

Tıbbi Biyoloji: Teori, Metodoloji ve Uygulama

Editör
Prof. Dr. Erdal Tunç

Tıbbi Biyoloji: Teori, Metodoloji ve Uygulama

Editör

Prof. Dr. Erdal Tunç

İmtiyaz Sahibi
Platanus Publishing®

Editör
Prof. Dr. Erdal Tunç

Kapak & Mizanpaj & Sosyal Medya
Platanus Yayın Grubu

Birinci Basım
Ekim, 2025

Yayımcı Sertifika No
45813

ISBN
978-625-6517-44-8

©copyright
Bu kitabın yayım hakkı Platanus Publishing'e aittir. Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin alınmadan hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Adres: Natoyolu Cad. Fahri Korutürk Mah. 157/B, 06480, Mamak,
Ankara, Türkiye.

Telefon: +90 312 390 1 118
web: www.platanuspublishing.com
e-mail: platanuskita@gmail.com



Platanus Publishing®

İçindekiler

BÖLÜM 1.....	5
Öbiyoz-Disbiyoz Durumları Arasında Bağırsak Mikrobiyotası ve Sağlık	
Erdal Tunc & Fatma İrem Yardımeden & Duygu Polat & Melek Nur Kahraman	
Muhammet Murat Kaymak & Recep Taş	
BÖLÜM 2.....	31
Solid Tümör Tedavilerinde Yeni Nesil Dizileme (NGS) Teknolojileri:	
Yenilikler ve Uygulamalar	
Rabia Ünal & Özge Şükrüoğlu Erdoğan	
BÖLÜM 3.....	49
Nanomedisinde Yeni Ufuklar: Eksozomların Biyolojik ve Terapötik	
Potansiyeli	
Emine SÖNMEZ	



BÖLÜM 1

Öbiyoz-Disbiyoz Durumları Arasında Bağırsak Mikrobiyotası ve Sağlık

Erdal Tunc¹ & Fatma İrem Yardımeden² & Duygu Polat³ & Melek Nur Kahraman⁴ & Muhammet Murat Kaymak⁵ & Recep Taş⁶

Giriş

Üç yüz yıl önce Antony van Leeuwenhoek kendi gaitasında ve diş kirinde küçük hayvancıklar gördüğünü ilk aktardığında, bilim insanları bu organizmalar hastalık yapıcı gözüyle bakmışlardı. İnsan vücuduna yerleşmiş bu mikroorganizmaların (mikrobiyotanın) insan sağlığına faydaları ve insan davranışı üzerine olan etkileri ancak son zamanlarda anlaşılmaya başlanmıştır (1). Buna göre zaman ve mekan olarak tanımlı bir habitata yerleşmiş polimikrobiyal mikroorganizma topluluğuna mikrobiyota denir (2). İnsan mikrobiyotası ise insan vücuduna veya tanımlı bir organa yerleşmiş mikroorganizma topluluğunu ifade etmektedir. İnsan vücudunda bazı organlar mikrobiyota içerikleri bakımından ön plana çıkmaktadırlar. Bu organlar arasında özellikle deri, ağız-üst solunum yolu ve bağırsaklar sayılabilirler (3). Özellikle bağırsak mikrobiyotası total mikrobiyotanın çok önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının bağırsak sağlığı üzerine olan etkileri son yılların aktif araştırma konusudur. Mikrobiyotaya bağlı bağırsak sağlığı olgusu özellikle önleyici tıp açısından önemli görülmektedir. Bazı uzmanlar bağırsak sağlığını sadece klinik bakış açısı ile değerlendirmektedirler. Örneğin Crohn hastalığı, ülseratif kolit, çölyak hastalığı, reflü gibi mide-bağırsak rahatsızlıklarını geçirmemiş olmayı bağırsak sağlığının belirteci olarak düşünmektedirler. Bu bakış açısı bağırsak sağlığına temel düzeyden pragmatik yaklaşımı ifade etmektedir. Ancak bu bakış açısının içinde ele alınmayan ancak bağırsak rahatlığı açısından çok anlamlı olan şişkinlik, gaz, düzensiz bağırsak hareketleri, rahat hissetmeme halleri bir çok durumda spesifik hastalıklardan bağımsız olarak ortaya çıkarlar ve bağırsak sağlığının olması gerektiği düzeyde olmadığına işaret ederler. Dolayısıyla sağlıklı bağırsak, tanısı konmuş bir hastalığın olmamasına ilave olarak genel rahatsızlık veya işlev bozukluğu işareti

¹ Prof. Dr., Mardin Artuklu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mardin, ORCID ID: 0000-0003-4964-1004

² Mardin Artuklu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mardin, ORCID ID: 0009-0002-1671-9805

³ Mardin Artuklu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mardin, ORCID ID: 0009-0001-4900-4972

⁴ Mardin Artuklu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mardin, ORCID ID: 0009-0001-4900-4972

⁵ Mardin Artuklu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mardin, ORCID ID: 0009-0002-8062-7462

⁶ Mardin Artuklu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mardin, ORCID ID: 0009-0004-4411-4525

sayılan bulguların olmamasını da gerektirmektedir. Bağırsak mikrobiyotası bu geniş tanım çerçevesinde anlam kazanmaktadır veya bu tanım dengeli bağırsak mikrobiyotası ile dolaylı olarak ilişkilidir. Bütün bunlara ilave olarak bağırsak bariyerinde meydana gelen artmış geçirgenlik, yine bağırsakta meydana gelen minör inflamasyonlar hemen belirti vermezler, ancak uzun vadede risk oluştururlar. Buna göre sağlıklı gastrointestinal sistem etkili sindirim, etkili emilim, etkin bağırsak bariyeri, antioksidan üretimi, yüksek miktarda kısa zincirli yağ asidi üretimi, düşük enfeksiyon riski ve ileri metabolizma fonksiyonlarının tamamının eksiksiz yerine getirilebilmesi ile ilişkilidir. Bütün bu fonksiyonların eksiksiz yerine getirilebilmeleri aynı zamanda dengeli bağırsak mikrobiyomu ve onun mikrobiyal kompozisyonu ile de ilişkilidir. Buna göre mide-bağırsak yolundaki mikroorganizmalar sindirim, besin alımı, enerji metabolizması, vitamin sentezi, inflamasyonla mücadele ve kişinin bağışık durumu gibi işlevlerin yerine getirilmesinde önemli roller oynarlar (4). Bu bölümde bağırsak mikrobiyotasının oluşumu, bireyi etkileyen çeşitli içsel ve dışsal faktörlerin bağırsak mikrobiyotası üzerine olan etkileri ve bağırsak mikrobiyotasının bireyin sağlığı üzerine olan etkileri konuları hakkında önemli görülen bilgiler derlenmiştir.

Bağırsak Mikrobiyotasının Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Çevre ile etkileşim ve çeşitli mikroplara maruz kalma mikrobiyomun şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır. Vücutta en büyük mikrobiyal popülasyonlar bağırsaklarda kümelenirler. Bağırsak mikrobiyotasını oluşturan ana bakteri grupları (şubeleri) Bacillota (Firmicutes), Bacteroidota (Bacteroidetes), Actinobacteriota, Pseudomonadota (Proteobacteria) ve Verrucomicrobiota şeklindedirler. Bunlardan Bacillota (Firmicutes), Bacteroidota (Bacteroidetes) grupları bağırsak mikrobiyotasının %90'ını oluştururlar. Ancak en sağlıklı kişilerde de bakteri kompozisyonu değişebilmektedir. Kısa süreli etkiler veya rahatsızlıklara bağlı olarak değişen bağırsak mikrobiyotasının, doğal plastisite göstermesi veya kısa sürede eski haline/kompozisyonuna dönmesi bağırsak mikrobiyotasının kararlılığını göstermektedir. Bağırsak mikrobiyotasının bileşimi, içsel (konak) ve dışsal (çevresel) faktörlerin karmaşık etkileşimleri altında şekillenir. Bağırsak mikrobiyota bileşimini etkileyen konak ile ilgili faktörler arasında doğum şekli, karaciğerin metabolize edebilme kapasitesi, immün sistemin işlevselliği ve biyoaktif lipid üretme kapasitesi sayılabilir. Yine sağlıklı bireylerde mide asiditesi, safra asitlerinin üretimi, bağırsak hareketleri ve bağışıklık sistemin etkinliği, bağırsak mikrobiyomunu şekillendiren konak ile ilgili diğer faktörleri oluştururlar. Bu ana faktörlerin yanı sıra intestinal pH, oksijen düzeyi, mukus üretimi gibi biyolojik faktörler, anti-mikrobiyal moleküller ve antikorlar bağırsakta mikropların kolonize olmalarını etkileyen önemli faktörlerdir.

Çevresel faktörler olarak beslenme alışkanlıkları, hijyen pratiği, kimyasallara maruziyet durumu, psikolojik stres ve yaşam tarzı bileşenleri (fiziksel aktivite, uyku, sosyal etkileşim gibi) bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu etkileyen faktörlerdir. Bağırsak sağlığını değerlendirmede mikrobiyal çeşitlilik/kompozisyon, tespit edilen enzimatik aktivite, kararlılık, kısa zincirli yağ asitleri, safra asitleri ve triptofan türevleri gibi metabolitleri üretebilme durumu, hidrojen, hidrojen sulfid ve metan gazlarını üretme durumu, inflamasyon markerleri olarak kalprotektin, laktoferrin üretme durumu ve pH faktörleri marker olarak kullanılabilirler. Bağırsak mikrobiyotasında mikrobiyal çeşitliliğin yüksek olması genel sindirimi, immün sistemin düzenlenmesini ve metabolit üretimini teşvik eder. Buna karşın mikrobiyotayı oluşturan mikroorganizma çeşitliliğinin düşük düzeyde olması diyabet, obezite ve inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) ve çeşitli kanserlere yakalanma riskini yükseltir. Tipik olarak atletlerin bağırsak mikrobiyotasında mikrobiyal çeşitlilik düzeyi yüksektir. Anlaşılabacağı yaşam tarzı da bağırsak mikrobiyota çeşitliliğini etkilemektedir. Bağırsak sağlığı açısından önemli olan ikinci olgu ise işlevselliktir. İşlevsellik mikrobiyotanın oluşturduğu enzimatik aktivite ve gen içeriğinin bağırsak işlevlerine sağladığı katkı ile ilgilidir. Buna göre enzimatik aktivite karmaşık karbonhidratların, proteinlerin ve lipidlerin parçalanmasına katkı sağlarken, mikrobiyotanın işlevsel gen içeriği bağırsağın metabolik yeteneklerini artırır. Bağırsak mikrobiyotasındaki mikrobiyal çeşitlilik/kompozisyon değerlendirilirken kimi durumda bir bakteri türünün varlığı veya yokluğundan ziyade ilgili türün hangi suşunun bulunduğu değerlendirilmelidir. Örneğin bağırsak mikrobiyotasında bulunan *Escherichia coli* (*E. Coli*) bakterisinin bazı şuşları iyi huylu karakter gösterirlerken enteropatojenik *E. coli* (EPEC) and enterohemorajik *E. coli* (EHEC) ciddi mide bağırsak hastalıklarına yol açabilirler. Bağırsakların hidrojen, hidrojen sulfid ve metan gazlarını üretme durumları da bağırsak mikrobiyotası ve sağlığı hakkında bilgi verebilir. Örneğin bağırsaklarda metan gaz düzeyinin yüksek tespit edilmesi metan üreten mikroorganizmaların düzeyinin yükseldiğini gösterir ve baskın karakteri kabızlık olan irite bağırsak sendromu ile ilişkilidir. Buna karşın hidrojen ve hidrojen sulfid gazlarının düzeyinin yüksek tespit edilmesi, bu gazları üreten mikroorganizmaların düzeyinin yükseldiğini gösterir ve bu durum da baskın karakteri diyare olan irite bağırsak sendromu ile ilişkilidir. Sağlıklı mikrobiyota kompozisyonunda sağlıklı kolon pH düzeyi 5.5-7 aralığındadır. Sağlıklı pH aralığında bulunma, bağırsaklarda faydalı bakterilerin çoğalmasını teşvik eder, patojenik türleri inhibe eder, sindirim ve emilim etkinliklerini artırır. Diyet, sağlık durumu ve diğer bazı faktörler bağırsak pH'sını etkilerler. Fermente ve lifli gıdalar kısa zincirli yağ asitleri üretimini teşvik ederek bağırsak pH'sını düşürücü etki gösterirler. pH düzeyi ancak diğer göstergeler ile birlikte değerlendirildiğinde bağırsak sağlığı hakkında fikir verir. Bu şekildeki çoklu faktörler arasındaki etkileşimlerin tam anlaşılması sayesinde; kişiye özgü

beslenme, probiyotik ve prebiyotik kullanımını, yaşam tarzının değiştirilmesi gibi parametreler üzerinden değişen (disbiyozu uğrayan) bağırsak mikrobiyotasının tekrar eski haline döndürülebilmesi olanaklı hale gelecektir. Batı tipi beslenme alışkanlıkları, gıda katkıları, çevresel bulaşlar ve sık antibiyotik kullanımı gibi uzun süreli olarak mikrobiyota üzerinde stres oluşturan faktörler bağırsak mikrobiyotasında kalıcı değişikliklere neden olabilirler. Mikrobiyotadaki kalıcı değişim hastalık yapıcı mikroorganizma türlerinin artışı lehinde olursa konağın sağlığı üzerinde negatif etkiler meydana gelmiş olur. Mikrobiyotadaki bu tip değişiklikler giderek artan sayıda hastalık ile ilişkilendirilmektedir. Bu hastalıklar arasında irite bağırsak hastalığı, karaciğer hastalıkları, obezite, diyabet ve nörolojik fonksiyon bozuklukları sayılabilir. Bağırsak mikrobiyotası ile bu hastalıklar arasında halihazırda direkt neden sonuç ilişkisi kurulamamaktadır, bunun yerine bu ilişki korelasyon düzeyinde tanımlanabilmektedir (4).

Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotikler

Probiyotik terimi ilk kez 1974 yılında ortaya atılmıştır. Dünya sağlık örgütü probiyotik terimini “yeterli miktarda tüketildiğinde sağlığa faydalı olan mikroorganizmalar” olarak tanımlamıştır. Ancak daha kapsamlı olarak probiyotikler istenen faydalı bakteriler içeren yiyecek, yiyecek bileşeni, yiyecek takviyesi ve benzeri ürünler şeklinde tanımlanabilirler. Probiyotikler, sağlığa faydalı mikroorganizmalar içeren yaygın yiyecekler şeklinde olabilecekleri gibi, liyofilize hap şeklinde de olabilirler. Yiyeceklere probiyotik özellik kazandıran bazı mikroorganizma grupları arasında *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, bifidobakteriler ve *Lactobacillus casei*'nin bazı suşları, *Lactobacillus acidophilus* grubu, *Bacillus coagulans*, *Escherichia coli* suşu Nissle 1917, bazı enterokoklar (özellikle *Enterococcus faecium* SF68) ve maya *Saccharomyces boulardii* mikroorganizma grupları sayılabilir. Bu probiyotik mikroorganizmalar yiyeceklere, özellikle fermente süt ürünlerine tekil veya kombine olarak eklenmek suretiyle alınabilirler (5,6,7). Mikrobiyotayı oluşturan faydalı bakterilere ideal beslenme ortamı oluşturan ve bu şekildeki bakterilerin çoğalmalarını destekleyen yiyecek, yiyecek bileşeni, yiyecek takviyesi ve benzeri ürünlere prebiyotikler denir (7). Prebiyotikler, probiyotiklerden (canlı organizma içerikli yiyeceklerden) farklı olarak yiyecek bileşenleri (cansız) şeklindedirler. Fasulye, baklagiller, nişastalı meyveler, tahıllar (rafine edilmemiş buğday, rafine edilmemiş arpa gibi) ve soya fasulyesi prebiyotikler için doğal kaynak oluşturan yiyeceklerdir. Benzer olarak anne sütü, çiğ yulaf, yakun (Peru yer elması, yacon) ve sindirilemeyen karbonhidratlar prebiyotik kaynaklarından sadece bir kısmını oluşturmaktadırlar. Yine galakto-oligosakkaritler, inülin kaynakları (topinambur, hindiba kökü vb.), arabionoksilan/arabinoksilan oligosakkaritler, mantarlardan elde edilen kitin-glukanlar veya hatta çeşitli fenolik bileşikler gibi maddeler

bağırsak mikrobiyotasını iyileştiren prebiyotikler olarak önerilmişlerdir (5,6). Bazı prebiyotikler bağırsakta mukusun üretim, içerik ve yıkım süreçlerini düzenlemek suretiyle bağırsak sağlığına katkıda bulunurlar. Örneğin frukto-oligosakarit (FOS) muamelesi yağca zengin diyetlerin yol açtıkları hastalıkları önleyebilmektedir. FOS'un bu işlevi, glukagon benzeri peptidlerin (GLP-1 ve GLP-2), üretimini uyarak ve muhtemelen mukus üretim sürecini etkileyerek sağladığı düşünülmektedir. Yine insan sütü oligosakarit bileşenlerinden birisi olan 2'-fukosillaktoz (2'FL) molekülü muamelesinin bağırsak mukus tabakasını etkilemek suretiyle bağırsak bariyeri bütünlüğünü güçlendirdiği gösterilmiştir. 2'-fukosillaktoz molekülünün obezite gelişimine karşı koruyucu etkide bulunduğu da gösterilmiştir. Bu durumda yüksek yağlarla beslenen kişiler, diyetlerine 2'-fukosillaktoz takviyesi almaları durumunda obezite geliştirme riskini azaltmış olurlar. İnsan süt oligosakkaritleri, yenidoğanlarda bağırsak epitel hücrelerinin fonksiyonlarını ve bağırsak bariyerini güçlendirirler, inflamasyon ve metabolik hastalık gelişim riskini azaltırlar. Oligosakkaritlerin mikrobiyota ve mukus tabakası üzerinde meydana getirdikleri etkilerin bu sonuçları doğurduğu düşünülmektedir (4). Prebiyotik ve probiyotiklerin yanısıra simbiyotik karışımlar da özelde mide-bağırsak, genelde insan sağlığını desteklemektedirler. Sinbiyotikler probiyotik ve prebiyotik karışımları şeklindedirler. Sinbiyotikler, mikrobiyal diyet takviyelerinin gastrointestinal yola implante olmalarına veya yararlı mikroorganizmaların vücut ortamında uzun süre hayatta kalmalarına yardımcı olurlar. Bu işlevi, faydalı mikro-organizmaların gelişimini/çoğalmasını sağlayacak ortam oluşturarak yerine getirirler (6). Çeşitli sinbiyotikler, probiyotik ve prebiyotik karışımları şeklinde hazırlanmış ve probiotikal, beta gluklan, laktaron, biomin gibi ticari isimlerle piyasaya sürülmüşlerdir (8). Probiyotik ve prebiyotik özelliği gösteren bazı yiyeceklerin listesi Tablo 1'de verilmiştir.

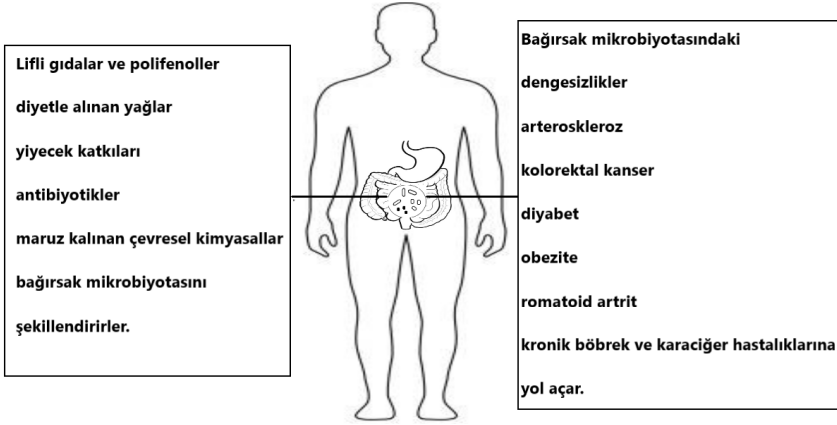
Tablo 1. Probiyotik ve prebiyotik özelliği gösteren bazı yiyeceklerin listesi

Bazı probiyotik yiyecekler	Doğal prebiyotik yiyecekler	içeren
1 Kefir	1 Enginar	
2 Kimçi	2 Kuşkonmaz	
3 Kombucha	3 Muz	
4 Miso	4 Arpa	
5 Turşu	5 Meyveler	
6 Lahana Turşusu	6 Hindiba	
7 Ekşi mayalı ekmek	7 Sarımsak	
8 Yoğurt	8 Yeşil sebzeler	
9 Muffin	9 Baklagiller	
10 Süt	10 Keten tohumu	
11 Kımız	11 Yulaf	
	12 Soğan	
	13 Domates	
	14 Buğday	
	Sentetik prebiyotikler	
	1 Siklodekstrin	
	2 Galaktooligosakkaritler	
	3 Laktuloz	
	4 Maltooligosakkaritler	
	5 Fruktooligosakkaritler	
	6 Ksilooligosakkaritler	
	7 Mannooligosakkaritler	

Bu tablo (7,9,10,11) kaynaklarından oluşturulmuştur.

Bağırsak Mikrobiyotası İle İlişkili Hastalıklar

Bağırsak mikrobiyotası ve bu mikrobiyotayı oluşturan mikroorganizmaların ürettikleri metabolitlerin nörodejeneratif, kardiyovasküler, gastrointestinal ve metabolik pek çok hastalığın gelişim sürecini etkilediğine dair kanıtlara ulaşılmıştır (Şekil 1). Bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizlik enerji Emilimi, kısa zincirli yağ asitleri, bağırsak-beyin eksenini, safra asitleri vb. birçok yolla konağın sağlığını etkilemektedir. Ancak, bağırsak mikrobiyotasının hastalıkların gelişim mekanizması üzerine olan etkileri henüz tam olarak açıklanamamıştır. Gelişim süreçleri üzerinde bağırsak mikrobiyotasının etkili olduğu bazı hastalıklar/hastalık kategorileri aşağıda verilmiştir (12).



Şekil 1. Diyet ve çevresel faktörler bağırsak mikrobiyomunu etkilerler. Bağırsak mikrobiyotasında oluşan dengesizlikler çeşitli hastalıklarla ilişki göstermektedirler. Bu şekil (4,13,14) kaynaklarından faydalanılarak yazarlar tarafından oluşturulmuştur.

Bağırsak Mikrobiyotası ve Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejeneratif hastalıklar, esas olarak merkezi sinir sistemini etkileyen, heterojen bir hastalık grubudur. Bu hastalıklar, belirli bölgelerdeki nöron kaybına (nörodejenerasyon) bağlı olarak gelişirler. Nörodejenerasyonun ilerlemesi, denge bozukluğu, hareket bozuklukları (ataksi), konuşma, solunum, kalp fonksiyonları ve bilişsel gerileme (demans) gibi nörolojik ve nöropsikolojik belirtilerin ortaya çıkmasına neden olur. Yaygın nörodejeneratif hastalıklara örnek olarak Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz, Friedreich ataksisi, Huntington hastalığı ve spinal müsküler atrofi hastalıkları verilebilir (15,16). Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıkların temel işaretleri nöron yıkımı ve nöronlar arası iletişimin bozulmasıdır. Hafıza kaybı, bilişsel yetide gerileme, beyinde tau yumakları ile beta-amiloid plak birikimleri Alzheimer hastalığının önemli belirtilerini oluştururlar. Buna karşın Parkinson hastalığı titreme ve motor sistemde fonksiyon bozulması ile kendini gösterir, bu hastalıkta dopamin üreten nöronların dejenere olmaları ve sinüklein agregatlarının oluşumu önemli patolojik değişikliklerdir. Bu hastalıkların ortaya çıkmalarında bağırsak mikrobiyotasının rol oynadığı ileri sürülmüştür. Mide-bağırsak sistemi ile merkezi sinir sistemi arasında hassas bir iletişim ağı vardır, bu iletişim ağına bağırsak beyin aksı denmektedir. Dolayısıyla mide-bağırsak sisteminde bulunan mikroorganizmalar ile beyin arasında dinamik bir ilişki vardır. Mide-bağırsak ve beyin aksı, mikrobiyal, nörolojik, hormonal ve immünolojik yollardan oluşur ve bu yollar aracılığı ile bu aks boyunca sürekli bilgi akışı olur. Bu akstaki karşılık etkileşimin, ruh durumunun düzenlenmesi, bilişsel fonksiyonların ve immün yanıtın düzenlenmesi ve davranış gibi fizyolojik süreçler üzerine önemli etkileri bulunmaktadır. Mide-

bağırsak ve beyin aksındaki nörolojik iletişim vagus siniri üzerine inşa olmuştur. Bu sinir otonom sinir sisteminin önemli bir bileşenidir ve bağırsak ile beyin arasında direk nörolojik bağlantıyı oluşturmaktadır. Vagus siniri bağırsak ve beyin arasındaki sinyal iletimini çift taraflı olarak sağlamaktadır. Bağırsaklarda üretilen serotonin, gamma-aminobutirik asit (GABA), ve dopamamin ruh durumu ve davranışın kontrolünde çok önemli rol oynarlar. Enterik sinir sistemi veya ikinci beyin olarak adlandırılan mide-bağırsak sistemindeki sofistike nöral network, merkezi sinir sisteminden bağımsız ancak onunla yakın ilişki içerisinde çalışır. Mide-bağırsak ve beyin ekseninde hormonal olarak enteroendokrin hücrelerin ürettikleri hormonlara dayalı olarak yürümektedir. Buna göre intestinal yolda besinleri varlığı veya bağırsaktaki mikroorganizmalar tarafından üretilen metabolitler gibi uyarıcılar karşısında enteroendokrin hücreler hormon salgırlar. Örneğin girelin, glukagon benzeri peptid-1 ve kolesistokinin bu hormonlardan bazılarıdır ve açlık/doygunluk hislerini ve enerji düzeylerini kontrol ederler. Bu metabolik fonksiyonlarının yanı sıra düşünme ve hissetme süreçleri üzerine de bu hormonların etkisi vardır. Mide-bağırsak ve beyin eksenindeki mikrobiyal yolağın bir parçası olarak bağırsak mikroplarının ürettikleri kimyasallardan söz edilebilir. Örneğin bağırsak bakterilerinin ürettikleri dopamin ve serotonin nörotransmitterleri ruh ve duyu durum reaksiyonlarını etkilerler (17). Bu durumu destekler şekilde, Bravo ve arkadaşlarının yürüttükleri bir çalışmada yaptığı çalışmada, Lactobacillus rhamnosus adlı probiyotik bakterinin BALB/c farelerine verilmesiyle, hipokampusta GABA üretiminin arttığı, stres ve anksiyeteye bağlı kortikosteron seviyesinin düştüğü, depresyonla ilişkili davranışların hafiflediği gözlemlenmiştir. Ancak bu etkiler, yalnızca vagus siniri sağlam olan farelerde görüldüğü rapor edilmiştir; vagotomize edilmiş (vagus siniri kesilmiş) farelerde bu etkiler oluşmamıştır (18). İlave olarak mikrobiyal metabolitler kan beyin bariyerinin geçirgenliğini etkileyerek bağırsakta üretilen moleküllerin beyne ulaşmasında da rol oynarlar. Mide-bağırsak ve beyin eksenindeki bu etkileşimlerin sonucu olarak bağırsak mikrobiyota kompozisyonunda ve fonksiyonundaki değişiklikler (disbiyoz) bazı nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde rol oynar. Alzheimer, Parkinson ve Amiyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gibi nörodejeneratif hastalıklar kimi durumlarda beyinde gelişen inflamasyon ile ilişkilidirler. Disbiyotik mikroorganizmaların ürettikleri metabolitler vücudun genelinde inflamasyona neden olabilirler. İlave olarak disbiyoz bağırsak bariyerinin geçirgenliğini bozabilir ve disbiyotik mikroorganizmaların ürettikleri bileşikler kana karışıp vücudun çeşitli yerlerinde inflamasyona neden olabilirler. Bağırsak mikrobiyotasını oluşturan mikroorganizmalar lifli yiyecekleri fermente ederek kısa zincirli yağ asitleri üretirler. Üretilen kısa zincirli yağ asitlerinin nöro-koruyucu özelliği olduğu tespit edilmiştir. Bu kısa zincirli yağ asitleri nörotransmitter üretiminde, immünolojik

yanıtın düzenlenmesinde ve kan-beyin bariyerinin geçirgenliğinin kontrolünde rol oynarlar. Buna göre disbiyozla bağılı kısa zincirli yağ asidi dengesinin bozulması beyin sağığı üzerine olumsuz etkilerde bulunabilir. Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda beyinde katlanmamış veya doğru katlanmamış protein agregatların birikimi olmaktadır. Buna göre Parkinson hastalığında beyinde biriken sinüklein protein agregatlarının beyne ulaşmadan önce enterik sinir sisteminde görüldükleri tespit edilmiştir. Disbiyoz, nörodejenratif hastalıkların gelişiminde rol alan bu protein agregatların birikmelerine ve beyne taşınmalarına yardımcı olmaktadır. Yine disbiyoz tablosunun beyindeki immün sistem üzerine de etkisi vardır. Bağırsakta disbiyoz oluşumu beyinde nöro-inflamasyona yol açabilecek sinyal yollarını harekete geçirir. Disbiyotik mikroorganizmaların ürettikleri lipopolisakkaritler ve diğere bileşikler bağırsak bariyerini geçerek bağırsak ile ilişkili lenfoid dokuyu immün hücrelere aktive ederler. Bu aktivasyonun neticesinde inflamasyonu destekleyen sitokinler ve diğere sinyal molekülleri salınır, bu sinyal molekülleri dolaşım ve nörolojik yollar gibi çeşitli yollarla beyne ulaşırlar. Aktive olan immün hücreler de bağırsak bariyerini geçerek kan dolaşımına oradan da beyne ulaşabilirler. Beyne ulaşan bu hücreler de sitokin ve kemokinler salgılayarak beyindeki nöroinflamatuvar tepkiye katkıda bulunurlar ve bu da inflamasyon ve nöronal hasar döngüsünü devam ettirir. Bütün bu bilgilere dayalı olarak bağırsak bakteri kompozisyonunda ve metabolit profilindeki değişiklikler, nörodejeneratif hastalıklar için belirteç olarak kullanılabilirler. Bunun için çeşitli mikrobiyal kompozisyonların farklı hastalık halleri ile ilişkilendirilmesi gerekir. Buna göre çeşitli nörodejeneratif hastalıkların mikrobiyal indikatörlerle ilişkilendirilmeleri erken tanı ve tedavinin önünü açacaktır. Hastalıkların başlangıcını geciktirmek için diyet değişiklikleri, pro ve prebiyotik uygulamalarına erkenden geçilebilecektir. Böylece bağırsak mikrobiyotası nörokoruyucu metabolitler üreten mikroorganizmalarca zengin hale getirilecektir (17).

Bağırsak Mikrobiyotası ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Bağırsak mikrobiyotasının hipertansiyon, arteroskleroz ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişim süreçleri üzerine etkisi olduğu bir çok çalışma kapsamında gösterilmiştir. Buna göre mikrobiyota metabolitleri olarak trimetilamin oksit, safra asitleri ve kısa zincirli yağ asitleri kardiyovasküler hastalıkların gelişim süreçlerinde rol almaktadırlar (19). Hipertansiyon hastalığında bağırsakların işlevinde, bağırsak bakteri popülasyonunun kompozisyonunda ve bağırsak beyin iletişiminde değişiklikler olur. *Firmikutes/Bakteroidetes* oranı gözle görülür şekilde yükselir. Bağırsak florasındaki bu değişimin dolayısıyla floranın ürettiği metabolitlerdeki değişimin kan basıncının düzenlenmesinde anahtar rolü bulunmaktadır. Buna göre dolaşımdaki trimetilamin oksit konsantrasyonu hipertansiyon geliştirme riski ile

ilişkili bulunmuştur. Yine mikrobiyota metabolitleri olarak kısa zincirli yağ asitlerinde miktarındaki dengesizlikler enterik kromafin hücrelerinin 5-hidroksitriptamin üretmesine yol açar. 5-hidroksitriptamin metaboliti intestinal vagus siniri üzerindeki reseptörlerini uyararak sinirin afferent aktivitesini inhibe eder. Kana salınan 5-hidroksitriptamin damarlarda vazokonstriksiyona yol açar ve bu yolla hipertansiyon gelişimine katkıda bulunur. Konuyla ilgili yapılan hayvan çalışmalarında hipertansiyon hastası donörlerin dışkıları alıcı farelerin bağırsaklarına yerleştirildiğinde alıcı farelerin kan basınçlarının yükseldiği görülmüştür. Bu çalışmalar bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizlikler ile hipertansiyon gelişimi arasında neden sonuç ilişkisi olabileceğini düşündürmektedir (12,20,21,22). Bütün bu çalışmalardan elde edilen bulgular hipertansiyon ile bağırsak mikrobiyotası arasında güçlü bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır. Buna göre bağırsak mikrobiyota dengesinin düzeltilmesi hipertansiyon için umut verici bir tedavi stratejisi olabilir (12). Son yıllarda yapılan araştırmalardan elde edilen bulgulara göre bağırsak bakterileri kalbe geçiş göstermektedirler (12). Yine ağız içi bakterilerine arterosklerotik plaklarda rastlanmaktadır. Bu bulgulara göre bağırsak mikrobiyotası arteroskleroz hastalığının gelişimi ve ilerlemesinde rol oynamaktadır. Arteroskleroz hastaların *Enterobacteriaceae* and *Enterobacter aerogenes* bakterilerinin bolca bulundukları bu bakterilerin diğer faydalı bakterilerim gelişimlerini bastırdıkları öne sürülmüştür. Yin arteroskleroz hastalarında bapırsak geçirgenliğinin arttığı, bunun neticesi olarak dolaşıma lipopolisakkarit geçişinin arttığı, bunun damar duvarında enfeksiyona yol açtığı ve nihayetinde bu durumun arteroskleroz hastalığının gelişimine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir. Bağırsak mikrobiyotasının ürettiği metabolitler arteroskleroz tablosu ile ilişkilendirilmişlerdir. Asetat, propiyonat, bütirat gibi kısa yağ zincirleri arteroskleroz gelişimini inhibe edici etki gösterirler. Dolaşımda trimetilamin oksit (TMAO) düzeyinin yükselmesi arteroskleroz gelişimini teşvik eder (12).

Bağırsak Mikrobiyotası ve Metabolik Hastalıklar

Bağırsak mikrobiyotasında gelişen disbiyoz durumu obezite, diyabet ve karaciğer hastalıkları ile de ilişkilendirilmiştir. Turnbaugh ve arkadaşlarının yürüttükleri bir çalışmada obez farelerden alınan bağırsak mikrobiyota örneği zayıf farelere transplante edildiğinde zayıf farelerin şişmanladıkları gözlenmiştir (23). Burada bağırsak mikrobiyotasının obezite gelişimi üzerinde etkisi görülmüştür. Yine bağırsak mikroorganizmalarının ürettikleri kısa yağ asitleri ve süksinat metabolitlerinin obezite gelişiminde önemli rollerinin olduğu gösterilmiştir. Buna göre kısa yağ asitleri ve süksinat metabolitleri çeşitli mekanizmalarla obezite gelişimini önleyici rol oynamaktadırlar. Obez insanlarda intestinal floranın mikrobiyal çeşitliliği/zenginliği bakımından dengesizlik oluşmaktadır. Bağırsak mikroorganizmaları tarafından fermente edilen bazı

sindirilemez karbohidratlardan elde edilen ürün maddeler; iştahı azaltarak, buna karşın lipit oksidasyonu ve enerji tüketimini arttırarak obezite gelişimine engel olurlar. Obezitenin yanısıra diyabet ile bağırsak mikrobiyotası arasında da ilişki kurulmuştur. Buna göre hem tip1 ve hem de tip 2 diyabet hastalarında bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun değiştiği öne sürülmüştür. Gebeliğe bağlı diyabet hastalarında da gelişen bağırsak mikrobiyota disbiyozuna bağlı olarak inflamasyon, obezite ve glukoz toleransında bozulma meydana gelmektedir. Gebelikte probiyotik takviyesinin bağırsak mikrobiyotasını düzenleyebileceği, bunun da gebeliğe bağlı diyabet gelişimine engel olabileceği öne sürülmüştür. Bağırsak mikrobiyota metabolitlerinin de diyabet gelişimi üzerine olan etkileri çalışılmıştır. Buna göre kısa zincirli yağ asitleri düzeyinin yükselmesi insüline karşı direnç gelişimini engellemektedir. Yine safra asitleri insüline duyarlılığı ve glukoz kullanımını arttırmaktadırlar (12). Çinli bilim insanlarının yürüttükleri bir çalışmada hikolik asidin kan glukoz düzeyini düzenlediği ve bu şekilde tip 2 diyabeti tedavi edici etki gösterdiği gösterilmiştir. Bundan hikolik asidin de diğer hipoglisemik ilaçlara kombine olarak diyabet tedavisinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (24). Bir safra asidi olan kolik asidin metabolizması bağırsak florası tarafından düzenlenmektedir. Buna dayanarak diyabet hastalarında intestinal flora işlevi manipüle edilerek kolik asit düzeyinin yükseltilmesi ve bu şekilde kan şeker düzeyinin düzenlenmesi gelecekteki çalışmaların odak noktasını oluşturabilir. Bunlardan bağımsız olarak bağırsak mikrobiyotasının enterik sınırlar üzerinden doğrudan kan glukoz düzeyini düzenlediği bildirilmiştir. Diyabet olmayan kişilerden alınacak fekal flora transplantının transferi tip 1 diyabet hastaları için gelecekte bir tedavi seçeneği olabilir (12).

Bağırsak Mikrobiyotası ve Karaciğer Hastalıkları

Alkol dışı yağlı karaciğer hastalığı (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) siroz ve karaciğer kanserine dönüşme riski taşıyan bir hastalıktır. Bu hastalığın gelişim mekanizması tam olarak anlaşılamamış olsa da, hastalığın gelişiminin bağırsak mikrobiyotası ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır. NAFLD (hepatik steatoz) hastalarından alından dışkı transplante edilen sağlıklı farelerde hepatik trigeliserit birikimi olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmanın neticesinde insandan elde edilen steatoz ilişkili mikrobiyotanın sağlıklı farelerin karaciğerlerinde lipid birikimine yol açtığı bunun da karaciğer steatozunu başlattığı sonucuna varılmıştır (12,25). Bağırsak mikrobiyota metabolitleri olarak kısa zincirli yağ asitlerinden özellikle bütirat, dolaylı yoldan karaciğer yağ asidi sentez aktivitesini azaltarak karaciğer yağlanmasını önleyici etki gösterir. Bağırsak mikrobiyotası safra asitlerini kontrol ederek de hepatik lipit sentezini inhibe edebilir. Bu iyileştirici etkilerine karşın, bağırsak mikropları endojen etanol üretmek suretiyle karaciğer hücreleri üzerindeki doğrudan toksik etkilere yol açabilirler ve NAFLD hastalığının gelişimine yol açabilirler (12).

Bağırsak Mikrobiyotası ve Gastro-intestinal Sistem Hastalıkları

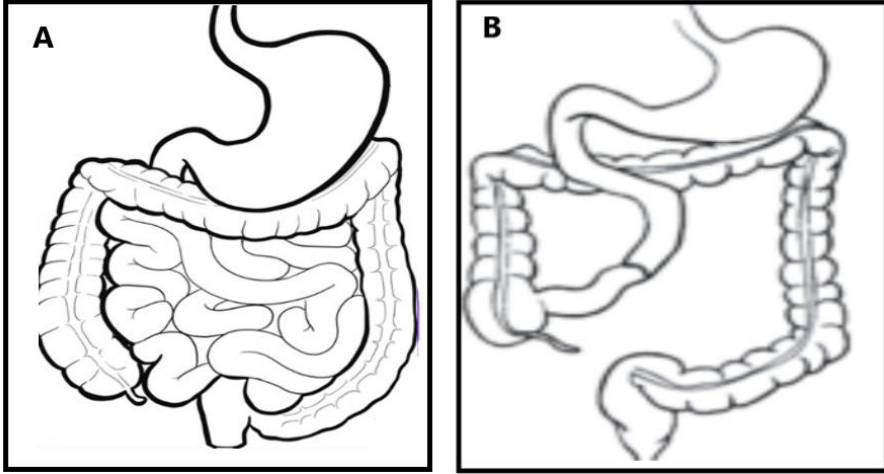
Bağırsak mikrobiyota disbiyozunun sindirim sistemi hastalıklarına yol açtığı ile ilgili pek çok kanıt bulunmaktadır. Bu hastalıklar arasında inflamatuvar bağırsak hastalığı ve kolorektal kanser sayılabilir. Ülseratif kolit ve Crohn hastalıkları inflamatuvar bağırsak hastalığı kategorisinde ele alınırlar. Bu hastalıkların gelişimi immün sistemin işleyişinin bozulması ile ilişkilidir. Bu hastalıklara bağlı olarak bağırsaklarda inflamasyon ve mikrobiyal disbiyoz gelişir. Bu hastalıklarda bağırsak mikrobiyotasının inflamasyonun gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Yine bu hastalıklarda bağırsak mikroplarının çeşitliliğinin azalma meydana gelir. Bu hastalıklarda *Enterobakter* and *Proteobakter* grubu bakterilerin miktarlarında artış olurken *Firmikutes* grubu bakterilerin miktarlarında düşüş olur. Crohn hastalığından muzdarip kişilerin bağırsaklarında fungus miktarı ve çeşitliliği artar. İnflamatuvar bağırsak hastası farelerden elde edilen bağırsak mikropları sağlıklı farelere transfer edildiğinde sağlıklı farelerin inflamatuvar bağırsak hastalığı semptomları gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucu bağırsak inflamasyonunda bağırsak mikroplarının oynadığı rolü açık bir şekilde göstermektedir. Bağırsak mikrobiyota metabolitleri olarak kısa zincir yağ asitleri ve safra asitleri de çeşitli metabolik yollar aracılığı ile bağırsaklarda inflamasyon gelişiminde rol oynamaktadırlar. Bütün bu veriler bağırsak mikrobiyotasının inflamatuvar bağırsak hastalığının oluşumunda/gelişiminde tetikleyici faktör olarak rol oynadığını göstermektedir, ancak hastalığa götüren spesifik mekanizmalar henüz doğrulanamamıştır. Bağırsak mikrobiyota disbiyozunun kolorektal kanser gelişimi ile ilişkisi de gösterilmiştir. Kolorektal kanser gelişiminde bağırsak disbiyozuna bağlı olarak patojen bakterilerin salgıladıkları toksik kimyasallar damar epitel hücrelerine zarar vererek kronik inflamasyon gelişimine yol açarlar, kronik inflamasyon da kanser gelişimine katkı da bulunur. İlave olarak bağırsak mikrobiyota metaboliti olan Gallik asit, kanser gelişimi açısından önemli olan p53 proteinini tümör önleyici etkiden kanserojen etkiliye dönüştürebilmektedir. Bu da bağırsak mikrop metabolitlerinin kanserle ilgili genlerle/proteinlerle etkileşime girerek kanserleşmeye katkı da bulunabileceğini göstermektedir. Bütün bu veriler bağırsak mikrobiyotasının ürettiği toksik metabolitlerin doğrudan, ya da iltihap veya immün-baskılama yoluyla dolaylı olarak kanser gelişim sürecine katılabileceklerini göstermektedir (12).

Bağırsak Mikrobiyotası ve Kısa Bağırsak Sendromu

Gastro-intestinal sistemin önemli bir parçası olan ince bağırsakların normal şartlarda yetişkin bireylerdeki uzunluğu 320-800 cm arasındadır, ortalama uzunluğu yaklaşık 600 cm'dir (26,27). İnce bağırsağın 200 cm'den daha kısa olması durumunda kısa bağırsak sendromu (Short Bowel Syndrome, SBS) denmektedir (Şekil 2). Çok nadir görülen bir hastalıktır, Avrupa'da milyonda 1

veya 1.4, Amerika'da milyonda 3 kişide görülmektedir. Bu sendrom, ince bağırsağın uzunluğunun doğuştan kısa olması ya da hekim müdahalesi ile (iatrojenik) kısaltılması neticesinde gelişir. Cerrahi rezeksiyona adaptasyon olarak bağırsağın kalan kısmında hiperplazi, bağırsak hormon düzeylerinde değişiklikler, ve hiperfaji (çok yeme) gelişir (26,28). Kısa bağırsak durumunda bağırsak yüzeyi yeterince besin ve su emilimi yapamaz ve sonuçta bağırsak yetmezliği gelişir. Bağırsak yetmezliği beslenme yetersizliği, dehidratasyon, malabsorbsiyon ve ishal ile kendini gösterir. Bu durumun devamı olarak safra hastalıkları, osteoporoz, nefrolitiazis, karaciğer kolestazi, karaciğer hastalıkları, d-laktik asidoz, diyare gibi ciddi komplikasyonlara gelişebilmektedir (27,28). Bu semptomlar sonucu olarak enerji, protein, mikro besin öğeleri, sıvı kaybı ve elektrolit emiliminde dengesizlikler gelişir. Bu bulguların önüne geçmek için hastaların beslenmeleri sınırlandırılır ve uzun süreli parenteral nütrisyon uygulanır (27). Ancak uzun süreli parenteral besleme ve katater uygulamasına bağlı olarak sepsis, sentral vene ulaşma, tromboz ve metabolik hastalıklar (karaciğer ve böbrek hastalıkları, oksalik taş hastalığı ve/veya kemik demineralizasyonu gibi metabolik komplikasyonlar) gelişebilmektedir (28). SBS sendromunda gelişen diğer bir durum ise metabolik asidozdur çünkü bu sendromda kolona karbonhidrat iletimi artması sebebiyle laktik asitte artış meydana gelir. Yapılan bir çalışmada hastalarda kontrol grubundaki kişilere göre 10 kat fazla D-laktat birikimi tespit edilmiştir (26). Ayrıca kısa bağırsak sendromunda İnterlökin-6 (İL-6) ve tümör nekroz faktörü TNF-alfa artışı ile birlikte bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler bağırsak boyunca bakteriyel akışı devam ettirmesi sonuç sitokin aracılı hepatoselüler hasara yol açtığı öne sürülüp antibiyotiklerle alınan tedavinin karaciğer hasarı üzerinde olumlu etkiler yaratmıştır (26). İlave olarak SBS sendromunda bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerin, bağırsak mukozası boyunca bakteri akışına neden olduğu ve bunun da sitokin aracılı hepatoselüler hasara yol açtığı öne sürülmüştür. Bu hipotezle uyumlu olarak kısa bağırsak sendromu hastalarında interlökin-6 (İL-6) and tumor nekroz faktörü- α (TNF- α) düzeylerinde yükseliş tespit edilmiştir. Bu hastalara enteral yolla antibiyotik verilmesi karaciğer hasarını azaltıcı etki yaratabilir (26). Bu sendromun tedavisinde emilim yetersizliğini tedavi edebilmek çok önemlidir ve bunun için tedavide yüksek enerjili besinler tüketilmesi önerilir, bu beslenme tedavisi için prebiyotik, probiyotik, sinbiyotikler çok önemlidir (27). Yine tedavide parenteral besleme süresini azaltmak ve buna bağlı olarak hastanın yaşam kalitesini arttırmak önemlidir. Tedavinin bir parçası olarak mide-bağırsak sisteminden besin geçişini yavaşlatmak, total diyet alımını arttırmak ve enteral kalori absorpsiyon düzeyini maksimize etmeye çalışmak önemlidir (28). (Sağlıklı insanın fekal mikrobiyotası genel olarak *Firmikutes*, *Bakteroidetes*, ve *Aktinobakteria* filogenetik gruplarına ait türlerden oluşur. Yetişkin insanların gastrointestinal

yolunda ise yoğunluklu olarak anaerobik mikroorganizmalar bulunmaktadır. Sağlıklı kişilerin mide-bağırsak yolunda *Klostridium leptum*, *Klostridium Kokoides*, ve *Bakteroides prevotella* grupları dominant olarak bulunmaktadır. SBS sendromu hastalarında hem feçes hem de mide-bağırsak yolundaki bakteriyel çeşitlilik azalmıştır. SBS hastalarında anaerobik *C. leptum*, *C. kokoides*, and *B. Prevotella* bakteri gruplarının miktarı azalmış, laktobacillus cinsi bakteriler dominant hale gelmişlerdir. SBS hastalarında kısalmış ince bağırsak ve kolon yüksek düzeyde oksijen varlığı anaerobik bakterilerin yaşam ortamlarını bozar. SBS hastalarında gelişen yiyeceklerin hızlı geçişi, düşük dışkı pH'sı, safra asitlerinin enterohepatik dolaşımının bozulması ve kolon lümeninde biriken sindirilmemiş besin miktarı laktik asit üreten bakterilerin çoğalması için uygun yaşam koşulları oluşturur ve bu hastalarda laktobasil yükü oldukça artar. Bu şekildeki orantısız Laktobasil artışından dolayı SBS hastalarının mikrobiyotalarına laktobiyota denmektedir (28).



Şekil 2. Şekilde A) normal ve B) kısa bağırsaklar şematize edilmişlerdir. Bu şekil yazarlar tarafından (28)'inci kaynaktan faydalanılarak ve Canva programı kullanılarak oluşturulmuştur.

Diyet Tiplerinin Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Olan Etkileri

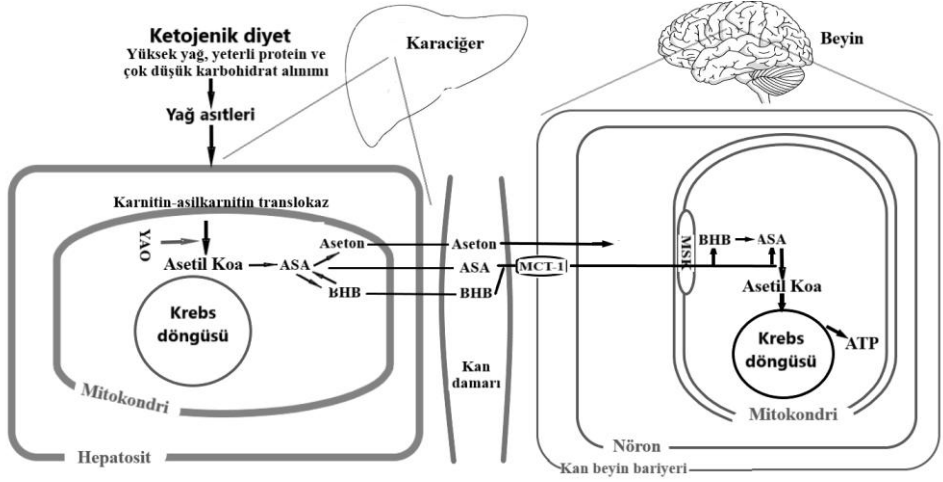
Genotip, cinsiyet, yaş, savunma sisteminin durumu ve çeşitli çevresel faktörler bireylerin bağırsak mikrobiyotasında çeşitliliğe neden olur. Yine alınan yiyeceğin çeşidi ve kalitesi de bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunu/işlevini ve konak ile mikroplar arasındaki ilişkiyi etkilemektedir. Diyet, bireyler arası mikrobiyota çeşitliliğini %20 nisbetinde etkilemektedir. Dolayısıyla doğru diyet stratejileri ile mikrobiyotanın niteliği ve niceliği düzenlenebilir ve bu şekilde hastalıklarla mücadeleye katkı sağlanabilir.

Beslenmeyle alınan yiyeceklere göre üç çeşit mikroorganizma bağırsak mikrobiyotasını domine edebilmektedir. Buna göre üç çeşit intestinal mikrobiyota modeli bulunmaktadır. Enterotip 1 olarak adlandırılan sanayileşmiş toplumlarda yüksek yağlı, rafine kırmızı et, sanayi ürünü yiyecekleri bolca tüketilir, buna karşın lifli yiyecekleri az tüketilir. Bu toplumların bağırsak mikrobiyotalarında *Bacteroides* türleri baskın olarak bulunmaktadır. Enterotip 2 olarak kategorize edilen sanayileşmekte olan toplumlarda lifli yiyecekler çok tüketilmekte, buna karşın et ve süt ürünleri daha az tüketilmektedir. Bu toplumların bağırsak mikrobiyotalarında *Prevotella* türleri yaygın olarak bulunmaktadır. Enterotip 3 kategorisindeki bağırsak mikrobiyotalarında müsin parçalayıcı özelliği olan *Ruminococcus* türleri bolca bulunmaktadır. Buna göre enterotip 1 ve 2 kategorisi yağca zengin ve protein yiyeceklerin bol tüketilmesi, buna karşın enterotip 3 kategorisi karbonhidratça zengin diyet ile beslenme sonucudur. Şehirleşme, düşük fiziksel aktivite, aşırı antibiyotik kullanımı, prebiyotik/probiyotik özellikli veya polifenol içeren yiyeceklerin tüketilip tüketilmemesi, hijyen pratiklerinde meydana gelen ilerlemelerin şekillendirdiği batılı yaşam tarzı parametreleri içerisinde bağırsak mikrobiyotasını en çok etkileyen faktör diyetdir. Çeşitli diyet tipleri ile bağırsak mikrobiyotası arasında yakın ilişki vardır (29,30).

Batı tipi diyet: Buna göre batı tipi beslenmede doymuş yağlar, kırmızı et, şeker ve işlenmiş gıdalar ana yiyecek kalemlerini oluştururlar. Bu beslenmenin sonucu olarak anti-inflamatuar etki üreten *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia spp.*, *Eubacterium spp.*, *Clostridium* grup XIVa ve IV türü bakterilerin bağırsak mikrobiyotasındaki varlıkları azalır. Bu değişimin sonucu olarak bağırsak inflamasyona açık hale gelir (29).

Ketojenik diyet: Ketojenik diyetle açlık durumundaki metabolizmayı taklit etmek suretiyle keton cisimlerinin üretimini teşvik eden yüksek yağ, yeterli protein ve çok düşük karbonhidrat alınımını esas alınır (31). Ketojenik diyetle hedeflenen keton bileşiklerinin (asetoasetat, β -hidroksibutirat ve aseton) seviyelerini yükseltmektir. Bu amaca yönelik olarak karbohidrat alınımı azaltılırken hepatik ketojeniz ile yağ metabolizması yükseltilir. Normal metabolizmanın gereği olarak karaciğerde, yağ asitleri genellikle krebs döngüsüne giren asetil-CoA'ya dönüştürülürler. Yağ asidi seviyeleri krebs döngüsünün metabolik kapasitesini aşacak şekilde yükseldiğinde, asetil-CoA krebs döngüsü yerine ketojeneze yönlendirilir. Ketojeniz süreci kapsamında asetil-CoA moleküllerinden çeşitli metabolik reaksiyonlar sonucunda keton cisimcikleri sentezlenir. Karaciğerde üretilen keton cisimcikleri dolaşım yoluyla çeşitli doku organlara taşınarak orada enerji kaynağı olarak kullanılırlar (Şekil 3). Keton cisimciklerinin seviyesindeki artışın sonucu olarak kolon hücrelerine enerji sağlanır. Buna göre ketojenik diyetle seviyesi yükseltilen keton bileşikleri kolon hücrelerine enerji kaynağı oluşturur. Bunun yanı sıra , artmış keton

bileşikleri mide-bağırsak sistemi bağlamında anti-imflamatuvar ve anti-oksidan aktivitelerde artışa, savunma sisteminin düzenlenmesine, bağırsak hareketlerine, bağırsak bariyer işlevinin iyileşmesine, hücre bölünme ve farklılaşmasına, iyonik emilime katkı da bulunurlar. Yine distal ülser gelişimi, kolon kanseri ve Chron hastalığının gibi hastalıklarına gelişimine engel olurlar. Ketojenik diyet Alzheimer, Parkinson, epilepsi ve depresyon gibi nörolojik hastalıkların tedavisinde de kullanılan bir diyet türüdür (29,32). Fareler üzerinde yürütülen çalışmalarda ketojenik diyetin bağırsak mikrobiyotasını değiştirdiği rapor edilmiştir (33,34).



Şekil 3. Normal metabolizmanın gereği olarak karaciğerde, yağ asitleri krebs döngüsüne giren asetil-KoA'ya dönüştürülürler. Yağ asidi seviyeleri krebs döngüsünün metabolik kapasitesini aşacak şekilde yükseldiğinde, asetil-KoA krebs döngüsü yerine ketojenez yönlendirilir. Ketojeniz süreci kapsamında asetil-KoA moleküllerinden çeşitli metabolik rekasyonlar sonucunda keton cisimcikleri sentezlenir. Karaciğer de üretilen keton cisimcikleri dolaşım yoluyla çeşitli beyne taşınarak orada enerji kaynağı olarak kullanılırlar. YAO; yağ asidi oksidasyonu, ASA, asetotat; BHB, beta-hidroksibütirat; MCT-1, monokarboksilat transporter-1; MSK, mitokondriyal soulunum kompleksi ifadelerinin kısaltmaları olarak kullanılmışlardır [Bu şekil (32, 35 ve 36)'ıncı kaynaklarından faydalanılarak oluşturulmuştur].

Vegan diyet: Vegan diyeti sadece bitkisel orjinli yiyeceklerden oluşur, hayvansal orjinli yiyecekler tüketilmez. Buna göre vegan diyetinde sebze ve meyve yüksek miktarda tüketilir, ancak özellikle doymuş yağlar ve protein düşük düzeyde alınır (29,37). bitkisel kaynaklı yiyecekler daha çok fitokimyasallar, karetenoidler, polifenol bileşikler içerirler. Bu maddelerin Kcal cinsinden enerji değerleri düşük olmakla birlikte faydalı metabolik işlevleri vardır, dolayısıyla insan sağlığına iyi gelmektedirler. Özellikle bağırsak mikrobiyotası diyetle alınan polifenollerin biyoaktif polifenol metabolitlerine dönüştürülmesinde kritik role sahiptir. Fakat eğer vegan diyeti iyi ayarlanmazsa yağ asidi, protein, vitamin ve

mineral düzeyleri tavsiye olunan değerlerin altında kalabilir. Vegan diyeti ile bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşmamıştır; ancak lifli gıdaların tüketilmesi bağırsak mikrobiyotasında *Prevotella* grubu mikroorganizmaların oranını, *Bacteroides* grubu mikroorganizmalara nazaran arttırır. Yulaf ve kepek gibi fermente edilebilir lifli gıdalar bağırsak bakterilerinin metabolizmaları için substrat özelliğindedirler. Bu gıdalar asetat, propiyonat, bütirat gibi kısa zincirli yağ asitlerine dönüştürülürler. Bu bileşikler doğrudan veya dolaylı olarak kolonun asidifiye olması, kolesterol düzeyinin düşmesi, glukoz toleransının ve insüline hassasiyetin artması, su ve sodyum emilimi, ve anti-inflamatuar işlevlerle ilişkilidirler. Bu bileşikler aynı zamanda hücre proliferasyonunu inhibe ederek kanser gelişimine, yağ oksidasyonunu indükleyerek obezitenin gelişimine engel olurlar. Yine bu bileşikler bağırsak ve kolon epitel hücreleri için enerji kaynağı oluştururlar. Vegan diyetinde yüksek düzeyde bulunan polifenol bileşikler ince bağırsakta *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin pozitif modülasyonuna katkı sağlarlar (29,38).

Glutensiz Diyet: Çölyak hastalarına uygulanan gluten içermeyen diyetdir. Gluten içermeyen diyetin bağırsak mikrobiyotasını önemli ölçüde etkilediği gösterilmiştir. Bu tip diyetin neticesi olarak bağırsakta *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* grubu mikroorganizmaların miktarı azalırken *E. coli* ve *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmaların miktarı artar ve bakteremi gelişebilir. Dünyada genel nüfusu bu diyetle yönlendirmeye dönük bir eğilim bulunmaktadır. Ancak bu doğru değildir, çünkü bu diyetle göre beslenen kişilerde lifli gıdalar, mineral ve vitamin (kalsiyum, magnezyum, çinko, vitamin B12, folat, and vitamin D) alımında azalma olur, buna karşın doymuş yağ asitleri ve arsenik gibi yiyecek ve maddelere maruz kalma oranı yükselir, bunlar da belli oranda bireyin sağlığı üzerinde risk oluşturur.

Akdeniz diyeti: bu diyet rafine edilmemiş tahıllar, baklagiller, taze sebze, meyve ve kuruyemiş tüketimine dayalıdır. Bun karşın süt ve süt ürünleri, yumurta, beyaz et, balık ve deniz ürünleri, kırmızı et ve etanol tüketimi sınırlıdır. Akdeniz diyeti de bağırsak mikrobiyotasını hem mikroorganizma kompozisyonu ve hem de fonksiyon olarak etkilemektedir. Batı tipi diyetle kıyasla Akdeniz diyeti hastalık riskini azaltmaktadır. Örneğin Akdeniz diyeti bağırsakta *Roseburia* grubu mikrobların miktarını arttırmaktadır, bu mikroorganizma grubu inflamasyonu azaltmada etkilidir. Bu diyet uzun süreli uygulandığında bağırsakta *Parabacteroides distasonis* bakteri türünün miktarını arttırmaktadır. Bu bakterinin farelerde obeziteye bağlı tümör gelişimini kontrol altına alabildiği gösterilmiştir (29).

Bağırsak Mikrobiyotası ve Egzersiz

Düzenli fiziksel aktivite glikoza toleransı, kaygı, stres ve depresyon gibi durumlara iyi gelir, tip 2 diyabet, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, kalp hastalığı, kanser ve obezite riskini azaltır ve osteoporozu önler. Fiziksel aktivite bağırsak mikrobiyotasını da etkiler. Hafif fiziksel egzersiz mide bağırsak yolunda boşaltım süresini azaltır, dolayısıyla patojenler ile gastrointestinal mukus tabakası arasındaki kontak azalmış olur. bu da kolon kanseri, divertiküloz ve inflamatuvar bağırsak sendromuna karşı koruyucu etki oluşturur. Egzersiz bağırsak mikrobiyotasını nitelik ve nicelik olarak çeşitlendirmektedir. Buna göre egzersizin ruh durumu, dolayısıyla beyin üzerine olan etkilerinin bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerle ilgili olduğu ileri sürülmektedir. Fiziksel aktivitenin bağırsak mikrobiyotası ve bu bağlamda genel sağlık üzerine olan etkilerinin nasıl ortaya çıktığı tam olarak bilinmemekler birlikte çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Buna göre; a) safra asitlerinin profilinde meydana gelen değişimin antimikrobiyal etki oluşturması, dolayısıyla bağırsakta bazı bakteri türlerinin seçilime uğramaları, b) IgA immünoglobulinlerin düzeyinde meydana gelen artışın bazı mikroorganizma gruplarının kolonize olmalarına karşı direnç bariyeri oluşturması, c) kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminde meydana gelen artış, d) serum lipopolisakkarit düzeylerini düşürebilen Toll-benzeri sinyal yollarının baskılanması e) kas fiber hücrelerinden miyokinlerin salınması, f) glisemik homeostazın korunması g) yiyeceklerin bağırsaktan geçiş zamanlarının azlaması h) hipotalamus-hipofiz-adrenal ekseninde hormon üretimini aktive olması mekanizmaları fiziksel aktivitenin bağırsak mikrobiyotası ve bu bağlamda genel sağlık üzerine olan etkilerine aracılık ediyor olabilir. Vücudun kardiyovasküler ve müsküler dayanıklılığını arttıran dayanıklılık egzersizleri, kayak, aerobik, yüzme ve pedal çevirme gibi faaliyetleri kapsar. Bu sporları yapan kişiler kendilerini ekstrem fizyolojik durumlara maruz bırakarak, vücutlarının bu ekstrem koşullara karşı vücutlarının sıvı ve metabolik dengesinde değişimler olmasını, protein sentezlemesini ve hormon salgılamasını sağlarlar. Bu şekilde vücudun nöromüsküler, kontraktıl, mekanik ve metabolik fonksiyonlarında ilerlemelerin meydana gelmesini sağlarlar. Dayanıklılık egzersizleri yapan insanlarda özellikle bağırsak mikrobiyota kompozisyonunda meydana gelen değişimin bir parçası olarak *Coriobacteriaceae* grubu bakteri miktarının arttığı gözlenmiştir. Yine bu tip egzersizlerin *Ezakiella*, *Romboutsia*, ve *Actinobacillus*, grubu mikroorganizmaların miktarını arttırırken *Coprococcus* ve *Ruminococcus bicirculans* grubu mikroorganizmaların miktarlarını arttırdığı gözlenmiştir. Özellikle *Actinobacillus* türleri hayvan hastalıkları ile ilişkilidirler ve bunların bağırsaklardaki miktarının azalması potansiyel patojenlerin engellenmesi anlamına gelmektedir. Uzun süreli ekstrem dayanıklılık egzersizlerinin bütirat üreten ve insüline duyarlılığı arttıran mikroorganizma türlerinde artış, faydalı amino ve yağ asitlerinin biyosentezinden sorumlu türlerin düzeylerinde artışa

neden olduğu rapor edilmiştir. Özellikle izolösün ve lizin gibi aminoasitler hematopoez süreci ile ilişkili olup vücudun oksijen taşıma kapasitesi ve kalp-solunum fonksiyonlarını ileriye taşımaktadırlar (29). Egzersizlerin neden olduğu mikrobiyom değışiklikleri inflamatuvar, immün ve oksidatif yanıtları uyarabilir. Egzersizlere bağı olarak intraepitelyal lenfositlerde meydana gen ekspresyon değışikliği anti-inflamatuvar sitokinler ve atntioksidan enzimlerin sentezlerini arttırır. Yine egzersiz, bağırsak mukus tabakasının bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunur, bağırsak mukus tabakası da bağırsak epitel tabakasına yapışma eğilimi gösteren mikroplara karşı bariyer işlevi görür. Egzersizlere bağı olarak mukozal immünite ve bağırsağın bariyer fonksiyonu gelişir, buna bağı olarak obezite ve metabolik hastalık gelişim riski düşer. Egzersizler gastrointestinal hastalıklar ve kolon kanserine karşı koruyucu etki gösteren kısa zincirli yağ asitleri gibi koruyucu metabolitleri üreten bakteri türlerini uyarır.

Sonuç

Bağırsak mikrobiyom çalışmalarında önemli ilerlemeler kaydedilmiş olsa da, halen sağlıklı bağırsak mikrobiyotası tanımlanamamıştır. Çünkü sağlıklı olarak tanımlanan bireylerde geniş bir skalada farklı bağırsak mikrobiyota konfigürasyonları görülmektedir. Genetik yapı, diyet çevre ve yaşam tarzı gibi faktörlerin etkisi altında bireyler farklı mikrobiyota kompozisyonları göstermektedirler, bu da standart sağlıklı mikrobiyom tanımını zorlaştırmaktadır. Gelecekte mikrobiyom konfigürasyonuna dayalı kişiye özel beslenme önerileri için sağlıklı mikrobiyotanın ne olduğunun tanımlanabilmesi büyük önem arz etmektedir. Mikrobiyota bireyin immün, metabolik ve nöroendokrin fonksiyonlarının olgunlaşması açısından çok önemlidir. Buna göre özellikle erken doğan ve sezeryen ile doğan yenidoğanlara faydalı mikroorganizmaların kolonize olmalarını sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesi ve uygulanması konuları üzerinde tartışılan konulardır. Mikrobiyota çalışmalarının handikaplarından birisi çalışmaların çoğunun fekal materyal üzerinde gerçekleştirilmesi, özellikle fekal materyalde genetik materyal veya DNA dizilerinin varlığının taranması yöntemine dayanmasıdır. Bilindiği gibi feçeste bulunan mikroorganizmaların yaklaşık yarısı ölü haldedirler, buna karşın DNA dizileri üzerinden mikroorganizma tespiti yöntemi ile ölü ve canlı mikroorganizmalar ayırt edilememektedir. Yine bu yöntem ile bağırsak mukozasındaki mukozal bakteriler gerçek zaman ve mekanda tespit edilememektedirler. Konuyla ilgili çalışmaların çoğu hayvan denekler üzerinde gerçekleştirilmekte, elde edilen sonuçların insanlar için geçerliliği veya klinik önemi tartışma götürmektedir. Yine uzun süreli takibe dayalı multi-disipliner çalışmaların azlığı bağırsak mikrobiyotasının zaman bağı değışiminin ve bunun bireyin sağlığı üzerine olan etkilerinin anlaşılmasını güçleştirmektedir. Bağırsak mikrobiyomunu kullanan yenilikçi tedavi stratejilerinin ve kişiselleştirilmiş

müdahale seçeneklerinin uygulanabilmesi için bu zorlukların üstesinden gelinmesi gerekmektedir.

Teşekkür: Geniş veritabanlarında çok sayıda kaynağa ulaşım imkanı sağladığı için Mardin Artuklu Üniversitesi Kütüphanesi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Shanahan F, Ghosh TS, O'Toole PW. The Healthy Microbiome-What Is the Definition of a Healthy Gut Microbiome? *Gastroenterology*. 2021;160(2):483-494. doi: 10.1053/j.gastro.2020.09.057.
2. Parks D. Microbiomes-Health and The Environment. [LibreTexts] [cited 05 May 2025]. Available from: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiomes_-_Health_and_the_Environment_\(Parks\)/01%3A_An_Introduction_to_Microbiomes/1.01%3A_An_Introduction_to_Microbiomes#:~:text=a%20certain%20timescale-,a%20collective%20polymicrobial%20community%2C%20or%20'microbiota'%2C%20and%20its,that%20influence%20health%20and%20disease.](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiomes_-_Health_and_the_Environment_(Parks)/01%3A_An_Introduction_to_Microbiomes/1.01%3A_An_Introduction_to_Microbiomes#:~:text=a%20certain%20timescale-,a%20collective%20polymicrobial%20community%2C%20or%20'microbiota'%2C%20and%20its,that%20influence%20health%20and%20disease.)
3. Hartline R. Microbiology Laboratory Manual. [LibreTexts] [cited 07 Apr 2025]. Available from: [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_Laboratory_Manual_\(Hartline\)/01%3A_Labs/1.41%3A_Human_Microbiome.](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_Laboratory_Manual_(Hartline)/01%3A_Labs/1.41%3A_Human_Microbiome.)
4. Van Hul M, Cani PD, Petitfils C, De Vos WM, Tilg H, El-Omar EM. What defines a healthy gut microbiome? *Gut*. 2024;73(11):1893-1908. doi: 10.1136/gutjnl-2024-333378.
5. Vallianou N, Stratigou T, Christodoulatos GS, Tsigalou C, Dalamaga M. Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, Postbiotics, and Obesity: Current Evidence, Controversies, and Perspectives. *Curr Obes Rep*. 2020;9(3):179-192. doi: 10.1007/s13679-020-00379-w.
6. Pandey KR, Naik SR, Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Technol*. 2015;52(12):7577-87. doi: 10.1007/s13197-015-1921-1.
7. Anderson E. Probiotics & Prebiotics – Foods & Supplements. [cited 22 Apr 2025]. Available from: <https://cris.msu.edu/news/probiotics-prebiotics/probiotics-prebiotics-foods-supplements/>.
8. Kouhounde S, Adéoti K, Mounir M, Giusti A, Refinetti P, Otu A, et al. Applications of Probiotic-Based Multi-Components to Human, Animal and Ecosystem Health: Concepts, Methodologies, and Action Mechanisms. *Microorganisms*. 2022;10(9):1700. doi: 10.3390/microorganisms10091700.
9. Kango N, Nath S. Prebiotics, Probiotics and Postbiotics: The Changing Paradigm of Functional Foods. *J Diet Suppl*. 2024;21(5):709–735. doi:10.1080/19390211.2024.2363199.
10. Maftai NM, Raileanu CR, Balta AA, Ambrose L, Boev M, Marin DB, et al. The Potential Impact of Probiotics on Human Health: An Update on Their Health-

- Promoting Properties. *Microorganisms*. 2024;12(2):234. doi: 10.3390/microorganisms12020234.
11. Bashir HH, Hasnain MA, Abbas A, Lee JH, Moon GS. The Impact of Fermented Dairy Products and Probiotics on Bone Health Improvement. *Food Sci Anim Resour*. 2025;45(2):449-467. doi: 10.5851/kosfa.2025.e7.
 12. Chen Y, Zhou J, Wang L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:625913. doi: 10.3389/fcimb.2021.625913.
 13. Midya S, Banerjee A, Pathak S, Duttaroy AK. Gut Microbiota and Its Importance in Health and Disease. In: Pathak S, Banerjee A, Duttaroy A, eds. *Microbiota and Dietary Mediators in Colon Cancer Prevention and Treatment*. Singapore: Springer, 2024. doi:10.1007/978-981-96-0297-1_1.
 14. Lee JY, Bays DJ, Savage HP, Bäumlér AJ. The human gut microbiome in health and disease: time for a new chapter? *Infect Immun*. 2024;92(11):e0030224. doi: 10.1128/iai.00302-24.
 15. Ninds.nih.gov [NIH page on the Internet] National Institute of Neurological Disorders and Stroke [cited 20 May 2025]. Available from: <https://www.ninds.nih.gov/Current-Research/Focus-Disorders/Alzheimers-Related-Dementias>.
 16. JPND research [homepage on the Internet] [cited 20 May 2025]. Available from: <http://www.neurodegenerationresearch.eu/es/acercadel-jpnd/que-es-una-enfermedad-neurodegenerativa>.
 17. Jain A, Madkan S, Patil P. The Role of Gut Microbiota in Neurodegenerative Diseases: Current Insights and Therapeutic Implications. *Cureus*. 2023;15(10):e47861. doi: 10.7759/cureus.47861
 18. Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:16050–5.
 19. Sanchez-Rodriguez E, Egea-Zorrilla A, Plaza-Díaz J, Aragón-Vela J, Muñoz-Quezada S, Tercedor-Sánchez L, et al. The Gut Microbiota and Its Implication in the Development of Atherosclerosis and Related Cardiovascular Diseases. *Nutrients*. 2020;12(3):605. doi: 10.3390/nu12030605.
 20. Durgan DJ. Obstructive Sleep Apnea-Induced Hypertension: Role of the Gut Microbiota. *Curr Hypertens Rep*. 2017;19(4):35. doi: 10.1007/s11906-017-0732-3.

21. Shikata F, Shimada K, Sato H, Ikeda T, Kuwabara A, Furukawa H, et al. Potential Influences of Gut Microbiota on the Formation of Intracranial Aneurysm. Hypertension. 2019;73(2):491–496. doi: .1161/HYPERTENSIONAHA.118.11804.
22. Toral M, Robles-Vera I, de la Visitación N, Romero M, Yang T, Sánchez M, et al. (Critical Role of the Interaction Gut Microbiota – Sympathetic Nervous System in the Regulation of Blood Pressure. *Front Physiol.* 2019;10:231:231. doi: 10.3389/fphys.2019.00231.
23. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JL. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006;444 (7122):1027–1031. doi: 10.1038/nature05414
24. Zheng X, Chen T, Jiang R, Zhao A, Wu Q, Kuang J, et al. Hyocholic acid species improve glucose homeostasis through a distinct TGR5 and FXR signaling mechanism. *Cell Metab.* 2021;33(4):791-803.e7. doi: 10.1016/j.cmet.2020.11.017.
25. Hoyles L, Fernández-Real JM, Federici M, Serino M, Abbott J, Charpentier J, et al. Molecular phenomics and metagenomics of hepatic steatosis in non-diabetic obese women. *Nat Med.* 2018;24(7):1070–1080. doi:10.1038/s41591-018-0061-3.
26. Carter J, Bettag J, Morfin S, Manithody C, Nagarapu A, Jain A, et al. Gut microbiota modulation of short bowel syndrome and the gut–brain axis. *Nutrients.* 2023;15(11):2581.
27. Demir EG, Bozdoğan FBK, Tazeoğlu A. Kısa barsak sendromunda mikrobiyota ve pre-probiyotikler. *J Immunol Clin Microbiol.* 2021;6(3):166-175.
28. Le Beyec J, Billiauws L, Bado A, Joly F, Le Gall M. Short bowel syndrome: a paradigm for intestinal adaptation to nutrition? *Annu Rev Nutr.* 2020;40:299-321. doi: 10.1146/annurev-nutr-011720-122203
29. Campaniello D, Corbo MR, Sinigaglia M, Speranza B, Racioppo A, Altieri C, et al. How Diet and Physical Activity Modulate Gut Microbiota: Evidence, and Perspectives. *Nutrients.* 2022;14(12):2456. doi: 10.3390/nu14122456.
30. Mach N, Fuster-Botella D. Endurance exercise and gut microbiota: A review. *J Sport Health Sci.* 2017;6(2):179-197. doi: 10.1016/j.jshs.2016.05.001.
31. Zhu H, Bi D, Zhang Y, Kong C, Du J, Wu X, et al. Ketogenic diet for human diseases: the underlying mechanisms and potential for clinical implementations. *Sig Transduct Target Ther.* 2022;7(1):11. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00831-w>.
32. Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado Escueta AV. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD):

- National Center for Biotechnology Information (US) 2012 [cited 17 Apr 2025] Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98219/figure/masino.fl/>.
33. Ma D, Wang AC, Parikh I, Green SJ, Hoffman JD, Chlipala G, et al. Ketogenic diet enhances neurovascular function with altered gut microbiome in young healthy mice. *Sci Rep*. 2018;8(1):6670. doi: 10.1038/s41598-018-25190-5.
 34. Olson CA, Vuong HE, Yano JM, Liang QY, Nusbaum DJ, Hsiao EY. The gut microbiota mediates the anti-seizure effects of the ketogenic diet. *Cell*. 2018;173:1728–1741.e13.
 35. Freepik.com [homepage on the Internet]. Freepik, Brain Drawing Images [cited 24 Apr 2025]. Available from: <https://www.freepik.com/free-photos-vectors/brain-drawing>.
 36. Meli R, Mattace Raso G, Calignano A. Role of innate immune response in non-alcoholic Fatty liver disease: metabolic complications and therapeutic tools. *Front Immunol*. 2014;5:177. doi: 10.3389/fimmu.2014.00177.
 37. Neufingerl N, Eilander A. Nutrient Intake and Status in Adults Consuming Plant-Based Diets Compared to Meat-Eaters: A Systematic Review. *Nutrients*. 2021;14(1):29. doi: 10.3390/nu14010029.
 38. Mana.md [homepage on the Internet]. mana medical associates [18 Apr 2025]. Available from: <https://mana.md/do-you-need-fermentable-fiber-in-your-diet/#:~:text=Fermentable%20fiber%20is%20another%20name,also%20important%20for%20your%20health>.



BÖLÜM 2

Solid Tümör Tedavilerinde Yeni Nesil Dizileme (NGS) Teknolojileri: Yenilikler ve Uygulamalar

Rabia Ünal¹ & Özge Şükrüoğlu Erdoğan²

GİRİŞ

Kanser ve genetik alanında yapılan bilimsel araştırmalar teknolojinin gelişimiyle birlikte hızla artmaktadır. Son yıllarda onkolojideki en önemli ilerlemelerden biri, tümör biyolojisinin moleküler düzeyde anlaşılmasına olanak tanıyan Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing, NGS) teknolojileridir. Yüksek verimli NGS platformları, mikrodizi teknolojilerinin ötesine geçerek tümör biyolojisinde henüz tanımlanmamış füzyon genleri, alternatif splicing türleri, konum-spesifik variantlar ve intratumoral heterojenite gibi ileri düzey moleküler özellikleri tespit etme olanağı sunmaktadır (Pinto et al., 2014). Günümüzde, NGS yöntemi sayesinde klinikte hem onkoloji hem genetik hastalıkların tespiti çok daha kolaylaşmıştır (Silva & Schmitt, 2024). Özellikle solid tümörlerde, genetik ve epigenetik değişimlerin aydınlatılması, hastaya özel hedefe yönelik tedavi planlamasında önemli rol oynamaktadır. Bu bölümde, NGS teknolojilerinin solid tümörlerdeki temel uygulama alanları, klinik kullanım örnekleri ve gelecek perspektifleri ele alınacaktır.

1. NGS'nin Solid Tümörlerdeki Uygulama Alanları

Yeni nesil dizileme (R. Kim et al., 2024) tabanlı gen panel testleri, klinik pratikte kanser hastalarının genomik haritasını çıkarmak amacıyla hedeflenen dizileme yaklaşımlarıdır ve kişiselleştirilmiş onkoloji uygulamalarının temel bileşenini oluşturmaktadır (Nagahashi et al., 2019). Günümüzde yüksek verimli dizileme teknolojileri, genomik, transkriptomik ve epigenetik bilgilerin bütüncül şekilde analizine olanak tanıyarak, solid tümörlerin daha hassas tanılanmasında ve hastalık seyriyle ilgili öngörülerin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlamaktadır. Bu paneller, tedaviye yanıtı etkileyebilecek sinyal yolları, DNA çift sarmal kırık onarımı eksiklikleri, hiper-mutasyon (örneğin MSI/TMB) ve diğer klinik açıdan anlamlı genomik özellikleri eş zamanlı olarak değerlendirme kapasitesine sahiptir.

Bu yöntemler sayesinde, örneğin tümörler homojen alt gruplara ayrılabilmekte ve daha hedefe yönelik tanı, tedavi planlama ve prognoz değerlendirmesi yapılabilmektedir. Özellikle eksom ve tüm genom dizilemesi

¹ MSc., İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

² Dr. Öğr. Üyesi, İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Bilimdalı

(WES/WGS), kodlayıcı ve kodlamayan bölgelerdeki varyasyonları açığa çıkararak, tümör gelişiminin moleküler mekanizmalarına dair yeni öngörüler sağlamaktadır (Dongare et al., 2025).

NGS, hedefe yönelik tedavilerde de klinik alanda çok kullanılan bir metottur. Özellikle küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde *EGFR* mutasyonları ve *ALK*, *ROS1* gen yeniden düzenlemeleri, *BRAF V600E* geni ve *KRAS G12C* varyantları gibi moleküler değişikliklerin analizi solid tümörlerde kişiye özgü tedavilerin planlanmasında oldukça önemlidir. Yeni nesil dizileme yöntemi bu moleküler değişikliklerin profillerini güvenle ve hızla tespit edebilmenin yanı sıra birçok geni aynı anda analiz edebilme kapasitesi sayesinde klinik onkolojide karar alma sürecini belirgin ölçülerde kolaylaştırabilmektedir (Yang et al., 2024). *NTRK* füzyonlarının diğer varyantlara nazaran nispeten daha nadir görülmesinde rağmen NGS yöntemi sayesinde klinik uygulamalara dahil olabilmıştır.

Ayrıca NGS temelli doku panelleri hastalığın seyrini belirlemede yardımcı biyobelirteçlerin analizini de sağlamaktadır. Bazı genetik mutasyonlar, hastalığın seyri ve tedavi planlamaları açısından farklı etkiler gösterebilmektedir. Örnek verecek olursak *TP53* geni hastalık seyrini anlama açısından yol göstericidir. Bazı meme kanseri hastalarında kötü prognozla ilişkilendirmiştir. Ancak *BRC1/2*, *PIK3CA* ve *PTEN* genleri tam tersine iyi prognoz göstermektedir. Bu prognozu anlamlandırma biyobelirteç analizi doğruluğu önemlidir. Genomik değişikliklerin saptanması ışığında ulaştığımız profil, klinik uygulamalarda tanı ve tedavide kilit rol almaktadır (Gremke et al., 2024).

2. NGS Tabanlı Tedavi Planlama

NGS, genom, transkriptom ve epigenetik düzeyde çok sayıda biyolojik veriyi yüksek verimlilikle analiz etme olanağı sağlamaktadır. Solid tümörlerde bu teknoloji sayesinde, hedeflenen tedavi stratejileri belirlenebilmekte, ilaç direnci öngörülebilmekte, prognoz tahminleri yapılabilmektedir. Tümör dokusunun genetik profili ayrıntılı olarak belirlendikçe, hedefe yönelik tedaviler ve kişiselleştirilmiş uygulama planları ön plana çıkmaktadır (Willard et al., 2022). Tümördeki genetik varyasyonların belirlenmesinde hızlı, güvenilir ve yüksek verimlilik açısından NGS yöntemi sık kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan gen panelleri sayesinde birçok farklı kansere sebep olan genler aynı anda ve güvenle tespit edilebilmekte, bununla birlikte tedavi planları da şekillendirilebilmektedir. Geleneksel tanı yöntemlerinin yetersiz kaldığı bu olgularda, yeni nesil dizileme gibi genomik yaklaşımlar giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Genomik profillemeye sayesinde tümörün olası doku kökeni (tissue of origin, TOO) belirlenebilmekte; aynı zamanda hedeflenebilir mutasyonlar, mikrosatellit

instabilitesi (MSI) ve tümör mutasyon yükü (TMB) gibi biyobelirteçler üzerinden kişiselleştirilmiş tedavi seçenekleri geliştirilebilmektedir. Son çalışmalarda, genomik verilerin klinik karar süreçlerine entegre edilmesinin özellikle primeri bilinmeyen kanser hastalarında tedavi yanıtını ve prognozu iyileştirdiği gösterilmiştir. Testlerin güvenilirliği doğrultusunda örnek kalitesi kontrolü, özellikle formalin ile sabitlenmiş (FFPE) doku örneklerinde kritik öneme sahiptir ve sonuçların doğruluğunu etkileyen önemli bir faktördür.

Özellikle doku elde etmenin zor olduğu durumlarda likit biyopsi, tanı ve tedavi takibinde önemli bir avantaj sunmaktadır (Dooley et al., 2025).

3. Gen Panelleri

Yeni nesil dizileme (Ryul Kim et al.) teknolojisinin klinik uygulamalara entegrasyonu ile birlikte, solid tümörlerde hedeflenebilir genetik değişikliklerin tespitine olanak sağlayan gen panelleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu paneller, belirli kanser türleriyle ilişkili genetik varyantları tarayarak tanı, prognostik sınıflandırma ve tedavi planlamasında hekimlere rehberlik etmektedir (Wakai et al., 2019). Klinik pratikte kullanılan paneller geniş kapsamlı (ör. 300–500 gen içeren) olabileceği gibi daha hedefli ve tümöre özel (ör. sadece akciğer kanserine özgü genler) içeriklere sahip olabilir. FDA onaylı paneller arasında FoundationOne CDx, MSK-IMPACT ve Oncomine Comprehensive gibi örnekler yer alır. Bu paneller aracılığıyla *EGFR*, *ALK*, *BRAF*, *KRAS*, *BRCA1/2* gibi hedeflenebilir mutasyonlar tespit edilebilmekte, tümör mutasyon yükü (TMB) ve mikrosatellit instabilitesi (MSI) gibi immünoterapiye yanıtı öngören biyobelirteçler de değerlendirilebilmektedir. Ayrıca bazı paneller, eş zamanlı olarak germline ve somatik varyantları tarayarak hem kalıtsal risk analizi hem de tedaviye yönelik bilgi sağlayabilmektedir. Klinik karar destek sistemleriyle entegre çalışan bu paneller, kişiselleştirilmiş onkoloji uygulamalarının temelini oluşturmaktadır (Nagahashi et al., 2019).

Bir diğer önemli biyobelirteç olan Tümör Mutasyon Yükü (TMB), özellikle immünoterapiye alınan yanıtı öngörmek için analiz edilen bir biyobelirteçtir. Tümör mutasyon yükü (Tumor Mutational Burden, TMB), tümör dokusundaki somatik mutasyonların yoğunluğunu ölçen bir biyobelirteçtir ve özellikle immün kontrol noktası inhibitörü (anti-PD-1/PD-L1) tedavileri için prognostik ve prediktif değer taşımaktadır. Tüm ekzom sekanslama ile en ideal şekilde değerlendirilebilse de NGS tabanlı panel testleri ile daha hızlı ve maliyet-etkin bir yaklaşımla TMB tahmini mümkün olmaktadır (McNamara et al., 2020).

MSI düşük kolorektal kanser hastalarında ve melanom gibi kanser türlerinde tedaviye yanıt ve kişiselleştirilmiş tedavi planını belirlemede etkili olmaktadır (Paluch-Shimon et al., 2022).

Elde edilen genetik analizlerin sonucu hedefe yönelik tedavinin rehberi niteliğindedir. *TP53* geninin kötü prognozla ilişkilendirilip, *BRCA1/2* mutasyonunun PARP inhibitörlerine duyarlı olması buna örnek olarak verilebilir (Madeddu et al., 2025).

4. Likit Biyopsi ve Minimal Rezidüel Hastalık (MRD)

Kanser tanı ve takip süreçlerinde çok sık kullanılan test yöntemlerinden biri Likit Biyopsi testidir. Non-invaziv olan bu test yöntemi hastanın periferde dolaşan kandaki serbest tümör DNA (ctDNA)'sının analiz edilmesidir (Chen et al., 2021). Sadece kan değil idrar ve vücut sıvılarından da dolaşımdaki serbest tümör DNA'sı elde edilebilmektedir. Yeni Nesil Dizileme yöntemi sayesinde ctDNA dizilenerek analiz edilmektedir ve hastanın genomik profili incelenebilmektedir. Hastalığın tedavi aşamasında kontrol olarak yapılan bu testlerde Minimal Rezidüel Hastalık (MRD) veya nüks durumları erken dönemde tespit edilebilmektedir (Lander et al., 2024).

Minimal Rezidüel Hastalık, hastalıkta uygulanan tedavi planından sonra klasik tanı yöntemleri ile saptanamayan çok az sayıda tümör hücresinin varlığı ile tanımlanabilir. Özellikle hematolojik kanserlerde olmak üzere diğer solid tümörlerde de klinik önemi git gide artmaktadır. Bu bağlamda NGS temelli likit biyopsi testleri MRD takibinin yapılmasında ve hastalığın takip edilmesinde kullanılmaktadır. Olası nüksler hastalık takibinde yapılan likit biyopsi testi ile erken dönemde saptanabilmekte ve tedavi süreci kontrol edilebilmektedir (Comino-Mendez et al., 2025). MRD takibi adjuvan tedavi kararını belirlemede kullanılan önemli bir biyobelirteçtir. Hastaya başlanan küratif tedavi sonrası saptanan MRD, hastalığın tekrar etme olasılığının olduğunu düşündürmektedir. ADAURA çalışmasında MRD pozitifliği, nüksü ortalama 4,7 ay önceden öngörmüş ve tedavi süresinin uzatılması gerekliliğini düşündürmüştür (Herbst et al., 2025). MRD'nin likit biyopsi tabanlı yeni nesil teknolojilerle değerlendirilmesi, gelecekte hem rutin klinik uygulamaların hem de klinik araştırmaların yönünü belirleyecek stratejik bir yaklaşım sunmaktadır.

5. BRCA Mutasyonu ve PARP İnhibitörleri

BRCA1 ve *BRCA2* genleri DNA çift sarmal kırıklarının onarılmasında görev alan ve tümör oluşumunu engelleyen tümör baskılayıcı genlerdir. Bu genler, Homolog Rekombinasyon Onarımı (HRR) sürecinde önemli rol oynamaktadır.

HRR, çift sarmal yapının her iki ipliğinde meydana gelen DNA hasarlarının yüksek doğrulukla onarılmasını sağlamaktadır. BRCA genlerinde mutasyon gelişmesi durumunda bu onarım süreci etkin şekilde gerçekleştirilememekte ve genomik instabilite ortaya çıkmaktadır. Bu durum *BRCA* genleriyle ilişkili olabilecek kanser türlerinin gelişme riskini anlamlı bir şekilde arttırmaktadır (Momozawa et al., 2022).

PARP inhibitörleri (PARPi), HRR eksikliği olan tümörlerde DNA tek iplik kırıklarını tamir eden mekanizmaları bloke ederek, hücrelerin bu tek iplik hasarlarını çoğalan DNA replikasyonu sırasında çift iplik kırıklarına çevirmesine yol açmaktadır (Mitri et al., 2024). PARPi, özellikle *BRCA1/2* mutasyonları veya homolog rekombinasyon onarımı (HRR) eksiklikleri bulunan tümörlerde önemli bir tedavi seçeneği haline gelmiştir. Ancak klinik kullanımda hem doğuştan (innate) hem de edinsel (acquired) direnç mekanizmaları tedavi etkinliğini sınırlamaktadır. Bu nedenle, PARPi'ye karşı gelişen direnç yollarının anlaşılması ve bunlara yönelik stratejilerin geliştirilmesi kritik öneme sahiptir. Güncel çalışmalar, PARPi ile diğer hedefe yönelik ajanların veya immünoterapilerin kombinasyonunun direnç gelişimini önleyebileceğini ya da mevcut direnci tersine çevirebileceğini göstermektedir (Valenza et al., 2024). Dolayısıyla, PARPi tedavilerinin uzun vadeli başarısı, direnç mekanizmalarını aşmaya yönelik yeni yaklaşımların klinik uygulamalara entegre edilmesine bağlıdır.

6. Sentetik Letalite ve PARP İnhibitörleri

İki ayrı genetik değişikliğin veya yol bozukluğunun tek başına hücre için ölümcül olmamasına rağmen, aynı anda birlikte bulunduğunda hücre ölümüne yol açması durumu Sentetik Letalite olarak isimlendirilir (Karimpour et al., 2024). Normal hücrelerde DNA hasarlarının onarımında birden fazla alternatif yol bulunmaktadır. Tek bir yol bozulduğunda, diğer yol devreye girerek hücresel yaşamı sürdürebilir. Ancak kanser hücrelerinde Homolog Rekombinasyon Onarımı (HRR) gibi kritik bir yol *BRCA1/2* mutasyonları nedeniyle bozulduğunda, hücre DNA onarımı için daha çok PARP aracılı baz onarım mekanizmasına bağımlı hale gelir. Bu noktada PARP inhibitörleri kullanıldığında, ikinci yol da bloke edilir ve hücre, onarılamayan DNA çift zincir kırıkları nedeniyle ölüme gider. Yani tek başına *BRCA* mutasyonu veya tek başına PARP inhibisyonu hücre için ölümcül değildir; fakat ikisi bir araya geldiğinde hücre yaşayamamaktadır. *BRCA* mutasyonlu hücreler, hasar almış olan onarım mekanizması nedeniyle bu birikimi tolere edemez ve hücre ölüm süreci başlatılmış olur. Bu sayede PARP inhibitörleri, kanser hücrelerini öldürürken, sağlıklı olan hücreler daha az yan etki alabilmektedir (Du et al., 2022).

7. Klinik Kullanım

• Meme Kanseri:

BRCA1/2, *PALB2*, *CHEK2* gibi genlerin mutasyonu hastalığa dönüşen, genetik veya somatik olarak görülebilen meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Tedavi olarak hastalara PARP inhibitörlerinden tedavi planlanması özellikle germline *BRCA1/2* mutasyonu taşıyan hastalar için önerilmektedir (Al Sukhun et al., 2024).

BRCA mutasyonlu metastatik meme kanseri tedavisinde PARP inhibitörlerinin etkinliğini araştırmak üzere yapılmış olan EMBRACA çalışmasının sonucunda oldukça etkili olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmada PARP inhibitörlerinden olan Talazoparib, standart kemoterapiye oranla progresyonsuz sağkalımda (PFS) %62 artış gösterdiği raporlanmıştır. Verilen tedavi yaşam kalitesini korumuş ve tolere edilebilir bir düzeyde toksisiteye sebep olduğu gözlenmiştir (Hurvitz et al., 2020).

OlympiA isimli başka bir çalışma grubu ise, erken evrelerde tespit edilmiş *BRCA* mutasyonlu meme kanserinde, olaparib ilacının yardımcı ek tedavide hastalıksız sağkalımı anlamlı ölçüde arttırdığı gözlenmiştir (Tutt et al., 2021).

• Over Kanseri:

Tıpkı meme kanseri gibi özellikle *BRCA1/2* genlerinin mutasyonlarıyla hastalığa dönüşen over kanserinde de PARP inhibitörleri tedavide kilit rol oynamaktadır.

İleri evre *BRCA* mutasyonlu over kanseri hastalarının değerlendirildiği SOLO1 ve SOLO2 isimli çalışmada PARP inhibitörü olaparib ilacı tedaviye devam ilacı olarak kullanılmış ve hastalıksız sağkalımı anlamlı derecede uzattığı raporlanmıştır. SOLO1 çalışması 2023 yılında revize edilmiş ve yeni raporlamaya göre, PARP inhibitörü tedavisi alan hastalar (56ay), tedavi görmeyen plasebo grubu hastalara (14 ay) kıyasla hastalığın ilerlemeden geçen süre 42 ay daha fazla olduğu gözlenmiştir (DiSilvestro et al., 2023)

Homolog rekombinasyon eksikliği pozitif over kanseri hastalarını inceleyen ATHENA-MONO çalışması ise, PARP inhibitörlerinden olan rucaparibin etkinliğini değerlendirmiş ve değerlendirme ışığında PARP inhibitörlerinin daha geniş hasta popülasyonlarında faydalı olabildiği gözlenmiştir (Monk et al., 2022)

- **Prostat ve Pankreas Kanseri:**

ABD’de erkeklerde kansere bağlı ölümlerin ikinci en sık nedeni olan prostat kanserine, yapılan NGS analizleriyle *BRCA1/2*, *CHEK2*, *ATM*, *PALB2* gibi mutasyonlarının sebep olduğu görülmüştür (Shore et al., 2025).

BRCA mutasyonu taşıyan ve kastrasyon rezistan metastatik prostat kanserli hasta grubunu inceleyen PROfound isimli çalışmada PARP inhibitörleri tedaviyi desteklemiş bunun sonucu olarak genel sağkalım artmış, ek olarak da hastalıksız sağ kalım oranı da arttığı gözlemlenen ilacın olaparib olduğunu tespit etmişlerdir (Mateo et al., 2024).

Pankreas kanseri, pankreasın ekzokrin veya endokrin hücrelerinin tutulduğu ve *KRAS* onkogeni, *CDKN2A*, *TP53*, *SMAD4* tümör baskılayıcı genlerinin somatik mutasyonu ile hastalığa dönüşen kanser türüdür ve 2030 yılına kadar kanser kaynaklı ölümlerin ikinci sırasına yerleşeceği düşünülmektedir (Tavano et al., 2023).

POLO çalışması ise *BRCA* mutasyonlu metastatik pankreas kanseri hastalarında olaparib ilacının idame olarak verilen tedavide, plasebo grubuna kıyasla hastalıksız sağkalımı anlamlı ölçüde arttırdığı gözlenmiştir (Golan et al., 2019).

- **Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri:**

EGFR mutasyonları, *BRAF V600E* ve *ALK* gibi gen füzyonlarındaki mutasyonların sebep olduğu küçük hücreli dışı akciğer kanserleri (Non Small Cell Lung Cancer- NSCLC) hedefe yönelik tedaviler uygulanarak ve tedaviye yanıt NGS yöntemleri ile analiz edilerek değerlendirilmektedir.

RAMOSE çalışması, ekzon 19 delesyonu ve ekzon 21 L858R mutasyonlu hastalarda verilen hedefe yönelik tedavi kombinasyonlarının karşılaştırmasını yaparak, NGS ile direnç mutasyonları ve nadir gözlenen gen füzyonlarını tespit ederek kişiselleştirilmiş tedavi planlarının düzenlenmesini sağlamaktadır (Reuss et al., 2025).

Tedaviye rağmen dolaşımdaki kanda tespit edilen ctDNA geç evrelerdeki kanser hastalarında NGS ile tespit edilir. 2021 yılında yapılan çalışmada 1086 hastaya ctDNA taramak amaçlı NGS uygulanmıştır. Bu hastaların beşinde ctDNA tespit edilerek tekrar kanser şüphesi düşünülmüştür. FoundationOne Liquid Assay kullanılarak yapılan ctDNA NGS analizleri ile hastaların üçünde bu şüphe doğrulanmıştır. Kanser hastalarında tarama analizlerin yapılmasının önemi bu çalışma ile desteklenmiştir (Remon et al., 2021)

- **Mide Kanseri:**

Somatik veya kalıtsal olarak da görülebilen, özellikle tümör baskılayıcı gen olan *TP53* genindeki mutasyonlarla hastalık oluşur. Araştırmalar yaşlı hastalarda mutasyon varlığının yaygın olduğu konusunda netlik göstermese de 45 yaş ila 65 yaş aralığında ve kadınlara oranla erkeklerde 3 kat fazla görüldüğünü raporlamışlardır (Zhou et al., 2022).

Epstein-Barr Virüsü (EBV), *Helicobacter pylori*, etnik köken, sigara ve alkol kullanımı gibi çevresel faktörler, germline mutasyonlar dışında görülen somatik mutasyonlara sebebiyet vermektedir.

Özellikle etnik köken farklılıklarının araştırılması için 2024 yılında yapılan çalışmada mide kanseriyle ilişkili 60 sürücü gen içindeki 275.634 varyantı analiz etmek için kapsamlı bir *in silico* analiz gerçekleştirilmiştir. Bu varyantların etnik gruplara göre dağılımı incelenmiş ve *ERBB2* rs1058808 ile *ERBB2* rs1136201 varyantlarının dünya genelinde en yaygın onkojenik değişiklikler olduğu saptanmıştır (Echeverria-Garces et al., 2024). NGS tabanlı analizler sayesinde somatik mutasyonlardaki bu farklılıkları analiz etmek, hastalığı saptamada önemli rol oynamaktadır.

- **Kolon Kanseri:**

Dünya çapında en sık görülen kanserler arasında üçüncü ve kanser kaynaklı ölümlerin arasında ikinci sırada yer alan kolorektal kanserin, tedaviye rağmen ölüm oranı 30 ay civarında seyretmektedir. Hastalıkta TMB belirlenmesi amacıyla yapılan NGS testlerinde immünoterapiye yanıt gözlenebilmektedir ancak klinik uygulamaya standardizasyon eksikliği sebebiyle entegrasyonu engelleyen bir sorundur (Marques et al., 2024).

Erken ve orta yaş başlangıçlı kolorektal kanser hastalarında germline ve somatik mutasyon profilleri belirlenmesi amacıyla 2025 yılında yapılan çalışmada, NGS ile elde edilen bulgulara, somatik *BRAF* mutasyonunun orta yaş grubunda daha sık görüldüğü ve özellikle *V600E* alt tipi yaygın olduğu analiz edilmiştir. Bunun yanında *TP53*, *APC* ve *KRAS* genleri de sık gözlenen somatik mutasyonlardır (Storandt et al., 2025).

Kolorektal kanser hastalarında ctDNA ve MRD takibi yapılması da hastalığın nüks durumunu takip etmekte önemlidir. Ayrıca kişiselleştirilmiş tedavide nüksüz sağkalımın izlenmesinde rol oynayan NGS tabanlı ctDNA analizinin, Evre II kolon kanserinde tedaviyi belirlemede önemli bir araç olduğu gösterilmektedir (Tie et al., 2022).

- **Tiroid Kanseri:**

Tiroid kanseri, endokrin organlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Hastalığın gelişiminde *BRAF*, *RAS*, *NTRK1/2/3* füzyonları, *RET* ve *TERT* gibi genlerdeki mutasyonlar önemli rol oynar. Özellikle diferansiye tiroid karsinomlarda (DTC), *TERT* promotor mutasyonları ve *BRAF* mutasyonları kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir (Kalarani et al., 2023).

Papiller, medüller, foliküler, anaplastik gibi türleri olan tiroid kanser türlerinin arasında en sık görülen papiller tiroid karsinomu (PTC), tüm tiroid kanser türlerinin arasında %80'lik bir yüzdeye sahiptir. 2024 yılında yapılan araştırmada 855 hastanın 810'unda görülen PTC, NGS teknolojisiyle analiz edilmiş ve *BRAF V600E* %86 olmak üzere *RET*, *TERT* ve *RAS* mutasyonlarının sıklıkla kansere sebep olduğu görülmüştür (Shi et al., 2024).

Yaşam süresinin kısa olduğu ve son derece agresif seyreden anaplastik tiroid karsinomu (APC), tiroid kanser türleri arasında en nadir gözlenen türüdür. Doku tabanlı NGS analizlerinin analiz edemediği durumlarda yani dokunun mevcut olmadığı veya yetersiz olduğu durumlarda likit biyopsi yöntemi ile nadir gözlenen APC tespiti yapmak da mümkündür (Yeh et al., 2025).

- **Rabdomyosarkoma:**

Rabdomyosarkom, embriyonik iskelet kasının malign bir yumuşak doku tümörüdür. En sık çocukluk çağında görülmektedir. En sık baş-boyun bölgesi ve genitoüriner sistemde tutulum yapar. Embriyonal (ERMS), Alveolar, Spindle Cell/Sclerosing (SpRMS), Pleomorfik (PRMS) olmak üzere 4 ana tipi bulunmaktadır. Tablo 1'de alt tipleri, yaş grupları, lokalizasyonları ve genetik değişiklikleri Tablo 1'de özetlenmiştir (Agaram, 2022).

Tablo 1. Rabdomyosarkom Alt Tipleri ve Moleküler Özellikleri

Alt Tip	Yaş Grubu	Lokalizasyon	Genetik değişiklikler
Embriyoal RMS (ERMS)	0-5 yaş	Baş-boyun, genitoüriner sistem	Aneuploidy, RAS mutasyonları (<i>HRAS</i> , <i>NRAS</i> , <i>KRAS</i>), <i>FGFR4</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>NF1</i> , <i>FBXW7</i>
Alveolar RMS	10-20 yaş	Ekstremiteler	<i>PAX3-FOXO1</i> ve <i>PAX7-FOXO1</i> gen füzyonları
Spindle Cell/ Sclerosing RMS	Bebeklik Çocuk Erişkin	Baş-boyun, paratestiküler, ekstremiteler	<i>VGLL2-NCOA2</i> füzyonları, <i>MYOD1</i> <i>p.L122R</i> <i>PIK3CA</i> mutasyonu
Pleomorfik RMS (PRMS)	Erişkin	Ekstremiteler	Kompleks genetik değişiklikler

(Agaram, 2022)

15 ERMS vakasının incelendiği 2025 yılında yapılan araştırmada en sık görülen mutasyonların *NRAS*, *FGFR4*, *CTNNB1* olduğu saptanmıştır. Ayrıca pan-kanser hedefli NGS analizi ile *TP53* mutasyonu ve *CDKN2A/B* kaybı kötü prognozla ilişkili olabileceği görülmüştür (Yang et al., 2025).

Moleküler biyobelirteçler kullanılarak hastalar özelinde prognoz belirlenebilmektedir. *TP53*, *MET*, *CDKN2A*, *MYCN* ve *MYOD1* genleri belirteç olarak kullanılarak kötü prognozla ilişkilendirilirken, *NF1* geni iyi prognozla ilişkilendirilmiştir (Zobeck et al., 2025).

SONUÇLAR

Yeni nesil dizileme teknolojisi (NGS) son yıllarda klinik onkolojide ve genetik alanında oldukça yaygın kullanılan bir yöntemdir. NGS temelli gen panelleri sayesinde solid tümörlerin moleküler analizi eş zamanlı ve yüksek duyarlılıkla yapılabilmektedir. Bunun yanı sıra hedefe yönelik tedavi ve kişiselleştirilmiş tıpta da tümör biyolojisinin derinlemesine anlaşılmasında oldukça önemlidir.

Klinik onkolojide bazı önemli mutasyonların ve likit biyopsi ile dolaşımdaki tümör DNA'sının analizi ve minimal rezidüel hastalık takibi, hastalığın prognozunun ve hedefe yönelik tedaviye yanıtın daha güvenilir ve hassas analizi amacıyla NGS analizleri kullanılmaktadır. Ayrıca analizler, *BRCA*, *EGFR*, *TP53*, *BRAF* gibi önemli mutasyonların hedeflenebilirliği açısından kişiselleştirilmiş tıpta hastaya ve hastalığa özgü tedavi stratejilerini mümkün kılmaktadır.

Hastalığın prognozunun belirlenmesi amacıyla bazı biyobelirteçlerin (TMB, MSI) analizi yapılan NGS testleriyle saptanmaktadır. Bu sayede immünoterapilerin klinikte kullanımı sağlanmakta ve gerekli durumlarda nüks durumları açısından MRD veya ctDNA analizleri yapılmaktadır.

Sonuç olarak güncel teknoloji ile etkisi onkoloji alanında daha da önemli hale gelen NGS analizleri, hastalığın her basamağında kilit rol almakta ve kanser alanına ışık tutmaktadır.

KAYNAKLAR

- Agaram, N. P. (2022). Evolving classification of rhabdomyosarcoma. *Histopathology*, 80(1), 98-108. <https://doi.org/10.1111/his.14449>
- Al Sukhun, S., Koczwara, B., Temin, S., & Arun, B. K. (2024). Systemic Treatment of Patients With Metastatic Breast Cancer: ASCO Resource-Stratified Guideline Q and A. *JCO Glob Oncol*, 10, e2300411. <https://doi.org/10.1200/GO.23.00411>
- Chen, G., Peng, J., Xiao, Q., Wu, H. X., Wu, X., Wang, F., Li, L., Ding, P., Zhao, Q., Li, Y., Wang, D., Shao, Y., Bao, H., Pan, Z., Ding, K. F., Cai, S., Wang, F., & Xu, R. H. (2021). Postoperative circulating tumor DNA as markers of recurrence risk in stages II to III colorectal cancer. *J Hematol Oncol*, 14(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01089-z>
- Comino-Mendez, I., Velasco-Suelto, J., Pascual, J., Lopez-Lopez, E., Quiros-Ortega, M. E., Gaona-Romero, C., Martin-Munoz, A., Losana, P., Heredia, Y., Alba, E., & Guerrero-Zotano, A. (2025). Identification of minimal residual disease using the clonesight test for ultrasensitive ctDNA detection to anticipate late relapse in early breast cancer. *Breast Cancer Res*, 27(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s13058-025-02016-7>
- DiSilvestro, P., Banerjee, S., Colombo, N., Scambia, G., Kim, B. G., Oaknin, A., Friedlander, M., Lisyanskaya, A., Floquet, A., Leary, A., Sonke, G. S., Gourley, C., Oza, A., Gonzalez-Martin, A., Aghajanian, C., Bradley, W., Mathews, C., Liu, J., McNamara, J., . . . Investigators, S. (2023). Overall Survival With Maintenance Olaparib at a 7-Year Follow-Up in Patients With Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a BRCA Mutation: The SOLO1/GOG 3004 Trial. *J Clin Oncol*, 41(3), 609-617. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.01549>
- Dongare, D. B., Nishad, S. S., Mastoli, S. Y., Saraf, S. A., Srivastava, N., & Dey, A. (2025). High-throughput sequencing: a breakthrough in molecular diagnosis for precision medicine. *Funct Integr Genomics*, 25(1), 22. <https://doi.org/10.1007/s10142-025-01529-w>
- Dooley, A. J., Bowden, A. R., Whatling, H., Watkins, J. A., & Greef, B. (2025). Genomics in Cancer of Unknown Primary: Utility in Modern Clinical Practice. *Clinical Oncology*, 41. <https://doi.org/ARTN 103793>
10.1016/j.clon.2025.103793
- Du, T., Zhang, Z., Zhou, J., Sheng, L., Yao, H., Ji, M., Xu, B., & Chen, X. (2022). A Novel PARP Inhibitor YHP-836 For the Treatment of BRCA-Deficiency Cancers. *Front Pharmacol*, 13, 865085. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.865085>

- Echeverria-Garcés, G., Ramos-Medina, M. J., Vargas, R., Cabrera-Andrade, A., Altamirano-Colina, A., Freire, M. P., Montalvo-Guerrero, J., Rivera-Orellana, S., Echeverria-Espinoza, P., Quinones, L. A., & Lopez-Cortes, A. (2024). Gastric cancer actionable genomic alterations across diverse populations worldwide and pharmacogenomics strategies based on precision oncology. *Front Pharmacol*, 15, 1373007. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1373007>
- Golan, T., Hammel, P., Reni, M., Van Cutsem, E., Macarulla, T., Hall, M. J., Park, J. O., Hochhauser, D., Arnold, D., Oh, D. Y., Reinacher-Schick, A., Tortora, G., Algul, H., O'Reilly, E. M., McGuinness, D., Cui, K. Y., Schlienger, K., Locker, G. Y., & Kindler, H. L. (2019). Maintenance Olaparib for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *N Engl J Med*, 381(4), 317-327. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1903387>
- Gremke, N., Rodepeter, F. R., Teply-Szymanski, J., Griewing, S., Boekhoff, J., Stroh, A., Tarawneh, T. S., Riera-Knorrenschild, J., Balser, C., Hattesoehl, A., Middeke, M., Ross, P., Litmeyer, A. S., Romey, M., Stiewe, T., Wundisch, T., Neubauer, A., Denkert, C., Wagner, U., & Mack, E. K. M. (2024). NGS-Guided Precision Oncology in Breast Cancer and Gynecological Tumors-A Retrospective Molecular Tumor Board Analysis. *Cancers (Basel)*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/cancers16081561>
- Herbst, R. S., John, T., Grohe, C., Goldman, J. W., Kato, T., Laktionov, K., Bonanno, L., Tiseo, M., Majem, M., Domine, M., Ahn, M. J., Kowalski, D. M., Perol, M., Sriuranpong, V., Ozguroglu, M., Bhetariya, P., Markovets, A., Rukazenzov, Y., Muldoon, C., . . . Wu, Y. L. (2025). Molecular residual disease analysis of adjuvant osimertinib in resected EGFR-mutated stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer. *Nat Med*, 31(6), 1958-1968. <https://doi.org/10.1038/s41591-025-03577-y>
- Hurvitz, S. A., Goncalves, A., Rugo, H. S., Lee, K. H., Fehrenbacher, L., Mina, L. A., Diab, S., Blum, J. L., Chakrabarti, J., Elmeliogy, M., DeAnnuntis, L., Gauthier, E., Czibere, A., Tudor, I. C., Quek, R. G. W., Litton, J. K., & Ettl, J. (2020). Talazoparib in Patients with a Germline BRCA-Mutated Advanced Breast Cancer: Detailed Safety Analyses from the Phase III EMBRACA Trial. *Oncologist*, 25(3), e439-e450. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0493>
- Kalarani, I. B., Sivamani, G., & Veerabathiran, R. (2023). Identification of crucial genes involved in thyroid cancer development. *J Egypt Natl Canc Inst*, 35(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s43046-023-00177-0>
- Karimpour, M., Totonchi, M., Behmanesh, M., & Montazeri, H. (2024). Pathway-driven analysis of synthetic lethal interactions in cancer using perturbation screens. *Life Sci Alliance*, 7(1). <https://doi.org/10.26508/lsa.202302268>

- Kim, R., Kim, S., Oh, B. B.-L., Yu, W. S., Kim, C. W., Hur, H., Son, S.-Y., Yang, M. J., Cho, D. S., Ha, T., Heo, S., Jang, J. Y., Yun, J. S., Kwack, K.-S., Kim, J. K., Huh, J., Lim, S. G., Han, S.-U., Lee, H. W., . . . Kwon, M. (2024). <https://doi.org/10.1101/2024.02.08.24302488>
- Kim, R., Kim, S., Oh, B. B. L., Yu, W. S., Kim, C. W., Hur, H., Son, S. Y., Yang, M. J., Cho, D. S., Ha, T., Heo, S., Jang, J. Y., Yun, J. S., Kwack, K. S., Kim, J. K., Huh, J., Lim, S. G., Han, S. U., Lee, H. W., . . . Kwon, M. (2024). Clinical application of whole-genome sequencing of solid tumors for precision oncology. *Experimental and Molecular Medicine*, 56(8), 1856-1868. <https://doi.org/10.1038/s12276-024-01288-x>
- Lander, E. M., Aushev, V. N., Huffman, B. M., Hanna, D., Dutta, P., Ferguson, J., Sharma, S., Jurdi, A., Liu, M. C., Eng, C., Klempner, S. J., & Gibson, M. K. (2024). Circulating Tumor DNA as a Prognostic Biomarker for Recurrence in Patients With Locoregional Esophagogastric Cancers With a Pathologic Complete Response. *JCO Precis Oncol*, 8, e2400288. <https://doi.org/10.1200/PO.24.00288>
- Madeddu, C., Lai, E., Neri, M., Sanna, E., Gramignano, G., Nemolato, S., Scartozzi, M., Giglio, S., & Maccio, A. (2025). Association Between TP53 Mutations and Platinum Resistance in a Cohort of High-Grade Serous Ovarian Cancer Patients: Novel Implications for Personalized Therapeutics. *Int J Mol Sci*, 26(5). <https://doi.org/10.3390/ijms26052232>
- Marques, A., Cavaco, P., Torre, C., Sepodes, B., & Rocha, J. (2024). Tumor mutational burden in colorectal cancer: Implications for treatment. *Crit Rev Oncol Hematol*, 197, 104342. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2024.104342>
- Mateo, J., de Bono, J. S., Fizazi, K., Saad, F., Shore, N., Sandhu, S., Chi, K. N., Agarwal, N., Olmos, D., Thiery-Vuillemin, A., Ozguroglu, M., Mehra, N., Matsubara, N., Young Joung, J., Padua, C., Korbenfeld, E., Kang, J., Marshall, H., Lai, Z., . . . Hussain, M. (2024). Olaparib for the Treatment of Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer and Alterations in BRCA1 and/or BRCA2 in the PROfound Trial. *J Clin Oncol*, 42(5), 571-583. <https://doi.org/10.1200/JCO.23.00339>
- McNamara, M. G., Jacobs, T., Lamarca, A., Hubner, R. A., Valle, J. W., & Amir, E. (2020). Impact of high tumor mutational burden in solid tumors and challenges for biomarker application. *Cancer Treat Rev*, 89, 102084. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102084>
- Mitri, Z., Goodyear, S. M., & Mills, G. (2024). Strategies for the prevention or reversal of PARP inhibitor resistance. *Expert Rev Anticancer Ther*, 24(10), 959-975. <https://doi.org/10.1080/14737140.2024.2393251>

- Momozawa, Y., Sasai, R., Usui, Y., Shiraishi, K., Iwasaki, Y., Taniyama, Y., Parsons, M. T., Mizukami, K., Sekine, Y., Hirata, M., Kamatani, Y., Endo, M., Inai, C., Takata, S., Ito, H., Kohno, T., Matsuda, K., Nakamura, S., Sugano, K., . . . Kubo, M. (2022). Expansion of Cancer Risk Profile for BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *JAMA Oncol*, 8(6), 871-878. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.0476>
- Monk, B. J., Parkinson, C., Lim, M. C., O'Malley, D. M., Oaknin, A., Wilson, M. K., Coleman, R. L., Lorusso, D., Bessette, P., Ghamande, S., Christopoulou, A., Provencher, D., Prendergast, E., Demirkiran, F., Mikheeva, O., Yeku, O., Chudecka-Glaz, A., Schenker, M., Littell, R. D., . . . Kristeleit, R. S. (2022). A Randomized, Phase III Trial to Evaluate Rucaparib Monotherapy as Maintenance Treatment in Patients With Newly Diagnosed Ovarian Cancer (ATHENA-MONO/GOG-3020/ENGOT-ov45). *J Clin Oncol*, 40(34), 3952-3964. <https://doi.org/10.1200/JCO.22.01003>
- Nagahashi, M., Shimada, Y., Ichikawa, H., Kameyama, H., Takabe, K., Okuda, S., & Wakai, T. (2019). Next generation sequencing-based gene panel tests for the management of solid tumors. *Cancer Sci*, 110(1), 6-15. <https://doi.org/10.1111/cas.13837>
- Paluch-Shimon, S., Cardoso, F., Partridge, A. H., Abulkhair, O., Azim, H. A., Bianchi-Micheli, G., Cardoso, M. J., Curigliano, G., Gelmon, K. A., Gentilini, O., Harbeck, N., Kaufman, B., Kim, S. B., Liu, Q., Merschedorf, J., Poortmans, P., Pruneri, G., Senkus, E., Sirohi, B., . . . Pagani, O. (2022). ESO-ESMO fifth international consensus guidelines for breast cancer in young women (BCY5). *Ann Oncol*, 33(11), 1097-1118. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.07.007>
- Pinto, R., De Summa, S., Petriella, D., Tudoran, O., Danza, K., & Tommasi, S. (2014). The value of new high-throughput technologies for diagnosis and prognosis in solid tumors. *Cancer Biomark*, 14(2-3), 103-117. <https://doi.org/10.3233/CBM-130328>
- Remon, J., Soria, J. C., Peters, S., & clinicalguidelines@esmo.org, E. G. C. E. a. (2021). Early and locally advanced non-small-cell lung cancer: an update of the ESMO Clinical Practice Guidelines focusing on diagnosis, staging, systemic and local therapy. *Ann Oncol*, 32(12), 1637-1642. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.08.1994>
- Reuss, J. E., Kuruvilla, S., Ismaila, N., Azar, I. H., Feldman, J., Furuya, N., Wheatley-Price, P., Roof, L., Velazquez, A. I., Wang, Y., & Leighl, N. B. (2025). Therapy for Stage IV Non-Small Cell Lung Cancer With Driver Alterations: ASCO Living Guideline, Version 2025.1. *J Clin Oncol*, JCO2501061. <https://doi.org/10.1200/JCO-25-01061>

- Shi, D., Yao, M., Wu, D., Jiang, M., Li, J., Zheng, Y., & Yang, Y. (2024). Detection of genetic mutations in 855 cases of papillary thyroid carcinoma by next generation sequencing and its clinicopathological features. *Diagn Pathol*, 19(1), 146. <https://doi.org/10.1186/s13000-024-01573-3>
- Shore, N., Armstrong, A. J., Barata, P., Byrne, L., Hafron, J., Young, S., Paller, C., Wise, D. R., Ventii, K., Samadi, A., Arangua, P., Werahera, P. N., & Lorentz, J. (2025). Implementing and Optimizing Universal Germline Genetic Testing for Patients With Prostate Cancer in Clinical Practice. *Urology*, 199, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2025.01.070>
- Silva, R. S. D., & Schmitt, F. (2024). Next step of molecular pathology: next-generation sequencing in cytology. *J Pathol Transl Med*, 58(6), 291-298. <https://doi.org/10.4132/jptm.2024.10.22>
- Storandt, M. H., Shi, Q., Eng, C., Lieu, C., George, T., Stoppler, M. C., Mauer, E., Yilma, B., Fraggogianni, S., Teslow, E. A., Mahipal, A., & Jin, Z. (2025). Genomic Landscapes of Early-Onset Versus Average-Onset Colorectal Cancer Populations. *Cancers (Basel)*, 17(5). <https://doi.org/10.3390/cancers17050836>
- Tavano, F., Gioffreda, D., Fontana, A., Palmieri, O., Gentile, A., Latiano, T., Latiano, A., Latiano, T. P., Scaramuzzi, M., Maiello, E., Bazzocchi, F., & Perri, F. (2023). Evaluation of inherited germline mutations in cancer susceptibility genes among pancreatic cancer patients: a single-center study. *Mol Med*, 29(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s10020-023-00600-1>
- Tie, J., Cohen, J. D., Lahouel, K., Lo, S. N., Wang, Y., Kosmider, S., Wong, R., Shapiro, J., Lee, M., Harris, S., Khattak, A., Burge, M., Harris, M., Lynam, J., Nott, L., Day, F., Hayes, T., McLachlan, S. A., Lee, B., . . . Investigators, D. (2022). Circulating Tumor DNA Analysis Guiding Adjuvant Therapy in Stage II Colon Cancer. *N Engl J Med*, 386(24), 2261-2272. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2200075>
- Tutt, A. N. J., Garber, J. E., Kaufman, B., Viale, G., Fumagalli, D., Rastogi, P., Gelber, R. D., de Azambuja, E., Fielding, A., Balmana, J., Domchek, S. M., Gelmon, K. A., Hollingsworth, S. J., Korde, L. A., Linderholm, B., Bandos, H., Senkus, E., Suga, J. M., Shao, Z., . . . Investigators. (2021). Adjuvant Olaparib for Patients with BRCA1- or BRCA2-Mutated Breast Cancer. *N Engl J Med*, 384(25), 2394-2405. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2105215>
- Valenza, C., Marsicano, R. M., Trapani, D., & Curigliano, G. (2024). PARP inhibitor resistant BRCA-mutated advanced breast cancer: current landscape and emerging treatments. *Curr Opin Oncol*, 36(6), 474-479. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000001092>

- Wakai, T., Prasoon, P., Hirose, Y., Shimada, Y., Ichikawa, H., & Nagahashi, M. (2019). Next-generation sequencing-based clinical sequencing: toward precision medicine in solid tumors. *International Journal of Clinical Oncology*, 24(2), 115-122. <https://doi.org/10.1007/s10147-018-1375-3>
- Willard, N., Sholl, L., & Aisner, D. (2022). Panel Sequencing for Targeted Therapy Selection in Solid Tumors. *Clinics in Laboratory Medicine*, 42(3), 309-323. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2022.04.004>
- Yang, B., Schmidt, R. J., Raca, G., Shillingford, N., Zhou, S., Parham, D. M., Pawel, B., & Wang, L. L. (2025). Pediatric Embryonal Rhabdomyosarcoma: An Integrated Study of Clinicopathological Features, Pan-cancer Targeted Next-generation Sequencing, and Chromosomal Microarray Analysis from a Single Institution. *Virchows Archiv*. <https://doi.org/10.1007/s00428-025-04220-4>
- Yang, X., Li, X., Yan, J., Liu, Y., Yin, J., Shao, W., Lu, Y., & Xue, J. (2024). Response to EGFR/NTRK/MET Co-Inhibition Guided by Paired NGS in Advanced NSCLC With Acquired EGFR L858R/T790M/C797S Mutations. *J Natl Compr Canc Netw*, 23(2). <https://doi.org/10.6004/jncn.2024.7070>
- Yeh, C. N., Lin, S. F., Wu, C. L., Liou, M. J., Chen, I. W., Chen, C. P., Chang, C. F., Wang, Q. A., & Wu, C. E. (2025). Genomic landscape and comparative analysis of tissue and liquid-based NGS in Taiwanese anaplastic thyroid carcinoma. *NPJ Precis Oncol*, 9(1), 16. <https://doi.org/10.1038/s41698-025-00802-2>
- Zhou, Q., Tao, F., Qiu, L., Chen, H., Bao, H., Wu, X., Shao, Y., Chi, L., & Song, H. (2022). Somatic Alteration Characteristics of Early-Onset Gastric Cancer. *J Oncol*, 2022, 1498053. <https://doi.org/10.1155/2022/1498053>
- Zobeck, M., Khan, J., Venkatramani, R., Okcu, M. F., Scheurer, M. E., & Lupo, P. J. (2025). Improving Individualized Rhabdomyosarcoma Prognosis Predictions Using Somatic Molecular Biomarkers. *JCO Precis Oncol*, 9, e2400556. <https://doi.org/10.1200/PO-24-00556>



BÖLÜM 3

Nanomedisinde Yeni Ufuklar: Eksozomların Biyolojik ve Terapötik Potansiyeli

Emine SÖNMEZ¹

1. Eksozom Nedir?

Eksozomlar, kök hücreler, bağışıklık hücreleri ve kanser hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri tarafından salgılanan ve çapları genellikle 30–200 nm arasında değişen küçük ekstrasellüler veziküller grubuna aittir (Stremersch vd., 2016; Théry vd., 2002; Witwer vd., 2013). Bu yapılar ilk kez 1980’li yıllarda koyun retikülositlerinden eritrosit gelişim süreci incelenirken gözlemlenmiş, daha sonra hücrel atıkların uzaklaştırılmasıyla ilişkili yapılar olarak tanımlanmıştır (Johnstone vd., 1987; Pan vd., 1985; Bobrie vd., 2011; Pant vd., 2012). Ancak günümüzde eksozomların yalnızca hücrel atık uzaklaştırıcı yapılar olmadığı, aksine hücreler arası iletişimde ve hücreler arasında protein, lipid ve RNA transferini kolaylaştırmada önemli roller üstlendikleri anlaşılmıştır (Lai vd., 2022; Bobrie vd., 2011).

Eksozomlar, içerik bakımından oldukça çeşitlidir. Lipitler, proteinler, enzimler, transkripsiyon faktörleri, nükleik asitler ve reseptörler gibi birçok biyolojik makromolekül taşırlar (Hade ve Suire, 2021; Simons ve Raposo, 2009). Bu nedenle hem sağlıklı hem de patolojik koşullarda kan, idrar, tükürük, anne sütü, beyin omurilik sıvısı ve safra gibi çeşitli biyolojik sıvılarda tespit edilebilmektedirler (Simpson vd., 2009; Kalani vd., 2020; Zhang vd., 2020). Eksozomlar, kaynaklandıkları hücre tipine ve işlevsel özelliklerine bağlı olarak farklı sınıflandırmalara ayrılmaktadır. Genel bir bakışla üç ana grup tanımlanmıştır: doğal eksozomlar, modifiye eksozomlar ve yapay eksozomlar (Kučuk vd., 2021). Doğal eksozomlar, doğrudan hücrel süreçler sonucunda üretilir ve hem hayvan hem de bitki kökenli olabilir. Hayvan hücrelerinden elde edilen eksozomlar, normal fizyolojik hücrelerden veya tümör hücrelerinden kaynaklanabilir. Normal hücre kökenli eksozomlar, immün yanıtın düzenlenmesinden doku rejenerasyonuna kadar pek çok biyolojik süreçte rol oynarken; tümör hücrelerinden salınan eksozomlar, yüzey antiijenleri aracılığıyla tümörün doğasını yansıtır, metastazı ve immün yanıtı etkileyebilir ve hastalık belirteçleri olarak kullanılabilir (Zhang vd., 2020). Ayrıca, makrofaj kökenli eksozomların anti-tümör özellikler gösterebildiği, buna karşılık mezenkimal kök

¹ Doç. Dr., Düzce Üniversitesi, ORCID: 0000-0003-4418-5599

hücre (MSC) kökenli eksozomların ilaç taşıyıcı ve terapötik ajan olarak önemli potansiyel sunduğu bildirilmiştir (Gang vd., 2021; Lou vd., 2017; Zhang vd., 2020; Agrawal vd., 2017). Bitkisel eksozom benzeri nanopartiküller (ör. zencefil, üzüm, havuç, greyfurt) ise bağırsak sağlığını destekleyen anti-inflamatuvar etkileriyle ve karaciğer hastalıklarının önlenmesindeki rolleriyle dikkat çekmektedir (Zhang vd., 2020; Mu vd., 2014).

Modifiye eksozomlar, doğal eksozomların tedavi edici etkinliklerini artırmak amacıyla biyomühendislik yöntemleriyle içeriklerinin veya yüzey yapılarının değiştirilmesiyle elde edilmektedir. Bu sayede ilaç yükleme kapasitesi, hedeflenmiş taşıma, biyodağılım ve terapötik etkinlikleri geliştirilir (Küçük vd., 2021). Yapay eksozomlar ise laboratuvar ortamında üretilen ve doğal eksozomların biyolojik özelliklerini taklit eden yapılardır. Hücre temelli yöntemler veya biyomimetik lipid membran teknikleri ile sentezlenebilirler (Küçük vd., 2021). Bu yapılar, özellikle kanser tedavisi ve ilaç dağıtım sistemleri için alternatif stratejiler sunmaktadır. Sonuç olarak, eksozomların tipleri yalnızca kökenlerine göre değil, biyolojik fonksiyonları ve terapötik kullanım potansiyelleri açısından da çeşitlilik göstermektedir. Bu farklılık, onları hem tanısal biyobelirteçler hem de geleceğe dönük yenilikçi tedavi araçları olarak değerli kılmaktadır (Bunggulawa vd., 2018; Saari vd., 2020; O'Loughlin vd., 2012).

2. Eksozom Biyogenezi

Eksozom biyogenezi, hücre zarının içe doğru çift invajinasyonu ile başlayan, karmaşık ve çok basamaklı bir süreçtir. İlk aşamada plazma membranı, yüzey proteinleri ve ekstrasellüler ortamlarla ilişkili çözünür proteinleri içine alacak şekilde içe doğru kıvrılır ve erken endozom adı verilen yapı oluşur (Ding vd., 2022). Bu erken endozomlar, Golgi aygıtının da katkısıyla olgunlaşarak geç endozomlara dönüşür. Geç endozomların membranında gerçekleşen ikinci invajinasyon ise intralüminal veziküllerin (ILV) meydana gelmesine yol açar. ILV'ler, endozomların lümeni içinde birikir ve bu yapılar çok veziküllü cisim (multivesiküler cisim, MVB) adını alır (Colombo vd., 2014; Bryl vd., 2020). MVB'lerin izleyebileceği iki temel yol vardır: bir kısmı lizozom veya otofagozomlarla birleşerek yıkıma uğrar, diğer kısmı ise plazma membranı ile kaynaşarak içerdiği ILV'leri hücre dışına salar. Hücre dışına salındığında bu yapılar artık eksozom olarak adlandırılır (Rezaie vd., 2018). Eksozomların diğer hücre dışı veziküllerden (apoptotik cisimcikler ve mikroveziküller) ayrıldığı nokta, membran invajinasyonunun sitozolden uzak, ekstrasellüler yöne doğru gerçekleşmesidir; bu nedenle eksozom membranlarının protein yönelimi hücre

yüzeyi ile aynı özellikleri taşır (Théry vd., 2002; Hessvik ve Llorente 2018; Mathieu vd., 2019).

Eksozom biyogenezinde hem ESCRT-bağımlı hem de ESCRT-bağımsız yollar rol oynamaktadır. ESCRT (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) yaklaşık 30 farklı proteinden oluşur ve dört ana kompleks halinde (ESCRT-0, -I, -II, -III) görev yapar. ESCRT-0, ubiquitinlenmiş kargoların tanınmasında rol alırken, ESCRT-I ve II membranın tomurcuklanmasını ve vezikül ayrılmasını başlatır; ESCRT-III ise zar bölünme sürecinde etkilidir (Juan ve Fürthauer, 2018; Hanson ve Cashikar, 2012). ESCRT proteinleri ile birlikte tümör duyarlılık geni 101 proteini (TSG101), apoptozla bağlantılı gen 2 ile etkileşime giren protein X (ALIX), nötr sfingomiyelinaz (nSMase-2), vakuolar protein ayırma ilişkili protein 4 (VPS4), sindekan-1, seramid, Rab GTPazlar, sintenin-1, çözünür N-etilmaleimide duyarlı füzyon bağlanma proteini reseptörü (SNARE'ler) ve tetraspaninler gibi düzenleyici moleküller de sürece katılır (Bebelman vd., 2018; Ciardiello vd., 2016). Bunun yanı sıra, eksozomların oluşumunda ESCRT-bağımsız mekanizmalar da tanımlanmıştır. Özellikle tetraspaninler (CD9, CD63, CD81, CD37, CD82) eksozom biyogenezinde önemli işaretleyiciler ve düzenleyiciler olarak görev yapar (Yáñez-Mó vd., 2015). Ayrıca, sfingomiyelinaz enzimi aracılığıyla oluşan seramid de membran tomurcuklanmasını kolaylaştırarak eksozom oluşumunu destekler (Stuffers vd., 2009). Böylece, lipid metabolizması ve membran mikro-domenleri eksozom biyogenezinin önemli belirleyicileri arasına girmektedir.

Eksozom biyogenezinin tamamlayıcı aşaması, onların hedef hücrelere taşınması ve alınımıdır. Eksozomlar hücreler tarafından mikropinositoz, makropinositoz, klatrin aracılı endositoz ya da klatrinden bağımsız yollar ile içselleştirilebilir (Mulcahy vd., 2014). Bunun yanı sıra, membran füzyonu ve reseptör-ligand etkileşimleri de alımın mekanizmaları arasında yer alır (Gurung vd., 2021). Bu süreç bazen hücre tipine özgül gerçekleşir: örneğin oligodendrosit kökenli eksozomların, primer kortikal kültürde özellikle mikroglialar tarafından daha yüksek oranda alındığı gösterilmiştir (Fitzner vd., 2011). Ancak bazı insan karsinom hücrelerinde (A549, HCT116, COLO205) eksozomların daha çok rastlantısal ve seçici olmayan şekilde içselleştirildiği bildirilmiştir (Horibe vd., 2018).

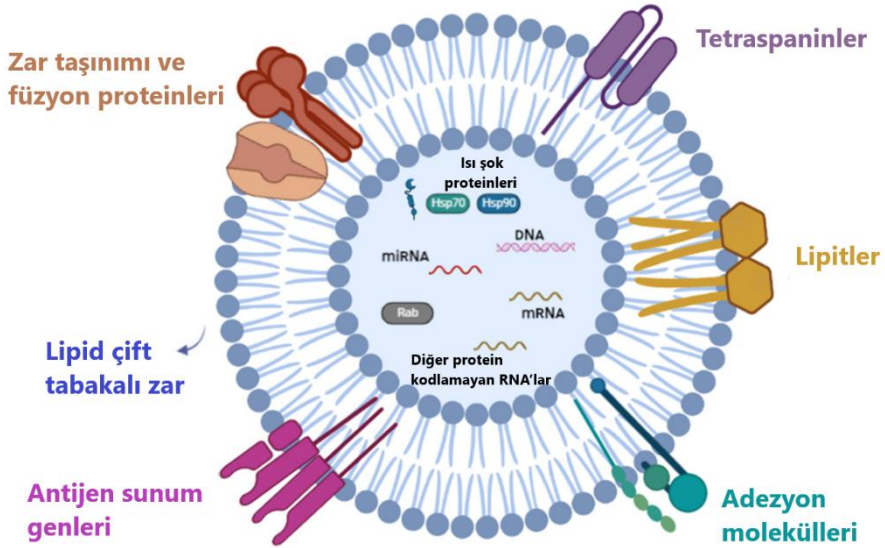
Özetle eksozom biyogenezi; plazma membranının invajinasyonu ile başlayan, erken ve geç endozomların olgunlaşmasıyla devam eden, MVB'lerin farklı yollarla yönlendirilmesi sonucu eksozomların hücre dışına salınmasıyla tamamlanan dinamik bir süreçtir. Bu sürecin hem ESCRT-bağımlı hem de ESCRT-bağımsız yollarla düzenlenmesi, eksozom biyolojisinin hücresel sinyal

ağlarıyla ne kadar sıkı ilişkili olduğunu göstermektedir. Proteinler, lipidler ve çevresel faktörler biyogenezi doğrudan etkilerken, eksozomların hedef hücreler tarafından alınma mekanizmaları da onların biyolojik işlevlerini belirlemektedir.

3. Eksozomların İçeriği

Eksozomlar, hücreler arası iletişimde görev alan ve hem tanınal hem de terapötik açıdan büyük öneme sahip, çift katmanlı lipid zarla çevrili nanoskopik veziküllerdir. Çapları genellikle 30–150 nm arasında değişir ve içerikleri, köken aldıkları hücrelerin fenotipik özelliklerine, metabolik durumlarına ve çevresel koşullara bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Shin vd., 2017; Greening vd., 2015; Dragovic vd., 2011). ExoCarta, Vesiclepedia ve EVpedia gibi önemli veri tabanlarında şu ana kadar eksozomlarda; 41.000'den fazla protein, 7.500'den fazla RNA ve 1.100'ün üzerinde lipid tanımlanmıştır (Gurung vd., 2021; Zhang vd., 2019; Keerthikumar vd., 2016).

Şekil 1: Eksozomların bileşimi



Eksozomların en zengin içeriklerinden biri proteinlerdir. Bu proteinler hem yapısal işlevler hem de hücreler arası sinyal iletimini sağlayacak fonksiyonel aktiviteler üstlenirler. Dış yüzey proteinleri arasında tetraspanin ailesi (CD9, CD63, CD81, CD82), adezyon molekülleri (integrinler, ICAM-1, laktadherin), antijen sunumu ile ilişkili MHC-II gibi kompleksler, en sık raporlanan yapılardır (Gholami vd., 2022; Théry vd., 2002; Kalluri ve LeBleu 2020; Zhang vd., 2019; H. Rashed vd., 2017). Bunlardan başka ısı şok proteinleri (HSP70, HSP90),

hücrel stres yanıtı ve protein stabilizasyonu açısından önemli olup eksozom zar stabilitesine katkı sağlarlar (Vlassov vd., 2012). Rab GTPaz ailesi, annexinler ve flotillinler gibi membran taşıma ve füzyonla ilişkili proteinler, içerik aktarımında görev alır (Kalani vd., 2014; He vd., 2018) (Şekil 1). ALIX ve TSG101, MVB oluşum sürecinde görev alan anahtar proteinlerdir (He vd., 2018). Eksozomal protein içeriği, hücrenin fizyolojik ya da patolojik durumuna göre değişebilir. Örneğin, glioblastoma hücrelerinden köken alan eksozomlarda EGFRvIII mutasyonuna bağlı olarak proinvaziv proteinlerde artış saptanmıştır (Choi vd., 2018). Benzer şekilde, antijen sunan hücrelerden salınan eksozomlarda MHC-II aracılığıyla spesifik T hücrelerinin aktive edildiği gözlenmiştir (Vincent-Schneider vd., 2002).

Eksozomların dış zar yapısı, çift katmanlı lipidlerden oluşur ve taşıma kapasitesi, hedef hücreye bağlanma potansiyeli ve biyomekanik özellikleri doğrudan bu lipid içeriğine bağlıdır (Şekil 1). Lipid bileşenleri arasında kolesterol, sfingomiyelin, fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin ve fosfatidilinozitol öne çıkar (Subra vd., 2007; Skotland vd., 2017; Skotland vd., 2019). Bu lipidler, özellikle hücre zarından farklı bir kompozisyona sahiptir; örneğin, kolesterol ve fosfatidilserin, hücre zarına kıyasla eksozomlarda 2 ila 4 kat daha fazla bulunur (Skotland vd., 2019). Ayrıca, lipid tabakasının dış ve iç yaprağı arasında asimetrik bir dağılım olduğu gösterilmiştir; dış yaprakta çok uzun zincirli sfingolipidler, iç yaprakta ise fosfatidilserin yoğunluğu tespit edilmiştir (Skotland vd., 2017). Lipidlerin yalnızca yapısal değil, aynı zamanda biyolojik etkiler açısından da fonksiyonel olduğu belirtilmektedir. Örneğin, tümör kaynaklı eksozomlarda taşınan prostaglandin E2 (PGE2), tümör mikrosimülasyonunu düzenleyen myeloid kaynaklı baskılayıcı hücrelerin (MDSC) aktivasyonuna katkıda bulunabilir (Xiang vd., 2009). Ayrıca, glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid (LBPA) gibi özel lipidler, eksozomal membran esnekliğini artırarak hücre içi taşınımı kolaylaştırır (Valadi vd., 2007).

Eksozomlar, protein ve lipidlerin yanı sıra çok çeşitli nükleik asitleri de içerirler. Bunlar arasında mRNA, mikroRNA (miRNA), uzun kodlamayan RNA (lncRNA), dairesel RNA (circRNA), ribozomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA) ve exoDNA yer alır (Van Balkom vd., 2015; Fanale vd., 2018; Bellingham vd., 2012; Guescini vd., 2010). MiRNA'lar, eksozomal RNA'lar arasında en bol bulunan alt gruptur ve hücreler arası gen regülasyonunda merkezi rol oynarlar. RNA-seq analizleri, plazma kaynaklı eksozomal RNA'ların %76'sının miRNA olduğunu göstermiştir (Huang vd., 2013). MiRNA'lar hedef hücrede gen ifadesini baskılayarak veya aktive ederek çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçleri etkileyebilir. Örneğin miR-21 tümör anjiyogenezini, miR-200

metastazı, miR-124a sinaptik modülasyonu ve miR-92a ise kardiyoprotektif etkileri düzenler (Le vd., 2014; Umezu vd., 2013; Xiao vd., 2016; Morel vd., 2013). Kalluri ve LeBleu (2020) tarafından belirtildiği üzere, miRNA'lar metabolizma, hücre kohezyonu, membran bütünlüğü ve sinyal iletiminde görev alır. CircRNA ve lncRNA'lar ise özellikle kanser biyolojisinde rol oynayabilecek moleküller olup, exosomal lncRNA-UCA1'in mesane kanserinde epitel-mezenkimal geçişi desteklediği, serum kaynaklı circ-KLDHC10'un ise kolorektal kanser için biyobelirteç olabileceği gösterilmiştir (Xue vd., 2017; Li vd., 2015). Eksozomlarda taşınan RNA'ların seçici şekilde yüklendiği gösterilmiştir. Bu seçicilik, hücredeki RNA profilinden farklılık göstermekte ve bu sürece hnRNPA2B1, MEX3C ve HuR gibi RNA bağlayıcı proteinlerin aracılık ettiği düşünülmektedir (Mukherjee vd., 2016; Lu vd., 2017; Villarroya-Beltri vd., 2013). Ek olarak, bazı eksozomlar hücre dışına zararlı sitoplazmik DNA'ların taşınmasına da aracılık eder. Bu durum, hücresel homeostazın korunmasında eksozomların detoksifikasyon aracı olarak rol alabileceğini göstermektedir (Takahashi vd., 2017).

4. Eksozomların İzolasyon Yöntemleri

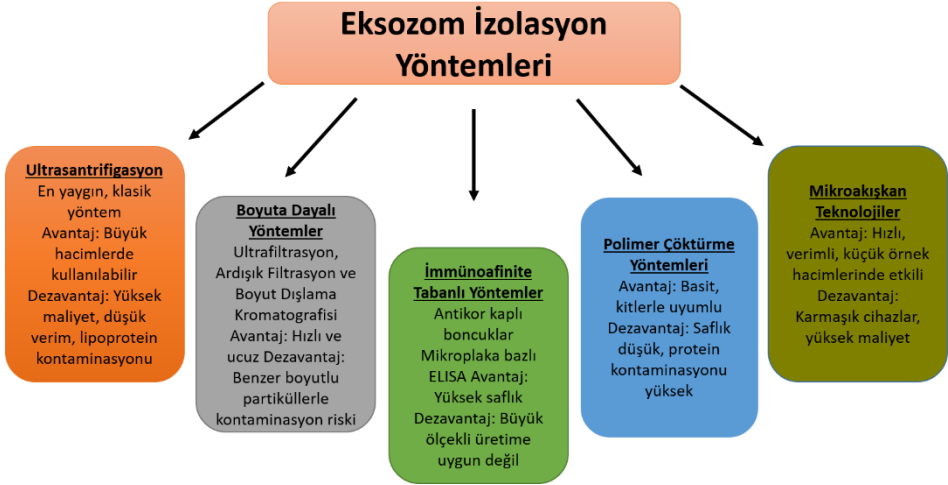
Eksozomların biyolojik materyallerden izolasyonu, sahip oldukları özgün fizikokimyasal özelliklere dayanmaktadır. Boyut, kütle, yoğunluk ve belirli proteinlerle etkileşime girme kapasiteleri sayesinde pek çok izolasyon yöntemi geliştirilmiş ve zaman içinde ileri düzeyde iyileştirilmiştir (Reátegui vd., 2018). İzole edilen eksozomların saflığı, Western blot gibi tekniklerde eksozomal belirteçlerin yoğunluğunun analiz edilmesiyle değerlendirilebilmekte, ayrıca partikül/protein oranı (mikrogram başına partikül sayısı) hesaplanarak da tanımlanmaktadır (Ren vd., 2011; Wu vd., 2015; Lässer vd., 2012; Woo vd., 2017). Bu veriler, bikinkoninik asit testi (BCA) ve nanoparçacık izleme analizi (NTA) ile elde edilmektedir. Eksozom verimliliği ise işlenmiş örneklerdeki eksozom partiküllerinin, başlangıçtaki örneklerde bulunan eksozom partiküllerine oranı ile tanımlanır ve yine NTA ile belirlenmektedir (Gao vd., 2019).

Eksozom temelli tedavilerin klinik uygulamalara aktarılmasının önündeki en büyük engellerden biri, izolasyon sürecinde düşük verim ve sınırlı etkinliktir (Gurunathan vd., 2019). Literatürde eksozom üretimini artırmaya yönelik çeşitli ölçek büyütme stratejileri tanımlanmıştır. Bunlar biyokimyasal (ör. LPS, BMP-2, HIF-1 α , IFN- γ , TNF- α), fiziksel (hipoksi, ısı stresi, açlık), mekanik (kesme kuvveti, 3D kültürleme) ve enstrümantal yaklaşımlar (hollow-fiber biyoreaktör, karıştırmalı tank biyoreaktör) olarak sınıflandırılmaktadır (Bei vd., 2021). Eksozomlar boyut, içerik, yüzey belirteçleri ve kaynak bakımından heterojen

yapıda olduklarından izolasyonları oldukça zordur. Günümüzde mevcut izolasyon teknikleri arasında ultrasantrifüjleme, boyuta dayalı izolasyon yöntemleri, polimer çöktürme, immünoafinite yakalama yöntemleri ve akustik nanofiltrelerin kullanımı yer almaktadır (Şekil 2). Ancak hiçbir yöntem tek başına ideal değildir; her yöntemin kendine özgü avantajları ve sınırlılıkları bulunmaktadır.

Eksozomları yoğunluk ve boyuta göre ayıran diferansiyel ultrasantrifüjleme, eksozomları izole etmenin en yaygın kullanılan ve geleneksel yoludur (Livshits vd., 2015; Lobb vd., 2015). Genellikle büyük miktarlarda biyolojik kültürden eksozom izole etmek için kullanılır. Ancak yüksek maliyet, düşük verim, uzun süre gerektirmesi ve lipoproteinlerle birlikte çökme riski, büyük ölçekli uygulamalarda kullanımını kısıtlamaktadır (Yang vd., 2019).

Şekil 2: Eksozom izolasyon metodları



Boyuta dayalı eksozom izolasyon yöntemleri üç ana grupta toplanır: boyut dışlama kromatografisi (SEC), ardışık filtrasyon ve ultrafiltrasyon (UF) (Haraszi vd., 2018). Ultrafiltrasyon, eksozom izolasyonu için geleneksel bir tekniktir. Bu yöntemde eksozomlar, membran filtrelerin moleküler ağırlık kesim noktası (MWCO) değerine göre ayrılır (Li vd., 2017). MWCO, membranın %90 oranında tutabildiği makromolekül ağırlığını tanımlar. Küçük moleküller membrandan geçerken, daha büyük eksozomlar tutulur. Başlangıçta biyolojik sıvıları saflaştırmak için kullanılan UF, peptid ve globüler protein gibi makromolekülleri de koruyabilmektedir. Ancak, UF'nin en önemli sınırlılığı izolasyonun saflık düzeyidir. Eksozomlarla benzer boyutlu moleküllerin ayrıştırılması zor olduğundan, bu moleküller sonraki analizlerde sorun oluşturur (Yu vd., 2018).

Bununla birlikte, büyük gözenekli membranlardan başlayıp daha küçük MWCO'ya geçilmesiyle verim artırılabilir (Li vd., 2017). Ayrıca, diferansiyel ultrases santrifügasyona göre çok daha hızlıdır ve özel cihaz gerektirmez (Hong vd., 2016; Zeringer vd., 2015). Fakat UF'de kullanılan basınç nedeniyle eksozomlarda hasar riski vardır. Bu durum, uygulanan basıncın dikkatli kontrolüyle azaltılabilir (Zeringer vd., 2015). Ardışık filtrasyon ise üç aşamadan oluşur: önce hücre ve hücre kalıntıları uzaklaştırılır, ardından serbest proteinler filtre edilir, numune yoğunlaştırılır ve son aşamada belirli gözenek çaplarına sahip filtrelerle eksozomlar ayrıştırılır (Xu vd., 2016). Size-exclusion chromatography (SEC) yönteminde ise küçük moleküller jel gözeneklerine girerek daha geç elue olurken, büyük moleküller gözeneklere giremediği için daha hızlı elue edilir. Bu prensibe dayalı olarak günümüzde ticari kolonlar yaygın şekilde kullanılmaktadır. SEC hızlı, basit ve ucuz bir yöntemdir. Elde edilen eksozomlar bütünlüğünü korur, homojen boyutludur ve biyolojik özellikleri bozulmaz. Ancak, benzer boyuttaki partiküllerle kontaminasyon riski vardır (Böing vd., 2014).

Yüksek saflıkta eksozom izolasyonu için immünoafinite ile ilişkili yakalama tabanlı yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır (Oksvold vd., 2015). Bu yöntemlerde, membran yüzey proteinlerine bağlanabilen antikor kaplı manyetik boncuklar önemli rol oynar. Eksozom yüzeyinde bulunan CD9, CD63, ALIX ve Ep-CAM gibi proteinler, bu boncuklar yardımıyla zenginleştirilebilir (Greening vd., 2015). İmmünoafinite kromatografisi, reseptör molekülleri ve özgül antikorları kullanarak eksozomları yakalar ve özellikle küçük örnek hacimleri için uygundur (Xu vd., 2020a). Bu yöntemin tipik bir örneği, serum, plazma ve idrar gibi biyolojik örneklerden eksozomları ölçmeye yarayan mikropilaka bazlı ELISA'dır (Xu vd., 2020a; Xu vd., 2019). ELISA ile elde edilen eksozom miktarı, kantitatif analiz açısından ultrasantrifüjleme ile karşılaştırılabilir düzeydedir; üstelik daha az örnek hacmi gerektirir. Örneğin 400 µL plazmadan elde edilen RNA miktarı, 2,5 mL numunenin ultrasantrifüjlenmesiyle elde edilen miktara eşittir (Zarovni vd., 2015). Bununla birlikte, immünoafinite kromatografisiyle izole edilen eksozomların saklama koşulları zordur ve geniş ölçekli üretim için uygun değildir. Ayrıca matrisin spesifik olmayan adsorpsiyonu, girişim yapan proteinlerin oluşmasına yol açarak yöntemin yaygınlaştırılmasını kısıtlar (Zhang vd., 2020).

Yukarıda belirtilen izolasyon stratejilerinin aksine, çöktürme tekniklerinin mekanizması, esas olarak eksozomları çöktürmek için polimerlerin kullanılmasına ve daha sonra daha ileri saflaştırma için hazırlanmasına dayanır (Weng vd., 2016). Biyolojik sıvılardan eksozom konsantrasyonu, çöktürme

temelli eksozom izolasyonu ile sağlanır. Eksozomların dağılılırılığı ve çözünlüğü, hücre kültürü ortamından çökelmelerini sağlamak için değıştirilebilir. Polietilen glikol (PEG) (Doyle ve Wang, 2019) gibi ticari olarak temin edilebilen çöktürme reaktifleri bunu yapabilir. Çöktürmeye dayalı eksozom izolasyon kitleri řu anda piyasada yaygın olarak bulunmaktadır. Beyin omurilik sıvısı, idrar, plazma, serum ve hücre kültürü ortamı gibi biyolojik sıvılarla uyumludurlar (Wang vd., 2020a).

Mikroakışkan teknolojiler, eksozomların diğeri nanometre boyutundaki partiküllerden ayrıştırılmasında hızlı, ucuz ve doğru yöntemler sunarak avantaj sağlar (Salafı vd., 2016). Bu yaklaşımlar, süresiz ayırma işlemlerine ihtiyaç duymadan çalıştıkları için diğeri popüler tekniklere göre önemli bir üstünlük sunar. Günümüzde mikroakışkan sistemlerde boyuta dayalı, immünoafinite temelli ve dinamik ayırma yöntemleri kullanılmaktadır (Zhu vd., 2020). Yeni bir yöntem olan ExoTIC cihazı, yüksek verim, saflık ve etkinlik sağlamasıyla öne çıkmış ve zamanla yaygınlaşmıştır. Ultra santrifüjleme (UC) ve PEG çöktürme yöntemleri (ExoQuick™ dahil) ile karşılaştırıldığında serum ve biyolojik sıvılardan eksozom elde etmede daha etkilidir (Lin vd., 2020). Ancak karmaşık cihazlara gereksinim duyması ve yüksek immünoafinite ihtiyacı gibi sınırlamaları vardır (Yang vd., 2017). Mikroakışkan platformlar yalnızca eksozomlar değil, aynı zamanda DNA, protein ve virüs ayrıştırmada da yoğun şekilde geliştirilmektedir (Garcia-Cordero ve Maerkl, 2020).

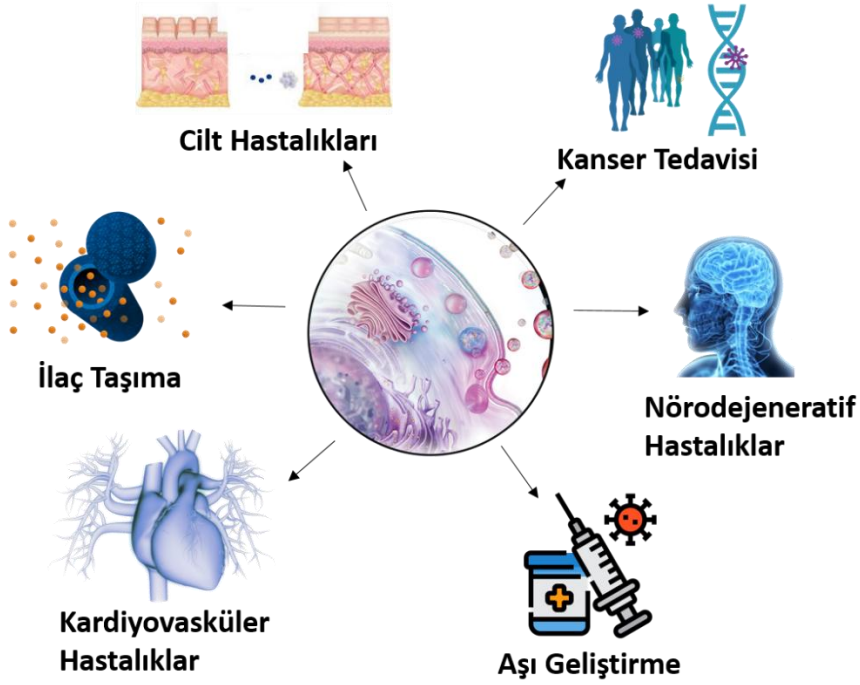
Mevcut yöntemlerin hiçbirisi tek başına tüm gereksinimleri karşılamadığından, araştırmacılar farklı izolasyon tekniklerini kombine etme yoluna gitmektedir. Örneğin UC ve SEC'in birleştirilmesi, hem büyük örnek hacimlerinin işlenmesine hem de kontaminantların uzaklaştırılmasına olanak tanıyarak verimi artırmış ve işlem süresini kısaltmıştır (Koh vd., 2018). Eksozom izolasyonu ve üretiminde önemli zorluklardan biri de MSC lerin terapötik etkilerini 50–200 nm boyutunda küçük ekstraselüler veziküller (sEV'ler) aracılığıyla göstermesidir. sEV'ler canlı hücrelerden farklı olarak yaşamsal olmayan, replike olamayan ve vücutta geçici varlık gösteren yapılar olduğundan, sterilizasyonu filtreleme ile kolaydır. Bu nedenle akülos MSC-sEV ürünleri, hücresel MSC ürünlerine kıyasla klinik uygulamalar için daha güvenli ve uygulanabilir kabul edilmektedir. Ancak, sEV'lerin üretim sürecinde dış çevresel faktörlere duyarlılığı kalite kontrol gerekliliğini ortaya çıkarır. Bu nedenle MSC-sEV terapötiklerinin geliştirilmesinde kimlik ve etkinlik özelliklerini değerlendirecek kalite kontrol önlemleri zorunludur (Gimona vd., 2021).

5. Eksozom Terapi

Son yıllarda hücre temelli tedavilerde doğrudan kök hücre nakilleri yerine, bu hücrelerden türeyen eksozomların kullanımı ön plana çıkmaktadır. Eksozomlar, kök hücrelerin sahip olduğu immünmodülatuar, rejeneratif ve parakrin etkileri büyük ölçüde yansıtırken, hücre temelli tedavilerin olası tümörijenik ve immünojenik risklerini azaltma potansiyeline sahiptir (Phinney ve Pittenger, 2017; Ibrahim vd., 2014; Han vd., 2016). Bu nedenle farklı kaynaklardan elde edilen eksozomlar; rejeneratif tiptan kanser tedavisine, nörolojik ve inflamatuvar hastalıklardan kardiyovasküler bozukluklara kadar geniş bir yelpazede araştırılmaktadır (Huda vd., 2014; Sun ve Liu, 2014; Xu vd., 2020b; Zipkin, 2019; Tai vd., 2018; Skuratovskaia vd., 2021; Chaput ve Théry, 2011; Lai vd., 2013; Alvarez-Erviti vd., 2011) (Şekil 3). Eksozomların klinik potansiyelini artırmak için farklı stratejiler geliştirilmiştir. Mezankimal kök hücrelerin hipoksi, asidik ortam veya lipopolisakkaritlerle ön koşullandırılması, norepinefrin ve N-metildopamin gibi ajanlarla stimülasyonu ya da genetik modifikasyon teknikleri eksozom üretimini artırmakta ve terapötik etkinliklerini güçlendirmektedir (Wu vd., 2021; Jafari vd., 2020; Li vd., 2022; Wang vd., 2020b). Bunun yanı sıra biyomateryallerle kombinasyon stratejileri, eksozomların hedef dokuya iletilmesini kolaylaştırmakta ve biyoyararlanımlarını artırmaktadır (Li vd., 2022). Ancak bu yaklaşımların klinik güvenliği henüz tam olarak ortaya konmamıştır. Özellikle bitkisel veya mikrobiyal kaynaklı eksozomların terapötik kullanımı üzerine yapılan çalışmalar erken aşamadır ve güvenlik profilleri net değildir (Li vd., 2022).

ClinicalTrials.gov verilerine göre günümüzde kayıtlı 33 eksozom temelli klinik çalışma bulunmakta, bunların %60'ı MSC kaynaklı eksozomları içermektedir ve bu çalışmalar arasında en yoğun ilgi gören alan COVID-19 pnömonisi olup, MSC eksozomlarının immünmodülasyon ve rejeneratif potansiyeli burada öne çıkmaktadır (Rezaie vd., 2022). Bununla birlikte, MSC eksozomlarının “çift taraflı kılıç” etkisi yaratabileceği, yani bazı olumlu sonuçların yanında güvenlik sorunları ve istenmeyen yan etkiler doğurabileceği de rapor edilmiştir (Vakhshiteh vd., 2019; Zhou vd., 2018; Sun vd., 2016). ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Nebraska’da onaysız eksozom ürünleriyle tedavi edilen hastalarda ciddi advers etkiler görüldüğünü bildirmiş, bu durum da klinik uygulamalar için sıkı düzenleyici denetim gerekliliğini vurgulamıştır (Rezaie vd., 2022).

Şekil 3: Sağlık alanında eksozom kullanım alanları



5.1. Kanser Tedavisinde Eksozomlar

Kanser hücrelerinden türeyen eksozomlar, tümör progresyonu, metastaz ve immün yanıtı kaçış gibi süreçlere aktif olarak katılmaktadır (Sun ve Liu, 2014; Xu vd., 2020b; Zipkin, 2019; Tang vd., 2020). Bu nedenle eksozomlar yalnızca hastalık patogenezinin anlaşılmasında değil, aynı zamanda terapötik ajan taşıyıcıları olarak da değerlidir. Son yıllarda eksozom tabanlı immünoterapi çalışmaları öne çıkmış, siRNA, miRNA ve protein taşıyan eksozomların spesifik tümör hücrelerine hedeflenerek uygulandığında immün yanıtı modüle ettiği ve kemoterapi ile kombine edildiğinde sinerjik etki oluşturduğu gösterilmiştir (Wang vd., 2016; Xu vd., 2020b). Yapılan bir çalışmada siRNA'nın eksozomlar aracılığıyla taşınarak üçlü negatif meme kanseri vakalarında yüksek metastatik progresyon ve nüks oranlarının azaltılması ve postoperatif meme kanseri metastazlarının yönetilmesi amaçlanmıştır (Zhao vd., 2020). Bu çalışmada, otolog meme kanseri hücrelerinden eksozomlar izole edilmiş ve eksozom membran kaplamalı siS100A4 nanoparçacıkları oluşturmak için kullanılmıştır. Ardından, kationik bovin serum albümini (CBSA) eksozomlara bağlanmıştır. Yeni geliştirilen CBSA-bağlı siS100A4 eksozomlarının ilaç taşınımı, yüksek

biyoyumluluğu ve siRNA degradasyonuna karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. In vivo testlerde bu sistemin postoperatif meme kanserini baskılamada etkili olduğu ve kanser hücrelerinin büyümesini engelleyen genlerin anlamlı şekilde susturulduğu bildirilmiştir (Zhao vd., 2020).

Fonksiyonel mutasyon kazanımı veya kaybı kanser gelişimi ile doğrudan ilişkili olan miRNA'lar da kanser hücrelerinde eksozomlar aracılığıyla taşınmaktadır. Bir çalışmada, meme kanserini tedavi etmek amacıyla miRNA replasman terapisi için benzersiz bir eksozom tabanlı platform geliştirilmiştir (Ohno vd., 2013). Bu çalışmada, eksozomlar eksojen antikanser RNA olan let-7a miRNA'sını EGFR eksprese eden meme kanseri hücrelerine taşımak için kullanılmıştır. Hedeflenmiş iletimi artırmak için, EGFR'ye özgü GE11 peptidi eksozom yüzeyine eklenmiştir. İn vitro deneylerden elde edilen veriler, eksozomların HCC70, HCC1954 ve MCF-7 dahil olmak üzere çeşitli meme kanseri hücreleri tarafından alındığını göstermiştir. Let-7a miRNA içeren eksozomlar RAG2-/farelerdeki tümörlere uygulandığında, tümör büyümesinde lokalize bir azalma sağlanmıştır (Ohno vd., 2013).

Kanser kök hücrelerini hedefleyen eksozom temelli yaklaşımlar da geleneksel kemoterapötiklere kıyasla daha düşük toksisite ve daha yüksek seçicilik sağlamaktadır (Wang vd., 2016). Ancak kanser eksozomlarının heterojenitesi ve potansiyel immün reddi klinik uygulamalar için halen büyük bir engel teşkil etmektedir (Xu vd., 2020b; Sun ve Liu, 2014).

5.2. Kardiyovasküler Hastalıklar

Son yıllarda yapılan araştırmalar, eksozomların koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, serebrovasküler bozukluklar ve diğer kardiyovasküler hastalıklarda önemli bir terapötik potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, kalp dokusundaki farklı hücre tiplerinin eksozomlar aracılığıyla karşılıklı iletişim kurduğu bildirilmiştir (Thongboonkerd, 2019). Özellikle kardiyak eksozomların, endotel hücrelerinde vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) reseptörü-2 ekspresyonunu artırarak Hsp20 üretimini indüklediği ve bu mekanizma üzerinden anjiyogenezi teşvik ettiği dikkat çekicidir. Ayrıca, kök hücre kaynaklı eksozomların kalp dokusunun onarım süreçlerinde kritik bir rol oynadığı ortaya konmuştur (Rajput vd., 2022). Preklinik çalışmalar, eksozomların miyokardiyal rejenerasyonu desteklediğini, inflamasyonu azalttığını ve yeni damar oluşumunu uyardığını da göstermektedir (Zhao vd., 2015). Bununla birlikte, Willis vd. (2017), kardiyovasküler uygulamalarda eksozomların biyolojik fonksiyonlarının ve potansiyelinin daha iyi anlaşılması

gerektiğini vurgulamış; izolasyon ve karakterizasyon yöntemlerindeki farklılıkların klinik etkinlik açısından kritik öneme sahip olduğunu belirtmiştir.

Eksozomların, kardiyovasküler ve arteriyel fizyolojide hücreler arası iletişimde temel araçlar olarak görev aldığı bilinmektedir. Örneğin, kardiyak fibroblastlar ile kardiyomiyositler arasında eksozomlar aracılığıyla taşınan miR-21, kardiyomiyosit hipertrofisini indüklemektedir (Bang vd., 2014). Chen vd. (2019), oksijen-glikoz yoksunluğu koşullarında işlenen kardiyomiyositlerden elde edilen koşullandırılmış ortamda eksozomal miR-21'in artış gösterdiğini rapor etmiş; bu mikroRNA'nın kardiyomiyositleri oksidatif strese karşı koruduğunu, fibroblast aktivasyonunu indüklediğini ve endotelial hücrelerde anjiyogenezi desteklediğini bildirmiştir. Benzer şekilde, endotel kaynaklı eksozomlardan salınan miR-126'nın vasküler endotel tamirinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Jansen vd., 2013).

Bunun yanı sıra, glikoz yoksunluğu koşullarında kardiyomiyositlerin fonksiyonel glikoz taşıyıcıları ve glikolitik enzimler içeren eksozom üretimini artırdığı saptanmıştır. Bu eksozomlar alıcı endotelial hücreler tarafından internalize edildiğinde, glikoz alımı, glikolitik aktivite ve pirüvat üretiminde belirgin değişikliklere yol açmıştır (Garcia vd., 2016). Ayrıca, kardiyomiyositler, kardiyak fibroblastlar, trombositler, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, makrofajlar ve kardiyak progenitör hücreler tarafından salgılanan eksozomların; koroner arter hastalığı, hipertrofi, kardiyak rejenerasyon ve ateroskleroz gibi çeşitli kardiyovasküler patolojilerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kishore vd., 2016; Ibrahim ve Marbán, 2016; Zhang vd., 2017).

5.3. Nörodejeneratif Hastalıklarda Eksozomlar

Nörodejeneratif hastalıklar, farklı mekanizmalar sonucu işlevsel nöron kaybına yol açan ve klinik seyri ağır bozukluklardır. Bu süreçte akut veya kronik nöroenflamasyonun patofizyolojide kritik bir rol oynadığı bilinmektedir (Dugger ve Dickson, 2017). Son yıllarda yapılan araştırmalar, eksozomların bu hastalıkların hem patogenezinde hem de terapötik yaklaşımlarında önemli roller üstlendiğini ortaya koymuştur.

Alzheimer hastalığında tau ve β -amiloid ($A\beta$) taşıyan eksozomların hastalık progresyonu ile ilişkili olduğu ve biyobelirteç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Asai vd., 2015; Yuyama vd., 2015). Neuronal eksozomların $A\beta$ temizlenmesine katkıda bulunarak hastalık ilerleyişini yavaşlatabileceği de ileri sürülmektedir (Yuyama vd., 2015). Ayrıca, Alzheimer hastalığına yönelik çalışmalarda yağ dokusundan elde edilen mezenkimal kök hücreler (AD- MSC)'in, β -amiloid peptidlerin yıkımında rol alan neprilizin açısından zengin

eksozomlar salgıladığı, bu eksozomların nöroblastoma hücrelerine aktarılmasıyla hücre içi ve dışı A β düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (Katsuda vd., 2013). Parkinson hastalığında, α -sinüklein içeren eksozomların nöronal ölümle ilişkili olduğu, ancak aynı zamanda bu protein agregatlarının uzaklaştırılmasına katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (Stuendl vd., 2016; Emmanouilidou vd., 2010). Benzer şekilde, dental pulpa MSC'lerinden türetilen eksozomların 3 boyutlu kültür ortamında 6-hidroksi-dopamin aracılığıyla tetiklenen dopaminergic nöron ölümünü önleyebildiği gösterilmiştir (Jarmalavičiūtė vd., 2015). Amiyotrofik lateral skleroz (ALS) patogeneğinde ise, eksozomların SOD1 ve TDP-43 gibi patolojik proteinleri taşıdığı rapor edilmiş olup, bu durum hastalık ilerleyişinde belirleyici olabileceğini düşündürmektedir (Benussi vd., 2016). Preklinik inme modelleri de eksozomların nöroprotektif potansiyelini desteklemektedir. Kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler (BM-MSC)'den elde edilen eksozomların post-iskemik nörolojik hasarın rehabilitasyonunda terapötik yararlar sağladığı, angioneurogenezi artırdığı ve uzun süreli nöroprotektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Doepfner vd., 2015). Sıçan inme modelinde intravenöz olarak verilen BM-MSC eksozomlarının nörovasküler plastisiteyi artırdığı, striatum ve korteksin iskemik bölgelerinde aksonal yoğunluk ve sinaptopfizinin pozitif alanları genişlettiği rapor edilmiştir (Xin vd., 2013a). Bu etkinin, eksozomların içerdiği miR-133b aracılığıyla astrositler ve nöronlarda nöral yeniden yapılanmayı kolaylaştırmasından kaynaklandığı gösterilmiştir (Xin vd., 2013b). Ayrıca, Wharton jölesi kaynaklı MSC'lerden türetilen eksozomların, PBI sıçan modelinde CXCL2, CXCL10, IL-1, IL-18 ve TNF- α gibi inflamatuvar proteinlerin üretimini ve mikroglia aktivasyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Thomi ve Surbek, 2019).

Tüm bu bulgular, eksozomların Alzheimer, Parkinson ve ALS gibi nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde yalnızca patolojik proteinlerin taşınması yoluyla değil, aynı zamanda enflamasyonun baskılanması, nöronal yeniden yapılanmanın desteklenmesi ve protein agregatlarının temizlenmesi gibi mekanizmalarla da rol oynadığını göstermektedir.

5.4. İlaç Taşıma Uygulamaları

Eksozomlar, terapötik ajanların taşınması için geliştirilen biyolojik nanoplatformlar olarak son yıllarda dikkat çekmiş ve hem preklinik hem de klinik çalışmalarda umut verici sonuçlar ortaya koymuştur (Bunggulawa vd., 2018). Fosfolipid yapıları bakımından liposomlara benzemelerine rağmen, farklı vücut sıvılarından veya hücrelerden elde edilebilmeleri, kompleks lipid içerikleri ve yüzey proteinleri sayesinde özgül doku ve hücre hedeflemesinde avantaj sağlamaktadır (Mathieu vd., 2019; Hoppstädter vd., 2019). Bu özellikleri, onları

biyobozunur liposomlar ile birlikte en yaygın kullanılan ilaç taşıyıcı platformların temeline yerleştirmiştir (Sharma ve Sharma, 1997). Küçük boyutları sayesinde ekstrasellüler matriksi ve damar duvarını geçebilmeleri, mononükleer makrofajlar tarafından fagosite edilmelerini de engellemektedir. Ayrıca yüzeylerinde bulunan CD59 ve CD55 molekülleri opsonin ve koagülasyon faktörlerinin aktivasyonunu baskılayarak dolaşımda stabil kalmalarına katkıda bulunur (Tatischeff ve Alfsen, 2011).

Eksozomların en cazip özelliklerinden biri doğal biyolojik barkodlara sahip olmalarıdır; zar yüzeyindeki protein ve lipit kombinasyonları, hedef hücrelerle seçici etkileşim kurmalarına imkân tanır. Bu durum onları, sentetik nanotaşıyıcılara kıyasla farmakokinetik ve biyouyumluluk açısından üstün kılarken (van der Meel vd., 2019; Clemmens ve Lambert, 2018), aynı zamanda immün sistem tarafından yabancı antijenler olarak tanınma riskini de beraberinde getirebilir. Nitekim, tümör hücrelerinden türeyen eksozomların bağışıklık yanıtını baskıladığı ve tümör progresyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Whiteside, 2016). Ayrıca eksozom yüzeyindeki belirli proteinlerin veya ligandların uzaklaştırılması, hedef hücrelere alım yeteneğini ve immünomodülatör etkilerini azaltabilmektedir (Luan vd., 2017; Robbins ve Morelli, 2014).

Terapötik açıdan eksozomlar, siRNA, antagomirler, proteinler, antiinflamatuvar ajanlar ve hatta geleneksel tıp bileşenleri gibi çeşitli moleküllerin taşınmasında kullanılabilir (Bunggulawa vd., 2018; Batrakova ve Kim, 2015; van den Boorn vd., 2011). Bu yükleme, doğrudan yöntemlerle (izole eksozomlara ilaç eklenmesi) veya dolaylı yöntemlerle (ebeveyn hücrelerin ilaçla yüklenmesi ya da genetik olarak modifiye edilmesi) gerçekleştirilebilir. Ayrıca, eksozomlarla liposomların birleştirilmesiyle oluşturulan hibrit yapılar da tanımlanmıştır (Antimisialis vd., 2018). Klinik denemelerde kurkuminin bitki kaynaklı eksozomlarla kapsüllenmesi ve kolorektal kanser ile irritabl bağırsak sendromunda denenmesi (NCT01294072, NCT04879810), ayrıca mezenkimal kök hücrelerin genetik olarak düzenlenerek terapötik eksozom üretiminde kullanılması dikkat çekicidir. Ancak bu çalışmaların çoğu hâlen devam etmekte olup sonuçları yayımlanmamıştır.

Bununla birlikte, eksozomların klinik kullanıma aktarılmasında bazı engeller bulunmaktadır. Boyut heterojenliği, doğal üretim süreçlerindeki farklılıklar ve saflaştırma yöntemlerinin standardizasyonundaki eksiklikler, büyük ölçekli üretimlerini zorlaştırmaktadır (Armstrong ve Stevens, 2018; Kibria vd., 2018; Colao vd., 2018). Liposomlarda ilaç yükleme yöntemleri endüstriyel düzeyde optimize edilmişken, eksozomlarda benzer standartların hâlen geliştirilmesi

gerekmektedir. Dolayısıyla eksozomların güvenilir terapötik taşıyıcılar olarak kabul edilebilmesi için hızlı, maliyet-etkin ve tekrarlanabilir üretim süreçlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

5.5. Aşı Geliştirmede Eksozomların Kullanımı

Eksozomların ilaç taşıma dışında öne çıkan bir diğer terapötik potansiyeli, hücresiz aşılar olarak kullanımlarıdır. Tümör peptidleri taşıyan eksozomların sitotoksik T lenfosit repertuvarını artırarak tümörlere duyarlı T hücrelerini yeniden aktive ettiği, böylece bağışıklık sistemini tümör hücrelerini ortadan kaldırmaya yönlendirebildiği gösterilmiştir. Bu nedenle eksozomlar, hücresiz kanser aşısı adayları olarak yoğun şekilde araştırılmaktadır (Pitt vd., 2014). Özellikle dendritik hücre kökenli eksozomlar, antikanser immünoterapötik ajanlar olarak dikkat çekici bir ilgi görmektedir.

Son yıllarda biyomedikal mühendislikte eksozomların aşı vektörü olarak kullanımına yönelik çalışmalar ivme kazanmıştır. Doğal yapıları sayesinde biyoyumlu, düşük toksisiteli ve immünojenitesi sınırlı olmaları, eksozomları hem kanser hem de viral enfeksiyonlara karşı hücresiz aşı geliştirilmesinde cazip bir seçenek haline getirmiştir (Santos ve Almeida, 2021). Eksozomlar, antijenleri doğrudan hedef hücrelere iletebilmekte ve böylece virüs içermeyen etkili aşılardan tasarlanmasını mümkün kılmaktadır. Bu bağlamda, MSC kaynaklı eksozomların pro-anjiyojenik, antiinflamatuvar ve immünmodülatör özelliklerinden yararlanılarak SARS-CoV-2'ye karşı aşı çalışmaları yürütülmektedir. Multivalent protein temelli aşılardan, virüsün hızla değişen suşlarına karşı geliştirildiği ve STX adlı eksozom bazlı COVID-19 aşısının klinik testlerde umut verici sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Cacciottolo vd., 2023).

Eksozom tabanlı aşılardan tarihsel gelişimi 1980'lerde eksozomların keşfinden günümüze kadar geniş bir araştırma alanı oluşturmıştır. Bu aşılardan çoklu antijen sunabilmesi, immün yanıtı modüle edebilmesi ve uzun süreli bağışıklık oluşturma potansiyeli, onları klasik aşı stratejilerine kıyasla avantajlı kılmaktadır (Santos ve Almeida, 2021). Hâlihazırda kanser, enfeksiyöz hastalıklar ve otoimmün bozukluklara yönelik eksozom aşılardan klinik denemelerde değerlendirilmektedir.

Tümör hücrelerinden türetilen eksozomların güçlü antitümör immün yanıtları indüklediği ve çeşitli enfeksiyon hastalıklarına karşı da umut vadeden sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Xu vd., 2020b). Eksozom zarında bulunan MHC ve kostimülatör moleküller, immün hücrelerin antitümör yanıtını kolaylaştırmaktadır (Tran vd., 2015). Glioblastoma hastalarında yapılan çalışmalarda düşük seviyelerde CD9+/SVN+ ve CD9+/GFAP+/SVN+

eksozomların uzun dönem sağkalımla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Galbo vd., 2017). Ayrıca, tümör hücresi kaynaklı eksozomların DNA iplikçikleri taşıyarak STING/cGAS yolu üzerinden immün hücreleri uyardığı, böylece tümör immünitesini düzenleyebileceği ve kontrol noktası immünoterapisi ile etkileşebileceği ileri sürülmüştür (Sharma ve Johnson, 2020).

Dendritik hücre kökenli eksozomların ise bazı küçük klinik denemelerde güvenli ve uygulanabilir olduğu gösterilmiştir. Metastatik melanomda otolog Dex aşısı kullanılan faz I klinik çalışmada güvenlik doğrulanmış, ancak güçlü CD4+ ve CD8+ T hücre yanıtları elde edilememiştir (Escudier vd., 2005). Benzer şekilde, küçük hücreli dışı akciğer kanseri (NSCLC) hastalarında dendritik hücre eksozomlarıyla yapılan immünoterapik aşıları (Dex aşılar) doğal öldürücü bağışıklık hücre (NK hücre) aktivitesini ve melanom antijen gen ailesine özgü (MAGE-spesifik) T hücre yanıtlarını artırabilmiş, ancak faz II çalışmada hedeflenen %50 progresyonsuz sağkalım elde edilememiştir (Morse vd., 2005; Besse vd., 2016). Bu nedenle Dex bazlı aşılarda, NK hücre tedavileriyle kombinasyon halinde daha güçlü immünojenik yanıtlar oluşturabileceği düşünülmektedir [83].

Günümüzde Codiak Biosciences, Capricor Therapeutics ve Exopharm Pty Ltd gibi birçok biyoteknoloji şirketi, eksozom bazlı aşı ve tedavi platformları (ör. exoVACCTM, ExoPro, Plexaris) geliştirmekte, bunları hem enfeksiyon hastalıkları hem de nörolojik bozukluklar için klinik denemelere taşımaktadır. Bu çalışmalar, eksozomların immünoterapötik aşı adayları olarak hem kanser hem de enfeksiyon hastalıklarında umut vadettiğini göstermektedir (Katakowski ve Chopp, 2016; Kuçuk vd., 2021; Patel vd., 2019). Ancak üretim süreçlerinin standardizasyonu, antijen dağılım mekanizmalarının anlaşılması ve uzun dönem güvenlik verilerinin elde edilmesi, klinik uygulamaya geçiş için halen çözülmesi gereken temel sorunlardır.

6. Genel Değerlendirme ve Gelecek Perspektifler

Eksozomlar, son yirmi yılda biyomedikal araştırmaların en dikkat çekici alanlarından biri haline gelmiştir. Çeşitli hücre tiplerinden salgılanmaları, neredeyse tüm biyolojik sıvılarda bulunmaları ve hücreler arası iletişimi düzenleyen doğal veziküller olmaları, onları hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde kilit bir konuma yerleştirmiştir. Bu doğal özellikler, eksozomların biyobelirteç olarak kullanımı, ilaç taşıyıcı sistemler, hücresiz tedaviler, doku rejenerasyonu, gen tedavisi ve immünoterapötik aşı geliştirme gibi geniş bir yelpazede değerlendirilmelerine imkân tanımaktadır. Özellikle biyouyumlu ve biyobozunur olmaları, düşük toksisiteye sahip olmaları, immün sistemden

kaçabilmeleri ve kan-beyin bariyeri gibi biyolojik bariyerleri aşabilmeleri, onları sentetik nanotaşıyıcılara kıyasla üstün kılmaktadır.

Eksozomlar, yükledikleri proteinler, nükleik asitler ve diğer biyolojik moleküller aracılığıyla hastalıkların tanı ve tedavisinde eşsiz avantajlar sunmaktadır. Yüzey modifikasyon teknikleri ile eksozomların hedefleme kapasitesinin artırılması, biyolojik etkilerinin güçlendirilmesi ve spesifik hastalık hücrelerine yönlendirilmesi mümkün hale gelmiştir. Bu sayede, immünolojik hastalıklar, kardiyovasküler bozukluklar, nörodejeneratif süreçler ve kanser dahil olmak üzere pek çok farklı hastalıkta tedavi edici potansiyel göstermektedir. Ayrıca eksozomlar, diğer taşıyıcı sistemlerden farklı olarak, nükleik asitleri endozomal ve lizozomal yıkıma karşı koruyarak siRNA, mRNA ve DNA gibi biyomoleküllerin transfüksiyon etkinliğini artırabilmektedir.

Bununla birlikte, eksozomların klinik kullanıma aktarılmasının önünde hâlâ önemli engeller bulunmaktadır. Büyük ölçekli üretim süreçlerinin standardizasyonu, saflaştırma yöntemlerinin iyileştirilmesi, depolama koşullarının uzun vadeli güvenilirliğinin belirlenmesi ve dozaj optimizasyonu çözülmesi gereken başlıca sorunlardır. Ayrıca eksozomların in vivo kargo paketlenme ve salınım mekanizmalarının yetersiz anlaşılması, farmakokinetik ve toksikolojik doğrulama çalışmalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Klinik denemelerden elde edilen umut verici sonuçlara rağmen, üretim maliyetleri, güvenlik parametreleri ve olası immün yanıt riskleri, bu alanda atılması gereken adımlar arasında yer almaktadır.

Gelecek perspektif açısından, eksozom araştırmalarının disiplinler arası işbirliği ile daha da hız kazanması beklenmektedir. Klinik uzmanlar, hücre biyologları, biyoteknoloji mühendisleri ve hesaplamalı biyoloji alanındaki araştırmacıların ortak katkıları, hem üretim süreçlerinin endüstriyel ölçekte optimize edilmesini hem de güvenlik ve etkililik kriterlerinin uluslararası düzeyde standardize edilmesini sağlayacaktır. GMP standartlarına uygun olarak üretilen insan hücresi kaynaklı eksozomların klinik denemelere girmesi, bu teknolojinin güvenilirliği açısından önemli bir adım olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, bitki kaynaklı eksozomların klinik araştırmalarda yer alması, gelecekte daha geniş biyolojik kaynakların da kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, eksozomlar yüksek biyoyoumlulukları, düşük immünojenisitetleri, biyolojik bariyerleri geçme yetenekleri ve hedefleme kapasitesi sayesinde nanomedisinde çığır açabilecek doğal taşıyıcı sistemlerdir. Ancak bu potansiyelin klinik gerçekliğe dönüşebilmesi için üretim ölçeğinin artırılması, kalite kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi, uzun dönem güvenlik

verilerinin elde edilmesi ve farmakokinetik-toksikolojik analizlerin tamamlanması gerekmektedir. Tüm bu hedefler başarıldığında, eksozomların modern tıbbın en önemli terapötik araçlarından biri haline geleceği ve pek çok kronik, dejeneratif ve malign hastalığın tedavisinde devrim niteliğinde çözümler sunacağı öngörülmektedir.

Kaynaklar

- Agrawal, A. K., Aqil, F., Jeyabalan, J., *et al.* (2017). Milk-derived exosomes for oral delivery of paclitaxel. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(5), 1627–1636. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.03.001>
- Alvarez-Erviti, L., Seow, Y., Yin, H., Betts, C., Lakhali, S., & Wood, M. J. A. (2011). Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nature Biotechnology*, 29(4), 341–345. <https://doi.org/10.1038/nbt.1807>
- Antimisiaris, S. G., Mourtas, S., & Marazioti, A. (2018). Exosomes and exosome-inspired vesicles for targeted drug delivery. *Pharmaceutics*, 10(4), 218. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040218>
- Armstrong, J. P., & Stevens, M. M. (2018). Strategic design of extracellular vesicle drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 130, 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.06.017>
- Asai, H., Ikezu, S., Tsunoda, S., Medalla, M., Luebke, J., Haydar, T., ... Ikezu, T. (2015). Depletion of microglia and inhibition of exosome synthesis halt tau propagation. *Nature Neuroscience*. <https://doi.org/10.1038/nn.4132>
- Batrakova, E. V., & Kim, M. S. (2015). Using exosomes, naturally-equipped nanocarriers, for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 219, 396–405. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.07.030>
- Bebelman, M. P., Smit, M. J., Pegtel, D. M., & Baglio, S. R. (2018). Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 188, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.02.013>
- Bang, C., Batkai, S., Dangwal, S., Gupta, S. K., Foinquinos, A., Holzmann, A., ... Thum, T. (2014). Cardiac fibroblast-derived microRNA passenger strand-enriched exosomes mediate cardiomyocyte hypertrophy. *Journal of Clinical Investigation*, 124(5), 2136–2146. <https://doi.org/10.1172/JCI70577>
- Bei, H. P., Hung, P. M., Yeung, H. L., Wang, S., & Zhao, X. (2021). Bone-a-petite: Engineering exosomes towards bone, osteochondral, and cartilage repair. *Small*, 17(50), 2101741. <https://doi.org/10.1002/smll.202101741>
- Bellingham, S. A., Coleman, B. M., & Hill, A. F. (2012). Small RNA deep sequencing reveals a distinct miRNA signature released in exosomes from prion-infected neuronal cells. *Nucleic Acids Research*, 40(21), 10937–10949. <https://doi.org/10.1093/nar/gks832>
- Benussi, L., Ciani, M., Tonoli, E., Morbin, M., Palamara, L., Albani, D., ... Ghidoni, R. (2016). Loss of exosomes in progranulin-associated frontotemporal dementia. *Neurobiology of Aging*, 40, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.01.011>

- Besse, B., Charrier, M., Lapierre, V., Dansin, E., Lantz, O., Planchard, D., ... Laplanche, A. (2016). Dendritic cell-derived exosomes as maintenance immunotherapy after first-line chemotherapy in NSCLC. *OncImmunology*, 5(4), e1071008. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1071008>
- Bobrie, A., Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. (2011). Exosome secretion: Molecular mechanisms and roles in immune responses. *Traffic*, 12(12), 1659–1668. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01225.x>
- Böing, A. N., van der Pol, E., Grootemaat, A. E., Coumans, F. A., Sturk, A., & Nieuwland, R. (2014). Single-step isolation of extracellular vesicles by size-exclusion chromatography. *Journal of Extracellular Vesicles*, 3(1), 23430. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.23430>
- Bryl, R., Borowiec, B., Siroma, R. S., Pinto, N., Melo, M. A., Shibli, J. A., & Dyszkiewicz-Konwińska, M. (2020). Current application of exosomes in medicine. *Medical Journal of Cell Biology*, 8(3), 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.medjcb.2020.08.001>
- Bunggulawa, E. J., Wang, W., Yin, T., Wang, N., Durkan, C., Wang, Y., & Wang, G. (2018). Recent advancements in the use of exosomes as drug delivery systems. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0403-9>
- Cacciottolo, M., Nice, J. B., Li, Y., *et al.* (2023). Exosome-based multivalent vaccine: Achieving potent immunization, broadened reactivity, and strong T-cell responses with nanograms of proteins. *Microbiology Spectrum*, 11(5), e0050323. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00503-23>
- Chaput, N., & Théry, C. (2011). Exosomes: Immune properties and potential clinical implementations. *Seminars in Immunopathology*, 33(5), 419–440. <https://doi.org/10.1007/s00281-010-0233-9>
- Chen, C.-H., Hsu, S.-Y., Chiu, C.-C., & Leu, S. (2019). MicroRNA-21 mediates the protective effect of cardiomyocyte-derived conditioned medium on ameliorating myocardial infarction in rats. *Cells*, 8(7), 735. <https://doi.org/10.3390/cells8070735>
- Choi, D., Montermini, L., Kim, D. K., Meehan, B., Roth, F. P., & Rak, J. (2018). The impact of oncogenic EGFRvIII on the proteome of extracellular vesicles released from glioblastoma cells. *Molecular & Cellular Proteomics*, 17(10), 1948–1964. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA118.000702>
- Ciardiello, C., Cavallini, L., Spinelli, C., Yang, J., Reis-Sobreiro, M., De Candia, P., ... Di Vizio, D. (2016). Focus on extracellular vesicles: New frontiers of cell-to-cell communication in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 175. <https://doi.org/10.3390/ijms17020175>

- Clemmens, H., & Lambert, D. W. (2018). Extracellular vesicles: Translational challenges and opportunities. *Biochemical Society Transactions*, 46(5), 1073–1082. <https://doi.org/10.1042/BST20180137>
- Colao, I. L., Corteling, R., Bracewell, D., & Wall, I. (2018). Manufacturing exosomes: A promising therapeutic platform. *Trends in Molecular Medicine*, 24(3), 242–256. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.12.006>
- Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. (2014). Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 30, 255–289. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>
- Ding, Y., Luo, Q., Que, H., Wang, N., Gong, P., & Gu, J. (2022). Mesenchymal stem cell-derived exosomes: A promising therapeutic agent for the treatment of liver diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4266. <https://doi.org/10.3390/ijms23084266>
- Dragovic, R. A., Gardiner, C., Brooks, A. S., Tannetta, D. S., Ferguson, D. J. P., Hole, P., ... Sargent, I. L. (2011). Sizing and phenotyping of cellular vesicles using nanoparticle tracking analysis. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 7(6), 780–788. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.04.003>
- Doeppner, T. R., Herz, J., Görgens, A., Schlechter, J., Ludwig, A.-K., Radtke, S., ... Hermann, D. M. (2015). Extracellular vesicles improve post-stroke neuroregeneration and prevent postischemic immunosuppression. *Stem Cells Translational Medicine*, 4(10), 1131–1143. <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0078>
- Doyle, L. M., & Wang, M. Z. (2019). Overview of extracellular vesicles, their origin, composition, purpose, and methods for exosome isolation and analysis. *Cells*, 8(7), 727–750. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
- Dugger, B. N., & Dickson, D. W. (2017). Pathology of neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(7), a028035. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028035>
- Emmanouilidou, E., Melachroinou, K., Roumeliotis, T., Garbis, S. D., Ntzouni, M., Margaritis, L. H., ... Vekrellis, K. (2010). Cell-produced α -synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival. *Journal of Neuroscience*, 30(20), 6838–6851. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5699-09.2010>
- Escudier, B., Dorval, T., Chaput, N., André, F., Caby, M.-P., Novault, S., ... Amigorena, S. (2005). Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: Results of the first phase I clinical trial. *Journal of Translational Medicine*, 3, 10. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-3-10>

- Fanale, D., Taverna, S., Russo, A., & Bazan, V. (2018). Circular RNA in exosomes. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1087, pp. 109–117). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1426-1_9
- Fitzner, D., Schnaars, M., Van Rossum, D., Krishnamoorthy, G., Dibaj, P., Bakhti, M., ... Simons, M. (2011). Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *Journal of Cell Science*, 124(3), 447–458. <https://doi.org/10.1242/jcs.074088>
- Galbo, P. M., Jr., Ciesielski, M. J., Figel, S., Maguire, O., Qiu, J., Wiltsie, L., ... Fenstermaker, R. A. (2017). Circulating CD9+/GFAP+/survivin+ exosomes in malignant glioma patients following survivin vaccination. *Oncotarget*, 8(67), 114722–114735. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23028>
- Gang, D., Yu, C. J., Zhu, S., Zhu, P., & Nasser, M. I. (2021). Application of mesenchymal stem cell-derived exosomes in kidney diseases. *Cellular Immunology*, 364, 104358. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2021.104358>
- Garcia-Cordero, J. L., & Maerkl, S. J. (2020). Microfluidic systems for cancer diagnostics. *Current Opinion in Biotechnology*, 65, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.01.006>
- Gao, F., Jiao, F., Xia, C., Zhao, Y., Ying, W., Xie, Y., ... Qian, X. (2019). A novel strategy for facile serum exosome isolation based on specific interactions between phospholipid bilayers and TiO₂. *Chemical Science*, 10(6), 1579–1588. <https://doi.org/10.1039/C8SC04197F>
- Garcia, N. A., Moncayo-Arlandi, J., Sepulveda, P., & Diez-Juan, A. (2016). Cardiomyocyte exosomes regulate glycolytic flux in endothelium by direct transfer of GLUT transporters and glycolytic enzymes. *Cardiovascular Research*, 109(3), 397–408. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv260>
- Gholami Farashah, M. S., *et al.* (2022). Bone marrow mesenchymal stem cell's exosomes as key nanoparticles in osteogenesis and bone regeneration: Specific capacity based on cell type. *Molecular Biology Reports*, 49(12), 12203–12218. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07909-8>
- Greening, D. W., Xu, R., Ji, H., Tauro, B. J., & Simpson, R. J. (2015). A protocol for exosome isolation and characterization: Evaluation of ultracentrifugation, density-gradient separation, and immunoaffinity capture methods. *Methods in Molecular Biology*, 1295, 179–209. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2550-6_15
- Gimona, M., Brizzi, M. F., Choo, A. B. H., Dominici, M., Davidson, S. M., Grillari, J., ... Lai, R. C. (2021). Critical considerations for the development of potency tests for therapeutic applications of mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles. *Cytotherapy*, 23(5), 373–380. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.11.004>

- Guescini, M., Genedani, S., Stocchi, V., & Agnati, L. F. (2010). Astrocytes and glioblastoma cells release exosomes carrying mtDNA. *Journal of Neural Transmission*, 117(1), 1–4. <https://doi.org/10.1007/s00702-009-0288-8>
- Gurunathan, S., Kang, M. H., Jeyaraj, M., Qasim, M., & Kim, J. H. (2019). Review of the isolation, characterization, biological function, and multifarious therapeutic approaches of exosomes. *Cells*, 8(4), 307. <https://doi.org/10.3390/cells8040307>
- Gurung, S., Perocheau, D., Touramanidou, L., & Baruteau, J. (2021). The exosome journey: From biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Communication and Signaling*, 19(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12964-021-00730-1>
- <https://doi.org/10.3390/ijms18030538>
- Han, C., Sun, X., Liu, L., Jiang, H., Shen, Y., Xu, X., ... Lin, Z. (2016). Exosomes and their therapeutic potentials of stem cells. *Stem Cells International*, 2016, 7653489. <https://doi.org/10.1155/2016/7653489>
- Hade, M. D., & Suire, C. N. (2021). Mesenchymal stem cell-derived exosomes: Applications in regenerative medicine. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 653626. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.653626>
- Hanson, P. I., & Cashikar, A. (2012). Multivesicular body morphogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28, 337–362. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154152>
- Haraszti, R. A., Miller, R., Stoppato, M., Sere, Y. Y., Coles, A., Didiot, M.-C., ... Li, X. (2018). Exosomes produced from 3D cultures of MSCs by tangential flow filtration show higher yield and improved activity. *Molecular Therapy*, 26(12), 2838–2847. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.09.015>
- He, C., Zheng, S., Luo, Y., & Wang, B. (2018). Exosome theranostics: Biology and translational medicine. *Theranostics*, 8(1), 237–255. <https://doi.org/10.7150/thno.21945>
- Hessvik, N. P., & Llorente, A. (2018). Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(2), 193–208. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2595-9>
- Hong, C. S., Funk, S., Muller, L., Boyiadzis, M., & Whiteside, T. L. (2016). Isolation of biologically active and morphologically intact exosomes from plasma of patients with cancer. *Journal of Extracellular Vesicles*, 5(1), 29289. <https://doi.org/10.3402/jev.v5.29289>
- Hoppstädter, J., Dembek, A., Linnenberger, R., Dahlem, C., Barghash, A., Fecher-Trost, C., ... Kiemer, A. K. (2019). Toll-like receptor 2 release by macrophages: An anti-inflammatory program induced by glucocorticoids

- and lipopolysaccharide. *Frontiers in Immunology*, 10, 1634. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01634>
- Horibe, S., Tanahashi, T., Kawauchi, S., Murakami, Y., & Rikitake, Y. (2018). Mechanism of recipient cell-dependent differences in exosome uptake. *BMC Cancer*, 18(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3958-1>
- Huang, X., Yuan, T., Tschannen, M., Sun, Z., Jacob, H., Du, M., ... Wang, L. (2013). Characterization of human plasma-derived exosomal RNAs by deep sequencing. *BMC Genomics*, 14(1), 319. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-319>
- Huda, M. N., Nafiujjaman, M., Deaguero, I. G., Okonkwo, J., Hill, M. L., Kim, T., & Nurunnabi, M. (2021). Potential use of exosomes as diagnostic biomarkers and in targeted drug delivery: Progress in clinical and preclinical applications. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 7(6), 2106–2149. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c01562>
- Ibrahim, A. G.-E., Cheng, K., & Marbán, E. (2014). Exosomes as critical agents of cardiac regeneration triggered by cell therapy. *Stem Cell Reports*, 2(5), 606–619. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.04.006>
- Ibrahim, A., & Marbán, E. (2016). Exosomes: Fundamental biology and roles in cardiovascular physiology. *Annual Review of Physiology*, 78, 67–83. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-104929>
- Jafari, D., Shajari, S., Jafari, R., Mardi, N., Gomari, H., Ganji, F., Forouzandeh Moghaddam, M., & Samadikuchaksaraei, A. (2020). Designer exosomes: A new platform for biotechnology therapeutics. *BioDrugs*, 34(5), 567–586. <https://doi.org/10.1007/s40259-020-00436-0>
- Jansen, F., Yang, X., Hoelscher, M., Cattelan, A., Schmitz, T., Proebsting, S., ... Werner, N. (2013). Endothelial microparticle-mediated transfer of microRNA-126 promotes vascular endothelial cell repair via *spred1* and is abrogated in glucose-damaged endothelial microparticles. *Circulation*, 128(18), 2026–2038. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.001720>
- Jarmalavičiūtė, A., Tunaitis, V., Pivoraitė, U., Venalis, A., & Pivoriūnas, A. (2015). Exosomes from dental pulp stem cells rescue human dopaminergic neurons from 6-hydroxy-dopamine-induced apoptosis. *Cytotherapy*, 17(7), 932–939. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.03.611>
- 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). *Journal of Biological Chemistry*, 262(19), 9412–9420. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)48095-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)48095-0)

- Juan, T., & Fürthauer, M. (2018). Biogenesis and function of ESCRT-dependent extracellular vesicles. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 74, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.semdb.2017.08.022>
- Kalani, M. Y. S., Alsop, E., Meechoovet, B., Beecroft, T., Agrawal, K., Whitsett, T. G., ... Kim, S. (2020). Extracellular microRNAs in blood differentiate between ischaemic and haemorrhagic stroke subtypes. *Journal of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1713540. <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1713540>
- Kalani, A., Tyagi, A., & Tyagi, N. (2014). Exosomes: Mediators of neurodegeneration, neuroprotection and therapeutics. *Molecular Neurobiology*, 49(1), 590–600. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8545-9>
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 367(6478), eaau6977. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- Katakowski, M., & Chopp, M. (2016). Exosomes as tools to suppress primary brain tumor. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 36(3), 343–352. <https://doi.org/10.1007/s10571-015-0310-0>
- Katsuda, T., Tsuchiya, R., Kosaka, N., Yoshioka, Y., Takagaki, K., Oki, K., ... Ochiya, T. (2013). Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells secrete functional neprilysin-bound exosomes. *Scientific Reports*, 3(1), 1197. <https://doi.org/10.1038/srep01197>
- Keerthikumar, S., Chisanga, D., Ariyaratne, D., Al Saffar, H., Anand, S., Zhao, K., ... 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>
- Kibria, G., Ramos, E. K., Wan, Y., Gius, D. R., & Liu, H. (2018). Exosomes as a drug delivery system in cancer therapy: Potential and challenges. *Molecular Pharmaceutics*, 15(9), 3625–3633. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.8b00277>
- Kimiz-Gebologlu, I., & Oncel, S. S. (2022). Exosomes: Large-scale production, isolation, drug loading efficiency, and biodistribution and uptake. *Journal of Controlled Release*, 347, 533–543. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.05.006>
- Kishore, R., Garikipati, V. N. S., & Gumpert, A. (2016). Tiny shuttles for information transfer: Exosomes in cardiac health and disease. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 9(3), 203–211. <https://doi.org/10.1007/s12265-016-9682-4>

- Rashed, M. H., Bayraktar, E., Helal, G. K., Abd-Ellah, M. F., Amero, P., Chavez-Reyes, A., & Rodriguez-Aguayo, C. (2017). Exosomes: From garbage bins to promising therapeutic targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 538.
- Koh, Y. Q., Almughlliq, F. B., Vaswani, K., Peiris, H. N., & Mitchell, M. D. (2018). Exosome enrichment by ultracentrifugation and size exclusion chromatography. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 23(5), 865–874. <https://doi.org/10.2741/4620>
- Kučuk, N., Primožič, M., Knez, Ž., & Leitgeb, M. (2021). Exosomes engineering and their roles as therapy delivery tools, therapeutic targets, and biomarkers. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9543. <https://doi.org/10.3390/ijms22179543>
- Lai, J. J., Chau, Z. L., Chen, S. Y., Hill, J. J., Korpany, K. V., Liang, N. W., ... *et al.* (2022). Exosome processing and characterization approaches for research and technology development. *Advanced Science*, 9(15), e2103222. <https://doi.org/10.1002/advs.202103222>
- Lai, R. C., Yeo, R. W. Y., Tan, K. H., & Lim, S. K. (2013). Exosomes for drug delivery – A novel application for the mesenchymal stem cell. *Biotechnology Advances*, 31(5), 543–551. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.08.008>
- Lässer, C., Eldh, M., & Lötvall, J. (2012). Isolation and characterization of RNA-containing exosomes. *Journal of Visualized Experiments*, (59), e3037. <https://doi.org/10.3791/3037>
- Li, Y., Zheng, Q., Bao, C., Li, S., Guo, W., Zhao, J., ... Huang, S. (2015). Circular RNA is enriched and stable in exosomes: A promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Research*, 25(8), 981–984. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.82>
- Li, P., Kaslan, M., Lee, S. H., Yao, J., & Gao, Z. (2017). Progress in exosome isolation techniques. *Theranostics*, 7(3), 789–804. <https://doi.org/10.7150/thno.18133>
- Li, F., Wu, J., Li, D., Hao, L., Li, Y., Yi, D., ... Pan, H. (2022). Engineering stem cells to produce exosomes with enhanced bone regeneration effects: An alternative strategy for gene therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 135. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01352-3>
- Lin, S., Yu, Z., & Chen, D. (2020). Progress in microfluidics-based exosome separation and detection technologies for diagnostic applications. *Electrophoresis*, 41(9), 625–639. <https://doi.org/10.1002/elps.201903916>
- Livshits, M. A., Khomyakova, E., Evtushenko, E. G., Lazarev, V. N., Kulemin, N. A., Semina, S. E., ... Govorun, V. M. (2015). Isolation of exosomes by

- differential centrifugation: Theoretical analysis of a commonly used protocol. *Scientific Reports*, 5, 17319. <https://doi.org/10.1038/srep17319>
- Lobb, R. J., Becker, M., Wen, S. W., Wong, C. S., Wiegman, A. P., Leimgruber, A., & Möller, A. (2015). Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma. *Journal of Extracellular Vesicles*, 4(1), 27031. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27031>
- Lou, G., Chen, Z., Zheng, M., & Liu, Y. (2017). Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. *Experimental & Molecular Medicine*, 49(6), e346. <https://doi.org/10.1038/emm.2017.63>
- Lu, P., Li, H., Li, N., Singh, R. N., Bishop, C. E., Chen, X., & Lu, B. (2017). MEX3C interacts with adaptor-related protein complex 2 and involves in miR-451a exosomal sorting. *PLoS ONE*, 12(10), e0185992. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185992>
- Luan, X., Sansanaphongpricha, K., Myers, I., Chen, H., Yuan, H., & Sun, D. (2017). Engineering exosomes as refined biological nanoplateforms for drug delivery. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(6), 754–763. <https://doi.org/10.1038/aps.2017.12>
- Mathieu, M., Martin-Jaular, L., Lavieu, G., & Théry, C. (2019). Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nature Cell Biology*, 21(1), 9–17. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>
- Morel, L., Regan, M., Higashimori, H., Ng, S. K., Esau, C., Vidensky, S., ... Yang, Y. (2013). Neuronal exosomal miRNA-dependent translational regulation of astroglial glutamate transporter GLT1. *Journal of Biological Chemistry*, 288(10), 7105–7116. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.410944>
- Morse, M. A., Garst, J., Osada, T., Khan, S., Hobeika, A., Clay, T. M., ... Delcayre, A. (2005). A phase I study of dexosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Journal of Translational Medicine*, 3, 9. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-3-9>
- Mu, J., Zhuang, X., Wang, Q., et al. (2014). Interspecies communication between plant and mouse gut host cells through edible plant-derived exosome-like nanoparticles. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(7), 1561–1573. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300729>
- Mukherjee, K., Ghoshal, B., Ghosh, S., Chakrabarty, Y., Shwetha, S., Das, S., & Bhattacharyya, S. N. (2016). Reversible HuR–microRNA binding controls extracellular export of miR-122 and augments stress response. *EMBO Reports*, 17(8), 1184–1203. <https://doi.org/10.15252/embr.201541426>

- Mulcahy, L. A., Pink, R. C., & Carter, D. R. F. (2014). Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *Journal of Extracellular Vesicles*, 3(1), 24641. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24641>
- Ohno, S., Takanashi, M., Sudo, K., *et al.* (2013). Systemically injected exosomes targeted to EGFR deliver antitumor microRNA to breast cancer cells. *Molecular Therapy*, 21(1), 185–191. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.180>
- Oksvold, M. P., Neurauter, A., & Pedersen, K. W. (2015). Magnetic bead-based isolation of exosomes. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1218, pp. 465–481). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1538-5_29
- O'Loughlin, A. J., Woffindale, C. A., & Wood, M. J. (2012). Exosomes and the emerging field of exosome-based gene therapy. *Current Gene Therapy*, 12(4), 262–274. <https://doi.org/10.2174/156652312802083594>
- Pan, B. T., Teng, K., Wu, C., Adam, M., & Johnstone, R. M. (1985). Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes. *Journal of Cell Biology*, 101(3), 942–948. <https://doi.org/10.1083/jcb.101.3.942>
- Pant, S., Hilton, H., & Burczynski, M. E. (2012). The multifaceted exosome: Biogenesis, role in normal and aberrant cellular function, and frontiers for pharmacological and biomarker opportunities. *Biochemical Pharmacology*, 83(11), 1484–1494. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.01.038>
- Patel, G. K., Khan, M. A., Zubair, H., Srivastava, S. K., Khushman, M., Singh, S., & Singh, A. P. (2019). Comparative analysis of exosome isolation methods using culture supernatant for optimum yield, purity and downstream applications. *Scientific Reports*, 9(1), 5335. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41800-2>
- Phinney, D. G., & Pittenger, M. F. (2017). Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Stem Cells*, 35(4), 851–858. <https://doi.org/10.1002/stem.2575>
- Pitt, J. M., Charrier, M., Viaud, S., André, F., Besse, B., Chaput, N., & Zitvogel, L. (2014). Dendritic cell-derived exosomes as immunotherapies in the fight against cancer. *Journal of Immunology*, 193(3), 1006–1011. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400703>
- Rajput, A., Varshney, A., Bajaj, R., & Pokharkar, V. (2022). Exosomes as new generation vehicles for drug delivery: Biomedical applications and future perspectives. *Molecules*, 27(2), 495. <https://doi.org/10.3390/molecules27020495>
- Reátegui, E., Van Der Vos, K. E., Lai, C. P., Zeinali, M., Atai, N. A., Aldikacti, B., ... Stott, S. L. (2018). Engineered nanointerfaces for microfluidic isolation and

- molecular profiling of tumor-specific extracellular vesicles. *Nature Communications*, 9(1), 175. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02261-1>
- Ren, Y., Yang, J., Xie, R., Gao, L., Yang, Y., Fan, H., & Qian, K. (2011). Exosomal-like vesicles with immune-modulatory features are present in human plasma and can induce CD4⁺ T-cell apoptosis in vitro. *Transfusion*, 51(5), 1002–1011. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2010.02981.x>
- Rezaie, J., Ajezi, S., Avci, Ç. B., Karimipour, M., Geranmayeh, M. H., Nourazarian, A., ... Rahbarghazi, R. (2018). Exosomes and their application in biomedical field: Difficulties and advantages. *Molecular Neurobiology*, 55(4), 3372–3393. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0539-5>
- Rezaie, J., Fegghi, M., & Etemadi, T. (2022). A review on exosomes application in clinical trials: Perspective, questions, and challenges. *Cell Communication and Signaling*, 20(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00929-y>
- Robbins, P. D., & Morelli, A. E. (2014). Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nature Reviews Immunology*, 14(3), 195–208. <https://doi.org/10.1038/nri3622>
- Saari, H., Turunen, T., Löhmus, A., Turunen, M., Jalasvuori, M., Butcher, S. J., & Ylä-Herttua, S. (2020). Extracellular vesicles provide a capsid-free vector for oncolytic adenoviral DNA delivery. *Journal of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1747206. <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1747206>
- Salafi, T., Zeming, K. K., & Zhang, Y. (2016). Advancements in microfluidics for nanoparticle separation. *Lab on a Chip*, 17(1), 11–33. <https://doi.org/10.1039/C6LC01094G>
- Santos, P., & Almeida, F. (2021). Exosome-based vaccines: History, current state, and clinical trials. *Frontiers in Immunology*, 12, 711565. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.711565>
- Sharma, A., & Sharma, U. S. (1997). Liposomes in drug delivery: Progress and limitations. *International Journal of Pharmaceutics*, 154(2), 123–140. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00135-X](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00135-X)
- Sharma, A., & Johnson, A. (2020). Exosome DNA: Critical regulator of tumor immunity and a diagnostic biomarker. *Journal of Cellular Physiology*, 235(3), 1921–1932. <https://doi.org/10.1002/jcp.29080>
- Shin, S., Han, D., Park, M. C., Mun, J. Y., Choi, J., Chun, H., ... Hong, J. W. (2017). Separation of extracellular nanovesicles and apoptotic bodies from cancer cell culture broth using tunable microfluidic systems. *Scientific Reports*, 7(1), 9906. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09577-6>

- Simons, M., & Raposo, G. (2009). Exosomes – Vesicular carriers for intercellular communication. *Current Opinion in Cell Biology*, 21(4), 575–581. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.03.007>
- Simpson, R. J., Lim, J. W., Moritz, R. L., & Mathivanan, S. (2009). Exosomes: Proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Review of Proteomics*, 6(3), 267–283. <https://doi.org/10.1586/epr.09.17>
- Skotland, T., Hessvik, N. P., Sandvig, K., & Llorente, A. (2019). Exosomal lipid composition and the role of ether lipids and phosphoinositides in exosome biology. *Journal of Lipid Research*, 60(1), 9–18. <https://doi.org/10.1194/jlr.R084343>
- Skotland, T., Sandvig, K., & Llorente, A. (2017). Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward. *Progress in Lipid Research*, 66, 30–41. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.03.001>
- Skuratovskaia, D., Vulf, M., Khaziakhmatova, O., Malashchenko, V., Komar, A., Shunkin, E., ... Litvinova, L. (2021). Exosome limitations in the treatment of inflammatory diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 27(26), 3105–3121. <https://doi.org/10.2174/1381612826666201214110753>
- Stremersch, S., Vandenbroucke, R. E., Van Wonterghem, E., Hendrix, A., De Smedt, S. C., & Raemdonck, K. (2016). Comparing exosome-like vesicles with liposomes for the functional cellular delivery of small RNAs. *Journal of Controlled Release*, 232, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.04.005>
- Stuendl, A., Kunadt, M., Kruse, N., Bartels, C., Moebius, W., Danzer, K. M., ... Schneider, A. (2016). Induction of α -synuclein aggregate formation by CSF exosomes from patients with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Brain*, 139(2), 481–494. <https://doi.org/10.1093/brain/awv346>
- Stuffers, S., Wegner, C. S., Stenmark, H., & Brech, A. (2009). Multivesicular endosome biogenesis in the absence of ESCRTs. *Traffic*, 10(7), 925–937. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00920.x>
- Subra, C., Laulagnier, K., Perret, B., & Record, M. (2007). Exosome lipidomics unravels lipid sorting at the level of multivesicular bodies. *Biochimie*, 89(2), 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.10.014>
- Sun, Y., & Liu, J. (2014). Potential of cancer cell-derived exosomes in clinical application: A review of recent research advances. *Clinical Therapeutics*, 36(6), 863–872. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2014.04.018>
- Sun, L., Xu, R., Sun, X., Duan, Y., Han, Y., Zhao, Y., ... Xu, W. (2016). Safety evaluation of exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal

- stromal cell. *Cytotherapy*, 18(3), 413–422.
<https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.11.018>
- Tai, Y. L., Chen, K. C., Hsieh, J. T., & Shen, T. L. (2018). Exosomes in cancer development and clinical applications. *Cancer Science*, 109(8), 2364–2374.
<https://doi.org/10.1111/cas.13697>
- Takahashi, A., Okada, R., Nagao, K., Kawamata, Y., Hanyu, A., Yoshimoto, S., ... Hara, E. (2017). Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells. *Nature Communications*, 8(1), 15287.
<https://doi.org/10.1038/ncomms15287>
- Tang, Z., Li, D., Hou, S., & Zhu, X. (2020). The cancer exosomes: Clinical implications, applications and challenges. *International Journal of Cancer*, 146(11), 2946–2959. <https://doi.org/10.1002/ijc.32607>
- Tatischeff, I., & Alfsen, A. (2011). A new biological strategy for drug delivery: Eucaryotic cell-derived nanovesicles. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2(5), 494–499.
<https://doi.org/10.4236/jbmb.2011.225060>
- Théry, C., Zitvogel, L., & Amigorena, S. (2002). Exosomes: Composition, biogenesis and function. *Nature Reviews Immunology*, 2(8), 569–579.
<https://doi.org/10.1038/nri855>
- Théry, C. (2011). Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications. *F1000 biology reports*, 3, 15.
- Thomi, G., & Surbek, D. (2019). Exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells reduce microglia-mediated neuroinflammation in perinatal brain injury. *Frontiers in Immunology*, 10, 105.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01153>
- Thongboonkerd, V. (2019). Roles for exosome in various kidney diseases and disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1655.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01655>
- Tran, T.-H., Mattheolabakis, G., Aldawsari, H., & Amiji, M. (2015). Exosomes as nanocarriers for immunotherapy of cancer and inflammatory diseases. *Clinical Immunology*, 160(1), 46–58.
<https://doi.org/10.1016/j.clim.2015.04.013>
- Umezū, T., Ohyashiki, K., Kuroda, M., & Ohyashiki, J. H. (2013). Leukemia cell to endothelial cell communication via exosomal miRNAs. *Oncogene*, 32(22), 2747–2755. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.295>
- Vakhshiteh, F., Atyabi, F., & Ostad, S. N. (2019). Mesenchymal stem cell exosomes: A two-edged sword in cancer therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 2847–2859. <https://doi.org/10.2147/IJN.S200036>

- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötval, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature Cell Biology*, 9(6), 654–659. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
- Van Balkom, B. W., Eisele, A. S., Pegtel, D. M., Bervoets, S., & Verhaar, M. C. (2015). Quantitative and qualitative analysis of small RNAs in human endothelial cells and exosomes provides insights into localized RNA processing, degradation and sorting. *Journal of Extracellular Vesicles*, 4(1), 26760. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.26760>
- van den Boorn, J. G., Schlee, M., Coch, C., & Hartmann, G. (2011). SiRNA delivery with exosome nanoparticles. *Nature Biotechnology*, 29(4), 325–326. <https://doi.org/10.1038/nbt.1830>
- van der Meel, R., Sulheim, E., Shi, Y., Kiessling, F., Mulder, W. J., & Lammers, T. (2019). Smart cancer nanomedicine. *Nature Nanotechnology*, 14(11), 1007–1017. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0567-y>
- Villarroya-Beltri, C., Gutiérrez-Vázquez, C., Sánchez-Cabo, F., Pérez-Hernández, D., Vázquez, J., Martín-Cofreces, N., ... Sánchez-Madrid, F. (2013). Sumoylated hnRNP A2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nature Communications*, 4(1), 2980. <https://doi.org/10.1038/ncomms3980>
- Vincent-Schneider, H., Stumppner-Cuvelette, P., Lankar, D., Pain, S., Raposo, G., Benaroch, P., & Bonnerot, C. (2002). Exosomes bearing HLA-DR1 molecules need dendritic cells to efficiently stimulate specific T cells. *International Immunology*, 14(7), 713–722. <https://doi.org/10.1093/intimm/14.7.713>
- Vlassov, A. V., Magdaleno, S., Setterquist, R., & Conrad, R. (2012). Exosomes: Current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1820(7), 940–948. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.03.017>
- Wang, C. A., Chang, I. H., Hou, P. C., Tai, Y. J., Li, W. N., Hsu, P. L., ... Shan, Y. S. (2020a). DUSP2 regulates extracellular vesicle-VEGF-C secretion and pancreatic cancer early dissemination. *Journal of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1746529. <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1746529>
- Wang, J., Bonacquisti, E. E., Brown, A. D., & Nguyen, J. (2020b). Boosting the biogenesis and secretion of mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Cells*, 9(3), 660. <https://doi.org/10.3390/cells9030660>
- Wang, J., Zheng, Y., & Zhao, M. (2016). Exosome-based cancer therapy: Implication for targeting cancer stem cells. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 533. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00533>

- Weng, Y., Sui, Z., Shan, Y., Hu, Y., Chen, Y., Zhang, L., & Zhang, Y. (2016). Effective isolation of exosomes with polyethylene glycol from cell culture supernatant for in-depth proteome profiling. *Analyst*, *141*(15), 4640–4646. <https://doi.org/10.1039/C6AN00892E>
- Whiteside, T. L. (2016). Tumor-derived exosomes and their role in cancer progression. *Advances in Clinical Chemistry*, *74*, 103–141. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2015.12.005>
- Willis, G. R., Kourembanas, S., & Mitsialis, S. A. (2017). Toward exosome-based therapeutics: Isolation, heterogeneity, and fit-for-purpose potency. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *4*, 63. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00063>
- Witwer, K. W., Buzás, E. I., Bemis, L. T., Bora, A., Lässer, C., Lötvall, J., ... Théry, C. (2013). Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research. *Journal of Extracellular Vesicles*, *2*(1), 20360. <https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20360>
- Woo, H. K., Sunkara, V., Park, J., Kim, T. H., Han, J. R., Kim, C. J., ... Cho, Y. K. (2017). Exodisc for rapid, size-selective, and efficient isolation and analysis of nanoscale extracellular vesicles from biological samples. *ACS Nano*, *11*(2), 1360–1370. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b06131>
- Wu, Y., Deng, W., & Klinke II, D. J. (2015). Exosomes: Improved methods to characterize their morphology, RNA content, and surface protein biomarkers. *Analyst*, *140*(19), 6631–6642. <https://doi.org/10.1039/C5AN00682E>
- Wu, Z., He, D., & Li, H. (2021). Bioglass enhances the production of exosomes and improves their capability of promoting vascularization. *Bioactive Materials*, *6*(3), 823–835. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.09.009>
- Xiang, X., Poliakov, A., Liu, C., Liu, Y., Deng, Z. B., Wang, J., ... Zhang, H. G. (2009). Induction of myeloid-derived suppressor cells by tumor exosomes. *International Journal of Cancer*, *124*(11), 2621–2633. <https://doi.org/10.1002/ijc.24249>
- Xiao, J., Pan, Y., Li, X. H., Yang, X. Y., Feng, Y. L., Tan, H. H., ... Yu, X. (2016). Cardiac progenitor cell-derived exosomes prevent cardiomyocyte apoptosis through exosomal miR-21 by targeting PDCD4. *Cell Death & Disease*, *7*(6), e2277. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.176>
- Xin, H., Li, Y., Cui, Y., Yang, J. J., Zhang, Z. G., & Chopp, M. (2013a). Systemic administration of exosomes released from mesenchymal stromal cells promotes functional recovery and neurovascular plasticity after stroke in rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *33*(11), 1711–1715. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.146>

- Xin, H., Li, Y., Liu, Z., Wang, X., Shang, X., Cui, Y., ... Chopp, M. (2013b). MiR-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles. *Stem Cells*, 31(12), 2737–2746. <https://doi.org/10.1002/stem.1409>
- Xu, R., Greening, D. W., Zhu, H. J., Takahashi, N., & Simpson, R. J. (2016). Extracellular vesicle isolation and characterization: Toward clinical application. *Journal of Clinical Investigation*, 126(4), 1152–1162. <https://doi.org/10.1172/JCI81129>
- Xu, L., Ihara, K.-I., Yoshimura, S., Konno, D., Tachibana, A., Nakanishi, T., & Tachibana, T. (2020a). Generation of the rat monoclonal antibody against the extracellular domain of human CD63 by DNA immunization. *Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy*, 39(2), 74–76. <https://doi.org/10.1089/mab.2019.0042>
- Xu, Z., Zeng, S., Gong, Z., & Yan, Y. (2020b). Exosome-based immunotherapy: A promising approach for cancer treatment. *Molecular Cancer*, 19(1), 160. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01293-0>
- Xu, Y., Shen, L., Li, F., Yang, J., Wan, X., & Ouyang, M. (2019). microRNA-16-5p-containing exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells inhibit proliferation, migration, and invasion, while promoting apoptosis of colorectal cancer cells by downregulating ITGA2. *Journal of Cellular Physiology*, 234(11), 21380–21394. <https://doi.org/10.1002/jcp.28708>
- Xue, M., Chen, W., Xiang, A. N., Wang, R., Chen, H., Pan, J., ... Li, X. (2017). Hypoxic exosomes facilitate bladder tumor growth and development through transferring long non-coding RNA-UCA1. *Molecular Cancer*, 16(1), 143. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0714-8>
- Yáñez-Mó, M., Siljander, P. R., Andreu, Z., Zavec, A. B., Borràs, F. E., Buzás, E. I., ... et al. (2015). Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *Journal of Extracellular Vesicles*, 4, 27066. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>
- Yang, X. X., Sun, C., Wang, L., & Guo, X. L. (2019). New insight into isolation, identification techniques and medical applications of exosomes. *Journal of Controlled Release*, 308, 119–129.
- Yang, F., Liao, X., Tian, Y., & Li, G. (2017). Exosome separation using microfluidic systems: Size-based, immunoaffinity-based and dynamic methodologies. *Biotechnology Journal*, 12.
- Yu, L. L., Zhu, J., Liu, J. X., Jiang, F., Ni, W. K., Qu, L. S., ... Lu, C. H. (2018). A comparison of traditional and novel methods for the separation of exosomes

- from human samples. *BioMed Research International*, 2018, 3634563. <https://doi.org/10.1155/2018/3634563>
- Yuyama, K., Sun, H., Usuki, S., Sakai, S., Hanamatsu, H., Mioka, T., ... Igarashi, Y. (2015). A potential function for neuronal exosomes: Sequestering intracerebral amyloid- β peptide. *FEBS Letters*.
- Zarovni, N., Corrado, A., Guazzi, P., Zocco, D., Lari, E., Radano, G., ... Chiesi, A. (2015). Integrated isolation and quantitative analysis of exosome-shuttled proteins and nucleic acids using immunocapture approaches. *Methods*, 87, 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2015.04.009>
- Zerlinger, E., Barta, T., Li, M., & Vlassov, A. V. (2015). Strategies for isolation of exosomes. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2015, 319–323.
- Zhang, Y., Bi, J., Huang, J., Tang, Y., Du, S., & Li, P. (2020). Exosome: A review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 6917–6934.
- Zhang, Y., Liu, Y., Liu, H., & Tang, W. H. (2019). Exosomes: Biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell & Bioscience*, 9, 19. <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0282-2>
- Zhang, Y., Hu, Y.-W., Zheng, L., & Wang, Q. (2017). Characteristics and roles of exosomes in cardiovascular disease. *DNA and Cell Biology*.
- Zhao, L., Gu, C., Gan, Y., Shao, L., Chen, H., & Zhu, H. (2020). Exosome-mediated siRNA delivery to suppress postoperative breast cancer metastasis. *Journal of Controlled Release*, 318, 1–15.
- Zhao, Y., Sun, X., Cao, W., Ma, J., Sun, L., Qian, H., Zhu, W., & Xu, W. (2015). Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells relieve acute myocardial ischemic injury. *Stem Cells International*, 2015.
- Zhou, J., Tan, X., Tan, Y., Li, Q., Ma, J., & Wang, G. (2018). Mesenchymal stem cell-derived exosomes in cancer progression, metastasis and drug delivery: A comprehensive review. *Journal of Cancer*, 9, 3129–3137.
- Zhu, L., Sun, H.-T., Wang, S., Huang, S.-L., Zheng, Y., Wang, C.-Q., ... Fu, Y. (2020). Isolation and characterization of exosomes for cancer research. *Journal of Hematology & Oncology*, 13, 152.
- Zipkin, M. (2019). Exosome redux. *Nature Biotechnology*, 37, 1395–1400.