulate innate and adaptive immune responses through effects on monocytes and dendritic cells. *J Immunol* 2010; 185(9): 5011-22.
68. Sreekumar PG, Kannan R, Kitamura M, Spee C, Barron E, Ryan SJ, Hinton DR.

- $\alpha$ B crystallin is apically secreted within exosomes by polarized human retinal pigment epithelium and provides neuroprotection to adjacent cells. PLoS One 2010; 5(10): e12578.
69. Staubach S, Razawi H, Hanisch FG. Proteomics of MUC1-containing lipid rafts from plasma membranes and exosomes of human breast carcinoma cells MCF-7. Proteomics 2009; 9(10): 2820-35.
70. Stenmark H. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. Nat Rev Mol Cell Biol 2009; 10: 513-25.
71. Thery C, Boussac M, Veron P, Ricciardi-Castagnoli P, Raposo G, Garin J, Amigorena S. Proteomic analysis of dendritic cell-derived exosomes: a secreted subcellular compartment distinct from apoptotic vesicles. J Immunol 2001; 166(12): 7309-18.
72. Trocoli Torrecilhas AC, Tonelli RR, Pavanelli WR, da Silva JS, Schumacher RI, de Souza W, E Silva NC, de Almeida Abrahamsohn I, Colli W, Manso Alves MJ. *Trypanosoma cruzi*: parasite shed vesicles increase heart parasitism and generate an intense inflammatory response. Microbes Infect 2009; 11 (1): 29-39.
73. Twu O, de Miguel N, Lustig G, Stevens GC, Vashisht AA, Wohlschlegel JA, Johnson PJ. *Trichomonas vaginalis* exosomes deliver cargo to host cells and mediate host: Parasite interactions. PLoS Pathog 2013; 9(7): e1003482.
74. Twu O, Johnson PJ. Parasite extracellular vesicles: Mediators of intercellular communication. PLoS Pathog 2014; 10(8): e1004289.
75. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. Nat Cell Biol 2007; 9(6): 654-9.
76. Van der Goot FG, Gruenberg J. Intra-endosomal membrane traffic. Trends Cell Biol 2006; 16: 514-21.
77. Van Niel G, Porto-Carreiro I, Simoes S, Raposo G. Exosomes: A common pathway for a specialized function. J Biochem 2006; 140 (1): 13-21.
78. Vidal M, Sainte-Marie J, Philippot JR, Bienvenue A. A symmetric distribution of phospholipids in the membrane of vesicles released during in vitro maturation of guinea pig reticulocytes: Evidence precluding a role for "aminophospholipidtranslocase". J Cell Physiol 1989; 140(3): 455-62.
79. Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, Conrad R. Exosomes: Current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. Biochim Biophys Acta 2012; 1820(7): 940-48.
80. Wubbolts R, Leckie RS, Veenhuizen PT, Schwarzmann G, Mobius W, Hoernschemeyer J, Slot JW, Geuze HJ, Stoorvogel W. Proteomic and biochemical analyses of human B cell-derived exosomes. J Biol Chem 2003; 278(13): 10963-72.
81. Wurdinger T, Gatsion NN, Balaj L, Kaur B, Breakefield XO, Pegtel DM. Extracellular vesicles and their convergence with viral pathways. Adv Virol 2012; Article ID: 767694.
82. Zhu H, Fan GC. Extracellular/circulating microRNAs and their potential role in cardiovascular disease. Am J Cardiovasc Dis 2011; 1 (2): 138.

**Sorumlu Yazar:**

Prof. Dr. Abdullah İNCİ  
Erciyes Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Parazitoloji Anabilim Dalı  
Kayseri-TÜRKİYE  
E-posta: ainci@erciyes.edu.tr