

Yara iyileşmesi ve cilt rejenerasyonuna güncel bir yaklaşım: Kök hücre eksozom tedavisi

A current approach to wound healing and skin regeneration: Stem cell exosome therapy

Ayşegül Taşkiran¹ 

Dilek Taşkiran² 

¹ Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı, Çanakkale, Türkiye

² Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ÖZ

Yara iyileşme süreci, klinik uygulamada birtakım zorluklarla seyreden uzun bir süreç olup güncel tedavilerin etkileri halen sınırlıdır. Yara iyileşme süreci, hücrelerin göçü ve proliferasyonu, ekstraselüler matrisin yeniden şekillendirilmesi ve anjiyogenez ile ilişkilidir. Çeşitli risk faktörleri, kronik iltihaplanma ve bazı hastalıklar, yetersiz yara kapanmasına yol açarak fibrozisle sonuçlanabilecek bir yara izi oluşmasına neden olabilir. Son yıllarda, mezenkimal kök hücrelerin (MKH) yara iyileşmesi ve cilt yenilenmesi üzerinde güçlü terapötik potansiyele sahip olduğuna dair kanıtlar ortaya çıkmıştır. Ancak, MKH'lerin doğrudan uygulanmasında hala birçok sorunla karşılaşmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda, köken aldığı hücrelerden belirli bileşenler içeren lipid çift tabakalı membran yapısına sahip ve "granüler veziküller" olarak tanımlanan eksozomlar, MKH'ler için mükemmel bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Çeşitli çalışmalarda özellikle MKH'lerden türetilen eksozomların (MKHE) yaraların iyileşmesi ve cilt rejenerasyonu için faydalı olduğu gösterilmiştir. Eksozomların cilt yaralarını iyileştirme sürecinde etkili olduğu mekanizmalar arasında inflamasyonu hafifletmek, damar oluşumunu uyarmak, epitel hücreleri ve fibroblastların proliferasyon ve göçünü uyarmak yer almaktadır. Bu nedenle, MKHE uygulanması, cilt yaralarının tedavisinde hücre tedavisine umut verici bir alternatif olabilir ve aynı anda birden fazla mekanizma aracılığıyla yara iyileşmesini teşvik edebilir. Bu derlemede, MKH'lerden türetilen eksozomların yara iyileşmesinde ve cilt rejenerasyonundaki rolü ve mekanizmaları hakkında güncel bilgiler sunulacak ve MKHE'lerin klinik uygulamalardaki potansiyelleri ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

Anahtar Sözcükler: Yara iyileşmesi, cilt rejenerasyonu, mezenkimal kök hücre, eksozom, yaşlanma, eksozom tedavisi

ABSTRACT

The wound healing process is a long and challenging one in clinical practice, with current treatments showing limited effects. The wound healing process is associated with cell migration and proliferation, remodeling of extracellular matrix and angiogenesis. Various risk factors, chronic inflammation, and certain diseases can lead to insufficient wound closure, resulting in scar formation that may lead to fibrosis. In recent years, there has been evidence suggesting that mesenchymal stem cells (MSCs) have significant therapeutic potential for wound healing and skin regeneration. However, the direct application of MSCs still confronts many difficulties. Interestingly, exosomes, identified as "granular vesicles" with a lipid bilayer membrane structure involving specific components from their source cells, may reveal as an perfect alternative to MSCs. Various studies in recent years have shown that exosomes derived from MSCs are useful for wound healing and skin regeneration.

Sorumlu yazar: Dilek Taşkiran

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

E-posta: dilek.taskiran@ege.edu.tr

Başvuru tarihi: 07.08.2024

Kabul tarihi: 25.08.2024

The mechanisms by which exosomes are effective in the wound healing process include relieving inflammation, promoting vascularization, and the proliferation of epithelial cells and fibroblasts. Therefore, the application of MSC-exosomes may be a promising alternative to cell therapy in the treatment of skin wounds. This review will present current literature on the role and mechanisms of MSC-exosomes in wound healing and skin regeneration and will elaborate on the clinical potential of MSC-exosomes.

Keywords: Wound healing, skin regeneration, mesenchymal stem cell, exosome, aging, exosome therapy.

GİRİŞ

Vücudumuzun dış ortama karşı koruyucu bariyeri olan deri, güneşin ultraviyole ışınları ve çeşitli patojenler gibi çevresel tehditlere karşı savunmada önemli bir rol oynar. Ancak deri, travma veya yanıklara karşı çok hassas olup çeşitli patolojik durumlarda kronik yaralar veya ülserler geliştirmeye yatkındır. Günümüzde yara iyileşmesini uyarmak için standart tedavi stratejileri, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi bazı biyolojik ajanlar kullanılmaktadır. Bununla birlikte, yara iyileşmesi, çeşitli hücre türlerini ve hücreler ile ekstraselüler matriks (ESM) arasındaki moleküler etkileşimi içeren karmaşık bir süreç olduğu için biyolojik ajanların tedavi edici etkileri sınırlıdır (1). Bu nedenle halen akut ve kronik cilt yaraları için yeni tedavi paradigmasının keşfedilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda yapılan deneysel ve klinik çalışmalar hasar görmüş dokuların tedavisinde kök hücre temelli yaklaşımların, büyüme faktörleri veya sitokin uygulamalarına dayalı tedavilere göre birçok avantaja sahip olduğunu desteklemektedir. Özellikle kendi kendini yenileme ve farklılaşma yetenekleri olan pluripotent mezenkimal kök hücreleri (MKH), çeşitli doku yaralanmaları üzerinde güçlü tedavi edici etkilere sahiptir (2, 3). Mezenkimal kök hücreleri kemik iliği, yağ dokusu, diş pulpası ve umbilikal kordon gibi birçok dokudan elde edilebilmekte olup hücre göçü ve proliferasyonu, anjiyogenez, inflamasyonun baskılanması ve ESM'nin düzenlenmesi gibi birçok fizyopatolojik süreçte rol oynamaktadır (4). Bununla birlikte MKH'lerin elde edilmesi çoğu zaman invaziv ve zaman alıcı prosedürlerle gerçekleştirilmekte ve aynı zamanda sistemik ve lokal uygulamalarda hedef bölgelere ulaşma ve tutunma sorunları ortaya çıkmaktadır.

MKH'lerin cilt yaralarını tedavi edici özelliklerine yönelik yapılan yeni çalışmalarda kök hücrelerin çoğalma ve farklılaşma yeteneklerinden çok parakrin etkilerle bunu gerçekleştirdiği

görülmüştür (5, 6). Bu sonuçlardan yola çıkarak hücre uygulamaları yerine MKH kaynaklı ekstraselüler veziküllerin (EV'ler), özellikle eksozomların uygulanması, cilt yaralarının iyileşmesinde ve cilt rejenerasyonunda umut verici yeni bir tedavi paradigması olacağı düşünülebilir.

Bu derlemede, MKH kaynaklı eksozomların (MKHE) yara iyileşmesindeki tedavi edici etkinlikleri ve cilt rejenerasyonundaki rolü, altta yatan hücre ve moleküler mekanizmalar güncel literatür eşliğinde ele alınacaktır.

Yara iyileşmesinin fizyolojik temeli

Cilt yaraları, cildin yapısını veya bütünlüğünü bozan çeşitli içsel patolojik ve dış mekanik faktörler tarafından oluşabilir. Ciltte oluşan bir yaranın onarımı, hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, anjiyogenez, yara kontraksiyonu, kolajen birikimi ve yeniden yapılanma (remodelasyon) gibi birçok faaliyetin gerçekleştiği karmaşık bir süreçtir (Şekil 1) (1,6-9). Bu süreçte, belirli aşamalarda işlev gören birçok farklı cilt hücreleri ve bağışıklık hücreleri arasında dinamik etkileşimler ortaya çıkar. Yara oluşumunu takiben dakikalar içinde hemostatik süreç gerçekleşir ve pıhtılaşma ile oluşan fibrin pıhtısı inflamatuvar hücreler için bir iskele (scaffold) görevi görür. Sonraki 24 saat içinde nötrofiller ve ardından makrofajlar yara bölgesine göç ederler ve yara yerindeki patojenleri, hücre kalıntılarını ve apoptotik hücreleri ortadan kaldırarak iyileşme için ortam hazırlarlar (1,6-8). Yara bölgesinde gelişen inflamasyon, M1 makrofajlarının M2 makrofajlarına dönüşümünü artırır. M2 makrofajları, keratin sentezleyen hücrelerin, fibroblastların ve endotel hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü yöneterek doku onarımını ve ESM üretimini uyarır. Bu süreci takiben yara matriksi, kapillerler, fibroblastlar ve kolajen fibrillerini içeren ve hücrelerin göçü ve büyümesi için bir iskelet görevi görecektir granülasyon dokusu ile yavaş yavaş değiştirilir (6-8). Daha

sonra, epitelizasyon aşamasına gelindiğinde, keratinositler hasarlı dermise göç ederler ve epitelyal bariyer işlevini yeniden oluştururlar. Hücreler hızla çoğalır, yeni damarlar ve epitel ortaya çıkar. Sonrasında, fibroblastlar miyofibroblastlara farklılaşır ve yara bölgesini daraltırlar. Kolajen birikimi aşamasında, fibroblastlar tarafından ilk olarak matriks içine yüksek konsantrasyonlarda olgunlaşmamış Tip III kolajen salgılanırken yeniden yapılanma (remodelasyon) aşamasında, Tip III kolajeni Tip I kolajene dönüştürülür, bu da yaranın kapanmasına izin verir. Süreç boyunca, fibroblastlar, adipositler, endotel hücreleri, keratinositler, makrofajlar ve diğer bağışıklık hücreleri gibi birçok cilt hücresi, yara iyileşmesini teşvik etmek için etkileşime girer. Remodelasyon fazı 3.haftada başlar ve uzun aylar hatta yıllar boyunca devam edebilir (1, 6-9).

Klinikte kronik yaralar, altı hafta içinde iyileşmeyen, derin, tam veya kısmi kalınlıkta yaralar olarak tanımlanır. Bu yaralar yavaş iyileşirler ve bazı kişilerde hiperplastik skar ve keloidlerle sonuçlanabilen ciddi fibröz doku oluşumu görülür. Kötü görsel görünümünün yanı sıra, skar çevresindeki doku, glandula sebacea, folliculus pili ve duyuşal sinir reseptörleri gibi bazı temel dermal bileşenden yoksundur (9, 10). Skar oluşumuna neden olan birkaç risk faktörü vardır; bunlar arasında aşırı kolajen birikimi, azalmış fibroblast apoptozu, gecikmiş keratinosit fonksiyonu, artmış transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) ekspresyonu, aşırı anjiyogenez, uzun süreli inflamasyon ve yaşlanma sayılabilir. İnflamatuar tepkinin erken yönetimi, yenilenme için önemlidir çünkü çözülmemiş uzun süreli inflamasyon, yenilenme yerine skar oluşumuna yol açabilir (11-13).

Cilt yaşlanmasının fizyolojik temeli

Yaşlanmakta olan cilt, çeşitli iç ve dış faktörler nedeniyle kaçınılmaz olarak yapısal ve fonksiyonel özelliklerini kaybeder. Araştırmalar, genel olarak dış faktörlerin cilt yaşlanmasının ana nedeni olduğunu ve yalnızca %3 oranında içsel faktörlerin yaşlanmaya katkıda bulunduğunu öngörmektedir. Dış faktörler arasında hava kirlleticileri, yaşam tarzı seçimleri ve özellikle UV maruziyeti cilt yaşlanmasının başlıca nedenleridir. Yaşlanma, cilt elastikiyetini azaltır ve cilt kalınlığı ve kolajen dokusunu değiştirir, kırışıklıklara yol açar. UV maruziyetine bağlı yaşlanma, çoğunlukla ESM yapısındaki

değişikliklere bağlı olarak ortaya çıkan düzensiz pigmentasyon, pürüzlülük, kuruluk ve kırışıklıklar ile kendini gösterir (14, 15).

Cilt yaşlanma mekanizmaları oldukça karmaşık olup genetik mutasyonlar, DNA hasarı, hücre yaşlanması, inflamasyon ve oksidatif stres süreçlerini içerir. DNA onarım mekanizmalarındaki yaşa bağlı eksiklikler, epidermal kök hücrelerin kendini yenileme kapasitesini zayıflatarak kromozomal yeniden düzenlemelere veya mutasyonlara yol açabilir ve böylece cilt yaşlanmasını hızlandırabilir ve/veya kanser gelişimini artırabilir. Oksidatif stresin cilt yaşlanması üzerinde etkileri uzun yıllardır bilinmekte olup melatonin, C vitamini, A vitamini ve glutatyon gibi çeşitli antioksidanlar cilt yenilenmesine yardımcı olma potansiyeline sahiptir (9, 15).

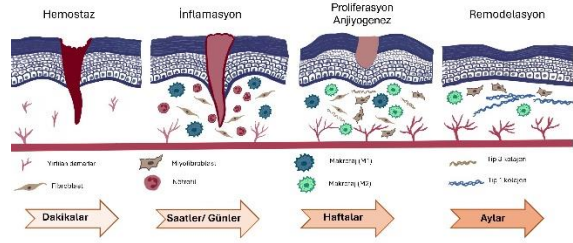
Yaşlanma sırasında tip I ve III kolajen üretimi etkilenir ve ayrıca kolajen parçalanması ve düzensizliği de meydana gelir. Yaşlanmış ciltte kolajende görülen değişiklikler, yeni kolajen üretiminin azalması ve fibroblast proliferasyonunun azalmasının yanı sıra matriks metalloproteinazların (MMP), özellikle MMP-1'in artan üretiminin bir sonucudur (16). Kolajen ve elastin yıkımı, cildin gücünü ve esnekliğini kaybetmesine neden olur, bu da klinik olarak kırışıklık ve sarkma olarak kendini gösterir. Aşırı üretilen reaktif oksijen türleri (ROT), hücre fonksiyonuna ve yapısına doğrudan zarar verebilir, inflamatuvar tepkileri düzenleyebilir ve cilt yaşlanma sürecini hızlandırabilir. ROT tarafından uyarılan MMP sentezi, p38, ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz ve c-Jun-terminal kinaz içeren mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) sinyal yolu ile düzenlenir. Foto yaşlanma ve UV radyasyonuna yanıtı düzenleyen başka bir transkripsiyon faktörü ise inflamasyon ve MMP üretimine aracılık ederek yöneten nükleer faktör- κB (NF- κB) olarak bilinmektedir (17, 18).

Epidermisteki melanositler ve keratin oluşturan hücreler arasındaki etkileşim, cilt pigmentasyonundan sorumludur. Cilt UV radyasyonuna maruz kaldığında, keratin oluşturan hücreler, melanositleri melanin üretmeye teşvik eden endotelin-1 ve α -melanosit uyarıcı hormon (α -MSH) gibi parakrin hormonlar salgılar. Uygun miktarda melanin doğal bir güneş koruyucusu işlevi görürken, aşırı melanin üretimi UV kaynaklı pigmentasyon bozuklukları olarak görülen güneş lekesi hastalığı ve melazma gibi hiperpigmentasyona yol açar (9, 19).

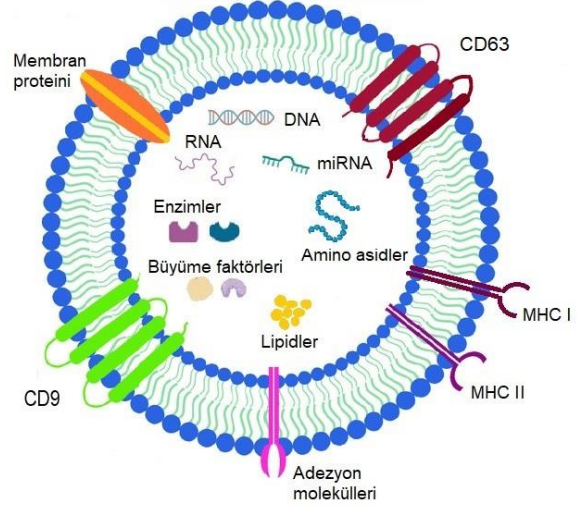
Mezenkimal kök hücre kaynaklı eksozomların yara iyileşmesi ve cilt rejenerasyonundaki etkileri

Mezenkimal kök hücreler (MKH), kendi kendini yenileyebilen, çok yönlü farklılaşma potansiyeline ve parakrin düzenleme yeteneğine sahip kök hücrelerdir. Kolay izole edilebilmeleri, çoğaltılabilmeleri ve çok yönlü farklılaşma potansiyelleri nedeniyle, MKH'ler doku onarımı da dahil olmak üzere rejeneratif tıp alanında önemli bir kök hücre kaynağı olarak kabul edilmektedir. MKH'ler kemik iliği dışında yağ dokusu, kas, göbek kordonu ve diş gibi diğer dokularda da bulunur. MKH'ler yüzey belirteci olarak CD105, CD90 ve CD73'ü eksprese ederlerken CD34, CD45, CD19, CD11b, CD79a veya CD14'ü eksprese etmezler. MKH'leri hücre terapisi için umut verici bir hedef haline getiren başlıca özellikleri bağışıklık modülasyonu, anti-inflamasyon ve rejenerasyon potansiyeli göstermeleridir (2, 3). Kök hücreler, cilt rejenerasyonu ve gençleştirilmesini, doku damarlanmasını, yumuşak doku rejenerasyonunu, kemik ve kırıldak onarımını ve saç folikül rejenerasyonunu uyararak güçlü terapötik etkilere sahiptir. Ancak, kök hücrelerin yara iyileşmesinde terapötik kullanımı, depolama zorlukları, mutasyonla ilişkili tümör oluşumu, immün rejeksiyon ve etik düzenlemeler nedeniyle sınırlıdır (4).

Tüm ökaryotik hücreler, normal fizyolojilerinin bir parçası olarak hücre dışı veziküller (EV'ler) salgılar. EV'ler, farklı boyutlardaki lipid çift katmanlı veziküler yapılar olarak tanımlanabilir. EV'ler geniş anlamda ektozomlar ve eksozomlar olmak üzere iki kategoriye ayrılabilir. Ektozomlar, plazma zarının yüzeyinden dışa doğru tomurcuklanma yoluyla kopan veziküllerdir ve mikroveziküller, mikropartiküller ve çapları ~50 nm ile 1 µm arasında değişen büyük vezikülleri içerir. Eksozomlar ise endozomal kökenli olup çapları ~40 ila 160 nm (ortalama ~100 nm) arasında olan EV'lerdir. Plazma zarının ardışık invajinasyonu sonucunda multiveziküler cisimlerin oluşumuna yol açar ve bu cisimler diğer hücre içi veziküller ve organellerle kesişebilir, eksozomların bileşenlerinde çeşitliliğe katkıda bulunur. Kaynak hücreye bağlı olarak, eksozomlar da dahil olmak üzere EV'ler, DNA, RNA, miRNA, lipidler, metabolitler ve sitozolik ve hücre yüzeyi proteinleri gibi birçok hücre bileşenini içerebilir (Şekil-2) (8, 20, 21).



Şekil-1. Yara iyileşme sürecinde gelişen hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, anjiyogenez ve remodelasyon evreleri.



Şekil-2. Eksozomlar, tüm hücreler tarafından üretilen hücre dışı veziküller olup DNA, RNA, proteinler, lipidler, enzimler, büyüme faktörleri gibi çok çeşitli hücre bileşenini taşırlar.

Son yıllarda, özel bir EV kategorisi olarak eksozomlar, daha geniş ve derinlemesine incelenmektedir (22). Eksozomlar, serum, tükürük, süt, beyin omurilik sıvısı, idrar ve semen gibi vücut sıvılarında dağılmış olarak bulunabilirler. Eksozomlar, terapötik etkilerini genişletmek, değiştirmek veya iyileştirmek için biyokimyasal olarak modifiye edilebilirler. Eksozomların modifikasyonu, iç stratejiler (örneğin, ilaç yükleme) ve dış stratejiler (örneğin, yüzey modifikasyonu) olarak sınıflandırılır. Eksozomlar stabilite, bağışıklık yanıtı oluşturmama ve hedef hücrelere ulaşma avantajları nedeniyle ilaç, nükleik asitler ve aşılı taşıyıcı için ideal bir terapötik taşıyıcı olabilirler. Özellikle, mezenkimal kök hücre eksozomları (MKHE), kök hücrelerin ürünleri oldukları için kök hücrelere benzer çok önemli biyolojik işlevlere sahiptir. MKHE, kök hücrelerden gelen parakrin

faktörlerin biyolojik etkilerinin önemli araçları olup hücreler için iyileşmesi için ideal bir yaklaşım sunar. MKHE ayrıca vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-10 (IL-10) gibi anjiyogenez ve immünmodülasyonu kolaylaştıran çok çeşitli sitokinleri içerir. Metabolitler, proteinler, DNA ve kodlamayan RNA'lar (ncRNA'lar) gibi MKHE'lerin bileşenleri fibroblastlar, keratinositler, bağışıklık hücreleri ve endotelial hücreler gibi hücreler tarafından alınarak yara dolaşımının iyileştirilmesi, anjiyogenezin uyarılması, inflamasyonun düzenlenmesi ve kök hücrelerin uyarılması yoluyla yara onarımını hızlandırabilirler (6, 7, 9, 21, 23). Burada dikkat çekici olan, eksozomların yüksek derecede heterojenite göstermesidir; bu durum, hücrelerde çeşitli yolların aktifleşmesine ve farklı biyolojik fonksiyonların uyarılmasına yol açar. Eksozomların heterojenliği, boyut, içerik ve köken hücreleri gibi faktörlerden etkilenmektedir (24).

Cilt yaralarının iyileşmesi, keratinositler, fibroblastlar, endotelial hücreler, adipositler, makrofajlar ve diğer bağışıklık hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli cilt hücreleri arasında eksozomlar aracılığıyla gerçekleşen hücreler arası etkileşimlerle ortaya çıkar. Birçok yara iyileşme modelinde, çeşitli hücre tiplerinden elde edilen eksozomların yara iyileşme sürecinin inflamasyon, proliferasyon ve yeniden yapılanma aşamalarında faydalı etkiler gösterdiği kanıtlanmıştır. İnflamasyon aşamasında, nötrofiller önce mikrobiyal patojenleri temizlemek için yaralanma bölgesine sızar ve ardından apoptoza uğrar, ardından hücre kalıntıları, apoptotik nötrofilleri ve diğer apoptotik hücreleri yutan makrofajların sızması izlenir (6, 7, 9, 21, 23). Örneğin, Li ve ark. makrofaj kaynaklı eksozomların, pro-inflamatuar sitokinler ve enzimlerin salgılanmasını azaltarak, yoğun anjiyogenez ve proliferasyon etkileriyle diyabetik yara iyileşmesini teşvik edebildiğini keşfetmişlerdir (25). Cilt rejenerasyon sürecinde belirgin ve önemli bir rol oynayan makrofajların iki farklı fonksiyonel fenotip gösterdiğini öne sürülmektedir. Bunlar pro-inflamatuar M1 fenotipi ve anti-inflamatuar M2 fenotipi. Yaralanmayı takiben, M1 makrofajları, hasarlı doku ve hücrelerin ortadan kaldırılması için gerekli olan pro-inflamatuar aktiviteleri uyarırken, M2 makrofajları, doku tamirini ve rejenerasyonu kolaylaştıran anti-inflamatuar aktiviteler gösterir. Bununla birlikte, aşırı pro-inflamasyon aktiviteleri

ve yetersiz anti-inflamatuar aktiviteler, kronik yaraların veya fibrozis gelişme riskine yol açabilir. Bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar eksozomların mikroRNA'ları (miRNA'lar) aktararak M2 polarizasyonunu tetikleyebileceğini göstermektedir. Örneğin, insan göbek kordonu MKHE'lerinin, yanık yarası modeli yapılan sıçanlarda miR-181c yoluyla makrofajlarda tümör nekroz faktörü α (TNF- α) ve interlökin-1 β (IL-1 β) seviyelerinin artışı ve IL-10 seviyelerinin azalmasını sağlayarak makrofajların M2 polarizasyonunu uyarabileceği gösterilmiştir (26). Bir başka çalışmada He ve arkadaşları, kemik iliği MKHE'lerinin makrofaj polarizasyonunu M2 fenotipine doğru indüklediğini bildirmiştir (27).

Yara iyileşmesi sürecinde proliferasyon fazında başlıca fibroblast proliferasyonu, ESM bileşenlerinin üretimi, yeniden epitelizasyon ve anjiyogenez olmak üzere başlıca 4 önemli olay meydana gelir. İnflamasyon sonrasında gelişen bu olaylar yeni dokuları oluşturmak ve cildin morfolojisini ve işlevini yeniden sağlamak için çok önemlidir. Çok sayıda kanıt, eksozomların bu dört süreç üzerinde olumlu terapötik etkileri olduğunu göstermiştir. Shabbir ve arkadaşlarının *in vitro* çalışmasında, MKHE'lerin fibroblastların proliferasyonunu ve göçünü artırabileceği gösterilmiştir. Etkilerin, yara iyileşmede önemli olduğu bilinen AKT, ERK ve STAT3'ü içeren hücre içi sinyal yollarının aktivasyonlarıyla tetiklendiği kanıtlanmıştır (28). Benzer şekilde Zhang ve arkadaşlarının çalışmasında, yağ dokusu kök hücre türevli eksozomların fibroblastlar üzerinde olumlu etkileri olduğu, kolajen birikimini ve fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve transforme edici büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) gibi büyüme faktörlerinin ekspresyonunu teşvik ettiği hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak gösterilmiştir (29). Bu sonuçlar, MKHE'lerin proliferasyon fazında yeniden epitelizasyon sürecini hızlandırabileceğini desteklemektedir. Ren ve arkadaşlarının daha kapsamlı bir çalışmasında, yağ dokusu kaynaklı MKH'lerden elde edilen mikroveziküllerin fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreleri üzerindeki etkileri hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, mikroveziküllerin bu hücrelerin proliferasyonunu ve göçünü AKT ve ERK sinyal yolları aracılığıyla teşvik ettiğini, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü ve FGF2'nin ekspresyonunu artırdığını göstermiştir (30).

İnsan göbek kordonu MKH'lerinden türetilen ekzosomların, bir yara kesisine (çap 12 mm) uygulanmasından sonra epitel, sinirler ve kan damarlarının yenilenmesinin hızlandığı bildirilmiştir. Eksozomlar yara iyileşmesi sırasında kolajen liflerinin dağılımının düzenlenmesine katkıda bulunmuşlar, ayrıca hem *in vitro* hem de hayvan modellerinde deri hücrelerinin proliferasyonunu ve göçünü arttırmışlardır (31). Pomatto ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada kemik iliği ve yağ dokusu kaynaklı MKH'lerden türetilen eksozomlar diyabetik yara iyileştirme potansiyelleri açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları yağ dokusu MKHE'lerinin kemik iliği MKHE'lerine göre daha etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca yağ dokusu MKHE'lerinin anjiyogenezini uyarırken, kemik iliği MKHE'lerinin ise daha çok hücre proliferasyonunu uyardığı gözlenmiştir (5). Bir diğer çalışmada ise Zhou ve arkadaşları, yağ dokusu kaynaklı kök hücreleri ve bunlardan elde edilen eksozomları birlikte ve ayrı ayrı kullanarak yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonuçları 2 ürünün birlikte uygulanması halinde epitelizasyonun ve anjiyogenezin daha iyi geliştiğini ve aynı zamanda skar oluşumunun da azaldığını göstermiştir (32).

Eksozomlar yara iyileşmesinin yanı sıra cilt yenilenmesi, pigmentasyonun düzenlenmesi ve kıl büyümesi gibi birçok fizyopatolojik süreçlerde de denenmiş olup çeşitli *in vitro* ve hayvan çalışmalarında olumlu sonuçlar bildirilmiştir. Örneğin, Hu ve arkadaşları, insan dermal fibrositlerinin (HDF) üç boyutlu kültüründen elde edilen eksozomların foto-yaşlanma modeli uygulanan farelerde TNF- α 'yı baskılama ve TGF- β 'yı uyarma yönünde düzenleyerek, tip I prokollajen artışına, MMP-1 ekspresyonunda azalmaya ve yaşlanma karşıtı etkilere neden olduğunu göstermişlerdir (33).

Klinik bakış açısı

Literatürde osteoartrit, kas ve tendon yaralanmaları, iskemik hasar, sinir yaralanmaları, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi çeşitli deneysel hastalık modellerinde eksozom tedavisinin uygulandığı ve başarılı sonuçlar elde edildiği çok sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Ancak insan çalışmaları bağlamında değerlendirildiğinde fazla sayıda klinik çalışma olmadığı ve eksozom tedavisinin henüz deneme aşamasında olduğu anlaşılmaktadır. Günümüzde

eksozomların klinik olarak denendiği alanlar başlıca biyobelirteç, ilaç taşıyıcısı, kanser aşısı ve tedavi amaçlı kullanım olarak sıralanabilir. Eksozom tedavisinin uygulandığı klinik çalışmalar ClinicalTrials.gov (<https://clinicaltrials.gov/>) adresinde tarandığında yara iyileşmesi ve ciltle ilişkili patolojilerin tedavisine yönelik şu an için 27 adet çalışma yürütülmektedir. Konuyla ilgili yayınlanmış çalışmalar incelendiğinde, 12 haftalık randomize bir çift kör kontrollü klinik bir araştırmada yüzdeki atrofik akne skarlarına fraksiyonel CO₂ lazer uygulaması sonrası adjuvan tedavi olarak cilde jel formunda uygulanan yağ dokusu MKHE'lerinin klinik etkinliğini araştırılmıştır. Çalışmada yağ dokusu MKHE'leri ile tedavi edilen taraflarda, edilmeyen taraflara göre anlamlı derecede bir iyileşme olduğu görülmüştür. Aynı zamanda tedavi ile ilişkili eritem daha hafif ve tedavi sonrası iyileşme süresi daha kısa olmuştur. Bu çalışma MKHE'lerinin cilt yenilenmesinde kullanılan yüzey yenileme cihazları ile birlikte uygulanmasının hem etkinlik hem de güvenlik açısından atrofik akne izlerinin tedavisinde sinerjik etkiler sağlayabileceğini ortaya koymuştur (34).

Yakın zamanda yayınlanan bir olgu çalışmasında ise, kafa derisindeki anjiyosarkom nedeniyle neoadjuvan kemoterapi, ardından eşzamanlı kemoradyoterapi, geniş lokal eksizyon ve serbest flep ve kısmi kalınlıkta deri grefti uygulanan 60'lı yaşlarda bir erkek hastada 1 yıl boyunca iyileşmeyen 2 kronik yara geliştiği bildirilmiştir. Bu hastaya 7 ay boyunca debritman işlemi sonrası anti-enflamatuvar ve anjiyojenik büyüme faktörleri ile zenginleştirilmiş trombosit kaynaklı Safılaştırılmış Eksozom Ürünü (PEP) uygulanmıştır. Araştırmacılar bu olguya uygulanan PEP tedavisinin yaralarda %96 ve %100 oranında iyileşme sağladığını, herhangi bir yan etki ve komplikasyon görülmediğini bildirmişlerdir (35).

Bir başka olgu çalışmasında, akne, hafif akne izleri ve melazması olan 31 yaşındaki bir kadın hastanın yüz, göğüs ve sırt bölgelerine fraksiyonel non-ablatif lazer tedavisi yapılmıştır. Hasta son uygulamadan sonra rahatsızlık açısından değerlendirilmiş ve ısı rahatsızlığı, yanma ve batma için 10 üzerinden 8 ağrı seviyesi bildirilmiştir. Değerlendirmeden sonra, tedavi alanlarına toplam 3 mL insan plasentası kaynaklı MKH'lerden elde edilen eksozom serumu uygulanmıştır. Uygulamanın hemen ardından, hasta rahatsızlık şiddetinin 10 üzerinden 4'e düştüğünü bildirmiş olup hastanın ilgili

bölgelerindeki eritem ve şişliklerinin iyileşme süresi de azalmıştır. Aynı araştırmacıların bir başka olgusu ise alt dudağında köpek ısırığı olan 49 yaşında kadın hasta olup acil serviste yapılan yara dikişinden 20 saat sonra tedavi için dermatoloji kliniğine başvurmış ve hastanın yara bölgesine 2.5 mL eksozom, her seferinde birkaç damla olacak şekilde, 10 dakika boyunca uygulanmıştır. Eksozom uygulamasından 18 saat sonra yara iyileşmesi gözlemlenmiş ve 10.günde ise yara tamamen kapanmış, fibrotik doku belirtisi olmadan, minimal iz ve duyuşsal ve motor fonksiyonları korunarak iyileşmiştir (36).

Cilt rejenerasyonu ve kozmetik dermatoloji açısından eksozom uygulamasının olumlu etkileri birkaç klinik araştırma ile desteklenmiştir. Bu çalışmalardan birinde, Proffer ve arkadaşları, insan trombositlerinden türetilmiş eksozomlar içeren topikal bir serum kullanarak 56 kişinin yer aldığı 6 haftalık bir klinik denemede cilt sağlığında önemli iyileşmeler ve kızarıklık, kırışıklık ve melanin üretiminde azalma gözlemlenmişlerdir (37). Diğer bir çalışmada, Park ve arkadaşları, 28 kişi üzerinde, 12 haftalık tedavi sonrasında mikro iğneleme ile uygulanan insan yağ MKHE'lerinden türetilmiş eksozomların, yalnızca mikro iğneleme ile karşılaştırıldığında cilt estetiğini önemli ölçüde iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Eksozom uygulanan hastalarda kolajen içeriği artışı, kırışıklıkların azalması, elastikiyet, nemlendirme ve pigmentasyon bozukluklarında anlamlı düzelme elde edilmiştir (38).

TARTIŞMA

Vücuttaki tüm hücrelerden kaynaklanabilen eksozomlar, biyolojik olarak aktif bileşenlerin taşınması, hücre içi bileşenlerin uzaklaştırılması ve ilaç taşıyıcıları olarak işlev görmektedirler. MKH kaynaklı eksozomlar, yara iyileşmesini ve

cilt rejenerasyonunu teşvik etmede MKH'lere göre belirli uygulama avantajlarına sahip olabilirler. Eksozom kaynağı olarak insan yağ dokusu, kemik iliği ve göbek kordonu kaynaklı MKH'ler yara iyileşmesi için en çok çalışılmış ve olumlu sonuçlar alınmış hücreler olup gelecekte umut verici yeni terapötik strateji olarak kabul edilmektedir. MKH-eksozomlarının klinik uygulaması titiz bir kalite yönetimini gerektirir ve bu nedenle hücrelerin, kültür serumunun ve eksozomların izolasyonunu içeren yüksek derecede bir standart protokoller kullanılmalıdır. Eksozom izolasyonu için teknikler çeşitlidir ve ultra santrifüj, boyut filtrasyonu, boyut ayırma kromatografisi, polimer çöktürme ve birkaç yeni birleşik teknikleri içerir (8, 20, 21). Ancak, şu an için MKH-eksozomlarının izolasyonu, taşınması ve korunması veya tanımlanması için tam olarak standardize edilmiş bir protokol yoktur.

Günümüzde, piyasada cilt ve saç tedavisi için eksozom içeren çeşitli ürünler bulunmaktadır. Bu ürünlerin birçoğu lazer tedavileri ve mikro iğneleme gibi minimal invaziv prosedürlerle birlikte kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Popülerliklerinin artmasına rağmen, klinik kanıtların yetersizliği, yara iyileşmesi ve kozmetik dermatolojide yaygın olarak kullanılmalarını henüz haklı çıkarmamaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak; eksozom tedavisinin güvenliği ve etkinliğini, tedavi dozunu, hücre kaynağını ve uygulama sıklığını optimize etmek için geniş kapsamlı klinik araştırmalara gereksinim vardır.

Çıkar çatışması: Bu makaleyle bağlantılı olarak herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Yazarların tümü, derlemenin tasarımına, yürütülmesine ve analizine katkıda bulduklarını ve son halini onayladıklarını beyan etmektedir.

Kaynaklar

1. Sylakowski K, Bradshaw A, Wells A. Mesenchymal stem cell/multipotent stromal cell augmentation of wound healing: lessons from the physiology of matrix and hypoxia support. *Am J Pathol* 2020;190(7):1370-1381. doi:10.1016/j.ajpath.2020.03.017.
2. Taylor DA, Chacon-Alberty L, Sampaio LC, et al. Recommendations for nomenclature and definition of cell products intended for human cardiovascular use. *Cardiovasc Res* 2022;118(11):2428-2436. doi:10.1093/cvr/cvab270.
3. Saadh MJ, Ramírez-Coronel AA, Saini RS, et al. Advances in mesenchymal stem/stromal cell-based therapy and their extracellular vesicles for skin wound healing. *Hum Cell* 2023;36(4):1253-1264. doi:10.1007/s13577-023-00904-8.

4. Zakrzewski W, Dobrzynski M, Szymonowicz M, Rybak Z. Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Res Ther* 2019;10:68. doi: 10.1186/s13287-019-1165-5.
5. Pomatto M, Gai C, Negro F et al (2021) Differential therapeutic effect of extracellular vesicles derived by bone marrow and adipose mesenchymal stem cells on wound healing of diabetic ulcers and correlation to their cargoes. *Int J Mol Sci* 2021;22:1–26. doi:10. 3390/ijms2 20838 51.
6. Hu JC, Zheng CX, Sui BD, Liu WJ, Jin Y. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: A novel and potential remedy for cutaneous wound healing and regeneration. *World J Stem Cells* 2022;14(5):318-329. doi:10.4252/wjsc.v14.i5.318.
7. Ding JY, Chen MJ, Wu LF. et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in skin wound healing: roles, opportunities and challenges. *Military Med Res* 2023;10:36. doi:10.1186/s40779-023-00472-w.
8. Zhou C, Zhang B, Yang Y, et al. Stem cell-derived exosomes: emerging therapeutic opportunities for wound healing. *Stem Cell Res Ther* 2023;14(1):107. doi:10.1186/s13287-023-03345-0.
9. Li J, Liu Y, Zhang R, et al. Insights into the role of mesenchymal stem cells in cutaneous medical aesthetics: from basics to clinics. *Stem Cell Res Ther* 2024;15(1):169. doi:10.1186/s13287-024-03774-5.
10. Rani Raju N, Silina E, Stupin V, Manturova N, Chidambaram SB, Achar RR. Multifunctional and smart wound dressings-A review on recent research advancements in skin regenerative medicine. *Pharmaceutics* 2022;14(8). doi:10.3390/pharmaceutics14081574.
11. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002;420(6917):846–852.
12. Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005;6(12):1191–1197. doi:10.1038/ni1276.
13. Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(20):3861–3885. doi: 10.1007/s00018-016-2268-0.
14. Chaudhary M, Khan A, Gupta M. Skin ageing: pathophysiology and current market treatment approaches. *Curr Aging Sci* 2020;13(1):22-30. doi:10.2174/1567205016666190809161115.
15. Qian H, Shan Y, Gong R, et al. Mechanism of action and therapeutic effects of oxidative stress and stem cell-based materials in skin aging: Current evidence and future perspectives. *Front Bioeng Biotechnol* 2023;10:1082403. doi:10.3389/fbioe.2022.1082403.
16. Quan T, Fisher GJ. Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: a mini-review. *Gerontology* 2015;61(5):427-434. doi:10.1159/000371708.
17. Gu Y, Han J, Jiang C, Zhang Y. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. *Ageing Res Rev* 2020;59:101036. doi:10.1016/j.arr.2020.101036.
18. Wang Y, Wang L, Wen X, et al. NF-κB signaling in skin aging. *Mech Ageing Dev* 2019;184:111160. doi:10.1016/j.mad.2019.111160.
19. Kim M, Shibata T, Kwon S, Park TJ, Kang HY. Ultraviolet-irradiated endothelial cells secrete stem cell factor and induce epidermal pigmentation. *Sci Rep* 2018;8(1):4235. doi:10.1038/s41598-018-22608-y.
20. Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science* 2020;367:eaau6977.
21. Arbade G, Jose JV, Gulbake A. et al. From stem cells to extracellular vesicles: a new horizon in tissue engineering and regenerative medicine. *Cytotechnology* 2024;76:363–401. doi:10.1007/s10616-024-00631-4
22. Heo JS, Kim S, Yang CE, Choi Y, Song SY, Kim HO. Human adipose mesenchymal stem cell-derived exosomes: a key player in wound healing. *Tissue Eng Regen Med* 2021;18:537–48.
23. Xiong M, Zhang Q, Hu W, et al. The novel mechanisms and applications of exosomes in dermatology and cutaneous medical aesthetics. *Pharmacol Res* 2021;166:105490. doi:10.1016/j.phrs.2021.105490.
24. Ye H, Wang F, Xu G, Shu F, Fan K, Wang D. Advancements in engineered exosomes for wound repair: current research and future perspectives. *Front Bioeng Biotechnol* 2023;11:1301362. doi:10.3389/fbioe.2023.1301362.
25. Li M, Wang T, Tian H, Wei G, Zhao L, Shi Y. Macrophage-derived exosomes accelerate wound healing through their anti-inflammation effects in a diabetic rat model. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2019;47(1):3793-3803. doi:10.1080/21691401.2019.1669617.
26. Li X, Liu L, Yang J, et al. Exosome derived from human umbilical cord mesenchymal stem cell mediates mir-181c attenuating burn-induced excessive inflammation. *EBioMedicine* 2016;8:72-82. doi:10.1016/j.ebiom.2016.04.030.
27. He X, Dong Z, Cao Y, et al. MSC-derived exosome promotes M2 polarization and enhances cutaneous wound healing. *Stem Cells Int* 2019;2019:7132708. doi:10.1155/2019/7132708.

28. Shabbir A, Cox A, Rodriguez-Menocal L, Salgado M, Van Badiavas E. Mesenchymal stem cell exosomes induce proliferation and migration of normal and chronic wound fibroblasts, and enhance angiogenesis in vitro. *Stem Cells Dev* 2015;24:1635-1647. doi:10.1089/scd.2014.0316.
29. Zhang W, Bai X, Zhao B, Li Y, Zhang Y, Li Z, Wang X, Luo L, Han F, Zhang J, Han S, Cai W, Su L, Tao K, Shi J, Hu D. Cell-free therapy based on adipose tissue stem cell-derived exosomes promotes wound healing via the PI3K/Akt signaling pathway. *Exp Cell Res* 2018;370:333-342. doi:10.1016/j.yexcr.2018.06.035.
30. Ren S, Chen J, Duscher D, Liu Y, Guo G, Kang Y, Xiong H, Zhan P, Wang Y, Wang C, Machens HG, Chen Z. Microvesicles from human adipose stem cells promote wound healing by optimizing cellular functions via AKT and ERK signaling pathways. *Stem Cell Res Ther* 2019;10:47. doi:10.1186/s13287-019-1152-x.
31. Zhang Y, Pan Y, Liu Y, Li X, Tang L, Duan M, Li J, Zhang G. Exosomes derived from human umbilical cord blood mesenchymal stem cells stimulate regenerative wound healing via transforming growth factor- β receptor inhibition. *Stem Cell Res Ther* 2021;12:434. doi:10.1186/s13287-021-02517-0.
32. Zhou Y, Zhao B, Zhang X-L, Lu Y, Lu S-T, Cheng J, et al. Combined topical and systemic administration with human adipose-derived mesenchymal stem cells (hADSC) and hADSC-derived exosomes markedly promoted cutaneous wound healing and regeneration. *Stem Cell Res Ther* 2021;12:257.
33. Hu S, Li Z, Cores J, Huang K, Su T, Dinh PU, Cheng K. Needle-free injection of exosomes derived from human dermal fibroblast spheroids ameliorates skin photoaging. *ACS Nano* 2019;13(10): 11273–11282. doi:10.1021/acsnano.9b04384.
34. Kwon HH, Yang SH, Lee J, Park BC, Park KY, Jung JY, Bae Y, Park GH. Combination treatment with human adipose tissue stem cell-derived exosomes and fractional CO2 laser for acne scars: a 12-week prospective, double-blind, randomized, split-face study. *Acta Derm Venereol* 2020;100(18):adv00310. doi:10.2340/00015555-3666.
35. Pumford AD, Staricha KL, Kunkel ET, Armstrong MF, Behfar A, Van Abel KM. Exosome therapy for a nonhealing scalp wound following chemoradiation and surgical therapy. *Mayo Clin Proc* 2024;99(6):1006-1012. doi: 10.1016/j.mayocp.2024.04.011.
36. Peredo M, Shivananjappa S. Topical human mesenchymal stem cell-derived exosomes for acceleration of wound healing following tissue trauma and aesthetic procedures: a case series. *J Drugs Dermatol* 2024;23(4):281-284. doi:10.36849/JDD.C7395.
37. Proffer SL, Paradise CR, DeGrazia E, et al. Efficacy and tolerability of topical platelet exosomes for skin rejuvenation: six-week results. *Aesthet Surg J* 2022;42(10):1185-1193. doi:10.1093/asj/sjac149.
38. Park GH, Kwon HH, Seok J, et al. Efficacy of combined treatment with human adipose tissue stem cell-derived exosome-containing solution and microneedling for facial skin aging: A 12-week prospective, randomized, split-face study. *J Cosmet Dermatol* 2023;22(12):3418-3426. doi:10.1111/jocd.15872.