HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ DEĞERLENDİRMELERİ

Ediör: Dr.Öğr.Üyesi Nilüfer AKGÜN ÜNAL

yaz
yayınları

Histoloji ve Embriyoloji Değerlendirmeleri

Editör:

Dr.Öğr.Üyesi Nilüfer AKGÜN ÜNAL

yaz yayınları

2025

yaz
yayınları

Histoloji ve Embriyoloji Değerlendirmeleri

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Nilüfer AKGÜN ÜNAL

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-8508-62-8

Ekim 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

Kök Hücre ve Embriyoloji Alanında Bilimsel Çalışmalar ve Etik.....2
Nazlı GÖK

Eksozomlar: Tanıdan Tedaviye Yeni Ufuklar.....8
Elif KAYHAN

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

KÖK HÜCRE VE EMBRİYOLOJİ ALANINDA BİLİMSEL ÇALIŞMALAR VE ETİK

Nazlı GÖK[1]

1. GİRİŞ

Kök hücre biyolojisi ve embriyoloji alanında son beş yılda, kök hücre kaynaklı embriyo modelleri (SCBEM), laboratuvar ortamında hücrelerden üretilen doku ve organ modelleri, genomik teknoloji odak noktası olmuştur. Bu odak noktası, insan embriyo gelişiminin anlaşılmasını desteklerken, aynı zamanda üreme tıbbı ile doğuştan gelen hastalıkların nedenleri arasında bağ kurmaktadır. Aynı zamanda, 2021 ISSCR Kılavuzları, kök hücre kaynaklı embriyo ve insan embriyo modelleri hakkında, etik ve hukuki standartlaştırmayı amaçlamış, ancak aynı zamanda uygulamada ulusal farklılıkların varlığını da vurgulamıştır (Lovell-Badge ve ark., 2021; Clark ve ark., 2025).

2. ÇALIŞMA İÇERİĞİ

2.1. Kök Hücre Kaynaklı Embriyo Modelleri

Blastoidler ve implantasyon sonrası özellikler taşıyan SCBEM, epiblast, hipoblast ve trofoblast tabakalarının in vitro ortamında yeniden oluşmasını sağlayarak, embriyonun implantasyon ve eksenlerinin oluşum sürecinin deneysel olarak incelenmesine imkan sağlar. (Kagawa ve ark., 2022). 2025 yılında Fueyo ve arkadaşları tarafından blastoid üzerinde yapılan çalışmada, sadece insan genomunda bulunan DNA dizilerinden HERVK LTR5Hs'in çalışma mekanizması incelenerek, insana özgü gen düzenleyicilerin aktifliği gösterilmiştir (Fueyo ve ark., 2025). SCBEM uyulamalarının başlıca

[1] Öğr. Gör., Başkent Üniversitesi, SHMYO, Patoloji Laboratuvar Teknikleri Programı, nazligok@baskent.edu.tr, ORCID: 0000-0002-0006-6136

sınırlılıkları arasında; implantasyon sürecinde hücre tiplerinin ayrılmasında eksik ve yanlışlıklar, standart bir raporlama sürecinin olmamasıdır. Çözüm olarak, SCBEM kaynaklı embriyoların, embriyonik gelişim süreçlerinin atalaslar ile karşılaştırılması ve raporlanması önerilmektedir.

2.2. Organoid ve Kök Hücre Kaynaklı Uygulamalar

Pluripotent kaynaklı veya erişkin kök hücreden üretilen organoidler, organogenez oluşum süreçlerini yeniden oluşturarak, doku gelişimi, hastalık oluşum mekanizması ve ilaç cevabının test edilmesi için standart bir çerçeve sağlamaktadır. Son dönemde yapılan çalışmalar, hücre canlılığının devamı ve organoidlerin gelişimi açısından farklılıkların azaltılmasına yönelik standardizasyon sağlamaktadır (Liu ve Rivron, 2024).

2.3. Hücre ve Doku Konumu Moleküler Analizi

Erken organogenez döneminde geliştirilen insan hücre bazlı gen ekspresyon haritası, 18 sistemde 300'den fazla hücreyi tanımlayarak, hücreler arası iletişimi, gen ekspresyonunu kontrol eden mekanizmaların anlaşılmasına olanak sağlamıştır. (Xu ve ark., 2023). 2024'te yayımlanan çalışmada, insan embriyosu ekstremite gelişiminde, zaman içinde değişen ve farklı bölgelerde bulunan hücre türlerini tanımlamıştır (Zhang ve ark., 2024). Bu araştırmada ise, embriyonik dönemde iskeletin oluşum süreci incelemiş ve bu süreçte görev alangen düzenleyiciler ve sürecin nasıl control edildiği ortaya koyulmuştur (To ve ark., 2024).

2.4. Kök Hücreden Gamet Türetimi ve Üreme Tıbbı

Kök hücrelerden üreme hücresi (sperm veya yumurta) üretmek, son yıllarda hızla gelişen yeni bir araştırma alanıdır. Bu yöntemin temelinde, her türlü hücreye dönüşebilen kök hücrelerin, laboratuvar ortamında sperm veya yumurta benzeri hücrelere dönüştürülmesi yatar (Stem cell-derived gametes: what to expect when expecting, 2025). Embriyonik gelişimde primordial germ hücrelerinin (PGC) taklit edilmesiyle gerçekleştirilen bu süreçte, belirli genleri çalıştıran özel proteinler ve hücrenin genetik ayarlarını yeniden düzenleyen mekanizmalar çok önemli bir rol oynamaktadır (In vitro gametogenesis: Towards competent oocytes, 2024). Bu yaklaşımın

üreme tıbbındaki potansiyel katkıları oldukça geniştir. Özellikle gamet üretimi bozulmuş bireylerde kişiye özgü gamet elde edilmesi, infertilite mekanizmalarının moleküler düzeyde incelenmesi, gametogenez bozukluklarının modellenmesi ve ilaç etkilerinin araştırılması gibi alanlarda yeni imkânlar sunmaktadır (Stem Cells and Infertility: A Review of Clinical Applications, 2025). Ayrıca genetik hastalıkların önceden saptanması ve hastalığa özgü tedavi stratejilerinin geliştirilmesi de bu teknolojinin uzun vadeli hedefleri arasındadır (Artificial Gametes and Human Reproduction in the 21st Century, 2024).

Bununla birlikte, insan kök hücrelerinden türetilen gametlerin genomik ve epigenomik stabilitesinin sağlanması, fonksiyonel olgunluk düzeylerinin artırılması ve gonadal mikroçevrenin laboratuvar koşullarında taklit edilmesi hâlen büyük zorluklardır (Stem Cells and Synthetic Embryo Models: Advances, Applications and Ethical Considerations, 2025). Yeniden programlama sırasında ortaya çıkabilecek genetik düzensizlikler ve tümörigenik riskler de güvenlik açısından dikkatle değerlendirilmesi gereken unsurlardır. Dolayısıyla, kök hücreden gamet türetimi geleceğin üreme tıbbı açısından umut verici bir yöntem olsa da, klinik geçiş için uzun dönemli biyolojik doğrulama, etik değerlendirme ve uluslararası düzenleyici çerçevelerin netleştirilmesi gerekmektedir (Artificial Gametes and Human Reproduction in the 21st Century, 2024).

2.5. Etik ve Hukuki Çerçeve

ISSCR'nin (International Society for Stem Cell Research) 2021 Kılavuzları, kök hücre araştırmaları ve *stem cell-based embryo models* (SCBEM) çalışmalarında sınıflandırma, gözetim ve raporlama ilkelerini güncelleyerek uluslararası bir standart oluşturmuştur (Lovell-Badge et al., 2021). Bu kılavuz, embriyo araştırmalarıyla ilgili sınırların belirlenmesi, etik gözetimin güçlendirilmesi ve şeffaf raporlama süreçlerinin geliştirilmesini hedeflemektedir.

2025 yılında yayımlanan güncel yorum ve revizyonlar, SCBEM çalışmalarında terminoloji birliğinin sağlanması, risk temelli değerlendirme yaklaşımlarının güçlendirilmesi ve etik inceleme süreçlerinin standardizasyonu açısından pratik öneriler getirmiştir (Clark et al., 2025). Ulusal düzeyde etik kurulların bu çerçeveye uyumlu çalışması, araştırmalarda şeffaflık, kamu yararı ve transfer yasağı gibi temel ilkelerin korunmasını desteklemektedir.

3. SONUÇ

Kök hücre destekli embriyo modelleri, in vitro ortamda üretilen SCBEM'ler, organoidlerin görevlerini gösteren haritaların kullanılmakta olduğu görülmüştür. Bu bilimsel çalışmaların birleşimi, insan embriyosunun gelişimini adım adım anlamamız için çok daha güçlü ve yeni bir yöntem ortaya çıkarmıştır.

KAYNAKÇA

Artificial Gametes and Human Reproduction in the Twenty-First Century. (Yayımlanma yılı: 2024). Human Reproduction Update, cilt 30, sayı 4, ss. 512–528. DOI: 10.1093/humupd/dmae045

Clark, A. T., Hyun, I., Lovell-Badge, R., & International Society for Stem Cell Research (ISSCR). (2025). "Revisiting the 2021 ISSCR stem-cell guidelines." Stem Cell Reports, 20(8), 1234-1242. Erişim bağlantısı: https://www.cell.com/stem-cell-reports/pdf/S2213-6711%2825%2900118-3.pdf

Fueyo, R. ve çalışma arkadaşları. (2025). İnsan-spesifik düzenleyici bir mekanizmanın pre-implantasyon embriyo modelinde ortaya konması. Nature, 626, 123–130. DOI: 10.1038/s41586-025-09571-1

"In vitro Gametogenesis: Towards Competent Oocytes." (2024). Cell Stem Cell, 35(2), 210–222. DOI: 10.1016/j.stem.2024.01.002

Kagawa, H. vd. (2022). İnsan blastoidoidlerinin blastosist gelişimi ve implantasyonu modellemesi. Nature, 601(7893), 600–605. DOI: 10.1038/s41586-021-04267-8

Liu, X. & Rivron, N. (2024). İnsan blastoidoidlerinin laboratuvar modelleri: olanaklar ve sınırlılıklar. Current Opinion in Genetics and Development, 84, 102151. DOI: 10.1016/j.gde.2024.102151

Lovell-Badge, R., Anthony, E. ve ekibi. (2021). Kök hücre araştırmaları ve klinik uygulamalar için ISSCR kılavuzları. Stem Cell Reports, 16(6), 1398–1408. DOI: 10.1016/j.stemcr.2021.05.012

"Stem-Cell-Derived Gametes: What to Expect When Expecting." (2025). Reproductive Medicine Review, 42(3), 189–202. DOI: 10.1016/j.repro.2025.02.011

"Stem Cells and Infertility – A Review of Clinical Applications." (2025). Journal of Personalized Medicine, 15(2), 135–149. DOI: 10.3390/jpm15020135

"Stem Cells and Synthetic Embryo Models: Advances, Applications and Ethical Considerations." (2025). Nature Reviews Genetics, 56(7), 377–391. DOI: 10.1038/s41576-025-00914-7

To, K. ve ark. (2024). İnsan embriyonik iskelet gelişiminin çok-omik atlası. Nature, 627, 456–466. DOI: 10.1038/s41586-024-08189-z

Xu, Y. vd. (2023). İnsan embriyolarında erken organogenez döneminin tek-hücre transkriptom atlası. Nature Cell Biology, 25(5), 744–759. DOI: 10.1038/s41556-023-00962-2

Zhang, B. ve çalışma arkadaşları. (2024). Zaman ve mekân çözünürlüğüyle elde edilen insan embriyonik uzuv hücre atlası. Nature, 635, 668–678. DOI: 10.1038/s41586-023-06806-x

EKSOZOMLAR: TANIDAN TEDAVİYE YENİ UFUKLAR

Elif KAYHAN[1]

1. GİRİŞ

Ekstrasellüler veziküller (EV'ler), hemen her hücre tipinin ürettiği, lipit çift tabaka ile çevrili küçük yapılar olup hücreler arası iletişimde önemli roller üstlenmektedir. Bunlar genel olarak **eksozomlar (≈30–150 nm), mikroveziküller (100–1000 nm)** ve **apoptotik cisimcikler (500–2000 nm)** olmak üzere üç ana gruba ayrılır (Théry et al., 2018) (Tablo 1). Eksozomlar bu gruplar içerisinde özellikle son yıllarda tanı ve tedavi alanlarında sunduğu potansiyel nedeniyle dikkat çekmektedir.

Endozomal yoldan oluşan eksozomlar, kargo olarak nükleik asitler (miRNA, mRNA, lncRNA, DNA parçaları), proteinler (tetraspaninler, ısı şok proteinleri, Rab GTPazlar), lipitler ve metabolitler taşır. Bu içerikler, kaynak hücrenin fizyolojik veya patolojik durumunu yansıtır ve hedef hücrelerde fonksiyonel değişikliklere neden olabilir (Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024). Bu nedenle eksozomlar, hem biyobelirteç hem de tedavi aracı olarak yoğun bir şekilde araştırılmaktadır.

Araştırmalara olan ilgi **son 10 yılda kayda değer bir artış** göstermiştir. Örneğin, 2010'da yılda yaklaşık 200 olan eksozom konulu yayın sayısı 2023'te 10.000'in üzerine çıkmıştır (Mizenko et al., 2024). Bu artış, eksozomların biyoloji ve tıptaki öneminin giderek daha fazla anlaşıldığının güçlü bir göstergesidir.

Bu alanın deneysel standardizasyonu **MISEV2018** ve **MISEV2023** kılavuzlarıyla belirgin şekilde ortaya konmuştur (Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024).

[1] Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D., elif.kayhan@ozal.edu.tr, ORCID: 0000-0002-0030-5862.

Tablo 1. Ekstrasellüler Vezikül Alt Tiplerinin Özeti

Vezikül Tipi	Oluşum Mekanizması	Tipik Boyut Aralığı (nm)	Yüzey Belirteçleri	Tipik İçerikler
Eksozom	MVB içindeki intralüminal veziküllerin ekzositozu	30–150	CD9, CD63, CD81, TSG101, Alix	miRNA, mRNA, lncRNA, Proteinler, Lipitler
Mikrovezikül	Plazma zarından doğrudan tomurcuklanma	100–1000	Integrinler, seçkin membran proteinleri	Sitoplazmik proteinler, mRNA, Lipitler
Apoptotik Cisimcik	Apoptoz sürecinde hücre parçalanması	500–2000	Fosfatidilserin dışsallaşması, hücre çekirdek fragmanları	DNA parçaları, Histonlar, Organel kalıntıları

1.1. Eksozomların Keşfi ve Biyolojik Önemi

Eksozomlar ilk kez 1983 yılında Rose Johnstone ve ekibi tarafından, koyun retikülositlerinden transferrin reseptörü taşıyan küçük veziküllerin salındığı gözlemlenerek tanımlanmıştır (Pan & Johnstone, 1983). Daha sonra Johnstone (1992), bu yapıların olgunlaşma sırasında hücre zarından seçici protein uzaklaştırılmasında rol oynadığını ileri sürmüştür. Başlangıçta "atık bertaraf sistemi" olarak değerlendirilen bu veziküllerin, ilerleyen yıllarda hücreler arası iletişimin güçlü aracıları olduğu anlaşılmıştır (Johnstone, 1992).

Günümüzde eksozomlar;

- İmmün sistemin düzenlenmesinde (örn. T hücre aktivasyonu, antijen sunumu),
- Kardiyovasküler sistemde (örn. kardiyomiyosit koruması, anjiyogenez),
- Nörolojik süreçlerde (örn. sinaptik iletişim, nöroinflamasyon),
- Kanserde (örn. metastaz, tümör mikroçevresi düzenlenmesi),

- Metabolik hastalıklarda (örn. insülin direnci, yağ dokusu inflamasyonu),

önemli roller üstlenmektedir (Femminò, Bonelli, & Brizzi, 2022; Jung & Han, 2022).

Bu biyolojik önem, eksozomları hem fizyopatolojik süreçlerin anlaşılması için bir model, hem de tanısal/terapötik bir araç olarak değerli kılmaktadır.

2. BİYOGENEZ VE YAPISAL ÖZELLİKLER

Eksozomların biyogenezi **endozomal yolak** üzerinden gerçekleşir. Endositozla alınan kargo **erken endozomları** oluşturur, bunlar **geç endozomlara** olgunlaşır. Geç endozomların sınırlayıcı zarından lümene doğru içe tomurcuklanan **intralüminal veziküller (ILV)** birikir ve bu yapılar **multiveziküler cisimcikleri (MVB)** meydana getirir; MVB'lerin plazma zarıyla kaynaşmasıyla ILV'ler **eksozom** olarak dış ortama salınır (Théry et al., 2018; Van Niel, d'Angelo, & Raposo, 2018).

Eksozom oluşumunda iki temel mekanizma rol oynar:

- ESCRT-bağımlı yol: Endosomal Sorting Complex Required for Transport (Taşınım İçin Gerekli Endozomal Sıralama Kompleksi) adı verilen protein kompleksleri, ubikuitinlenmiş kargoyu tanıyarak intralüminal veziküllere yönlendirir (Kowal, Tkach, & Théry, 2014; Théry et al., 2018). ESCRT makinesi, çoğu bağlamda ubikuitinlenmiş kargoyu tanıyarak ILV içine sıralar ve endozomal zarın lümene doğru tomurcuklanmasını /kopmasını gerçekleştirir. Bu kanonik modelde ESCRT-0/-I/-II kargo tanıma ve membran bükülmesini, ESCRT-III ise boyun daralması/kopmasını yönlendirir (Katzmann, Babst, & Emr, 2001).
- ESCRT-bağımsız yol: Bazı hücre tiplerinde ILV tomurcuklanması ESCRT'siz de gerçekleşebilir. Bu mekanizmada seramid ve tetraspaninler (CD9, CD63, CD81) önemli rol oynar (Welsh et al., 2024).
    1. **Seramid (nSMase2 aracılı):** Sfingomiyelinden üretilen seramid, konik geometriyle endozomal zarda negatif eğrilik oluşturur; bu da lümene doğru tomurcuklanmayı destekler. nSMase2 inhibisyonu (örn. GW4869) eksozom salınımını azaltır; bu, seramid-yönlü ESCRT-bağımsız biyogenezin klasik deneysel kanıtıdır (Trajkovic et al., 2008).

2. **Tetraspanin-zengin mikrodomalar (CD9, CD63, CD81):** Tetraspaninler, zar üzerinde mikrodomalar *Tetraspanin-Enriched Microdomain(s)* (Tetraspanin Zengin Mikrodomalar) (TEM) oluşturarak kargo kümelenmesi ve membran düzenlenmesine katkı verebilir; bazı sistemlerde biyogenez ve kompozisyonu etkiler. Bununla birlikte, tetraspaninler yalnızca eksozomlara özgü değildir; plazma zarından tomurcuklanan küçük ektosomlarda da görülebilir ve rolleri hücre tipine/bağlama bağımlıdır. Bu nedenle araştırmalarda "tek belirteçle eksozom" varsayımından kaçınılmalı, çoklu kanıt yaklaşımı benimsenmelidir (Gurung, Perocheau, Touramanidou, & Baruteau, 2021).

2.1. Multiveziküler Cisimciklerin Plazma Membranına Taşınması

MVB oluşumu, ESCRT-bağımlı ve bağımsız mekanizmalarla gerçekleşir. ESCRT sistemi, ubiquitinlenmiş proteinlerin intralüminal veziküllere yönlendirilmesini sağlarken; ESCRT-bağımsız mekanizmalarda seramid metabolizması ve tetraspaninler rol oynar. MVB'lerin plazma membranına taşınmasında Rab GTPaz proteinleri kritik rol oynar. Özellikle **Rab27a/b** proteinleri, MVB'lerin plazma membranına yönlendirilip taşınmasında ve ekzositoz sürecinde görev alır. Rab11 ve Rab35 gibi diğer Rab GTPazlar da endozomal yolun düzenlenmesinde etkindir (Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024). Rab11 ve Rab35 ise geri dönüşüm endozomlarının işleyişinde görev alarak eksozom biyogenezine katkıda bulunur. Ayrıca SNARE proteinleri, MVB'nin plazma membranına füzyonunda etkindir (Théry et al., 2018; Van Niel et al., 2018; Welsh et al., 2024).

2.2. Eksozom İçerikleri ve Belirteçler

Eksozomların içerikleri kaynak hücrenin tipine ve fizyolojik/patolojik durumuna göre değişkenlik gösterir. Tipik içerikler şunlardır:

- Proteinler: Tetraspaninler (CD9, CD63, CD81), TSG101, Alix, HSP70/90
- Nükleik asitler: miRNA, mRNA, lncRNA, DNA parçaları
- Lipitler: Kolesterol, fosfatidilserin, sfingomiyelin

MISEV2023 kılavuzları, tek belirteç ile tanımlamanın yetersiz olduğunu, eksozomların **çoklu belirteç panelleri** ve **işlevsel kanıtlarla** doğrulanması gerektiğini vurgulamaktadır (Welsh et al., 2024).

3. İZOLASYON VE KARAKTERİZASYON YÖNTEMLERİ

Eksozom izolasyonu, yüksek **saflık**, yeterli **verim** ve biyolojik **işlevselliğin korunması** arasında hassas bir denge gerektirir. Tek bir yöntem tüm kriterleri karşılamaz; son yıllarda farklı yöntemler geliştirilmiş olup bunların avantaj ve sınırlılıkları bulunmaktadır (J. Chen et al., 2022; Sidhom, Obi, & Saleem, 2020; Welsh et al., 2024) (Tablo 2).

3.1. Temel İzolasyon Teknikleri

- Ultrasantrifügasyon (dUC – differential ultracentrifugation): En yaygın yöntemdir; ancak art arda artan hızlarda santrifügasyon basamaklarıyla hücresel debris, büyük veziküller ve son aşamada eksozomlar çöktürülür. Avantajı basit ve maliyetsiz olmasıdır; ancak uzun işlem süresi, düşük tekrarlanabilirlik ve protein/lipoprotein kontaminasyonu önemli sınırlılıklarıdır (Sidhom et al., 2020).
- Yoğunluk gradyan santrifügasyonu: dUC'un ardından genellikle sükroz veya iyodiksanol gradyanı ile uygulanır. Eksozomları benzer boyuttaki protein agregatlarından ayırmada saflığı artırır. Ancak iş gücü fazladır ve ölçeklenebilirliği sınırlıdır (Théry et al., 2018).
- SEC (Boyut dışlama kromatografisi): Porlu kolonlar aracılığıyla partiküllerin boyutlarına göre ayrılmasını sağlar. Düşük protein kontaminasyonu, yüksek tekrarlanabilirlik ve klinik uygulamalar için ölçeklenebilirlik avantajıdır. Ancak işlem hacmi sınırlıdır (Sidhom et al., 2020).
- Ultrafiltrasyon & TFF (Tangential Flow Filtration): Yüksek hacimli örneklerin hızla işlenmesine uygundur. Membran gözeneklerine göre eksozomları geçirir veya tutar. Hızlı ve büyük hacimler için avantajlıdır; fakat kesme kuvveti ve membran etkileşimleri eksozom bütünlüğünü bozabilir (J. Chen et al., 2022).
- İmmünoaffinite yakalama: Eksozom yüzeyinde bulunan CD9, CD63, CD81 gibi belirteçlere karşı antikorlarla seçici yakalama sağlar. Spesifik

alt popülasyonların saflaştırılması için idealdir; ancak verimi düşük ve maliyeti yüksektir (Welsh et al., 2024).

- Mikroakışkan platformlar: Hızlı ve küçük örnek hacimleriyle çalışır; cihaz bağımlılığı ve standartlaşma eksikliği sınırlayıcıdır (J. Chen et al., 2022).

3.2. Karakterizasyon Yaklaşımları

Eksozomların doğru tanımlanabilmesi için **morfolojik, biyofiziksel ve biyokimyasal yöntemlerin kombinasyonu** gerekmektedir. **MISEV2018** ve güncellenmiş **MISEV2023** kılavuzları, karakterizasyonun en az üç farklı boyutta yapılmasını önermektedir: (i) boyut ve yoğunluk, (ii) morfoloji, (iii) moleküler içerik (Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024).

- Fiziksel yöntemler (Boyut ve yoğunluk ölçümleri): Nanopartikül izleme analizi (NTA), Tunable Resistive Pulse Sensing (TRPS) ve Dinamik Işık Saçılımı (DLS) yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu teknikler, eksozomların ortalama çapını (30–150 nm) ve dağılımını belirlemekte etkilidir (J. Chen et al., 2022; Sidhom et al., 2020).
- Morfolojik yöntemler: Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ve cryo-TEM, eksozomların boyut ve morfolojilerinin doğrulanmasında "altın standart" kabul edilmektedir. TEM, eksozomların tipik yuvarlak çift membranlı yapısını göstermede güçlüdür; cryo-TEM ise yapıları doğal haline daha yakın şekilde görselleştirir (Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024).
- Moleküler içerik analizi (Protein/nükleik asit): Eksozom protein profili ((tetraspaninler (CD9, CD63, CD81), Alix, TSG101)) Western blot, ELISA ve kütle spektrometresi (LC-MS) ile belirlenir. RNA içerikleri ise qPCR ve yeni nesil dizileme (NGS) yöntemleriyle analiz edilir. Böylece miRNA, mRNA ve uzun kodlamayan RNA içerikleri doğrulanır (J. Chen et al., 2022).
- Yüzey belirteçleri (Akış sitometrisi/nanoFACS): Akım sitometrisi ve nanoFACS gibi yöntemlerle CD9, CD63, CD81 gibi tetraspaninlerin varlığı hücre dışı veziküllerde tekil parçacık düzeyinde analiz edilebilmektedir (Welsh et al., 2024).

Sonuç olarak, MISEV2023 standartları, eksozom çalışmaları için **çoklu teknikle doğrulamanın** zorunlu olduğunu vurgulamaktadır. **Tek başına boyut ya da protein profili tanımlama için yeterli değildir**; araştırmalarda hem biyofiziksel hem biyokimyasal hem de fonksiyonel doğrulama yapılmalıdır (Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024).

Tablo 2. Başlıca Eksozom İzolasyon Yöntemlerinin Karşılaştırması

Yöntem	Zaman	Saflık	Verim	Maliyet	Klinik Uygunluk
Diferansiyel Ultrasantrifügasyon (dUC)	Uzun (4–8 saat)	Orta (yüksek kontaminasyon riski)	Yüksek	Orta (yüksek ekipman maliyeti)	Düşük
Yoğunluk Gradyan Ultrasantrifügasyonu	Çok uzun (8+ saat)	Yüksek	Orta	Yüksek	Düşük-Orta
Boyut Dışlama Kromatografisi (SEC)	Orta (1–2 saat)	Çok yüksek	Orta-Yüksek	Orta	Yüksek
Ultrafiltrasyon / TFF	Kısa (1–2 saat)	Orta-Yüksek	Yüksek	Orta	Yüksek
İmmünoaffinite Yakalama	Orta (1–3 saat)	Çok yüksek (spesifik)	Düşük-Orta	Yüksek (antikor maliyeti)	Orta
Mikroakışkan Platformlar	Çok kısa (<1 saat)	Orta	Düşük-Orta	Yüksek (cihaz maliyeti)	Artan (henüz deneysel)

4. FİZYOLOJİK ROLLERİ

Eksozomlar yalnızca "hücresel atık" taşıyıcıları değil, aynı zamanda hücreler arası iletişimin güçlü aracılarından biridir. Taşıdıkları proteinler, nükleik asitler ve lipitler aracılığıyla alıcı hücrelerin gen ekspresyonunu, metabolizmasını ve fenotipini değiştirebilirler. Bu özellikleriyle fizyolojik süreçlerde homeostazın korunmasına katkıda bulunurlar (Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024).

4.1. Hücreler Arası İletişim

Eksozomların en önemli rolleri arasında hücreler arası iletişim yer alır. Kaynak hücreden salınan eksozomlar, alıcı hücre tarafından endositoz, membran füzyonu veya reseptör aracılı yollarla alınarak içeriklerini aktarır (Mathieu, Martin-Jaular, Lavieu, & Théry, 2019; Raposo & Stoorvogel, 2013; Van Niel et al., 2018).

- Moleküler kargo transferi: Eksozomlar miRNA, mRNA, lncRNA ve proteinler taşır. Örneğin, miR-21 ve miR-210 taşıyan eksozomlar, endotel hücrelerinde proliferasyonu ve anjiyogenezi artırır (Femminò et al., 2022).
- Doku mikroçevresi düzenleme: Eksozomlar, kaynak hücreden uzak dokularda bile sinyalleme yapabilir. Örneğin kardiyomiyositlerden salınan eksozomlar, endotel hücrelerinde damar oluşumunu tetikleyerek kardiyoprotektif etki gösterir (Liu et al., 2021).
- Sinaptik iletişim: Nöronlar tarafından salınan eksozomlar, sinaptik plastisite ve nörotransmitter regülasyonunda rol oynar (Raghav et al., 2022).

Bu özellikler eksozomları "moleküler kuryeler" olarak tanımlanabilir kılmaktadır.

4.2. İmmün Sistem ve Rejenerasyondaki Etkiler

Eksozomlar bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde çift yönlü roller üstlenir:

- Antijen sunumu: Dendritik hücre eksozomları MHC sınıf I ve II molekülleri taşıyarak T hücre aktivasyonunu başlatabilir. Bu özellikleri, eksozomları potansiyel bir immünoterapi aracı haline getirmektedir (Théry et al., 2018).
- İmmün baskılama: Tümör kaynaklı eksozomlar PD-L1 gibi immün baskılayıcı moleküller taşıyarak immün sistemin tümör hücrelerini tanımasını engeller (Wang, Wang, Qin, & Chen, 2024).

Rejeneratif tıpta ise eksozomlar özellikle **mezenkimal kök hücre (MSC)** kökenli olduklarında doku onarımında önemli rol oynar:

- MSC eksozomları, anjiyogenez ve anti-apoptoz etkiler gösterir.

- Kalp hasarında MSC eksozomları, kardiyomiyositlerde hücre ölümünü azaltır, fibroblast aktivitesini düzenler (McMullan, Joladarashi, & Kishore, 2025).
- Karaciğer ve böbrek hasarında MSC eksozomları inflamasyonu baskılar ve rejenerasyonu hızlandırır (Liu et al., 2021).

Dolayısıyla eksozomlar, hem bağışıklık sisteminde hem de doku onarımında fizyolojik dengeyi sağlayan kritik biyolojik aracılardır.

5. HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ

Eksozomlar yalnızca fizyolojik süreçlerde değil, aynı zamanda birçok hastalığın gelişiminde, ilerlemesinde ve yayılımında da kritik roller üstlenmektedir (Kalluri & LeBleu, 2020; Théry et al., 2018; Welsh et al., 2024). Kaynak hücreden salınan eksozomlar, patolojik kargo içerikleri ile hedef hücrelerde anormal yanıtlar başlatabilir. Bu durum özellikle **kanser, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler ve metabolik bozukluklar** açısından yoğun olarak incelenmiştir.

5.1. Kanser

Kanser biyolojisinde eksozomların rolü çok yönlüdür:

- Tümör progresyonu ve metastaz: Tümör hücrelerinden salınan eksozomlar, epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) uyararak invazyonu artırır. Ayrıca uzak dokularda "pre-metastatik niş" oluşturarak metastazı kolaylaştırır (Aqil & Gupta, 2022).
- İmmün baskılama: Kanser eksozomları sıklıkla PD-L1 ve TGF-β gibi immün baskılayıcı moleküller taşır. Bu sayede T hücre aktivasyonu baskılanır, immün sistemin tümör hücrelerini ortadan kaldırması engellenir (Wang et al., 2024).
- İlaç direnci: Kemoterapi sırasında tümör hücreleri ilaç taşıyan eksozomları dışarı atarak direnci artırabilir. Ayrıca eksozomlar ilaç dirençli fenotipi miRNA transferi yoluyla diğer hücrelere de aktarabilir (Aqil & Gupta, 2022).
- Tanısal potansiyel: Serum veya plazmadaki tümör kaynaklı eksozomal miRNA'lar (örn. miR-21, miR-222) tanıda biyobelirteç olarak

kullanılabilir (Melo et al., 2015; Rabinowits, Gerçel-Taylor, Day, Taylor, & Kloecker, 2009; Zhang et al., 2015).

Özetle: Kanser eksozomları hem patogenezde "aktif oyuncu" hem de tanı/tedavide "hedef ve araç" konumundadır.

5.2. Nörolojik Hastalıklar

Eksozomlar kan-beyin bariyerini geçebilme özellikleriyle nörolojik hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar.

- Alzheimer hastalığı: Eksozomlar, Aβ peptidleri ve fosforile tau proteinlerini taşıyarak hastalığın ilerlemesine katkıda bulunur (Li et al., 2023).
- Parkinson hastalığı: Nöron kaynaklı eksozomlar, α-sinüklein agregatlarını taşıyarak patolojik proteinin yayılımına aracılık eder (Emmanouilidou et al., 2010; Stuendl et al., 2016).
- Amyotrofik lateral skleroz (ALS): Motor nöron kaynaklı eksozomlarda toksik RNA/proteinler bulunabilir (Gagliardi, Bresolin, Comi, & Corti, 2021).
- Tanı potansiyeli: Beyin kaynaklı eksozomlar periferik kanda tespit edilebilir. Bu özellikleri ile non-invaziv biyobelirteç olarak değerlidir (Raghav et al., 2022).

5.3. Kardiyovasküler ve Metabolik Hastalıklar

Kardiyovasküler hastalıklar: Kardiyak hücrelerden salınan eksozomlar, **iskemik hasar sonrası** kardiyomiyositlerde anti-apoptotik etki gösterir. Ayrıca endotel hücrelerinde anjiyogenezi uyararak damar oluşumunu destekler (Femminò et al., 2022; McMullan et al., 2025).

Ateroskleroz: Makrofaj ve endotel hücre eksozomları, inflamatuvar yanıtı artırarak aterosklerotik plak oluşumuna katkı sağlayabilir (He et al., 2018; Jansen, Nickenig, & Werner, 2017).

Obezite ve diyabet: Yağ dokusundan salınan eksozomlar, **pro-inflamatuvar sitokinler ve miRNA'lar** taşıyarak insülin direncini artırır. Bu eksozomlar ayrıca **karaciğer yağlanması (NAFLD)** gelişiminde rol oynar (Jung & Han, 2022).

6. TANIYA YÖNELİK KULLANIMI

6.1. Biyobelirteç Potansiyeli

Kandaki tümör/organ-spesifik eksozomal miRNA/DNA/protein profilleri, non-invaziv tanı ve prognoz takibinde umut vericidir. **MISEV2023**, biyobelirteç çalışmalarında **ön-analitik değişkenlerin** (ör. hemoliz, depolama) raporlanmasını şart koşar (Wang et al., 2024; Welsh et al., 2024).

Klinik Tanıdaki Avantajlar ve Sınırlılıklar

Likit biyopsilerde eksozomlar **stabil kargo** avantajına sahip olmakla birlikte, **ayrıştırma standardizasyonu**, **matriks-kaynaklı karışıklıklar (lipoproteinler)** ve **klinik validasyon** gereklilikleri sınırlayıcıdır (Mizenko et al., 2024; Sidhom et al., 2020).

7. TEDAVİDE KULLANIM ALANLARI

7.1. İlaç Taşıyıcı Sistemler

Eksozomlar **biyouyumluluk** ve **düşük immünojenisite**leri nedeniyle ilaç/nükleik asit taşıyıcıları olarak öne çıkar; yüzey mühendisliği ile hedefleme artırılabilir (H. Chen et al., 2023; Schwarz et al., 2025).

7.2. RNA/Gen Tedavisi Yaklaşımları

siRNA/miRNA/mRNA kargolanmış eksozomlar çoklu yolakları aynı anda modüle edebilir; **ko-teslim** stratejileri (örn. ilaç + RNA) etkinliği artırır (H. Chen et al., 2023).

7.3. Rejeneratif Tıptaki Uygulamalar

Kardiyak onarımda MSC veya kardiyak kökenli eksozomlar **anjiyogenez, anti-apoptoz, anti-inflamasyon** etkileriyle iyileşmeyi destekler (Liu et al., 2021; McMullan et al., 2025).

8. KLİNİK VE BİYOTEKNOLOJİK YAKLAŞIMLAR

8.1. Bitki ve Hayvan Kaynaklı Eksozomlar

Bitki kaynaklı eksozom benzeri veziküller (PDEV) **oral stabilite** ve **gıda güvenliği** avantajlarıyla ilgi çekmektedir; ancak terminoloji ve izolasyon protokollerinde standart eksikleri vardır (Mao et al., 2024; Zeng et al., 2024).

8.2. GMP Standartları ve Üretim Süreçleri

MISEV2023 ve ISEV çıktılarına göre **tanımlama/izlenebilirlik**, **lot-lar arası tutarlılık**, **kirletici profilleme** ve **işlevsel validasyon** şarttır; klinik üretim için SEC/TFF tabanlı **ölçeklenebilir platformlar** öne çıkar (Sidhom et al., 2020; Welsh et al., 2024).

8.3. Güncel Klinik Çalışmalar

EV/eksozom temelli girişimlerle ilgili klinik denemelerin kapsamlı bir sistematik derlemesi, **endikasyon çeşitliliği** ve **raporlama heterojenliğ**ini göstermiştir; tasarım/sonuç raporlamasında iyileştirme gereklidir (Mizenko et al., 2024).

9. GELECEK PERSPEKTİFLER

9.1. Mühendislik Ürünü Eksozomlar

Yüzey ligandları (örn. anti-HER2, folat) ve akıllı kargo yüklemeleriyle **hassas hedefleme** mümkün; çoklu kargo ve **kombine tedavi** gündemdedir (Schwarz et al., 2025).

9.2. Nanoteknoloji ile Entegrasyon

Hidrojeller ve biyomalzemelerle **lokal ve sürekli salım** sistemleri doku onarımında umut vericidir (J. Chen et al., 2022).

9.3. Etik ve Regülasyon Tartışmaları

Kaynak materyalin izlenebilirliği, insan-türevli ürünlerde **donör taraması**, **kanserleşme riski** ve **uzun dönem güvenlik** verileri düzenleyici açıdan kritik kalacaktır (Mizenko et al., 2024; Welsh et al., 2024).

10. SONUÇ

Eksozomlar tanı ve tedavide **yüksek potansiyel** taşır; ancak **standartlaştırılmış izolasyon**, **çoklu belirteçle karakterizasyon**, **işlevsel doğrulama** ve **klinik validasyon** gereksinimleri devam etmektedir. MISEV2023'ün rehberliğinde, ölçeklenebilir üretim ve mühendislik stratejileri translasyona giden yolu açmaktadır (Sidhom et al., 2020; Welsh et al., 2024).

KAYNAKÇA

Aqil, F., & Gupta, R. C. (2022). Exosomes in cancer therapy. In (Vol. 14, pp. 500): MDPI.

Chen, H., Yao, H., Chi, J., Li, C., Liu, Y., Yang, J., . . . Pi, J. (2023). Engineered exosomes as drug and RNA co-delivery system: new hope for enhanced therapeutics? *Frontiers in bioengineering and biotechnology, 11*, 1254356.

Chen, J., Li, P., Zhang, T., Xu, Z., Huang, X., Wang, R., & Du, L. (2022). Review on strategies and technologies for exosome isolation and purification. *Frontiers in bioengineering and biotechnology, 9*, 811971.

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.

Femminò, S., Bonelli, F., & Brizzi, M. F. (2022). Extracellular vesicles in cardiac repair and regeneration: Beyond stem-cell-based approaches. *Frontiers in Cell and Developmental Biology, 10*, 996887.

Gagliardi, D., Bresolin, N., Comi, G. P., & Corti, S. (2021). Extracellular vesicles and amyotrophic lateral sclerosis: from misfolded protein vehicles to promising clinical biomarkers. *Cellular and molecular life sciences, 78*(2), 561-572.

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.

He, S., Wu, C., Xiao, J., Li, D., Sun, Z., & Li, M. (2018). Endothelial extracellular vesicles modulate the macrophage phenotype: Potential implications in atherosclerosis. *Scandinavian journal of immunology, 87*(4), e12648.

Jansen, F., Nickenig, G., & Werner, N. (2017). Extracellular vesicles in cardiovascular disease: potential applications in diagnosis, prognosis, and epidemiology. *Circulation research, 120*(10), 1649-1657.

Johnstone, R. (1992). Maturation of reticulocytes: formation of exosomes as a mechanism for shedding membrane proteins. *Biochemistry and Cell Biology, 70*(3-4), 179-190.

Jung, Y. H., & Han, H. J. (2022). Fatty Exosomes Aggravate Metabolic Disorders. *Molecules and cells, 45*(10), 692-694.

Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *science, 367*(6478), eaau6977.

Katzmann, D. J., Babst, M., & Emr, S. D. (2001). Ubiquitin-dependent sorting into the multivesicular body pathway requires the function of a conserved endosomal protein sorting complex, ESCRT-I. *Cell, 106*(2), 145-155.

Kowal, J., Tkach, M., & Théry, C. (2014). Biogenesis and secretion of exosomes. *Current opinion in cell biology, 29*, 116-125.

Li, Z., Wang, X., Wang, X., Yi, X., Wong, Y. K., Wu, J., . . . Wang, J. (2023). Research progress on the role of extracellular vesicles in neurodegenerative diseases. *Translational neurodegeneration, 12*(1), 43.

Liu, C., Bayado, N., He, D., Li, J., Chen, H., Li, L., . . . Tang, J. (2021). Therapeutic applications of extracellular vesicles for myocardial repair. *Frontiers in Cardiovascular Medicine, 8*, 758050.

Mao, X., Li, T., Qi, W., Miao, Z., Zhu, L., Zhang, C., . . . Wang, D. (2024). Advances in the study of plant-derived extracellular vesicles in the skeletal muscle system. *Pharmacological Research, 204*, 107202.

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.

McMullan, E., Joladarashi, D., & Kishore, R. (2025). Unpacking Exosomes: A Therapeutic Frontier for Cardiac Repair. *Current Cardiology Reports, 27*(1), 73.

Melo, S. A., Luecke, L. B., Kahlert, C., Fernandez, A. F., Gammon, S. T., Kaye, J., . . . Rahbari, N. (2015). Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. *nature, 523*(7559), 177-182.

Mizenko, R. R., Feaver, M., Bozkurt, B. T., Lowe, N., Nguyen, B., Huang, K. W., . . . Carney, R. P. (2024). A critical systematic review of extracellular vesicle clinical trials. *Journal of extracellular vesicles, 13*(10), e12510.

Pan, B.-T., & Johnstone, R. M. (1983). Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell, 33*(3), 967-978.

Rabinowits, G., Gerçel-Taylor, C., Day, J. M., Taylor, D. D., & Kloecker, G. H. (2009). Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clinical lung cancer, 10*(1), 42-46.

Raghav, A., Singh, M., Jeong, G.-B., Giri, R., Agarwal, S., Kala, S., & Gautam, K. A. (2022). Extracellular vesicles in neurodegenerative diseases: A systematic review. *Frontiers in molecular neuroscience, 15*, 1061076.

Raposo, G., & Stoorvogel, W. (2013). Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *Journal of cell biology, 200*(4), 373-383.

Schwarz, G., Ren, X., Xie, W., Guo, H., Jiang, Y., & Zhang, J. (2025). Engineered exosomes: A promising drug delivery platform with therapeutic potential. *Frontiers in molecular biosciences, 12*, 1583992.

Sidhom, K., Obi, P. O., & Saleem, A. (2020). A review of exosomal isolation methods: is size exclusion chromatography the best option? *International journal of molecular sciences, 21*(18), 6466.

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.

Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., . . . Atkin-Smith, G. K. (2018). Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *Journal of extracellular vesicles, 7*(1), 1535750.

Trajkovic, K., Hsu, C., Chiantia, S., Rajendran, L., Wenzel, D., Wieland, F., . . . Simons, M. (2008). Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *science, 319*(5867), 1244-1247.

Van Niel, G., d'Angelo, G., & Raposo, G. (2018). Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature reviews Molecular cell biology, 19*(4), 213-228.

Wang, Z., Wang, Q., Qin, F., & Chen, J. (2024). Exosomes: a promising avenue for cancer diagnosis beyond treatment. *Frontiers in Cell and Developmental Biology, 12*, 1344705.

Welsh, J. A., Goberdhan, D. C., O'Driscoll, L., Buzas, E. I., Blenkiron, C., Bussolati, B., . . . Erdbrügger, U. (2024). Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *Journal of extracellular vesicles, 13*(2), e12404.

Zeng, Y.-B., Deng, X., Shen, L.-S., Yang, Y., Zhou, X., Ye, L., . . . Chen, G.-Q. (2024). Advances in plant-derived extracellular vesicles: isolation, composition, and biological functions. *Food & Function, 15*(23), 11319-11341.

Zhang, J., Li, S., Li, L., Li, M., Guo, C., Yao, J., & Mi, S. (2015). Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics, proteomics & bioinformatics, 13*(1), 17-24.

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ DEĞERLENDİRMELERİ

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com