

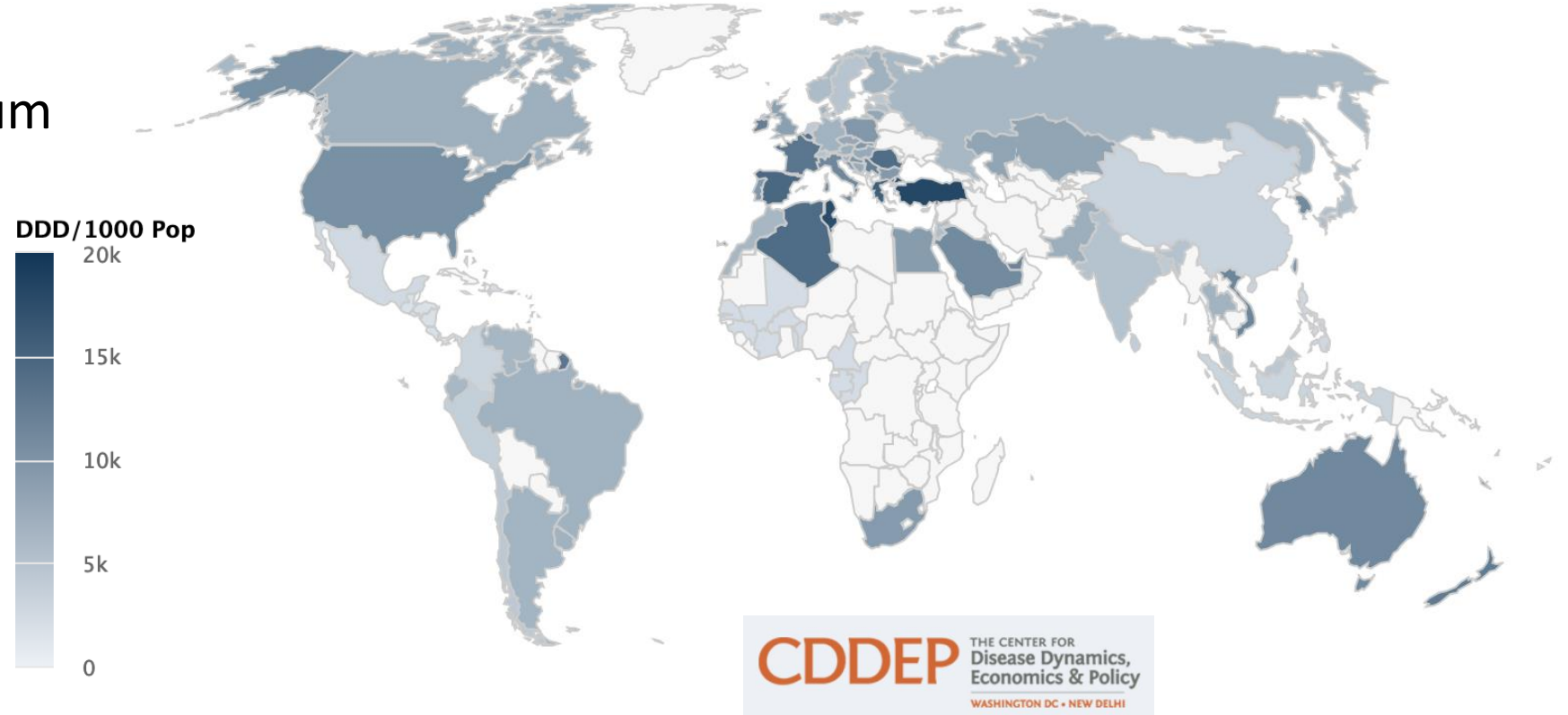
Eksozomların Enfeksiyon Hastalıkları Tedavisindeki Yeri

Dr. Çağrı BÜKE

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları AD

Antibiyotik direnci

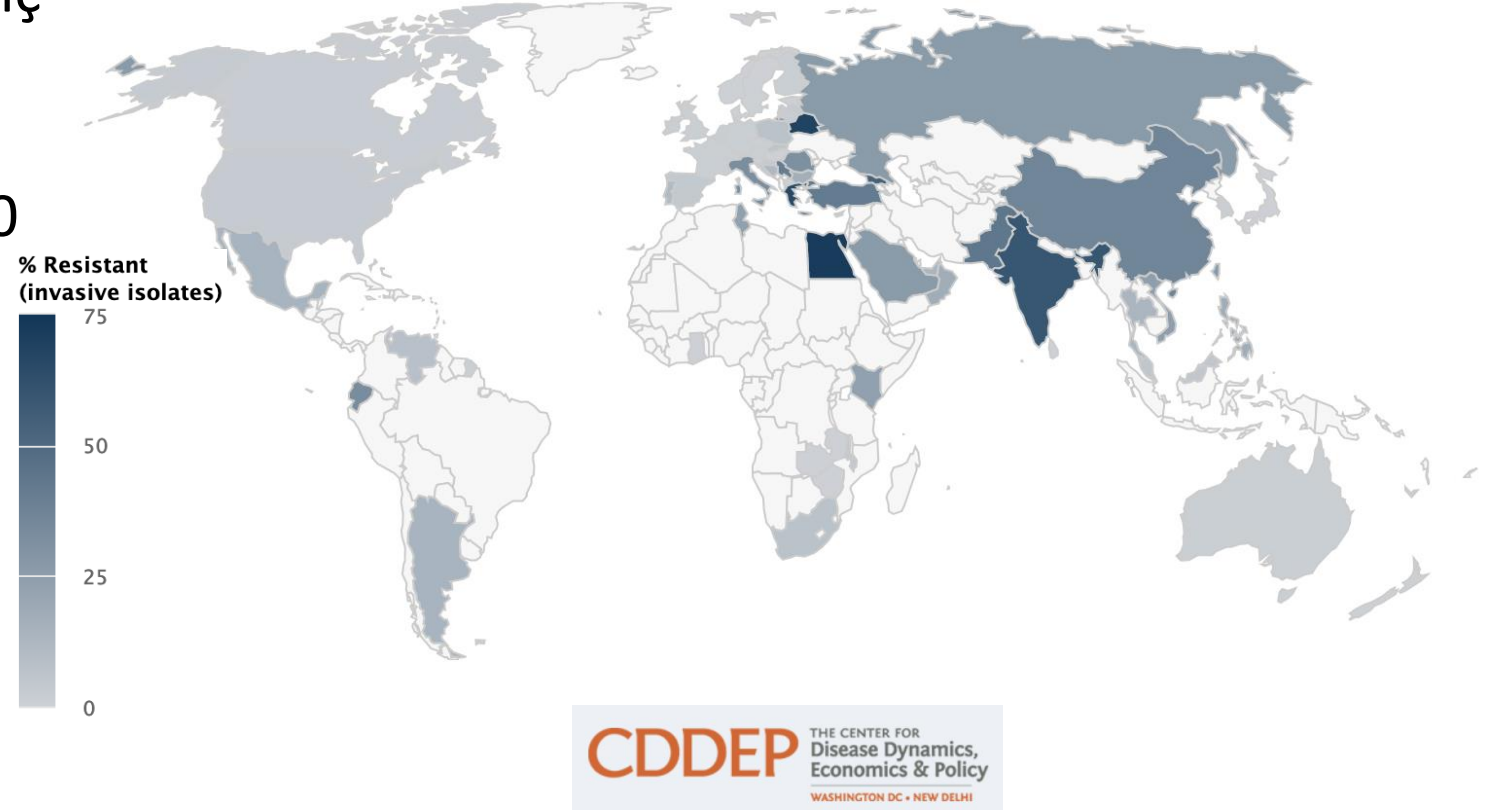
- Antibiyotiklere karşı direnç gün geçtikçe hızla artmakta / yayılmaktadır
 - Aşırı kullanım
 - Uygunsuz kullanım



Antibiyotik direnci

- Karbapenemlere karşı da direnç hızlı artış içerisinde
- Yeni antibiyotik keşfi son 20-30 yılda belirgin azalmıştır

Resistance of *Klebsiella pneumoniae* to Carbapenems



Antibiyotik direnci; sonuç ?

- Dirençli enfeksiyonlar nedeniyle her yıl 700.000 kişi hayatını kaybetmekte
- Bu hızın devam edeceği ve yeni antibiyotik keşfi mümkün olmayacağı koşullarda
- 2050'lerde her yıl
 - 10 milyon kişinin öleceği
 - Ekonomik yükün 100 trilyon ABD dolarına ulaşacağı tahmin edilmektedir

Direncin önüne geçilmesi
Yeni antibiyotiklerin keşfi
Yeni çözüm arayışları



Faj tedavisi
Bakteriosinler
Mikroorganizmaları öldürücü mekanizmalar
Diğer.....

Eksozom

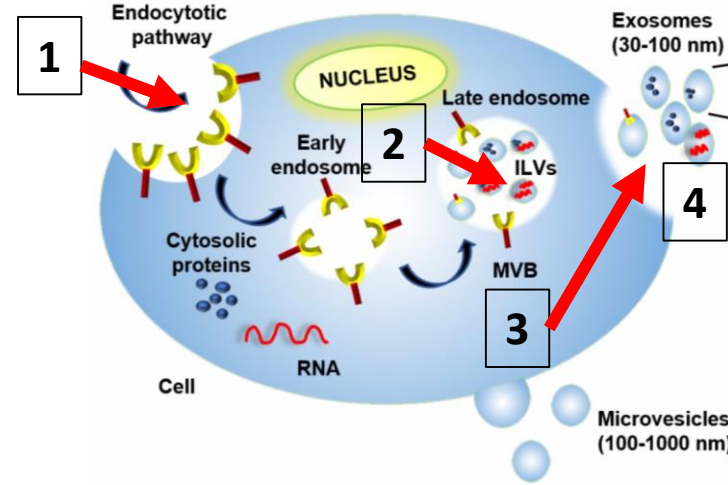
- Tüm memeli hücreleri, tümör hücreleri ve mikroorganizmalar tarafından salınan
- Tüm vücut sıvılarında bulunan
- 30 – 100 nm boyutlarında veziküllerdir

1- Plazma membranı invagine olur ve **erken endozomları** oluşturur

2- Erken endozomlar invagine olur **intraluminal veziküller** oluşur

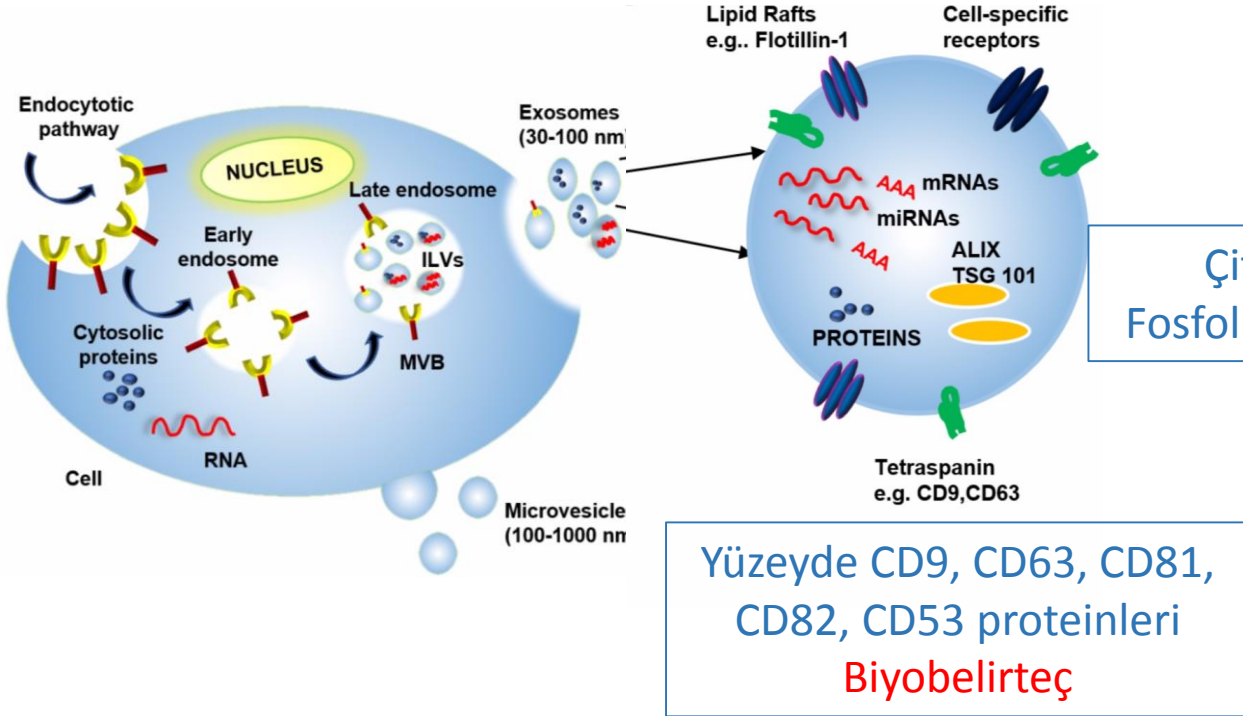
3- Böylece **multiveziküler cisimcikler** oluşur

4- MVB plazma membranı ile birleşip ekstraselüler alana **eksozom** olarak salınır



Rodrigues M et al. Theranostics 2018; 8(10): 2709-2711.

Eksozom



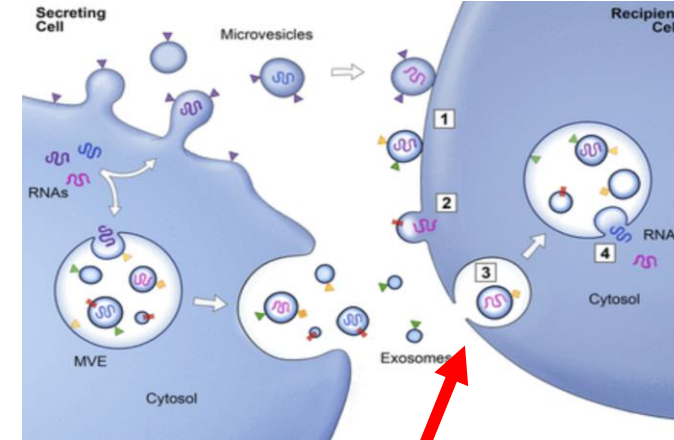
İlk zamanlar hücre içerisinde bulunan artık proteinleri hücre dışına atılmada rol oynayan taşıyıcı yapı oldukları düşünülürdü

- Eksozom ilişkili proteinler
- Genetik yapılar
(mRNA, miRNA, DNA)
- Lipid
(Kolesterol, sfingomyelin)

Rodrigues M et al. Theranostics 2018; 8(10): 2709-2711.

Eksozom

- Hepatit C virüsü ile enfekte hasta kanlarından elde edilen eksozomlarda HCV zar proteinine karşı mRNA ile mast hücreden köken alan eksozomlarda ise miRNA saptanması eksozomlar ile ilgili çalışmalara hız kazandırmıştır
- Son 20 yılda hız kazanan çalışmalarda eksozomların ayrıldığı hücreden bir başka hücreye endositoz aracılığı ile alınmakta
- Hücreler arası iletişim
- Genetik materyallerin transferi
- Sinyal iletimi
- İmmünolojik yanıtların düzenlenmesi



Eksozom

- Eksozomlar hedef hücreye yalnızca içeriklerini aktarmakla kalmadıkları aynı zamanda hedef hücrede bazı değişikliklere de yol açtıkları ilk **glioblastomlu** olgularda gösterilmiştir
- Böyle olguların eksozomlarının taşıdığı mRNA ve miRNA alındıkları beyin endotel hücrelerinde proteine dönüştüğü ve bu proteinin tümör mikroçevresinin düzenlenmesinde rol oynadığı saptanmıştır
- Aynı zamanda bu eksozomların glioblastom hücrelerinin çoğalmasına katkı sağladıkları da gösterilmiştir

Skok J et al. Nt Cell Biol 2008; 10: 1470-6.

Eksozom

- Tüm mikroorganizmalar da eksozom oluştururlar
- Mikroorganizmaların oluşturdukları eksozomlar nasıl bir rol oynayabilir ?
- Antibiyotik baskısı altında iken oluşan *Staphylococcus aureus* eksozomunun bakteriler arası ilişkisi incelenmiş [Lee J et al. Antimicrob Agents and Chemotherapy 2013; 57\(6\): 2589-2595.](#)
- Bu *S.aureus* eksozomunun bir beta laktamaz proteini olan BlaZ'yi salgıladığı saptanmış
- Bu eksozomun ampisiline duyarlı olduğu bilinen Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin ortamda ampiilin varlığında bile çoğalmalarına olanak sağladığı gösterilmiş

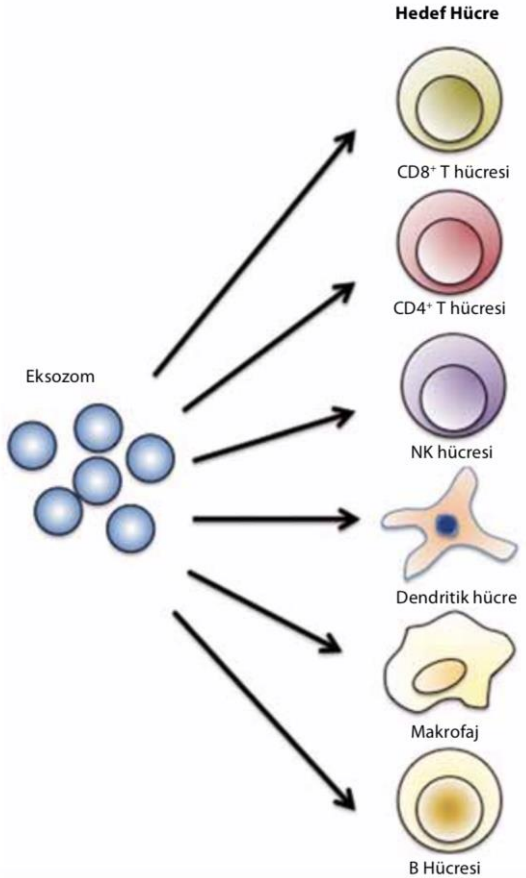
Eksozom

- Gram negatif bakterilerden salınan eksozomların
 - Protein ve genetik madde aktarımında
 - Bakteri hücrelerinden bakteri hücrelerine sinyal göndermede
 - Biyofilm oluşumuna neden olmada rol oynadıkları bilinmektedir
- Bu Gram pozitif bakteri eksozomlarının da bakteriler arasında iletişimde rol oynadığını gösteren ilk çalışma
- *S.aureus* eksozomunun antibiyotik direncinde rol oynadığını gösteren bir çalışma

Lee J et al. *Antimicrob Agents and Chemotherapy* 2013; 57(6): 2589-2595.

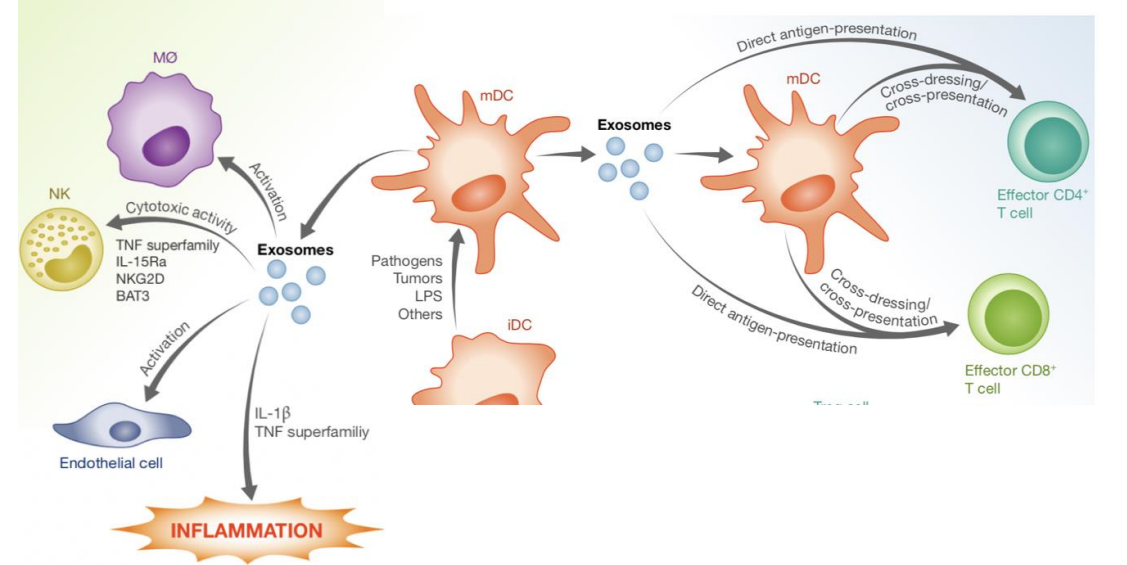
Eksozomların özellikleri ve kullanımları

Kahraman T et al. Turk J Immunol 2014;2(2):34-40.



- Eksozomlar vücutta çok çeşitli hücreleri aktive ve/veya inhibe edebilmektedirler
- Bunlardan birisi de bağışık sistem ve bunu hücreleridir
- **Matür dendritik** hücrelerden salgılanan eksozomlar çeşitli hücelere etki ile enflamasyon gelişimine neden olurlar

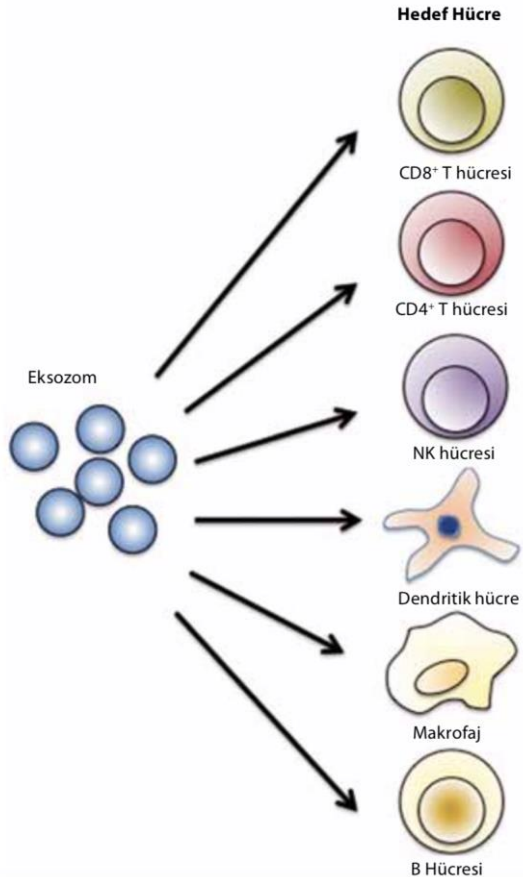
Schorey JS et al. EMBO Reports 2015;16:24-43.



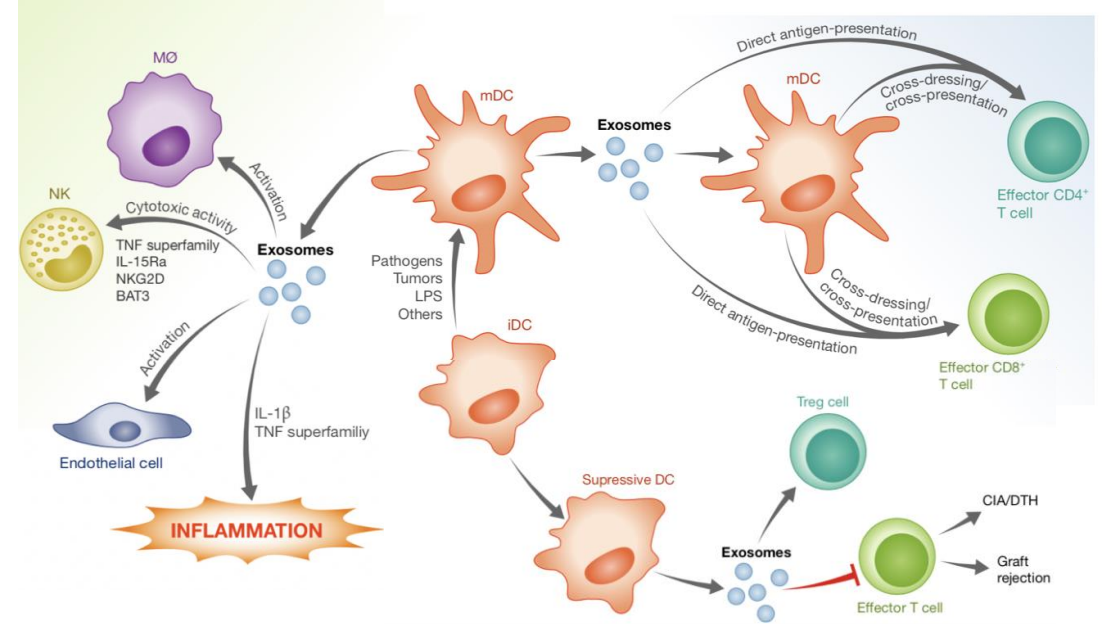
Eksozomların özellikleri ve kullanımları

Kahraman T et al. Turk J Immunol 2014;2(2):34-40.

Schorey JS et al. EMBO Reports 2015;16:24-43.



- Eksozomlar vücutta çok çeşitli hücreleri aktive ve/veya inhibe edebilmektedirler
- Bunlardan birisi de bağışık sistemdir
- **Matür dendritik** hücrelerden salgılanan eksozomlar çeşitli hücelere etki ile enflamasyon gelişimine neden olurlar
- **Olgunlaşmamış dendritik** hücrelerden salgılanan eksozomlar ise immünosüpresif etki gösterirler



Otoimmün hastalık tedavisi

Sepsis Tedavisi

GVHD tedavisi

Immature Dendritic Cell-Derived Exosomes Rescue Septic Animals via MFGE8

Michael Miksa^{1,2}, Rongqian Wu^{1,2}, Weifeng Dong², Hidefumi Komura², Dhruv Amin², Youxin Ji², Zhimin Wang², Haichao Wang¹, Thanjavur S. Ravikumar², Kevin J. Tracey¹, and Ping Wang^{1,2}

¹ The Feinstein Institute for Medical Research, Manhasset, NY 11030, USA

² Department of Surgery, North Shore University Hospital and Long Island Jewish Medical Center, Manhasset, NY 11030, USA

Milk fat globule EGF factor 8 apoptotik hücre fagositozunu sağlamakta

Dendritik hücre kaynaklı eksozomlar;

MFGE8 de artışa yol açarak

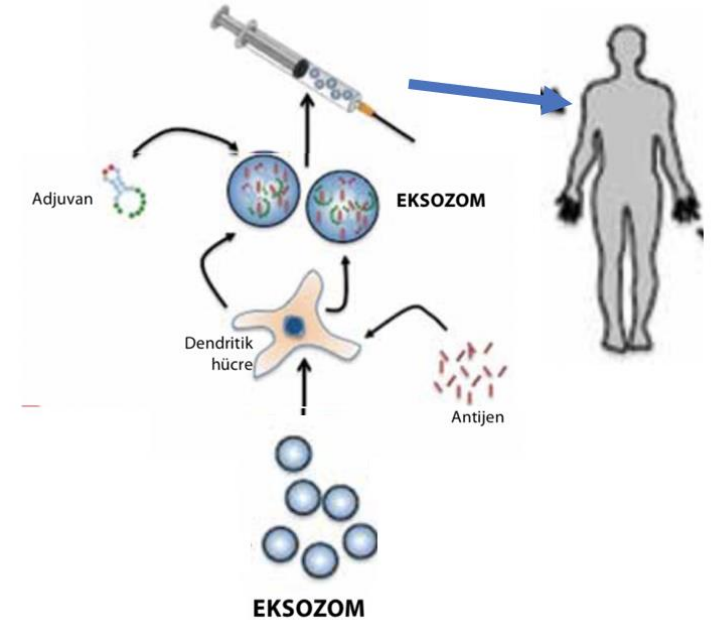
Hem sepsis kaynaklı akut sistemik enflamasyonu hafifletmiş

Hem de apoptotik hücrelerin ortadan kaldırılması artırılmış

Böylece sepsise bağlı mortalite belirgin azaltılmış

Eksozomların aşı olarak uygulamaları

- Antijen ve adjuvanların eksozomlar ile birleştirilerek **hastalıklardan korunmada / hastalıkların tedavisinde** aşı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir
- Günümüzde bazı kanser aşılarının geliştirilmesinde hayvan modelinde çalışmalar hız kazanmıştır
- Enfeksiyon hastalıkları alanında da eksozomlar ile aşı çalışmaları mevcuttur



Eksozom aşı olarak enfeksiyon hastalıklarında uygulamaları

Vaccine 28 (2010) 5785–5793



Contents lists available at ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine



Fragments of antigen-loaded dendritic cells (DC) and DC-derived exosomes induce protective immunity against *Leishmania major*

Johannes K. Schnitzer, Simon Berzel¹, Marcela Fajardo-Moser², Katharina A. Remer, Heidrun Moll*

University of Würzburg, Institute for Molecular Infection Biology, Germany

- Dendritik hücreden salınan eksozomlara ***Leishmania major*** antijenleri transfer edilmiş
- Splenositlerde T hücre proliferasyonuna ve IL-12 salınımına yol açarak koruyucu bağışık yanıt ortaya çıkartmış

Yorum; *Leishmania* ve diğer enfeksiyon hastalıklarına karşı immünoprofilaksi amacıyla hücre içermeyen aşı yapmak mümkün olabilir

Eksozom aşı olarak enfeksiyon hastalıklarında uygulamaları

INFECTION AND IMMUNITY, Jan. 2007, p. 220–230
0019-9567/07/\$08.00+0 doi:10.1128/IAI.01217-06
Copyright © 2007, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 75, No. 1

Dendritic Cell-Derived Exosomes Express a *Streptococcus pneumoniae* Capsular Polysaccharide Type 14 Cross-Reactive Antigen That Induces Protective Immunoglobulin Responses against Pneumococcal Infection in Mice[▽]

Jesus Colino and Clifford M. Snapper*

Department of Pathology, Uniformed Services University of the Health Sciences, 4301 Jones Bridge Road, Bethesda, Maryland 20814

Dişi BALB/cj tipi farelere dendritik hücrelerden salınan eksozomlar ile birleştirilmiş ***Streptococcus pneumoniae*** kapsüler polisakkarid tip 14 peritondan uygulanmış

0, 14, 38 ve 43. günlerde antikor titreleri ELISA ile ölçülmüş

Sonuçta CP14 antijeni içeren eksozomun spesifik koruyucu düzeyde antikor üretimine neden olduğu saptanmış

Eksozom aşı olarak enfeksiyon hastalıklarında uygulamaları

Eur. J. Immunol. 2013. 43: 3279–3290

DOI: 10.1002/eji.201343727

Immunity to infection

European Journal of
Immunology

Exosomes carrying mycobacterial antigens can protect mice against *Mycobacterium tuberculosis* infection

Yong Cheng and Jeffery S. Schorey

Department of Biological Sciences, Center for Rare and Neglected Diseases and Eck Institute for Global Health, University of Notre Dame, Notre Dame, IN, USA

- ***Mycobacterium tuberculosis*** kültür filtrat proteini ile muamele edilmiş makrofajlardan elde edilen eksozomlar aşı olarak kullanıldığı farelerde, düşük doz aerosolize *Mycobacterium tuberculosis* verilmesine karşın enfeksiyon gelişmediği gösterilmiş

Eksozom - Enfeksiyon ilişkisi



Zhang W et al. *Frontiers in Immunology* 2018;9:90.

Eksozom - Enfeksiyon ilişkisi

- Leishmania ile enfekte **dendritik hücrelerden** salgılanan eksozomlar bağışık sistemi aktive etmektedir. Bu tür eksozomlardan aşı oluşturmak ve böylece hastalıktan korunmak mümkün olabilmektedir
- Leishmania ile enfekte **makrofajlardan** salgılanan eksozomlar ise bağışık yanıtı baskılayıcı etkiye sahiptir. Parazitin çoğalmasına ve enfeksiyon gelişmesine yol açarlar
- Enfekte hücrelerden salgılanan eksozomlarda **GP63** varlığı
- GP63 bağışık yanıtı baskılayarak parazitin yaşamasına ve çoğalmasına olanak sağlamaktadır

Fuhrmann G et al. *European J of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2017;118:56-61.

Eksozom - Enfeksiyon ilişkisi

PHAGOCYTES, GRANULOCYTES, AND MYELOPOIESIS

Antibacterial effect of microvesicles released from human neutrophilic granulocytes

*Csaba I. Timár,¹ *Ákos M. Lőrincz,¹ Roland Csépanyi-Kömi,¹ Anna Vályi-Nagy,¹ György Nagy,² Edit I. Buzás,² Zsolt Iványi,³ Ágnes Kittel,⁴ David W. Powell,^{5,6} Kenneth R. McLeish,⁵⁻⁷ and Erzsébet Ligeti¹

Departments of ¹Physiology, and ²Genetics, Cell Biology and Immunology, Semmelweis University, Budapest, Hungary; ³Clinic for Anaesthesiology and Intensive Care, Semmelweis University, Budapest, Hungary; ⁴Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary; Departments of ⁵Medicine and ⁶Biochemistry and Molecular Biology, University of Louisville, Louisville, KY; and ⁷Robley Rex VA Medical Center, Louisville, KY

S.aureus enfeksiyonunda nötrofil kaynaklı mikroveziküllerin kanda belirgin oranda artmakta

Bu mikroveziküllerin *S.aureus* çoğalmasını bakteri agregasyonu sağlayarak azalttıkları in-vitro gösterilmiş

Bu erken dönemde mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen bir mekanizma olabilir

Timar CI et al. Blood 2013;121(3):510-8..

Eksozomların özellikleri ve kullanımları

- Nanopartikül gibi küçük, veziküler yapıdadırlar
- Nanopartiküllerden farklı olarak doğal yapıdadırlar

Nanopartiküller;

- Birden çok antibiyotığı tek bir partikül içerisine alabilir
- Aynı zamanda antibiyotik direnç gelişimini de azaltmada nanopartiküller önemli rol oynadıkları kabul edilmektedir [Plgrift RY et al. Advanced Drug Delivery Reviews 2013;65\(13-14\):1803-1815](#)
- Eksozomlar da nanopartiküller gibi lipid içerisinde çözünebilen ilaçlar ile birleştirilip her türlü vücut engellerinden güven ile geçip tedavi amacıyla kullanılabilir

Eksozomların enfeksiyon hastalıkları tedavisinde kullanımları

Open Access Full Text Article

ORIGINAL RESEARCH

Exosome-encapsulated antibiotic against intracellular infections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

This article was published in the following Dove Press journal:
International Journal of Nanomedicine

International Journal of Nanomedicine 2018:13 8095–8104

Xiaohong Yang
Gongming Shi
Jian Guo
Chenhui Wang
Yun He

Chongqing Key Laboratory of Natural Product Synthesis and Drug Research,
School of Pharmaceutical Sciences,
Chongqing University, Chongqing
401331, People's Republic of China

Background: *Staphylococcus aureus* survival inside phagocytes is considered to provide a reservoir of bacteria that are relatively protected from antibiotics, thus enabling long-term colonization of the host and explaining clinical failures and relapses after antibiotic therapy.

Purpose: The objective of this study was to develop a nanovesicle using exosomes loaded with linezolid to overcome intracellular infections by pathogenic bacteria.

Methods: Exosomes were collected from the culture supernatants of RAW 264.7 cells. Their size distribution and zeta potential were characterized by dynamic light scattering, their morphology was characterized by transmission electron microscopy, and their protein content (CD63 and Flotillin 1) was assessed by Western blotting. Linezolid was incorporated into exosomes by co-incubation at 37°C and its accumulation in RAW264.7 cells and release in vitro were determined by high performance liquid chromatography. The intracellular bactericidal effect was evaluated in methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)-infected macrophages in vitro and MRSA peritonitis model in vivo.

Results: We prepared a nanof ormulation of the antibiotic linezolid using exosomes harvested from mouse RAW264.7 macrophages. The exosomal formulation of linezolid was more effective against intracellular MRSA infections in vitro and in vivo than the free linezolid. Our data also showed no signs of cytotoxicity in macrophages.

Conclusion: Exosomes provide an effective alternative for intracellular antibiotic delivery of antibiotic that is efficacious, cost-effective, and safe. This regimen can be viewed as a potential antimicrobial agent for use against intracellular infections.

Keywords: exosomes, antibiotic, delivery, intracellular infection, MRSA

- Fagosit hücrelerin içerisinde kalan Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı etkinliği saptamak amacıyla

1. Linezolid ile 2. Makrofaj kökenli eksozoma yerleştirilmiş olan Linezolid

İn vitro ve in vivo peritonit modelinde çalışılmış

Sonuç: Eksozom ile birleştirilmiş LNZ hücre içerisinde tek başına linezolid'den çok daha yüksek konsantrasyonda ve bakterisidal etki yaratmış

Bu özellikle hücre içi mo bağı enfeksiyonların tedavisi için bir umut / seçenek olabilir

Hayvan kanser tedavi modellerinde eksozomlar ilaçların hedefe ulaşmasını sağlamak için kullanılmakta

Özet

- Eksozomlar pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynadıkları kabul ediliyor
 - Kanser
 - Otoimmün hastalıklar
 - Alzheimer, Parkinson hastalığı
 - Enfeksiyon hastalıkları
- Eksozomlar enfeksiyon hastalıkları alanında
 - İmmünoprofilaksi – Enfeksiyon hastalıklardan korunma / tedavi
 - Doğal taşıyıcı özellikleri ile tüm vücut dokularına ilaçların ulaştırılması, hücre içine yoğun geçişlerin sağlanması – Enfeksiyon hastalıklarının tedavisi

Dinlediğiniz için teşekkür ederim