

PAPER DETAILS

TITLE: Eksozomlar: Kompozisyonlari, Biyolojik Fonksiyonlari ve Biyoaktif Bilesiklerin
Tasinmasindaki Potansiyelleri

AUTHORS: Cansu INANIR,Lütfiye EKICI

PAGES: 421-432

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1480065>

Eksozomlar: Kompozisyonları, Biyolojik Fonksiyonları ve Biyoaktif Bileşiklerin Taşınmasındaki Potansiyelleri

Cansu İnandır , Lütfiye Ekici  

Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

Geliş Tarihi (Received): 07.01.2020, Kabul Tarihi (Accepted): 16.11.2020

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): lutfiyed@erciyes.edu.tr (L. Ekici)

☎ 0 352 437 4937 📠 0 352 437 5784

ÖZ

Hücreler arası haberleşme hayati öneme sahip olup, organizmalarda farklı şekillerde gerçekleştirilmektedir. Ekstraselüler veziküller uzun mesafeli iletişimde görev alarak DNA, RNA ve proteinler gibi hücreye özgü maddeleri taşımaktadır. Ekstraselüler veziküller boyutlarına ve oluşumlarına göre apoptozom, mikrovezikül ve eksozom olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır. Eksozomların hastalıkların teşhisinde kullanılan bazı önemli biyobelirteçleri içermesi, hastalıkların tanısında kullanılma fikrini ortaya çıkararak eksozomlara olan ilginin artmasına neden olmuştur. Ayrıca dendritik hücre kökenli eksozomların bağışıklayıcı rolleri eksozomların tedavi amaçlı kullanılabilirliğini de göstermektedir. Eksozomların hayvansal ve bitkisel kaynaklardan eldesinde diferansiyel santrifüj, immünoafinite, ultrafiltrasyon ve polimer bazlı çöktürme en çok kullanılan yöntemler arasındadır. Eksozomlar genellikle hücre biyolojisi, biyomedikal gibi alanların konusu olsa da son yapılan çalışmalar ile eksozomların gıda ve tarım alanlarında da umut vaat eden sonuçları içerdiği belirlenmiştir. Özellikle çözünürlüğü ve biyoyararlılığı düşük biyoaktif bileşiklerin taşınmasındaki rolleri dikkat çekmektedir. Eksozomlar bütün vücut hücreleri tarafından oluşturulduğu, yapı ve içerik olarak hücre zarına benzediği ve kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçebildiğinden vücut tarafından daha iyi tolere edilmektedir. Nitekim literatür verileri biyoaktif bileşiklerin eksozomlar ile taşınmasının immün reaksiyonlar, toksisite, modifikasyona ihtiyaç duyma ve yapay olarak sentezlenme gibi dezavantajlara sahip nanopartiküllere karşı alternatif bir çözüm olabileceğini düşündürmektedir. Bu derlemenin amacı, son yıllarda gıda bilimi alanında da dikkat çeken eksozomların özellikleri, fonksiyonları ve biyoaktif bileşiklerin taşınmasındaki rollerinin değerlendirilmesidir.

Anahtar Kelimeler: Eksozom, Nanopartikül, Biyoaktif bileşik, Ekstraselüler veziküller, Hücreler arası iletişim

Exosomes: Their Composition, Biological Functions and Potential for Transport of Bioactive Compounds

ABSTRACT

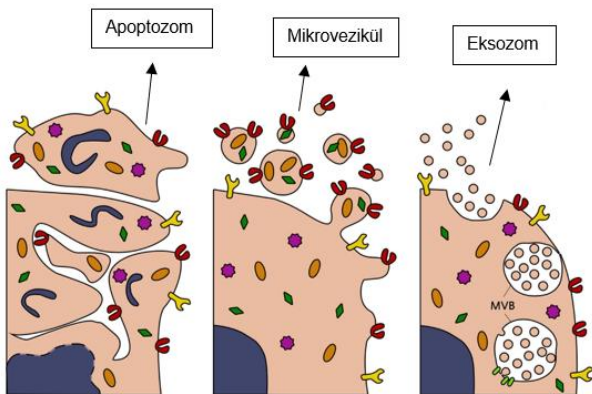
Intercellular communication, which is vital in organisms, is carried out in many different ways. Extracellular vesicles carry cell-specific substances such as DNA, RNA and proteins, taking part in long-distance communication. Extracellular vesicles are divided into three groups as apoptosis, microvesicle and exosome according to their size and formation. The fact that exosomes can be obtained from all body fluids and contain some important biomarkers used in the understanding of diseases has led to an increase in interest in exosomes by revealing the idea of being used in the diagnosis of diseases. In addition, the immunizing roles of dendritic cell-derived exosomes demonstrate the therapeutic utility of exosomes. Differential centrifugation, immunoaffinity, ultrafiltration and polymer-based precipitation are among the most commonly used methods for obtaining exosomes from animal and plant sources. Although exosomes are generally the subject of cell biology and biomedical, recent studies have shown that exosomes contain promising results in food and agriculture. Exosomes are better tolerated by the body as it is formed by all body cells, resembles the cell membrane in structure and content, and can cross complex barriers such as

blood-brain. Thus, literature data suggest that transport of bioactive compounds by exosomes may be an alternative solution to nanoparticles having disadvantages such as immune reactions, toxicity, need for modification and artificially synthesized. The aim of this review is to evaluate the properties, functions and role of bioactive compounds in exosomes that have attracted attention in the field of food science in recent years.

Keywords: Exosome, Nanoparticle, Bioactive component, Extracellular vesicles, Cellular communication

GİRİŞ

Çok hücreli organizmalardaki milyarlarca hücrenin işlevlerini eşzamanlı gerçekleştirebilmek için haberleşmeleri gerekmektedir. Bu sebeple canlının yaşamı boyunca devam eden hücreler arası iletişim hayati öneme sahiptir. Hücreler bu iletişimi yakınındaki ya da en uzaktaki hücreye karşı kimyasal mesajcılar salgılayarak gerçekleştirirler. Haberleşme, hücrelerin aralarındaki mesafeye bağlı olarak lokal (yerel) haberleşme ve uzun mesafeli haberleşme (hormonal haberleşme) olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Lokal haberleşmede nörotransmitterler ve yerel regülatörler gibi lokal düzenleyiciler kısa mesafedeki hücrelere mesaj iletmektedir. Uzun mesafeli iletişimde ise hormonlar ve hücre dışı (ekstraselüler) veziküller rol oynamaktadır [1]. Ekstraselüler veziküller (EV), hücre dışı ortama salgılanan mikroRNA (miRNA), mesajcı RNA (mRNA), DNA ve proteinler gibi hücreye özgü biyomolekülleri taşıyan lipid tabakalı nano veziküllerdir. EV' ler serum, plazma, idrar, amniyotik sıvı, sinoviyal sıvı, anne sütü ve tükürük gibi tüm vücut sıvılarından elde edilebilmektedir. EV' lerin hücreler arası haberleşme, genetik materyal taşıma, sinyal iletimi ve bağışıklığı düzenleme gibi önemli biyolojik görevleri olduğu bilinmektedir. EV' ler biyolojik oluşumları, boyutları ve hücre kökenlerine göre apoptotik cisimler (apoptozomlar), mikroveziküller ve eksozomlar olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (Şekil 1). Apoptotik cisimler, normal hücrelerin ölüm mekanizması olan apoptozis sonucu ortama bırakılan ve 1000 ile 5000 nanometre (nm) arasında değişen bir çapa sahip olan veziküllerdir. Mikroveziküller, 200 ile 1000 nm arasında değişen boyutta olup, plazma membranından tomurcuklanma yoluyla oluşmaktadır. Eksozomlar ise tüm hücreler tarafından ortama salınan, 30 ile 100 nm arasında çapa sahip olan en küçük ekstraselüler vezikül grubunu oluşturmaktadır [2-4].



Şekil 1. Ekstraselüler veziküllerin biyolojik olarak bilinen farklı tipleri [5 no'lu kaynaktan modifiye edilmiştir]

Eksozomların daire benzeri bir morfoloji sergilediği ve çift fosfolipit tabaka ile çevrili olduğu bilinmektedir [6]. Eksozom membranının lipid içeriği daha fazla sfingomyelin, seramid, kolesterol ve gliserolfosfolipit bulundurması yönünden hücre membranından farklıdır. Bu farklı lipid içeriği eksozomların stabilitesinin korunmasında ve hücre tarafından ortama salınmasında kolaylık sağlamaktadır [7]. Lipit içeriğinin yanı sıra köken aldığı hücre zarında bulunan ısı-şok proteinleri, tetraspanin (küçük membran proteinleri) ailesine dahil olan proteinler ve reseptör molekülleri de membran kompozisyonuna dahildir. Bu şekilde diğer hücreler tarafından daha rahat tanınarak eksozomların hücre içine alınmaları kolaylaşmaktadır. Özellikle CD9 ve CD63 tetraspaninler ekstraselüler veziküllerden eksozomları ayırmada kullanılan önemli hücre zarı proteinleridir. Ayrıca, dendritik hücrelerden köken alan eksozomlar özgün proteinler olan CD80, CD86 yüzey antijenlerini içerirken; kanserli hücrelerden oluşan eksozomlarda çeşitli tümör antijenleri bulunmaktadır [7-9].

Bu derlemede, eksozomların başlıca özellikleri, biyogenezi ve fonksiyonları ele alınmaktadır. Ayrıca gıda alanında da kullanımı dikkat çeken ve işlevi bulunan eksozomların biyoaktif bileşiklerin taşınmasındaki rolleri konusundaki literatür verilerinin derlenmesi hedeflenmiştir.

EKSOZOM BİYOGENEZİ

Eksozom biyogenezi ilk olarak ana hücre zarının içeri doğru kıvrılıp girinti yapmasıyla birlikte erken endozom oluşmaktadır (Şekil 2). Gerçekleşen bu işlem seramid tarafından kontrol edilmektedir. Ligant-reseptör kompleksi hücre zarı tarafından alınarak oluşan endozom içerisine aktarılmaktadır. Oluşan erken endozom içe doğru tomurcuklanıp girintiler yaparak geç endozoma dönüşürken, birçok intralüminal vezikül meydana getirmektedir. Bu aşamada oluşan yapılar multiveziküler cisimcikler (MVC) adını almaktadır. Oluşan MVC iki farklı yol izleyebilmektedir; bunlardan ilkinde lizozom ile bir araya gelmesi sonucunda parçalanmaktadır. İkincisinde ise plazma membranı ile kaynaşarak eksozomlar halinde hücre dışına salınmaktadır [2, 10]. Eksozomlar ortama salındıktan sonra hedef hücre tarafından başlıca 3 farklı şekilde hücre içine alınabilmektedir;

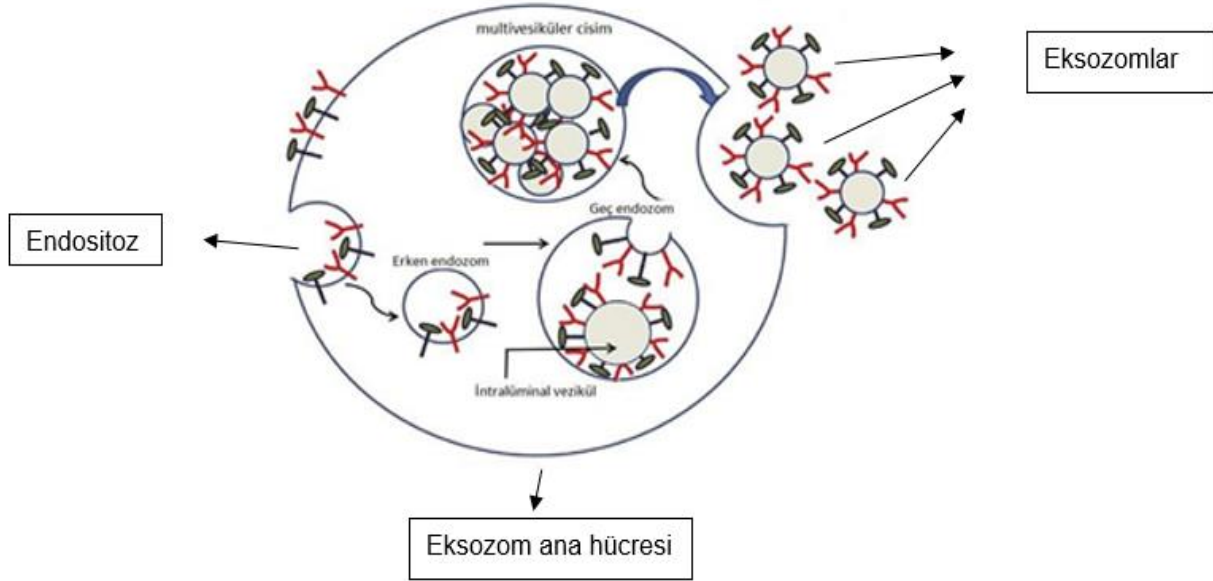
1. Ligandlar aracılığı ile; reseptör etkileşimi sayesinde eksozomlar üzerinde bulunan ligandlar, hedef hücre reseptörüne bağlanarak hücre içine alınabilmektedir.
2. Füzyon yolu ile; eksozom membranının hedef hücrenin zarı ile doğrudan füzyonu sonucunda eksozomlar taşıdıkları kargoyu hedef hücrenin sitoplazmasına aktarırlar.

3. Fagositoz ile; hedef hücre zarında oluşan yalancı ayaklar eksozomların etrafını sarak hücre içine alınmasını sağlayabilmektedir [11].

EKSOZOMLARIN FONKSİYONEL GÖREVLERİ

Başlangıçta, eksozomların gereksiz hücre moleküllerinin giderilmesinden sorumlu araçlar olduğu düşünülmüştür. Fakat yapılan araştırmalar bu fonksiyonlarının yanı sıra hücreler arası haberleşme ve taşıma ile vücut dengesinin korunmasında önemli görevlere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca eksozomların patoloji alanında da umut vaat eden rolleri olduğu

belirlenmiştir. Biyolojik süreçlerin düzenlenmesindeki temel rolleri göz önüne alındığında, hücre dışı veziküllerin hastalık patogeneğinde önemli bir rol oynaması şaşırtıcı değildir [12, 13]. Eksozomların birçok bakteri, paraziter veya viral enfeksiyöz hastalıklarda önemli bir rolü olduğu keşfedilmiştir [10]. Eksozomlar bu rollerinin dışında immün yanıtlarda önemli görevler üstlenmekte ve immün homeostazı sağlamaktadır. Eksozomların, bağışıklık sistemi içindeki iletişime dahil olduğu ve hem bağışıklığı uyarıcı hem de inhibe edici etkiler ile modülasyona aracılık ettiği bilinmektedir [6, 14].



Şekil 2. Eksozom biyogenezi ve ortama salınımı [7 no'lu kaynaktan modifiye edilmiştir]

Eksozomların köken aldıkları hücrelerin durumuna göre (örneğin kanserli hücrelerden alınması halinde tümör belirteçleri içermesi gibi) sahip oldukları içerikler (CD9, CD63 tetraspaninler ve CD80, CD86 yüzey antijenleri) bu nano keseciklere hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılma olanağı sunmaktadır. Eksozomların yeni nesil hastalık tanı yöntemi olarak kullanılmalarında bütün vücut sıvılarından elde edilebilmeleri önem arz etmektedir [15]. Özellikle kanser hücrelerinden elde edilen eksozomların normal hücrelerden salınan eksozomlardan farklı olarak ısı-şok proteinleri ve köken aldığı kanser hücresine ait spesifik proteinleri içerdiği tespit edilmiştir [7]. Eksozomların kanserde tanısal amaçlı kullanılmaları ile ilgili çalışmaların ve önemli kanıtların prostat kanseri üzerine olduğu gösterilmiştir. Prostat kanseri hücre hatlarında yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar ile belirlenen prostat kanseri belirteçlerin vücuttan elde edilen plazma ve serum eksozomlarında da bulunduğu belirlenmiştir [16]. Meme kanseri ile ilgili bir çalışmada ise kanserli hastalardaki eksozom biyobelirteçlerin ifadelerinin sağlıklı kontrollerden daha yüksek olduğu ve bu biyobelirteçlerin meme kanseri teşhisinde kullanılabileceği saptanmıştır [17]. Özellikle RNA'nın doğal taşıyıcıları olduğunun keşfedilmesi ile eksojen terapötik kargoların teslimi için araç olarak eksozomların kullanılabileceği hipotezi ortaya çıkmıştır [18-20]. Eksozomların protein haricinde taşıdıkları çeşitli

onkojenik özellikte miRNA'ların kanser hastalığının tanısında önemli bir yere sahip olduğu düşünülmektedir [21-24]. Örneğin, miR200 meme kanser hücrelerinden salınan eksozomlarda saptanmışken; miR105'in meme, yumurtalık ve prostat kanser hücrelerinden köken alan eksozomlarda var olduğu tespit edilmiştir [25]. Kanserın yanı sıra yapılan çalışmalar neticesinde kan ve lenf damarlarının içini oluşturan endotelial hücreler, düz kas hücreleri ve kalp kasında kan dolaşımını sağlayan kardiyomiyosit hücrelerden salınan eksozomların koroner kalp hastalığı gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir. Bu hücrelerden ortama salınan eksozomların koroner kalp hastalığının tanısı için değerli biyolojik bilgileri içerdiği tespit edilmiştir [26, 27].

Taşıdıkları kargo ve bağışıklığı düzenleyici rolleri eksozomların aynı zamanda tedavi amaçlı kullanılabilme potansiyellerini de ortaya koymaktadır [28]. Eksozomların plazmadaki biyodağılımının ve kararlılığının yüksek olması tedavi edici uygulamalarda kullanılmasını kolaylaştırmaktadır. Eksozomları kendi başına ya da eksojenik bir moleküle taşıyıcı olarak kullanmak tedavi edici uygulamaların başında gelmektedir [15]. Yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar ile dendritik hücre kökenli eksozomların bağışıklayıcı özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir [29,

30]. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde eksozomların, intrasölüler bakteri gibi mikrobiyel antijenleri hücreye tanıtarak organizmanın immün sistemini kontrol altına alıp enfeksiyonun yayılmasını önlediği belirlenmiştir. *Toxoplasma gondii* sıcakkanlı organizmalardaki hücreleri enfekte edebilen ökaryotik bir parazittir [31]. Yapılan çalışmalar ile patojenlere karşı eksozomlar aracılığıyla oluşturulan koruyucu bir bağışıklık olduğu gözlemlenmiştir. Böylece *Toxoplasma gondii*'ye karşı dentritik hücrelerden elde edilen eksozomlar kullanılarak bir aşı geliştirilebileceği fikri ortaya çıkmaktadır [32]. Yapılan çalışmalar ile eksozomların, tümörlere karşı da bir bağışıklık tepkisi oluşturduğu tespit edilmiştir [33, 34]. Vücut direncini destekleyerek kanser hücrelerini yok etmeye yardımcı olan immünoterapi, özellikle kanser tedavisinde dikkat çeken bir alandır. İmmünomodülatör potansiyelleri nedeniyle eksozomların kanser immünoterapisinde kullanılabileceği fikri önem kazanmaktadır [35, 36]. Genel olarak, dendritik hücrelerin kanser hücrelerini, kanser/bağışıklık döngüsünün ilk aşamalarında T hücresi aktivasyonu yoluyla ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir. Dendritik hücrelerden türetilen eksozomların da T hücrelerini aktive ederek immün hücreye bağlı tümör reddini kolaylaştırma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında eksozomların kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanımı yeni bir terapötik yaklaşım olarak umut vaat etmektedir [37-39]. Ayrıca, eksozomların sinir sisteminde koruyucu bir rol oynadığı da bilinmektedir. Birçok çalışma, eksozomların nöronal korunma, sinir rejenerasyonu ve nöronal gelişme üzerindeki rolünü ortaya koymaktadır [40, 41]. Örneğin, beyin destek hücresi olan oligodendrositlerin nöronların beslenmesinde görev alan miyelin ve stres koruyucu proteinleri içeren eksozomları salgılayarak sinir sistemi üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir [42].

EKSOZOMLARIN ELDE EDİLDİĞİ KAYNAKLAR VE İZOLASYON TEKNİKLERİ

Hayvan hücrelerinde eksozomların keşfedilmesinden sonra elde edilen sonuçlar bitki hücrelerinde de eksozom benzeri veziküllerin oluşumunu desteklemektedir. Eksozomlar memeli hücrelerinde daha yaygın bulunmasına rağmen son zamanlarda yapılan çalışmalar ile greyfurt, üzüm, havuç gibi meyvelerden de eksozomlar elde edilmiştir [43, 44]. Bilim insanları sığır sütünün eksozomlar için daha iyi bir kaynak olduğunu belirlediğinden, bu materyal ile yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Nitekim sığır sütünden elde edilen eksozomlar kullanılarak ilaç ve biyoaktif bileşiklerin taşınması ile ilgili çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmiştir [45-47]. Hücre kültür ortamı veya biyolojik sıvılar kullanılarak eksozomların izolasyonu amacıyla farklı yöntemler geliştirilmiştir. Eksozomların eldesi için diferansiyel santrifüj, immünoafinite, ultrafiltrasyon ve polimer bazlı çökeltme dahil olmak üzere birçok metot uygulanmaktadır [48-50]. Bu metotlara ek olarak daha pratik bir yöntem olan kitler üzerinde de çalışmalar mevcuttur [51, 52]. Genel olarak, eksozomların izolasyonunun izlenmesi boyutlarına, morfolojilerine, yüzdürme yoğunluklarına ve Alix, TSG101, HSP70 ve CD9 gibi marker proteinlerin

varlığına dayanmaktadır [53]. En yaygın kullanılan izolasyon tekniği, diferansiyel santrifüjleme yöntemidir. Bu metotta kültür ortamındaki büyük partiküller ve hücre kalıntıları, 200-100.000 g arasında farklı santrifüj kuvvetleri kullanılarak kademeli olarak ayrılmaktadır. Eksozomlar, 100.000 g'de tortu şeklinde çöktürülerek süpernatanttan ayrılır. Fakat elde edilen ekstraksiyonlar kültür ortamındaki hücresel proteinleri ve partikülleri içermeye eğiliminde olduğundan eksozomların saflaştırılmasında yeterince etkili bir teknik değildir. Ayrıca bu yöntemin zaman alıcı olması ve özel ekipman gerektirmesi diğer dezavantajları arasındadır. Ancak, yoğunluk gradient santrifüjü kullanılarak yüksek saflıkta eksozomlar elde edilebilmektedir. Bu teknikte sakkaroz ve gliserin gibi materyaller ile oluşturulan gradientlerde santrifüj yapılmaktadır [54]. Eksozomların eldesinde kullanılan bir diğer yaygın teknik ise immünoafinite metodudur. Afinitite kromatografisi, monoklonal antikor moleküllerini biyolojik aktivitelerine göre kimyasal veya fiziksel özelliklerine dayanarak ayırma yeteneğine dayanır. Bu yöntemde matriks adı verilen katı bir destek materyaline ligant kovalent olarak immobilize edilmektedir. Saflaştırılmak istenen molekül afinite kolonundan geçirildiğinde ayrılmak istenen moleküller ligand tarafından tutulmakta ve istenmeyen safsızlıklar uygun bir tamponla kolondan uzaklaştırılmaktadır [55]. Eksozomların eldesinde farklı tekniklerin kullanıldığı bir çalışmada, immünoafinite metodu kullanılarak izole edilen ekstraksiyonun eksozomlar ile ilişkili belirteç proteinleri daha fazla içerdiği tespit edilmiştir [53]. Eksozomların izolasyonunda kullanılan bir diğer metot olan ultrafiltrasyon, basınç kullanılarak boyut farklılıklarına göre izolasyonun yapıldığı bir çeşit membran filtrasyonudur. Ultrafiltrasyon tekniği nano boyutlarda olan membrana yapışan proteinlerin uzaklaştırılması ve eksozomların elüsyonunda zorluk yaşanması gibi dezavantajlara sahiptir. Eksozomların eldesinde alternatif bir yöntem ise polimerler kullanılarak çökeltme yoluyla eksozom izolasyonudur. Bu metot, 1500g'de çalışan basit ve yavaş bir santrifüjleme ile elde edilen "polimer ağların" belirli boyutlardaki eksozomları toplaması prensibi ile çalışmaktadır [51].

EKSOZOMLARIN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN TAŞINMASINDAKİ ROLLERİ

Eksozomlarla ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla hücre biyolojisi, biyokimya, onkoloji ve biyomedikal alanlarında yoğunlaşmaktadır. Elde edilen bulgular özellikle tarım ve gıda alanı için umut vaat etse de, eksozomların bu alanlarda kullanımlarına dair son derece az sayıda çalışma bulunmaktadır. Polifenoller, vitaminler ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi biyoaktif bileşiklerin gıdaların besin değerini artırmak veya gıdaya fonksiyonel özellikler kazandırmak amacıyla farklı formülasyonlara ilave edilmesi mümkündür. Fakat bu tür biyoaktiflerin zayıf biyoyararlanıma sahip olmaları terapötik gelişme için elverişsiz bir özellik olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, biyoaktif bileşiklerin verimli şekilde dağıtımı ve biyoyararlanımını arttırmak için uygun sistemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla son yıllarda bu bileşiklerin etkili bir şekilde taşınmasını amaçlayan çok sayıda nanometre boyutlu malzeme önerilmiştir [56, 57]. Biyoaktif bileşiklerin biyoyararlanımını ve etkinliğini

arttırmak, içerdiği etken maddeyi hedef bölgeye ulaştıran ilaç taşıma sistemleri sayesinde mümkün olabilmektedir. Polimer yapılı sistemler kullanılarak etken maddelerin spesifik olarak organ ya da dokulara ulaşması sağlanabilmektedir [58, 59]. Nanopartiküllerin kullanımı, gıdalarda bulunan biyoaktif bileşiklerin biyoyararlanımını arttırmış olsa da bu nanopartiküller immün reaksiyonlara neden olabilmekte ve sitotoksik etkiler gösterebilmektedir. Ayrıca nanopartiküllerin klirensi de (birim zamanda böbreklerden temizlenen plazma miktarı) kullanımları konusunda endişe yaratmaktadır. Biyoaktif bileşiklerin taşınmasında kullanılan bazı nanopartiküllerin bağırsak hücreleri tarafından emildiği belirlense de, henüz vücuttan atılım mekanizmaları hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Polimer yapılı birçok nanopartikül var olmasına karşın yapı ve içerik olarak eksozomlara en benzer temsilci lipozomlar olarak sayılmaktadır. Bu sebepten dolayı eksozomlarla karşılaştırma için bu nanopartiküllerden yalnızca lipozomlar kullanılabilir [3]. Lipozomlar katmanlı fosfolipit yapısında bir membrana sahip olan nanometre boyutundaki veziküllerdir. Lipozomlar sentetik veya doğal olarak fosfolipitlere kolesterol ilavesi ile oluşturulmaktadır. Lipozomlar hem hidrofilik hem de hidrofobik bileşikler kapsüle edebilmesi açısından önemlidir [60]. Literatürde bu nanopartiküllerin ilaç ve biyoaktif bileşiklerin taşınmasında kullanımıyla ilgili çalışmalar mevcuttur [61-63]. Fakat lipozomların enkapsülasyonda kullanımı, üretilen yapıların yetersiz stabilitesi nedeniyle sınırlıdır [64, 65]. Her ne kadar bazı başarılı lipozomal ilaç formülasyonları olsa da modifiye edilmemiş lipozomların, kısa kan dolaşım süresi ve hedef seçiciliği eksikliği ile *in vivo* olarak kararsız olduğu belirlenmiştir. Lipozomal sistemin diğer bir dezavantajı da çoklu dozajlarda farmokinetiğinin değişmesidir. Ayrıca sentetik olarak üretilen lipozomlar kırılabilir bir yapıdadır. Bu nedenle sahip oldukları düşük stabiliteyi yüzünden kapsüle edilen bileşikler sızdırma veya kaybetme gibi sorunlar da ortaya çıkabilmektedir [66]. Eksozomlar molekülleri hücre dışı ortamdan koruma ve onları hedef hücre veya dokuya taşıma işlevine doğal olarak sahipken, lipozomların uygulamalarda yararlı olması için tasarlanması ve yapay olarak sentezlenmesi gerekmektedir. Lipozomların vücutta kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçememesi, çoğunlukla yapay malzemelerden elde edilmesi ve yapılan birçok çalışma sonucunda elde edilen riskler dolayısıyla kullanımlarında endişeler vardır. Ayrıca uzun süreli polimerik nanopartiküllerin kullanımıyla ilgili ciddi toksisite riski de bulunmaktadır [3]. Literatürde lipozomların gıda sistemlerinde kullanımına ilişkin çok az çalışmaya rastlanmaktadır. Lipozomların gıda bileşenleri ile etkileşiminin çok iyi anlaşılamamasına ilaveten lipozom üretiminin hammadde maliyetleri ve üretim süreçlerinin yüksek olması gibi etkenler gıda alanında lipozomların kullanımlarını sınırlandırmaktadır [67].

Son yıllarda yapılan çalışmalar, biyoaktif bileşiklerin verimli bir şekilde taşınmasını sağlayan hücresel salgı ürünü sınıfındaki eksozomların kullanılabilirliğine dikkat çekmektedir [47, 68]. Eksozomların dağıtım aracı olarak yapay nanopartiküllere kıyasla önemli avantajları olduğu belirlenmiştir. Eksozomların bütün vücut hücreleri tarafından oluşturulmasının yanı sıra serum,

plazma ve tükürük gibi vücut sıvılarından elde edilebilmesi bunların kullanımındaki en önemli faktördür. Bileşim ve yapı olarak hücre zarına benzerlikleri sayesinde eksozomlar vücut tarafından daha iyi tolere edilebilmektedir. Yapılan çalışmalar eksozomların, yüklerini hedef hücrelere vermek için plazma zarını geçtiklerini de göstermektedir [3, 55].

Biyoaktif bileşikler fizyolojik ve hücresel aktiviteleri etkileyen fenilalanin veya tirozinden türetilen ikincil metabolitlerdir. Biyoaktif bileşikler meyve ve sebzelerde az miktarda bulunsun da, sağlık üzerinde önemli etkilere sahiptir. Fitokimyasallar olarak da adlandırılan biyoaktif bileşikler terpenoidler, fenolik bileşikler (polifenoller) ve azot-sülfür (N-S) içeren bileşikler olmak üzere alt sınıflara ayrılmaktadır [69]. Polifenoller, bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Polifenoller fenolik asitler ve flavanoidler olmak üzere iki alt grup içermektedir. Polifenoller, meyve ve sebzelerde kendine has tat ve rengi sağlama, bitkiyi UV radyasyonu, patojen ve fiziksel hasarlara karşı koruma gibi görevlere sahiptir [70]. Yapılan araştırmalar ile polifenollerin kanser, kalp-damar ve nörodejeneratif hastalıkların yanı sıra bazı metabolik hastalıklara karşı da koruyucu etkileri olduğu tespit edilmiştir [71-74]. Sağlık üzerine olumlu etkilerine rağmen polifenollerin düşük çözünürlükleri ve zayıf biyoyararlanımları yüksek dozlarda dahi potansiyellerini açığa çıkarmalarını engellemektedir. Yapay nanoparçacıkların kullanımında karşılaşılabilecek sıkıntılara karşın; eksozomların içeriğini hedef dokuya taşımada sahip olduğu avantajlar gözönüne alındığında biyoaktif maddelerin taşınımında eksozomların kullanımı önem kazanmaktadır.

Antosiyanidinler, birçok meyve, sebze ve çiçeklerin kendilerine özgü kırmızı ve mavi-mor renklerinden sorumlu, polifenollerin flavanoidler alt grubunda yer alan doğal pigmentlerdir. Renklendirme özelliklerine ek olarak, antosiyanidinler, nöronal, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, enflamasyon gibi birçok hastalığı önlemeye yardımcı olan güçlü antioksidan aktivite sergileyen biyoaktif bileşenlerdir [75-77]. Antosiyaninler, aglikon kısım olarak da bilinen antosiyanidinlerin glikozitleri olarak oluşmaktadır. Antosiyaninlerin çeşitliliği, yapıya bağlanan hidroksil (OH) ve metoksil (OCH₃) grupları, şeker türü ve şekere bağlanmış alifatik veya aromatik asit türlerinin sayısı ve pozisyonundan kaynaklanmaktadır. Doğada yaklaşık 17 tane antosiyanidin bulunmasına rağmen, bunlardan yalnızca 6 tanesi (siyanidin, delfinidin, pelargonidin, peonidin, malvidin ve petunidin) bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Polifenoller genel olarak suda düşük çözünürlüğe sahipken, antosiyaninlerde yapıya bağlanan şeker ile oluşan glikosilasyon molekülün stabilite ve suda çözünürlük kabiliyetini arttırmaktadır. Ancak bu özellikler pasif difüzyon ile sınırlanan emilim yüzünden antosiyaninlerin biyolojik olarak kullanılabilirliğini düşürmektedir [78]. Eksozomların antosiyaninlerin taşınımında kullanım olanaklarının incelendiği bir çalışmada, çiğ sığır sütünden elde edilen eksozomlar yabancısını türevli antosiyanidinlerin nanoformülasyonunun hazırlanmasında kullanılmıştır. Antosiyanidinlerin eksozomal formülasyonu serbest

antosiyonidinler ile karşılaştırıldığında çeşitli kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkisinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler eksozomal antosiyonidin formülasyonunun farelerde akciğer kanseri tümör ksenograftına karşı terapötik tepkiyi önemli ölçüde arttırdığını ortaya koymaktadır. Antosiyonidinlerin eksozomal formülasyonunun, çoklu kanser tiplerine karşı gelişmiş stabilite ve antikanser etki gösterdiği de bulgular arasında yer almaktadır. Antosiyonidinlerin sütten elde edilen eksozom içine kapsüllenmesinin, herhangi bir toksik yan etkiye neden olmadan ilaç etkinliğini arttırdığı saptanmıştır [47]. Yumurtalık kanseri, kadınlarda en önemli jinekolojik hastalıklardan biridir. Yumurtalık kanserini tedavi etmek ve ilaç direncini aşmak için kemoterapötik ilaçlarla kombinasyon halinde bitki biyoaktiflerinin kullanımı uygulanabilir bir strateji olarak düşünülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda koyu renkli meyve ve sebzelerin alımı ile çeşitli kronik hastalıkların insidansı arasında ters ilişki olduğu bilinmektedir. Bu etki özellikle koyu renkli meyvelerin yüksek antosiyonin içeriğinden kaynaklanmaktadır [79, 80]. Aqil ve ark. [68] yaptıkları çalışmada, yaban mersini antosiyonidinlerini eksozomlar ile enkapsüle ederek yumurtalık kanseri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Benzer şekilde antosiyonidinlerin eksozomal formülasyonu serbest antosiyonidinler ile karşılaştırıldığında artan stabilite ve biyoyararlanıma bağlı olarak kanser hücreleri üzerinde daha fazla antitümör etki göstermiştir. Elde edilen veriler antosiyonidin eksozomal formülünün dirençli tümörleri duyarlılaştırma ve yumurtalık kanseri tedavisinde kullanılan ilaçların terapötik etkinliğini artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise kemopreventif ajan olarak kabul edilen yaban mersini türevli antosiyonidin ve kurkumin, sıgır sütünden elde edilen eksozomlara yüklenmiştir. İlaç yüklü eksozomların insan akciğer ve meme kanser hücre hatlarına karşı antiproliferatif aktivitesi incelenmiştir. Eksozomal formülasyonların kanser hücreleri üzerinde serbest bileşiklere göre daha yüksek antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir [81].

Bitkilerdeki biyoaktif bileşiklerin kanserli hücreler üzerinde seçici sitotoksik aktiviteye sahip umut verici etkileri olduğu bilinmektedir. Biyoaktif bileşik grubuna ait flavonoidlerin, serbest radikalleri nötralize ederek antioksidan aktivite gösterdiği ve böylece kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyebildiği belirlenmiştir [82, 83]. Benzer şekilde Donoso-Quezada ve ark. [84] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, siyah fasulye ekstraktının eksozomal formülasyonunun kanser hücresi üzerindeki etkisinin serbest ekstrakta göre daha yüksek antiproliferatif etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalar eksozomların önemli biyoaktif bileşiklerden olan antosiyoninlerin biyoyararlanımını arttırmak için etkili bir alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır.

Tripterygium wilfordii bitkisinden izole edilen celastrol, birçok kanser türüne karşı antiproliferatif ve antitümör etkilere sahip olduğu gösterilen bir terpenoitir [85, 86]. Celastrol ayrıca, kanser hücrelerinin hayatta kalması ve

çoğalmasının engellenmesinde çoklu sinyal yollarının zayıflatılması için gerekli olan ısı şoku proteininin (Hsp90) aktivitesinin artmasını sağlamaktadır. Biyofarmasötik sınıflandırma sistemi (BCS) ilaç maddelerinin suda çözünürlüklerine ve bağırsak geçirgenliklerine göre sınıflandırılmasında kullanılan bilimsel bir sistemdir. Bu sisteme göre ilaçlar yağ-su ayrılma katsayısına dayanarak dört sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar; BCS Sınıf 1-yüksek çözünürlük/yüksek geçirgenlik, BCS Sınıf 2-düşük çözünürlük/yüksek geçirgenlik, BCS Sınıf 3-yüksek çözünürlük/düşük geçirgenlik, BCS Sınıf 4-düşük çözünürlük/düşük geçirgenlik özelliği gösteren ilaçları kapsamaktadır [87, 88]. Celastrol, BCS sistemde düşük yağ-su ayrılma katsayısına (LogP = 5.63) sahip olup düşük çözünürlük/geçirgenlik ve zayıf biyoyararlanımı olan bir 4. sınıf ilaç olarak sınıflandırılmaktadır. Bu elverişsiz fizikokimyasal ve farmakokinetik özellikler önemli etkileri olan celastrolün terapötik uygulamasını sınırlandırmaktadır. Celastrolün eksozomal formülasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, serbest celastrole kıyasla eksozomal formun hem *in vitro* hem de *in vivo* akciğer kanseri hücrelerinin proliferasyonunun inhibe edilmesinde daha fazla etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir [46]. Ayrıca başka bir çalışmada, celastrolün polimerik yapay nano formülasyonunun, serbest celastrole karşı artırılmış antiproliferatif aktivite göstermediği belirlenmiştir [89]. Celastrolün sıgır sütü türevli eksozomların içine kapsüllenmesi daha yüksek ilaç etkinliği sağlayabilir ve yapay nanopartiküllerin toksik yan etkilerini azaltabilir. Bu nedenle, eksozomların celastrolün etkili bir şekilde taşınmasında uygun maliyetli, güvenli ve etkili bir alternatif taşıma yöntemi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir [46].

Curcuma longa (zerdeçal) rizomlarında bulunan doğal bir polifenol olan kurkuminin, antienflamatuvar, antioksidan ve kemopreventif aktivite gösterdiği belirlenmiştir [90-93]. Hint safranı olarak da bilinen zerdeçala rengini veren majör biyoaktif bileşiklerin en önemlisi olan kurkumin, sulu çözeltide çözünmeyen hidrofobik bir bileşiktir. Kurkuminin kararsızlığı, sınırlı çözünürlüğü, zayıf emilimi ve düşük biyoyararlanımı potansiyel terapötik madde olarak klinik gelişimini engellemektedir [94, 95]. Kurkuminin çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırmak ve geliştirmek için lipozomlar ve polimerik nanopartiküller gibi birçok ilaç dağıtım sistemleri kullanılmıştır. Ancak, *in vivo* olarak modifiye edilmemiş yapay nanopartiküllerin kullanımında kısa dolaşım süresi ve stabilite sorunları gibi doğal sınırlamalar ortaya çıkmaktadır. Enflamasyon, kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda önemli bir rol oynamaktadır. Kurkumin, önemli bir antienflamatuvar ajan olarak bilinmektedir. Bir çalışmada, eksozomal kurkuminin incelenen kanser hücrelerinde TNF- α kaynaklı enflamasyona sebep olan NF- κ B seviyelerini inhibe ederken, serbest kurkuminin etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada, eksozomal kurkuminin antiproliferatif aktivitesi, birkaç insan kanser hücre hattı kullanılarak belirlenmiştir. İncelenen akciğer, meme ve rahim ağzı kanseri üzerinde serbest kurkumin ile karşılaştırıldığında, eksozomal kurkuminin antiproliferatif etkinliğinin arttığı tespit edilmiştir [96]. Osterman ve ark. [97] yaptıkları çalışmada eksozom ile kapsüllenmiş

kurkuminin *in vitro* ortamda pankreas kanserine karşı serbest kurkuminlere göre daha fazla antitümör aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Eksozomlar ile kapsüllenmiş kurkuminin çözünürlüğü ve kararlılığının araştırıldığı başka bir çalışmada ise eksozomal kurkuminin serbest kurkumine göre daha çözünür ve stabil olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, eksozomal kurkuminin sindirim işlemlerine karşı daha dirençli olduğu ve serbest kurkuminle karşılaştırıldığında intestinal bariyerden kan dolaşımına geçebildiği belirtilmiştir. Caco-2 hücre kültürü, beslenme ve farmakolojik araştırmaları gerçekleştirmek için insan bağırsak epiteli boyunca besinlerin ve ilaçların emilimini taklit eden *in vitro* insan intestinal epitel hücre modelini temsil etmektedir. Caco-2 hücreleri ile yapılan transwell deneyleri sonucunda eksozomlar ile kapsüllenmiş kurkuminin, bağırsak tabakasından geçebileceği gösterilmiştir. Ayrıca, serbest kurkuminin bozulmaya karşı daha savunmasız olduğu ve eksozomlarla birleşmenin fizyolojik olarak stabiliteyi arttırdığı tespit edilmiştir [98]. Monosit kaynaklı miyeloid hücreler, enflamasyonla ilişkili enflamatuvar hastalıklar ve kanserde hayati rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, eksozomlarla komplekslenmiş kurkuminin, aktive edilmiş monosit türevli miyeloid hücreler tarafından alındığı ve bu monositlerde apoptozu indüklediği tespit edilmiştir. Ek olarak, eksozom-kurkumin kompleksinin kurkuminin *in vitro* stabilitesini ve *in vivo* biyoyararlanımını arttırdığı saptanmıştır [99]. Vücuda giren patojenler tarafından oluşturulan endotoksinlerin bağlayıcı proteinlere tutunması sonucu oluşan kompleksler vücuttaki savunmadan sorumlu hücreleri uyarır. Oluşturulan bu enflamatuvar yanıt septik şok olarak adlandırılmaktadır. Septik şok organizmada çoklu organ yetmezliği ve ölüm gibi sonuçlara sebep olabilmektedir. Deneysel çalışmalarda endotoksin olarak çoğunlukla lipopolisakarit kullanılmaktadır [100]. Sun ve ark. [99] yaptıkları çalışmada eksozomal kurkuminin *in vivo* antienflamatuvar aktivitesini değerlendirilmek için fareler üzerinde lipopolisakarit kaynaklı bir septik şok modeli uyarlamıştır. Eksozomlarla enkapsüle edilen kurkumin ile beslenen farelerin, lipopolisakarit kaynaklı septik şoka karşı korunduğu gösterilmiştir.

Eksozomların antiproliferatif ve antienflamatuvar etkilerinin yanı sıra nörolojik hastalıklar üzerinde de önemli etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Beyindeki mikrogial hücrelerin şizofreni, menenjit, Parkinson, Alzheimer ve beyin tümörleri gibi merkezi sinir sisteminin iltihaplanmasına bağlı hastalıklarının çoğunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, intranazal olarak verilen eksozomal kurkuminin, mikrogial hücrelerin sayısında önemli bir azalmaya ve tümör apoptozisinde artmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Eksozomların kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçebilmesi sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde eksozomal komplekslerin kullanılmasını ön plana çıkarmaktadır [101]. Alzheimer, beyin hücrelerinin normalden daha erken dönemde kayıp yaşaması sonucunda meydana gelen önemli nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Hücrelerin ölümü sonucunda hafıza ve bilinç kaybı gerçekleşmektedir. Alzheimer hastalığının patogenezinin belirsizliği ve tedavisinde kullanılacak ilaçların kan-beyin bariyerini geçemediği

başarısızlığı, Alzheimer tedavisinde kullanılacak terapötik yaklaşımları sınırlamaktadır. Wang ve ark. [102] yaptıkları çalışmada eksozomların kurkumin ile yüklenmesinin serbest kurkumine göre çözünürlüğü, stabiliteyi ve biyoyararlanımı arttırdığını belirlemişlerdir. Ayrıca eksozomal kurkuminin kan-beyin bariyerini geçerek hafızada rolü olan hipokampusta biriktiği tespit edilmiştir. Böylece, eksozomal kurkuminin Alzheimer farelerde öğrenme ve hafıza eksikliklerinin etkili bir şekilde iyileştirilmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Çalışmalardan elde edilen bulgular kurkuminin eksozomal formülasyonunun ilerde kanser ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için değerli bir araç olarak kullanılabileceğini göstermektedir [103].

Parkinson hastalığı dünyada en çok rastlanan nörolojik hastalıklardan biridir. Parkinson'un, beyin iltihabı, mikrogia aktivasyonu ve reaktif oksijen türleri gibi nörotoksik aktivitelerle ilişkili olduğu bilinmektedir [104]. Aynı zamanda Parkinson hastalarının beyinlerinden elde edilen numunelerde redoks enzimleri, katalaz, süperoksit dismutaz ve diğer antioksidanların seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bunun sonucunda Parkinson tedavisinde katalaz gibi güçlü antioksidan etkili bileşiklerin kullanımı fikri önem kazanmaktadır. Katalaz sahip olduğu bu antioksidan etkiden dolayı biyoaktif bileşik sınıfına dahil edilebilmektedir. Ne yazık ki kan-beyin engeli bu büyük proteinin taşınmasını ciddi şekilde sınırlandırmaktadır [105, 106]. Eksozomların bileşiklerin taşınmasındaki en önemli fonksiyonu kan-beyin gibi kompleks bariyerleri geçebilmesidir [101]. Haney ve ark. [107], katalaz ile yüklü eksozomların beyindeki nöronlarda ve mikrogial hücrelerde etkin bir şekilde biriktiği ve güçlü bir nöroprotektif etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

SONUÇ

Hücreler arası iletişim görevinin yanı sıra hastalıkların tanı ve tedavisi ile ilişkisi olduğunu gösteren veriler dikkate alındığında, eksozomların hastalıkların tedavisinde kullanılması fikri öne çıkmaktadır. Hücre biyolojisi, biyokimya, onkoloji ve biyomedikal alanlarında eksozomlar ile ilgili çalışmalar bu yüzden daha yoğundur. Literatür verileri ışığında değerlendirme yapılması gerekirse, günümüze kadar elde edilen bulgular eksozomların tarım ve gıda alanlarında da uygulama bulabileceğini göstermektedir. Ancak eksozom konusunda bu alanlarda henüz yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Günümüzde gıda olarak tüketilen çok sayıda bitkinin farklı işlevlere sahip biyoaktif bileşikler içerdiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalar biyoaktif bileşiklerin farklı hastalıklarda terapötik etkilere sahip olduğunu ortaya koysa da düşük biyoyararlanımları kullanımlarını sınırlamaktadır. Nanoteknolojik uygulamalar biyoaktif bileşiklerin biyoyararlanımını arttırmasına rağmen bazı toksik etkileri de beraberinde getirebilmektedir. Oysa eksozomlar vücuttaki birçok dokudan elde edilebilen doğal ve hedef hücrelerin toleransının yüksek olduğu veziküllerdir. Dolayısıyla, eksozomların biyoaktif bileşiklerin etkili bir şekilde hedef hücre veya dokulara taşınımında rol alabileceğine dair umut vaat eden çalışmalar bulunmaktadır. Eksozomların farklı sağlık

etkileri olan biyoaktif bileşiklerin taşınımında kullanımı yakın zamanlara rastlamakta olup, günümüzde de üzerinde çalışmalar yapılmaya devam etmektedir. Eksozomların gerek herhangi bir modifikasyona gerek duymaması gerekse de doğal kaynaklardan elde edilebilmesi kullanımlarına olan ilgiyi arttırmaktadır. Özetle, eksozomların biyoaktif bileşiklerin taşınımında alternatif bir yöntem olarak başarı ile kullanılabileceği ön görülmektedir. Günümüzde kullanılan kapsülasyon ajanlarından daha üstün özelliklere sahip olan eksozomlar ile ilgili gıda alanında daha çok araştırma yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Reece, J.B., Campbell, N.A. (2011). Campbell biology, Pearson Yayınları, Boston
- [2] Ahmad, A., Desai, N.N., Qureshi, M.Z., Librelotto, D.R.N., Gasparri, M.L., Bishayee, A., Nabavi, S.R., Curti, V., Daglia, M. (2018). Exosome biogenesis, bioactivities and functions as new delivery systems of natural compounds. *Biotechnology Advances*, 36(1), 328-334.
- [3] Reiner, A.T., Somoza, V. (2019). Extracellular vesicles as vehicles for the delivery of food bioactives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 2113-2119.
- [4] Akers, J., Gonda, D., Kim, R., Carter, B., Chen, C. (2013). Biogenesis of extracellular vesicles (EV): Exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *Journal of Neuro-Oncology*, 113(1), 1-11.
- [5] Kooijmans, S.A.A., Vader, P., Van Dommelen, S.M., Van Solinge, W.W., Schifflers, R.M. (2012). Exosome mimetics: A novel class of drug delivery systems. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 1525-1541.
- [6] Beach, A., Zhang, H.G., Ratajczak, M.Z., Kakar, S.S. (2014). Exosomes: An overview of biogenesis, composition and role in ovarian cancer. *Journal of Ovarian Research*, 7(1), 1-10.
- [7] Bozkurt, S. (2018). Eksozomlar ve kanserdeki rolleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 45(9), 209-217.
- [8] Ersöz, E., Can, O.B., Uzunoğlu, S. (2016). Eksozomların kanserdeki rolü. *Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(5), 144-152.
- [9] Boucheix, C., Rubinstein, E. (2011). Tetraspanins. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58, 1189-1205.
- [10] Wang, J., Sun, X., Zhao, J., Yang, Y., Cai, X., Xu, J., Cao, P. (2017). Exosomes: A novel strategy for treatment and prevention of diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 1-13.
- [11] Kahlert, C. (2014). Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *Journal of Molecular Medicine*, 91(4), 431-437.
- [12] El Andaloussi, S., Mäger, I., Breakefield, X.O., Wood, M.J.A. (2013). Extracellular vesicles: Biology and emerging therapeutic opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12, 347-357.
- [13] Li, Y., Zhang, Y., Li, Z., Zhou, K., Feng, N. (2019). Exosomes as carriers for antitumor therapy. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5, 4870-4881.
- [14] Isola, A., Chen, S. (2016). Exosomes: The messengers of health and disease. *Current Neuropharmacology*, 15(1), 157-165.
- [15] Kahraman, T., Güçlüler, G., Gürsel, İ. (2014). Exosomes: Natural nanovesicle candidates used in the diagnosis and treatment. *Turkish Journal of Immunology*, 2(2), 34-40.
- [16] Hessvik, N.P., Sandvig, K., Llorente, A. (2013). Exosomal miRNAs as biomarkers for prostate cancer. *Frontiers in Genetics*, 4(36), 1-9.
- [17] Wang, M., Ji, S., Shao, G., Zhang, J., Zhao, K., Wang, Z., Wu, A. (2018). Effect of exosome biomarkers for diagnosis and prognosis of breast cancer patients. *Clinical and Translational Oncology*, 20(7), 906-911.
- [18] Lakhal, S., Wood, M.J.A. (2011). Exosome nanotechnology: An emerging paradigm shift in drug delivery exploitation of exosome nanovesicles for systemic in vivo delivery of RNAi heralds new horizons for drug delivery across biological barriers. *BioEssays*, 33(10), 737-741.
- [19] Lönnerdal, B. (2019). Human milk microRNAs/exosomes: Composition and biological effects. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, 90, 83-92.
- [20] Martinez, B., Peplow, P. (2020). MicroRNAs in blood and cerebrospinal fluid as diagnostic biomarkers of multiple sclerosis and to monitor disease progression. *Neural Regeneration Research*, 15(4), 606-619.
- [21] Lässer, C., Seyed Alikhani, V., Ekström, K., Eldh, M., Torregrosa Paredes, P., Bossios, A., Sjöstrand, M., Gabriellsson, S., Lötvall, J., Valadi, H. (2011). Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: Uptake by macrophages. *Journal of Translational Medicine*, 9(1), 1-8.
- [22] Azmi, A.S., Bao, B., Sarkar, F.H. (2013). Exosomes in cancer development. *Cancer and Metastasis Reviews*, 32, 1-33.
- [23] Groza, M., Zimta, A., Irimie, A., Achimas-Cadariu, P., Cenariu, D., Stanta, G., Berindan-Neagoe, I. (2019). Recent advancements in the study of breast cancer exosomes as mediators of intratumoral communication. *Journal of Cellular Physiology*, 235(6), 1-15.
- [24] Huang, T., Deng, C.X. (2019). Current progresses of exosomes as cancer diagnostic and prognostic biomarkers. *International Journal of Biological Sciences*, 15(1), 1-11.
- [25] Neviani, P., Fabbri, M. (2015). Exosomal microRNAs in the tumor microenvironment. *Frontiers in Medicine*, 2, 1-6.
- [26] Gao, X., Wang, Z., Wang, F., Gu, Y., Zhang, J., Chen, S. (2019). Exosomes in coronary artery disease. *International Journal of Biological Sciences*, 15, 2461-2470.
- [27] Zhou, H., Wang, B., Yang, Y., Jia, Q., Qi, Z., Zhang, A., Lv, S., Zhang, J. (2019). Exosomes in ischemic heart disease: Novel carriers for bioinformation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 120, 1-9.

- [28] Melling, G.E., Carollo, E., Conlon, R., Simpson, J.C., Raul, D., Carter, F. (2019). The challenges and possibilities of extracellular vesicles as therapeutic vehicles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 144, 50-56.
- [29] Segura, E., Nicco, C., Lombard, B., Véron, P., Raposo, G., Batteux, F., Amigorena, S., Théry, C. (2005). ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T-cell priming. *Blood*, 106(1), 216-223.
- [30] Zitvogel, L., Regnault, A., Lozier, A., Wolfers, J., Flament, C., Tenza, D., Ricciardi-Castagnoli, P., Raposo, G., Amigorena, S. (1998). Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: Dendritic cell-derived exosomes. *Nature Medicine*, 4(5), 594-600.
- [31] Ramírez-Flores, C.J., Cruz-Mirón, R., Arroyo, R., Mondragón-Castelán, M.E., Nopal-Guerrero, T., González-Pozos, S., Rios-Castro, E., Mondragón-Flores, R. (2019). Characterization of metalloproteases and serine proteases of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and their effect on epithelial cells. *Parasitology Research*, 118, 289-306.
- [32] Tavukçuoğlu, Z., Peynircioğlu, B. (2018). Exosomes in diagnostic and therapeutical approaches of infectious diseases. *Turkish Journal of Medicine Science*, 11(2), 33-39.
- [33] 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*, 1820, 940-948.
- [34] Morse, M.A., Garst, J., Osada, T., Khan, S., Hobeika, A., Clay, T.M., Valente, N., Shreenivas, R., Sutton, M. A., Delcayre, A., Hsu, D., Pecq, J., Lyerly, H.K. (2005). A phase I study of exosome immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Journal of Translational Medicine*, 3(9), 1-8.
- [35] Nakamura, K., Sawada, K., Kobayashi, M., Miyamoto, M., Shimizu, A., Yamamoto, M., Kinose, Y., Kimura, T. (2019). Role of the exosome in ovarian cancer progression and its potential as a therapeutic target. *Cancers*, 11(8), 1-17.
- [36] Syn, N.L., Wang, L., Chow, E.K.H., Lim, C.T., Goh, B.C. (2017). Exosomes in cancer nanomedicine and immunotherapy: Prospects and challenges. *Trends in Biotechnology*, 35(7), 665-676.
- [37] Pitt, J.M., Kroemer, G., Zitvogel, L., Pitt, J.M., André, F., Amigorena, S., Soria, J., Eggermont, A. (2016). Dendritic cell-derived exosomes for cancer therapy. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(4), 1224-1232.
- [38] Viaud, S., Terme, M., Flament, C., Taieb, J., André, F., Novault, S., Escudier, B., Robert, C., Caillat-Zucman, S., Tursz, T., Zitvogel, L., Chaput, N. (2009). Dendritic cell-derived exosomes promote natural killer cell activation and proliferation: A role for NKG2D ligands and IL-15R α . *PLoS ONE*, 4(3), 1-12.
- [39] Kalani, A., Tyagi, A., Tyagi, N. (2014). Exosomes: Mediators of neurodegeneration, neuroprotection and therapeutics. *Molecular Neurobiology*, 49(1), 1-19.
- [40] Fauré, J., Lachenal, G., Court, M., Hirrlinger, J., Chatellard-Causse, C., Blot, B., Grange, J., Schoenherr, G., Goldberg, Y., Boyer, V., Kirchhoff, F., Raposo, G., Garin, J., Sadoul, R. (2006). Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 31(4), 642-648.
- [41] Potolicchio, I., Carven, G.J., Xu, X., Stipp, C., Riese, R.J., Stern, L.J., Santambrogio, L. (2005). Proteomic analysis of microglia-derived exosomes: Metabolic role of the aminopeptidase CD13 in neuropeptide catabolism. *The Journal of Immunology*, 175(4), 2237-2243.
- [42] Lai, C.P., Breakefield, X.O. (2012). Role of exosomes/microvesicles in the nervous system and use in emerging therapies. *Frontiers in Physiology*, 3(228), 1-14.
- [43] Zhang, M., Viennois, E., Xu, C., Merlin, D. (2016). Plant derived edible nanoparticles as a new therapeutic approach against diseases. *Tissue Barriers*, 4(2), 1-9.
- [44] Baldrich, P., Rutter, B., Zandkarimi, H., Podicheti, R., Meyers, B., Innes, R. (2018). Biological properties of plant-derived extracellular vesicles. *Food & Function*, 10(2), 529-538.
- [45] Pérez-Bermúdez, P., Blesa, J., Soriano, J.M., Marcilla, A. (2017). Extracellular vesicles in food: Experimental evidence of their secretion in grape fruits. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98, 40-50.
- [46] Aqil, F., Kausar, H., Kumar, A., Jeyabalan, J., Kyakulaga, A., Munagala, R., Gupta, R. (2016). Exosomal formulation enhances therapeutic response of celastrol against lung cancer. *Experimental and Molecular Pathology*, 101(1), 12-21.
- [47] Munagala, R., Aqil, F., Jeyabalan, J., Agrawal, A.K., Mudd, A.M., Kyakulaga, A., Singh, I., Vadhanam, M., Gupta, R.C. (2017). Exosomal formulation of anthocyanidins against multiple cancer types. *Cancer Letters*, 393, 94-102.
- [48] Vaswani, K., Mitchell, M.D., Holland, O.J., Qin Koh, Y., Hill, R.J., Harb, T., Davies, P., Peiris, H. (2019). A method for the isolation of exosomes from human and bovine milk. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2019, 1-6.
- [49] 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.
- [50] Chen, B., Sung, C.W., Chen, C., Cheng, C., Lin, D.P.C., Huang, C.T., Hsu, M.Y. (2019). Advances in exosomes technology. *Clinica Chimica Acta*, 493, 14-19.
- [51] Peterson, M.F., Otoc, N., Sethi, J.K., Gupta, A., Antes, T.J. (2015). Integrated systems for exosome investigation. *Methods*, 87, 31-45.
- [52] Yamada, T., Inoshima, Y., Matsuda, T., Ishiguro, N. (2012). Comparison of methods for isolating exosomes from bovine milk. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(11), 1523-1525.

- [53] Tauro, B.J., Greening, D.W., Mathias, R.A., Ji, H., Mathivanan, S., Scott, A.M., Simpson, R.J. (2012). Comparison of ultracentrifugation, density gradient separation and immunoaffinity capture methods for isolating human colon cancer cell line LIM1863-derived exosomes. *Methods*, 56(2), 293-304.
- [54] Ha, D., Yang, N., Nadithe, V. (2016). Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: Current perspectives and future challenges. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(4), 287-296.
- [55] 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.
- [56] Oehlke, K., Adamiuk, M., Behnsnlian, D., Gräf, V., Mayer-Miebach, E., Walz, E., Greiner, R. (2014). Potential bioavailability enhancement of bioactive compounds using food-grade engineered nanomaterials: A review of the existing evidence. *Food and Function*, 5(7), 1341-1359.
- [57] Tontul, I. (2019). Nanoencapsulation techniques in food industry. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(2), 220-233.
- [58] Sayiner, Ö., Çomoğlu, T. (2016). Nanotaşıyıcı sistemlerde hedeflendirme. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 40(3), 62-79.
- [59] Tüylek, Z. (2017). İlaç taşıyıcı sistemler ve nanoteknolojik etkileşim. *Bozok Tıp Dergisi*, 7(3), 89-98.
- [60] Kırtıl, E., Öztıp, M.H. (2014). Enkapsülasyon maddesi olarak lipozom ve gıdalarda kullanımı: Yapısı, karakterizasyonu, üretimi ve stabilitesi. *Akademik Gıda*, 12(4), 41-57.
- [61] Batist, G., Ramakrishnan, G., Rao, C.S., Chandrasekharan, A., Gutheil, J., Guthrie, T., Shah, P., Khojasteh, A., Nair, M.K., Hoelzer, K., Tkaczuk, K., Park, Y.C., Lee, L.W. (2001). Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 19(5), 1444-1454.
- [62] Narayanan, N.K., Nargi, D., Randolph, C., Narayanan, B.A. (2009). Liposome encapsulation of curcumin and resveratrol in combination reduces prostate cancer incidence in PTEN knockout mice. *International Journal of Cancer*, 125, 1-8.
- [63] Thangapazham, R., Puri, A., Tele, S., Blumenthal, R., Maheshwari, R. (2008). Evaluation of a nanotechnology based carrier for delivery of curcumin in prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, 32(5), 1119-1123.
- [64] Chun, J.Y., Choi, M.J., Min, S.G., Weiss, J. (2013). Formation and stability of multiple-layered liposomes by layer-by-layer electrostatic deposition of biopolymers. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 249-257.
- [65] Barenholz, Y. (2001). Liposome application: Problems and prospects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 6(1), 66-77.
- [66] Laye, C., McClements, D.J., Weiss, J. (2008). Formation of biopolymer-coated liposomes by electrostatic deposition of chitosan. *Journal of Food Science*, 73(5), 7-15.
- [67] Taylor, T.M., Davidson, P.M., Bruce, B.D., Weiss, J. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7), 587-605.
- [68] Aqil, F., Jeyabalan, J., Agrawal, A.K., Kyakulaga, A.H., Munagala, R., Parker, L., Gupta, R.C. (2017). Exosomal delivery of berry anthocyanidins for the management of ovarian cancer. *Food and Function*, 8(11), 4100-4107.
- [69] Mazid, M., Khan, T.A., Mohammad, F. (2011). Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine*, 3(2), 232-249.
- [70] Soleti, R., Andriantsitohaina, R., Martinez, M.C. (2018). Impact of polyphenols on extracellular vesicle levels and effects and their properties as tools for drug delivery for nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 644, 57-63.
- [71] Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673-751.
- [72] Chuang, C.C., McIntosh, M.K. (2011). Potential mechanisms by which polyphenol-rich grapes prevent obesity-mediated inflammation and metabolic diseases. *Annual Review of Nutrition*, 31(1), 155-176.
- [73] Russo, A., Acquaviva, R., Campisi, A., Sorrenti, V., Di Giacomo, C., Virgata, G., Barcellona, M.L., Vanella, A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and DNA cleavage protectors. *Cell Biology and Toxicology*, 16(2), 91-98.
- [74] Skibola, C., Smith, M. (2000). Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radical Biology & Medicine*, 29, 375-383.
- [75] Yousuf, B., Gul, K., Wani, A.A., Singh, P. (2016). Health benefits of anthocyanins and their encapsulation for potential use in food systems: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 2223-2230.
- [76] Stintzing, F.C., Carle, R. (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 15,19-38.
- [77] Nichenametla, S.N., Taruscio, T.G., Barney, D.L., Exon, J.H. (2006) A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46,161-183.
- [78] Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., Lim, S.M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1-21.
- [79] Smeriglio, A., Barreca, D., Bellocchio, E., Trombetta, D. (2016). Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins. *Phytotherapy Research*, 30, 1265-1286.

- [80] Zikri, N., Riedl, K., Wang, L.S., Lecher, J., Schwartz, S., Stoner, G. (2009). Black raspberry components inhibit proliferation, induce apoptosis and modulate gene expression in rat esophageal epithelial cells. *Nutrition and Cancer*, 61(6), 816-826.
- [81] Munagala, R., Aqil, F., Jeyabalan, J., Gupta, R.C. (2016). Bovine milk-derived exosomes for drug delivery. *Cancer Letters*, 371, 48-61.
- [82] Kumar, N., Gupta, S., Chand Yadav, T., Pruthi, V., Kumar Varadwaj, P., Goel, N. (2019). Extrapolation of phenolic compounds as multi-target agents against cancer and inflammation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 37(9), 2355-2369.
- [83] Ozcan, T., Akpınar-Bayazit, A., Yılmaz-Ersan, L., Delikanlı, B. (2014). Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393-396.
- [84] Donoso-Quezada, J., Guajardo-Flores, D., González-Valdez, J. (2019). Exosomes as nanocarriers for the delivery of bioactive compounds from black bean extract with antiproliferative activity in cancer cell lines. *Materials Today: Proceedings*, 13, 362-369.
- [85] Kannaiyan, R., Shanmugam, M.K., Sethi, G. (2011). Molecular targets of celastrol derived from Thunder of God Vine: Potential role in the treatment of inflammatory disorders and cancer. *Cancer Letters*, 303(1), 9-20.
- [86] Salminen, A., Lehtonen, M., Paimela, T., Kaarniranta, K. (2010). Biochemical and biophysical research communications celastrol: Molecular targets of Thunder God Vine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394, 439-442.
- [87] Benet, L.Z. (2013). The role of BCS (Biopharmaceutics Classification System) and BDDCS (Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System) in drug development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(1), 34-42.
- [88] Yaşın, D., Teksin, Z.Ş. (2018). Biopharmaceutics classification system: Evaluation on international guidelines and countries. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 7(2), 160-174.
- [89] Li, Z., Wu, X., Li, J., Yao, L., Sun, L., Shi, Y., Zhang, W., Lin, J., Liang, D., Li, Y. (2012). Antitumor activity of celastrol nanoparticles in a xenograft retinoblastoma tumor model. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 2389-2398.
- [90] Park, W., Ruhul Amin, A.R.M., Chen, Z.G., Shin, D.M. (2013). New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prevention Research*, 6(5), 387-400.
- [91] Alisi, I. O., Uzairu, A., Abechi, S.E., Idris, S.O. (2018). Evaluation of the antioxidant properties of curcumin derivatives by genetic function algorithm. *Journal of Advanced Research*, 12, 47-54.
- [92] Konak, Ş., Şener, E.H. (2019). Antioxidant effects of curcumin on the blood tissue in rats. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(1), 8-14.
- [93] Jurenka, J.S. (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: A review of preclinical and clinical research. *Alternative Medicine Review*, 14(2), 141-154.
- [94] Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., Aggarwal, B.B. (2007). Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818.
- [95] Aggarwal, B.B., Harikumar, K.B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41(1), 40-59.
- [96] Aqil, F., Munagala, R., Jeyabalan, J., Agrawal, A.K., Gupta, R. (2017). Exosomes for the enhanced tissue bioavailability and efficacy of curcumin. *The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 19(6), 1691-1702.
- [97] Osterman, C.J.D., Lynch, J.C., Leaf, P., Gonda, A., Bennit, H.R.F., Griffiths, D., Wall, N.R. (2015). Curcumin modulates pancreatic adenocarcinoma cell-derived exosomal function. *PLoS ONE*, 10(7), 1-17.
- [98] Vashisht, M., Rani, P., Onteru, S.K., Singh, D. (2017). Curcumin encapsulated in milk exosomes resists human digestion and possesses enhanced intestinal permeability in vitro. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183, 993-1007.
- [99] Sun, D., Zhuang, X., Xiang, X., Liu, Y., Zhang, S., Liu, C., Barnes, S., Grizzle, W., Miller, D., Zhang, H. (2010). A novel nanoparticle drug delivery system: The anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *The American Society of Gene & Cell Therapy*, 18(9), 1606-1614.
- [100] Guden, D., Temiz, M., Tunctan, B., Fırat, S. (2015). The role of endothelin-1 and new therapeutic approaches in sepsis and septic shock. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 5(3), 178-190.
- [101] Zhuang, X., Xiang, X., Grizzle, W., Sun, D., Zhang, S., Axtell, R. C., Ju, S., Mu, J., Zhang, L., Steinman, L., Miller, D., Zhang, H. (2011). Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *The American Society of Gene & Cell Therapy*, 19(10), 1769-1779.
- [102] Wang, H., Sui, H., Zheng, Y., Jiang, Y., Shi, Y., Liang, J., Zhao, L. (2019). Curcumin-primed exosomes potentially ameliorate cognitive function in AD mice by inhibiting hyperphosphorylation of the Tau protein through the AKT/GSK-3 β pathway. *Nanoscale*, 11(15), 7481-7496.
- [103] Oskouie, M.N., Aghili Moghaddam, N.S., Butler, A.E., Zamani, P., Sahebkar, A. (2019). Therapeutic use of curcumin-encapsulated and curcumin-primed exosomes. *Journal of Cellular Physiology*, 234(6), 8182-8191.
- [104] Pascual, M., Ibáñez, F., Guerri, C. (2020). Exosomes as mediators of neuron-glia

- communication in neuroinflammation. *Neural Regeneration Research*, 15(5), 796-801.
- [105]Silva, G.A. (2010). Nanotechnology applications and approaches for neuroregeneration and drug delivery to the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1199, 221-230.
- [106]Pardridge, W.M. (2012). Drug transport across the blood-brain barrier. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32, 1959-1972.
- [107]Haney, M.J., Klyachko, N.L., Zhao, Y., Gupta, R., Plotnikova, E.G., He, Z., Patel, T., Piroyan, A., Sokolsky, M., Kabanov, A., Batrakova, E.V. (2015). Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *Journal of Controlled Release*, 207, 18-30.
-