

# Biyolojik Bir Hazine

# EKSOZOMLAR

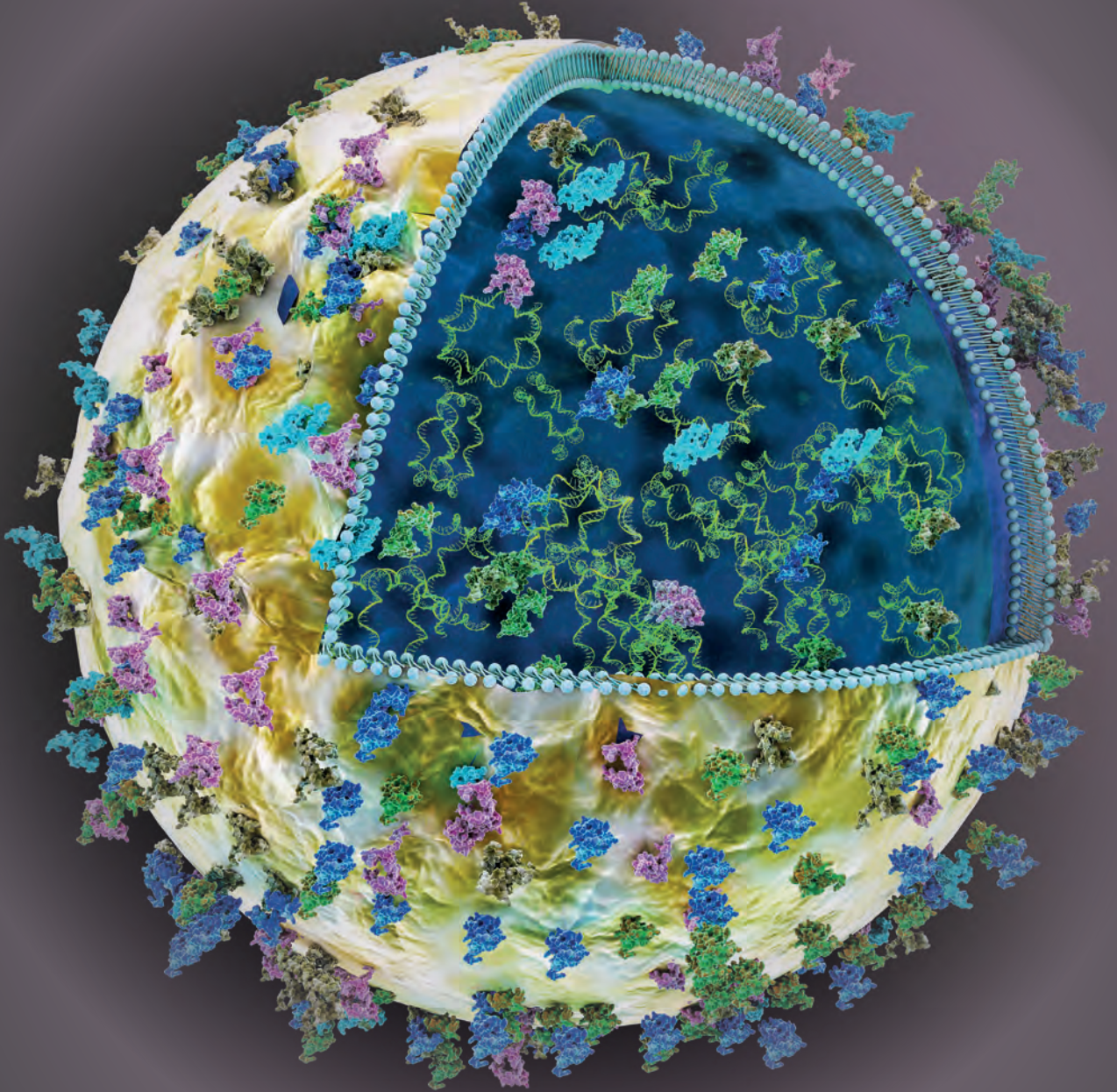
Prof. Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu [ *Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı*

Arş. Gör. Tülay Selin Ertekin [ *Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü*

Arş. Gör. Elvan Konuk [ *Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı*

Keşifleri yaklaşık 30 yıl öncesine dayanan eksozomlar son yıllarda yoğun olarak araştırılan bir konu hâline geldi.

Başlangıçta eksozomların sadece hücrelerdeki gereksiz ya da toksik ürünleri dışarı atmak için hücrel bir atık mekanizması olduğu düşünülüyordu. Ancak, hücre biyolojisi, hücreler arası iletişim, immünoloji ve kanser alanındaki araştırmalar, eksozomların sahip oldukları içerik nedeniyle biyolojik bir hazine olduğuna işaret ediyor.

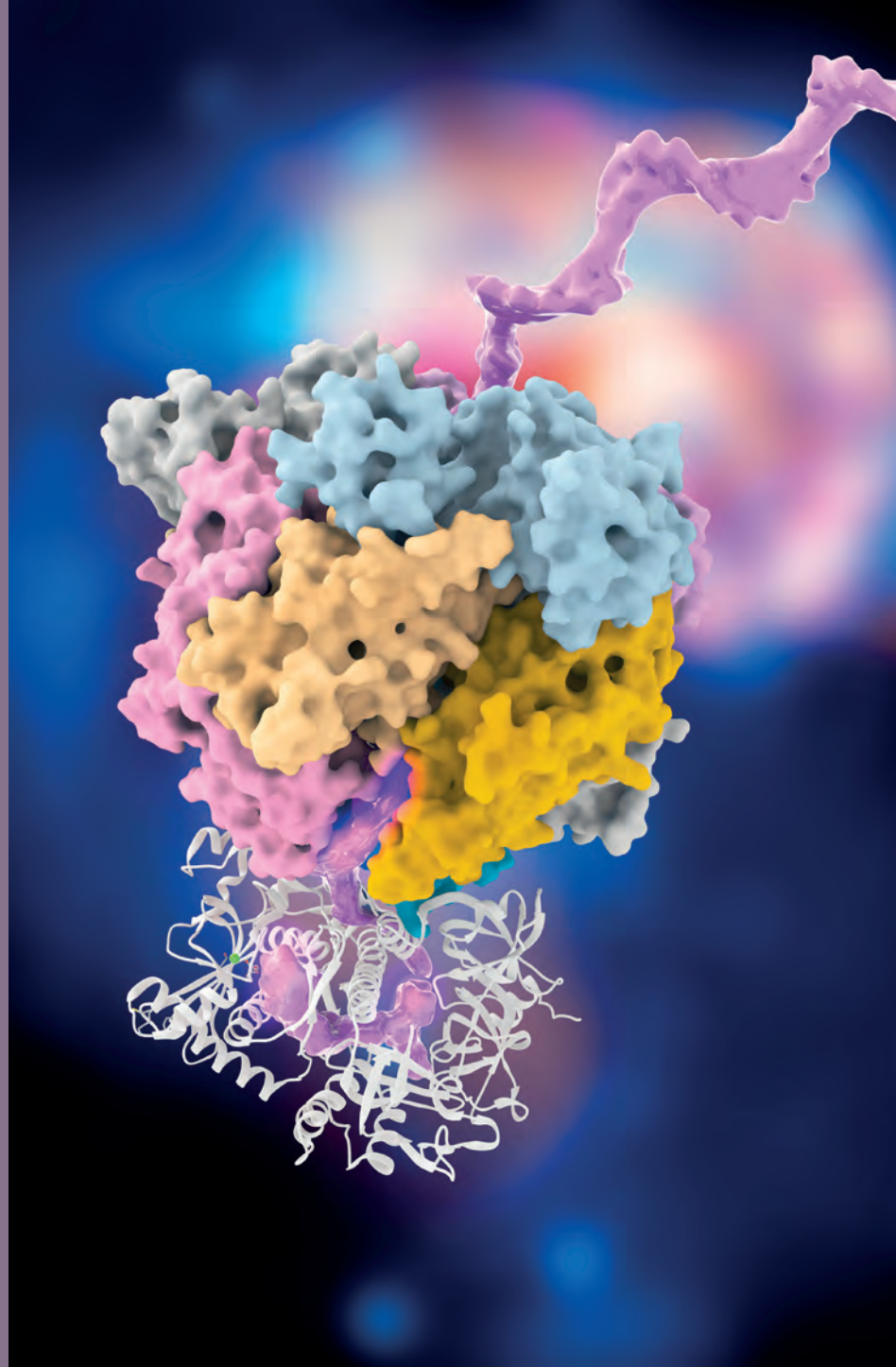


Hücredeki eksozom kompleksinin temsili görüntüsü.  
Eksozomlar birçok proteinden oluşur.  
Hücre kesiti içinde RNA iplikleri, protein alt birimleri ve hücre zarı üzerinde de yüzey proteinleri görülüyor.

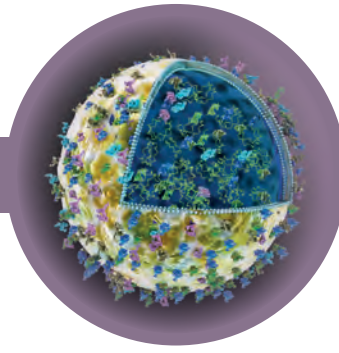
# Eksozom Nedir?

Eksozomlar, hücreler tarafından hücre dışı ortama salınan ve boyutları 40-100 nanometre arasında değişen doğal keseciklerdir. Çift katlı fosfolipid yapıdaki zarla çevrili olan bu kesecikler içerisinde çeşitli nükleik asit türleri ve türevleri, lipidler ve proteinler bulunur. Hücre dışında bulunan ve bir zarla çevrili bu keseciklerin varlığı yaklaşık 50 yıldır biliniyordu. Ancak, eksozomların bugün bilinen fonksiyonları ile keşfedilmeleri 1980'li yıllara dayanıyor. İlk keşfedildiklerinde eksozomların sadece hücredeki atıkların hücre dışına taşınmasında görevli oldukları düşünülüyordu. Ancak alyuvarların olgunlaşması sırasında transferin reseptörünün atılması için eksozomların kullanıldığının keşfedilmesi, ardından B-hücrelerindeki immünolojik rollerinin gösterilmesi ve son olarak da çeşitli nükleik asit türevlerini barındırdığının ve kanser metabolizmasındaki rolünün de keşfiyle eksozom çalışmaları çok farklı boyutlara taşındı. Son yıllarda yapılan araştırmalarda eksozomların neredeyse bilinen bütün vücut hücreleri tarafından salındığı ve anne sütü, idrar, tükürük, ter, serum ve plazma gibi çok çeşitli vücut sıvılarında da bulunduğu belirlendi.

Eksozom kompleksinin DNA, RNA ve çok sayıda protein alt biriminden oluşan moleküler modeli (sağda).



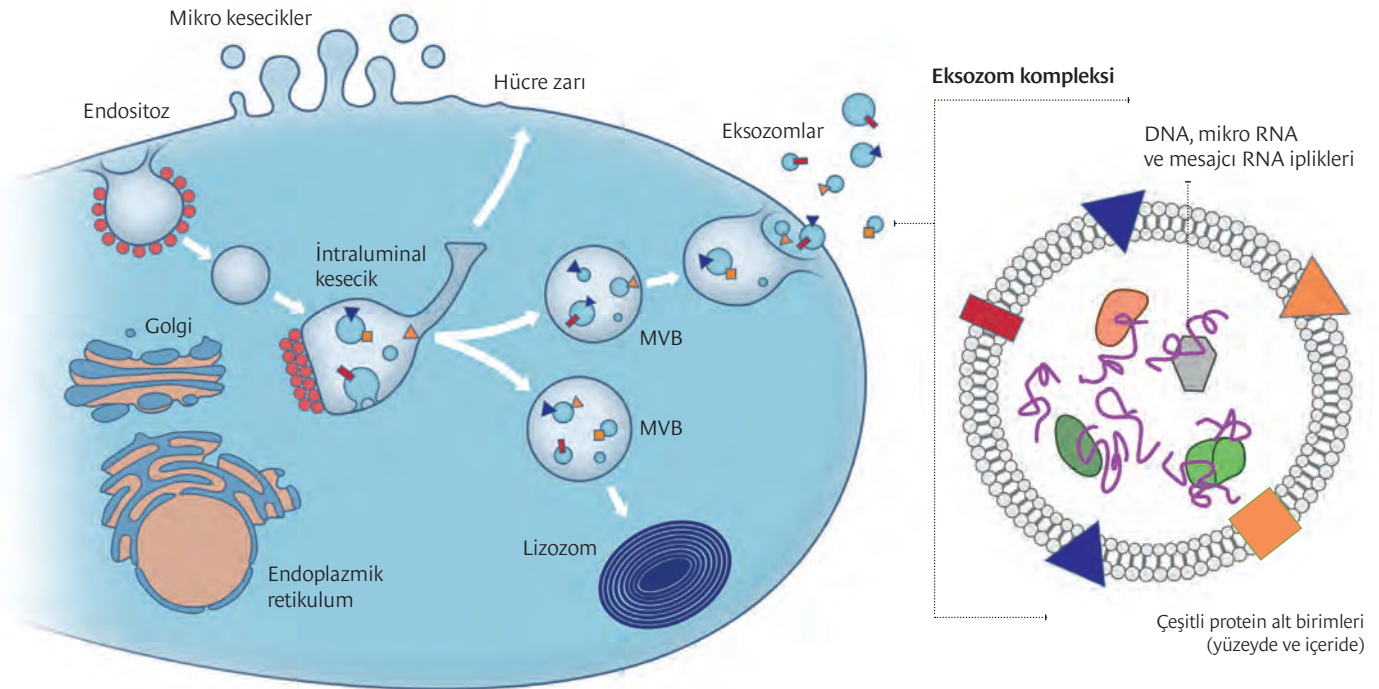
# Eksozomlar Nasıl Oluşur?



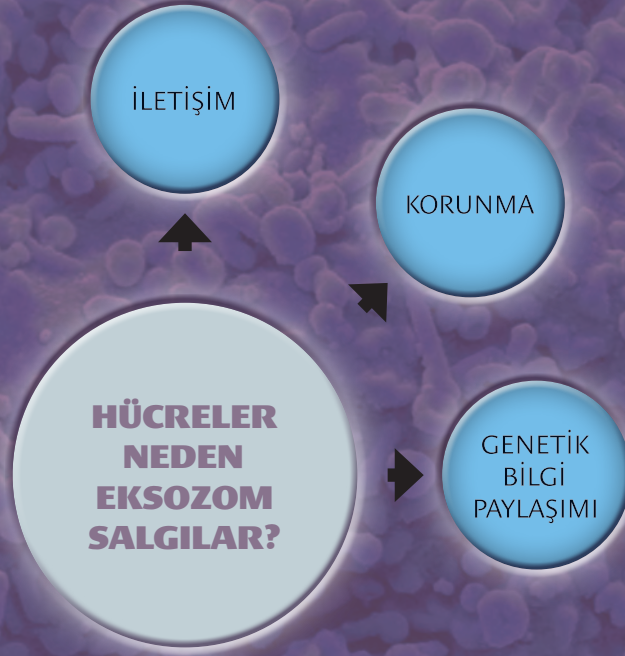
Eksozom oluşumu ilk bakışta basit ancak temelde oldukça karmaşık bazı biyokimyasal süreçler ile meydana geliyor. Oluşumun ilk basamağında hücre zarının bir bölümü hücre içine alınıyor (endositoz). Bu zar tekrar kendi içine kıvrılıyor ve küçük bir kesecik (intraluminal kesecik) oluşturuyor. Ardından "multiveziküler cisimcik (MVB)" olarak adlandırılan ve içerisinde çok sayıda kesecik barındıran bir yapı oluşuyor.

MVB'ler metabolik olarak iki farklı yol izleyebiliyorlar. Eğer, bir MVB düşük kolesterol seviyesine sahip ise parçalanıyor, hücre içerisindeki bir organel olan lizozomun yapısına katılıyor ve sonunda MVB içeriği hücreye geri dönüşüme gidiyor. İkinci durumda ise; daha yüksek kolesterolle sahip olan MVB'ler plazma zarıyla birleşiyor ve MVB içeriği hücrenin dışına atılıyor. İşte bu atıklara "eksozom" deniyor.

Tüm bu süreçler hücre içindeki sinyalizasyon araçları ile sıkı bir şekilde kontrol ediliyor. Ancak bu yollardan hangisinin, hangi koşullarda devreye gireceği henüz bilinmiyor. Bu nedenle eksozom salınması ve MVB içerisindeki keseciklerin lizozoma gönderilmesi arasındaki dengeyi düzenleyen mekanizmanın nasıl işlediği, hâlâ araştırılmakta olan bir konu olarak karşımıza çıkıyor.



Eksozom oluşumu. Oluşumun ilk basamağında hücre zarının bir bölümü hücre içine alınıyor (endositoz). Bu zar tekrar kendi içine kıvrılıyor ve küçük bir kesecik (intraluminal kesecik) oluşturuyor. Ardından "multiveziküler cisimcik (MVB)" olarak adlandırılan ve içerisinde çok sayıda kesecik barındıran bir yapı oluşuyor. Son aşamada MVB'ler plazma zarıyla birleşiyor ve MVB içeriği hücrenin dışına atılıyor. Bu atıklar da "eksozom" olarak adlandırılıyor ya da MVB içeriği lizozomun yapısına katılarak hücre içi dönüşüme uğruyor.



Hücreler birbirleri ile haberleşebilmek, kendilerini iç ve dış stresten korumak ve genetik bilgilerini paylaşabilmek amacıyla eksozom salgırlar.

## Hücreler Neden Eksozom Salgılar?

**T**üm çok hücreli organizmalarda, hücrelerin kendi aralarında uyumlu ve etkin bir şekilde çalışması için haberleşmeleri gerekir. Hücreler arasındaki bu bilgi alışverişi, çözünebilir moleküllerin salgılanmasıyla veya doğrudan etkileşim yoluyla sağlanır. Buna ek olarak, birçok ökaryotik hücre, hem uzağındaki hem de yakınındaki hücrelere ulaşabilen, hücre zarı kaynaklı kesecikleri yani eksozomları salgılar. Kısacası, hücreler, iletişim, korunma ve genetik bilginin paylaşılması amacıyla eksozom üretiyor. Yapılan çalışmalar işlevsel reseptörlerin ve ikincil mesajcıların hedef hücrelere eksozomlarla taşındığını gösteriyor.

Hücreler birbirleri ile etkin bir şekilde haberleşebildiği gibi kendi atık yönetimini de yapabilen birimler. Bunu eksozomlar aracılığıyla, gereksiz veya toksik ürünleri hücre dışına atarak, hücreyi oluşabilecek iç ve dış streslere karşı koruyarak başarıyorlar.

Aynı zamanda hücreler genetik bilginin paylaşılması amacıyla da ortama saldıkları eksozomlar ile hücreye ait mRNA (messenger RNA) ve alt türevleri olan miRNA gibi molekülleri alıcı hücrelere taşıyorlar.

## Her Canlı Eksozom Salgılar mı?:

Hücrelerin eksozom salgılabilmesi için hücre sitoplazması içerisinde zarlı yapıda organellere sahip olması gerekiyor. Çekirdek zarı, Golgi cisimciği, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, endozom, lizozom ve hücre zarı gibi yapıları içeren bu sistem yalnızca ökaryotik canlılarda bulunuyor. Bu nedenle bakteri ve mavi-yeşil algler gibi prokaryotik canlılar eksozom salgılayamıyor.

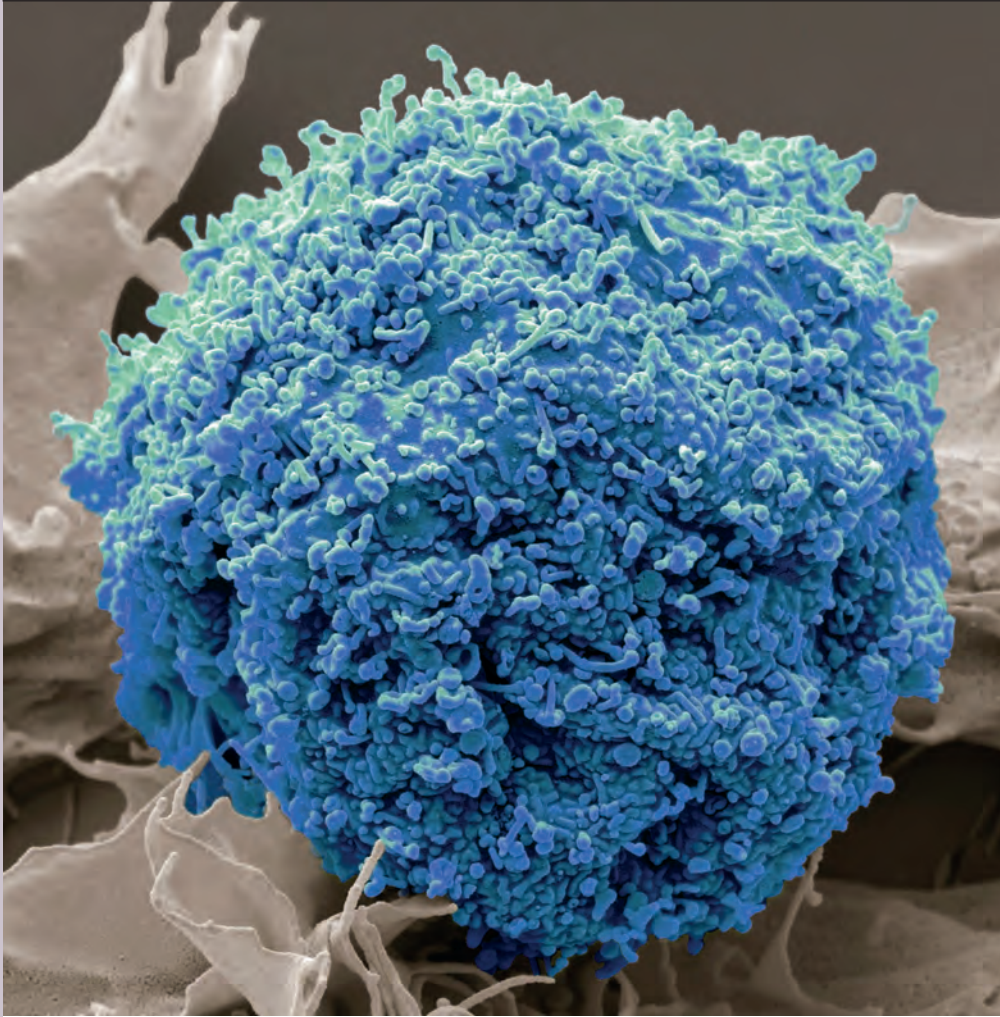
## Eksozomlar Nasıl Elde Edilir?

**E**ksozomlar çoğunlukla laboratuvar ortamında kültüre alınan hücreleri çoğaltmak ya da farklılaştırmak için kullanılan kültür ortamlarından elde ediliyor. Bunun için hücrelerin üzerindeki kültür sıvısı (süpernatant) alınır ve çeşitli izolasyon teknikleri uygulanarak bu sıvıdan eksozomlar elde edilir. Hücre kültürü süpernatantında, kan, idrar, ağız içi salgı, amniyotik sıvı, beyin-omurilik sıvısı, eklem sıvısı, nazal salgılar, anne sütü, serum ve plazma dâhil, bütün vücut sıvılarından da eksozomlar elde edilebilir. Eksozom izolasyonu için

santrifüj, immüno afinite ve filtrasyon tekniklerine dayanan birden çok yöntem kullanılıyor. Her yöntemin kendine özgü güçlü yanları ve sınırlamaları olsa da bu yöntemler arasında en yaygın olanı ultrasantrifüj yöntemi. Merkezkaç kuvvetlerinin etkin olduğu bu yöntem, santrifüj kuvveti ve süresi giderek artan bir dizi santrifüj basamaklarından oluşuyor.

Hücre kültür süpernatantı içinde eksozomlar dışında ölü ve canlı hücreler, hücresel atıklar, proteinler gibi boyutları ve yoğunlukları birbirin-

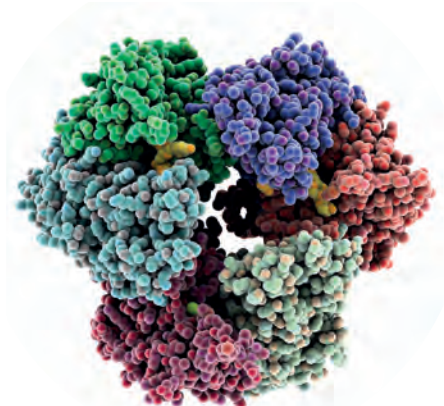
den farklı birçok bileşen bulunuyor. Her bir santrifüj basamağında bu bileşenlerden daha ağır olanları ortamdan ayrılarak dibe çöküyor ve üstte kalan sıvı alınarak daha yüksek santrifüj hızında işleme devam ediliyor. Belirli hızlarda ve sürelerde gerçekleştirilen santrifüj basamaklarından sonra eksozomlar elde ediliyor. Güvenilir ve çok yaygın bir yöntem olarak kullanılmasına rağmen, santrifüj sürelerinin çok uzun sürmesi, maliyetin yüksek olması ve eksozomların yüksek santrifüj hızlarından zarar görmesi bu yöntemdeki en önemli sorunlar.



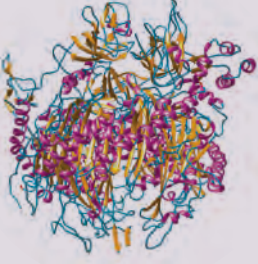
**Kültüre alınmış 293T hücresinin çok sayıda eksozomu hücre zarından dışarı salgıladığı görülüyor.**

Renkli taramalıelektron mikroskop (SEM) görüntüsü (büyütme x 7000)

Eksozomlardaki protein alt birimlerini gösteren moleküler modeli.



# Eksozomlar Neden Bu Kadar Önemli?



Eksozomlar köken aldıkları ve salındıkları hücre kaynağına bağlı olarak farklı biyolojik özellikler gösterirler.

Bu özellikleri alt başlıklar şeklinde sıralayıp açıkladık.

## Genetik Bilgi ve Sinyal Moleküllerinin Taşınması

Eksozomlar alıcı hücrelerin içerisine girip eksozomal içeriklerini hücrelere aktarıyorlar. 2000'li yıllarda yapılan araştırmalar, eksozomların içerdikleri biyomoleküller arasında mRNA ve miRNA gibi önemli RNA türlerinin bulunduğunu ve bu yapıların alıcı hücrelere aktarılabilirliğini gösteriyor. Eksozomlar, sahip oldukları bu kargo içerikleri sayesinde hedef hücrenin gen ifadelerini düzenleyebiliyor. Ayrıca sadece genetik bilgi içeren biyomolekülleri değil, çeşitli sinyal moleküllerini de taşıyorlar. Eksozomun içerisinde bulunan bu sinyal molekülleri alıcı hücreye aktararak, hücrelerde ilgili sinyal yollarının düzenlenmesine katkıda bulunuyor.

## Bağışıklık Sisteminin Düzenlenmesi

Eksozomların, salgılandıkları hücreler ile alıcı hücreler arasında çeşitli protein ve lipid alışverişini yapabilme özelliği sayesinde, hücreler arası iletişimde de rol aldığı belirtiliyor. Eksozomların sahip oldukları bu özellik bağışıklık sisteminde de karşımıza çıkıyor. Dendritik hücrelerden elde edilen eksozomların antijene özgü T hücre aktivasyonunu desteklemesi bize dendritik hücreler, makrofajlar ve B-lenfositlerden salınan eksozomların bağışıklık yanıtı oluşmasında ve düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğunu gösteriyor.



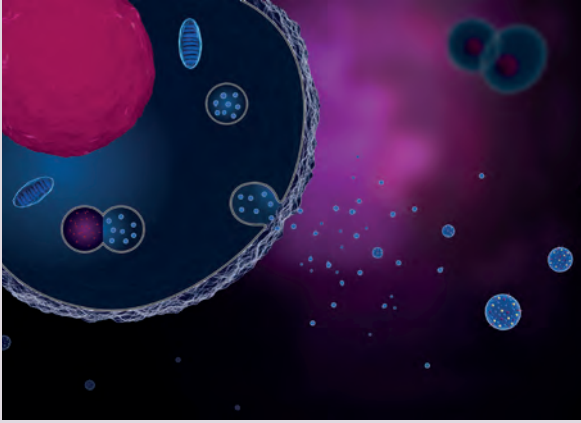
## Hastalıkların Tanısı

Eksozomların önemli fizyolojik özelliklere sahip olmalarının yanı sıra türetildikleri hücre kaynağına bağlı olarak farklı biyolojik özellikte etki mekanizmaları içermeleri ve köken aldıkları hücrelere benzer işlevsel özellik göstermeleri, bu yapıların hastalıkların tanısında da kullanılmasına olanak sağlıyor. Hastalık denildiğinde de çalışmalar kanser üzerinde yoğunlaşıyor. Bu çalışmalarda kanser hücrelerinin eksozomlar sayesinde bağışıklık sisteminden kaçabildiği, bağışıklık sistemi hücrelerini yok edebildiği, kanser hücrelerinden salınan eksozomların tümörlerin etrafında damarlanmayı artırdığı ve kanser hücrelerinin ilaç direnci kazanmasına neden olduğu belirtiliyor. Bununla beraber eksozomlar, yüzeylerinde veya kesecik içinde taşıdıkları onkogenik (kansere yol açan) sinyal proteinleri, ligandlar, enzimler ve miRNA'lar yoluyla tümörün salgılaşmasına ve başka bölgelere sıçramasına (metastaz) neden oluyorlar. Eksozomların bu özellikleri bir yandan kanser metabolizmasını daha iyi anlamamıza yardımcı olurken, diğer yandan hücre yüzey belirteçleri iyi bilinen prostat, meme ve akciğer kanserlerinin erken teşhisine olanak sağlıyor. Eksozomların ilgili vücut sıvılarından izolasyonu ile bu yaklaşımın yakın bir zamanda klinikte kanser teşhisi için rutin bir kontrol yöntemi olarak kullanılacağı düşünülüyor.

Yöntemi daha etkin kılmak için toplanan eksozomlardan doğru bir biçimde analizlerin yapılabilmesi amacıyla basit, ucuz ve etkili yöntemler geliştirilmeye çalışılıyor. Son yıllarda popüler bir diğer araştırma konusu olan “mikroakışkan sistemler”de çeşitli düzenlemeler yapılarak eksozom izolasyonu, tespiti ve analizi iyileştirilmeye çalışılıyor.

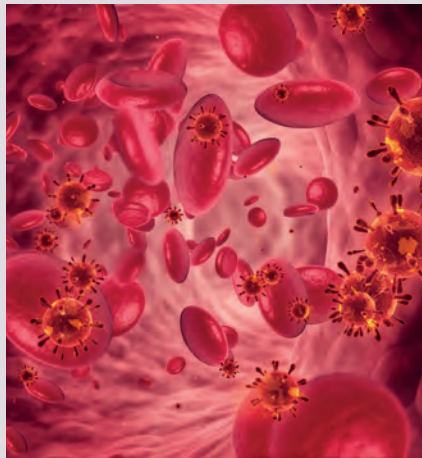
*Son yıllarda eksozomların sahip olduğu önemli fizyolojik özelliklerin, sağlıkta ve hastalığıdaki önemli rollerinin anlaşılmasıyla, bu yapıların hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik potansiyel klinik uygulamalarına olan ilgi hızlı bir şekilde artıyor.*

*Eksozom oluşumu ve salgılanmasında birçok molekül yer alırken, bu moleküllerden bazıları için etki mekanizmasının henüz tam olarak bilinmemesi, çok sayıda izolasyon teknikleri uygulanmasına rağmen, eksozomların ayrılması ve saptanması için standart bir protokolün hâlâ mevcut olmaması gibi bazı engeller karşımıza çıksa da gelecekte yapılacak çalışmalarla eksozom biyolojisinin ve işlevsel özelliklerinin daha iyi anlaşılacağı düşünülüyor.*



## Hücresel Atıkların Uzaklaştırılması

Hücreler tarafından salınan eksozomların önemli fizyolojik özelliklerinden biri de hücrelerden istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması. Bu sayede hücre kendini içeriden ve dışarıdan gelecek çeşitli streslere karşı koruyor. Örneğin, alyuvarlar olgunlaşırken retikülositler tarafından eksozom salgılanması, bu hücreler için yararlı olan transferin reseptörü veya integrinler gibi proteinlerin ortamdaki uzaklaşmasına olanak sağlıyor.



### Kaynaklar

Colombo, M., Raposo, G., Théry, C., “Biogenesis, Secretion and Intercellular Interactions Of Exosomes and Other Extracellular Vesicles”, *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, Sayı 30, s. 255-289, 2014.

Hessvik, N. P., & Llorente, A., “Current Knowledge On Exosome Biogenesis And Release”, *Cellular and Molecular Life Sciences*, Sayı 1, s. 1-16, 2017.

Gümüşderelioğlu, M., Doku Mühendisliği Ders Notları, Hacettepe Üniversitesi, 2018.