



# DOĞADAN İLHAM ALAN BİYOMİMETİK NANOTAŞIYICI SİSTEMLER

## NATURE-INSPIRED BIOMIMETIC NANOCARRIER SYSTEMS

Ezgi AYDIN<sup>1</sup> , Ali AYDIN<sup>1</sup> , Gizem ÇETİNER<sup>1</sup> , Gülşah EREL-AKBABA<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 35620, İzmir, Türkiye

<sup>2</sup>İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı,  
35620, İzmir, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** *Sentetik, biyolojik ve biyoteknolojik ilaç araştırmalarında sıklıkla kullanılan polimerik ve lipidik yapıdaki nanopartiküller sistemler klinik beklentileri halen istenilen düzeyde karşılayamamaktadır. Yenilikçi bir yaklaşım olarak geliştirilen doğadan ilham alan, biyomimetik nanotaşıyıcılar sahip oldukları yüksek biyouyumluluk, düşük toksisite ve doğal hedefleme yetenekleri nedeniyle gittikçe artan şekilde çalışmalara dahil edilmektedir. Bu derlemenin amacı biyomimetik nanotaşıyıcılar alanında yapılan güncel çalışmalarını ele alarak farmasötik yenilikçi taşıyıcı sistem geliştirme çabasına katkıda bulunmaktadır.*

**Sonuç ve Tartışma:** *En sık kullanılan biyomimetik sistemler arasında virüs temelli, memeli hücresi temelli ve bakteri-mantar temelli nanotaşıyıcı sistemler bulunmaktadır. Doğanın bize sunduğu bu sistemleri anlama çabası taşıyıcı sistem araştırmalarında bizi daha ileriye götürebilir. Bununla birlikte, kontrol edilebilirlik ve seri üretim gibi sentetik sistemlerin avantajları ile biyolojik sistemlerin yüksek hücre alım ve biyouyumluluk işlevlerinin birleştirilmesi ile daha başarılı nanotaşıyıcı sistemlerin geliştirilme potansiyeli olabilecektir. Böylece, biyomimetik sistemlerin protein, gen ve diğer terapötik ajanların taşınmasındaki rolü artacaktır.*

**Anahtar Kelimeler:** *Bakteri, biyomimetik, memeli hücreleri, nanopartiküller, virüs*

### ABSTRACT

**Objective:** *Nanoparticulate systems such as polymeric and lipidic nanoparticles, which are frequently used in synthetic, biological and biotechnological drug delivery, struggle to meet clinical expectations at the desired level. Nature-inspired biomimetic nanocarriers developed as an innovative approach, are increasingly included in studies due to their high biocompatibility, low toxicity, and natural targeting capabilities. The aim of this review is to contribute to the development of innovative pharmaceutical carrier system by addressing the current studies in the field of biomimetic nanocarriers.*

**Result and Discussion:** *Among the most commonly used biomimetic systems are virus-based, mammalian cell-based and bacteria-fungi-based nanocarrier systems. The effort to understand these systems that nature*

\* **Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Gülşah Erel-Akbaba  
**e-posta / e-mail:** gulsah.ere.akbaba@ikcu.edu.tr, **Tel. / Phone:** +00902323293535 - 6120

*offers us could take us further in carrier system research. Moreover, there may be potential for more successful nanocarrier systems to be developed by combining the advantages of synthetic systems such as controllability and mass production with the high cellular uptake and biocompatibility functions of biological systems. Thus, the role of biomimetic systems in the transport of proteins, genes and other therapeutic agents will increase.*

**Keywords:** *Bacteria, biomimetic, mammalian cells, nanoparticle, virus*

## GİRİŞ

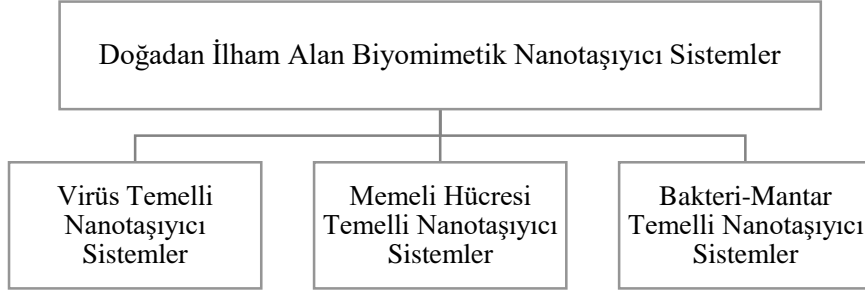
Dünyada ölümlerin yaklaşık %70'i kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, kronik akciğer hastalıkları gibi bulaşıcı olmayan hastalıklardan kaynaklanmaktadır. Geleneksel ilaç uygulamaları yaşamı tehdit eden hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Ancak, sitotoksiste, mikrobiyal direnç ve ilaç advers etkileri gibi tedaviyi sınırlayıcı durumlar gözlenmesi nedeniyle bu tür istenmeyen etkilerin üstesinden gelmek için çeşitli ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir [1].

Son yıllarda, ilaç ve gen taşıma sistemlerinin tasarımında özellikle çevresel uyaranlara yanıt verme becerisine sahip olan ve doğadan ilham alan yenilikçi sistemler güncel araştırma konuları arasına girmiştir [2]. Genel olarak nanopartiküller, 10-1000 nm arasında değişen partikül boyutuna sahip; çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe edilmiş etkin maddeyi kontrollü olarak açığa çıkaran, doğal ya da sentetik yapı polimerlerle hazırlanan katı kolloidal sistemlerdir. Bu sistemlerden bazıları polimerik nanopartiküller, lipozomlar, katı lipid nanopartiküller, nanojeller, miseller, nanokristaller, metal nanopartiküller, nanokompleksler, dendrimerler, nanokapsüller, nanofiberler ve nanotüplerdir [3-5].

Nanopartiküler ilaç dağıtım sistemlerine, amacına uygun olarak belirli bir dokuyu hedeflemek, hücre penetrasyonunu arttırmak ve spesifik bir duruma yanıt olarak ilaçları serbest bırakabilmesi sağlayan çeşitli ajanlar (polietilen glikol (PEG), etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), antikorlar, transferin, pH ya da ısıya duyarlı kopolimerler vb.) eklenebilir [4,6,7]. Örneğin, nanopartiküler sistemle hazırlanmış bir antitümöral ilacın yüzeyine yapılan PEGilasyon ile nanopartikülün boyutu 7 nm kadar büyütülerek hem renal filtrasyonu önlenip hem de immün sistem tarafından fagositozu bloke edilebilmiştir. Yine başka bir yüzey modifikasyonu olarak spesifik ligand konjugasyonu ile tümör hücrelerinde aşırı eksprese edilen hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanabilecek ligandlarla tümör hücresi doğrudan hedeflendirilebilmektedir [8,9].

Son zamanlarda, nanoteknolojik yaklaşımlar ile biyomimetik kavramını kombine eden doğadan ilham alan taşıyıcı sistem geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır. Biyomimikri, doğadaki modelleri inceleyen ve bu tasarımları kullanarak, taklit ederek veya bunlardan ilham alarak var olan sorunlara yenilikçi çözümler sunan yaklaşım biçimidir. Bu kapsamda doğadan ilham alan nanopartiküller işlevsellik, biyoyumluluk, düşük toksisite, çeşitlilik, tolere edilebilirlik gibi birçok avantaja sahiptirler. Bu derleme yazısı, doğadan ilham alan biyomimetik taşıyıcı sistemlerin tasarımındaki son gelişmelere odaklanmaktadır. Bu kapsamda sıklıkla araştırmalara konu olan biyomimik sistemlerden; virüs temelli,

memeli hücresi temelli ve bakteri-mantar temelli nanotaşıyıcı sistemlere genel bir bakış sağlanarak her bir yaklaşımın çeşitli uygulamaları ve sınırlamaları vurgulanmaktadır (Şekil 1)



**Şekil 1.** Doğadan ilham alan biyomimetik nanotaşıyıcı sistemlerin sınıflandırılması

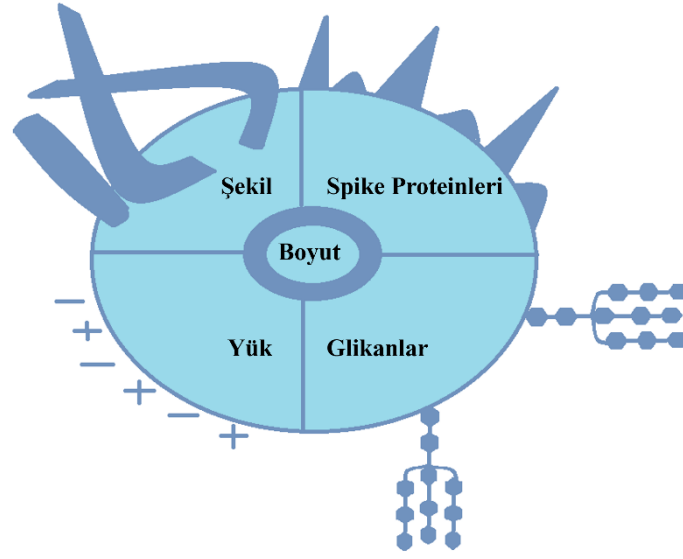
### Virüs Temelli Nanotaşıyıcı Sistemler

Virüsler sıkıca düzenlemiş hücreyel yüzey reseptörleri sayesinde bağışıklık sisteminden kaçarken aynı zamanda hedef hücreleri yüksek özgüllükte enfekte etme özelliğine sahiptirler [10]. Ayrıca, doğal olarak bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını engelleme ve genlerini bir konakçıya kopyalamak amacıyla hücrelere girme yeteneklerinden dolayı ilaç taşıyıcı sistemler için ilham verici olmuşlardır [11].

Virüslerin ligand görevi gören kapsid proteinlerindeki peptid motifleri ile virüs için reseptör görevi gören hedef hücrenin yüzey proteinleri arasındaki çapraz moleküler spesifik etkileşimler, virüsün hücreyi kolayca enfekte etmesini sağlar. Virüslerin tekrarlayan ve düzenli mimarisine dayanan ligand-reseptör bağlanmasının çok değerlikli olması, yüksek derecede doku ve hücre penetrasyonu sağlamaktadır [12]. Tüm bu özelliklerinden dolayı birçok nanopartikül sistem, virüslerden ilham alan yüzey modifikasyonlarıyla geliştirilmiştir (Şekil 2) [10,11].

Virüslerin yüzeyi, kendilerini çevreleyen ortamla etkileşimlerini ve merkezi sinir sistemi gibi spesifik bölmelere dağılımlarını belirlediğinden enfeksiyon süreci için çok önemlidir. Viral yüzey özelliklerinin taklit edilmesi, daha hızlı ve daha büyük nanopartikül-hücre etkileşimlerine yol açabilir ve hatta bariyere penetrasyon yeteneği kazandırabilir. Bu nedenle, sentetik nanopartiküller üzerinde viral özellikler elde etmeye çalışırken bir virüsün yapısal kopyası ilk adım olarak düşünülmelidir. Yapılan çalışmalarda nanopartiküllerin yüzeyine spike proteinleri eklendikten sonra hedefleme ve hücre penetrasyonunda artış olduğu görülmüştür [10].

Virüsler, virion proteinleri ve lipitleri, membran proteinleri ve hücre yüzeyindeki karbonhidrat parçaları sayesinde konak hücrelere verimli bir şekilde bağlanabilirler. Bu bağlanmadan sonra konak hücrelere, endositoz/pinositoz veya füzyon/penetrasyon yoluyla virüs girişi olur. Ayrıca, virüsler konak bağışıklık sisteminden kaçmak için çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Virüslerin bu benzersiz yeteneklerinden yararlanılarak biyomimetik nanopartiküller geliştirilmiştir (Tablo 1) [13].



**Şekil 2.** Nanopartikül tasarımını etkileyen yapısal viral özellikler.

**Tablo 1.** Viral biyomimetik sistemlerin terapötik uygulamaları

Virüs Mimetik Nanopartiküller	Tanım	Avantajları	Dezavantajları	Uygulamaları
<b>Virüs benzeri partiküller</b>	Virüs türevli proteinlere sahip fosfolipid çift katmanlarından oluşan küresel veziküller.	Farklı ilaçları paketlenme kapasitesi, farklı işlevler kazandırılabilme yeteneği	Tromboz oluşturma riski	Aşı, gen/ilaç taşıyıcı sistem
<b>Virozomlar</b>	Virüs kapsid ve zarf proteinlerinin lipozom kombinasyonu	Üretim ve modifikasyon kolaylığı, biyobozunurluk, biyouyumluluk, endolizozomları teşvik etme	Yüksek immünojenite	Aşı, ilaç taşıyıcı sistem
<b>Kendiliğinden oluşan nanopartiküller</b>	Doğal proteinlerin viral glikoproteinler ve antijenlerle kendiliğinden birleşmesi	Stabilite, immünojeniklik, adjuvanite, biyouyumluluk		Aşı

### Virüs Benzeri Partiküller (VLP'ler)

VLP'ler, virüs proteinlerinin nükleik asit genomu veya lipid zarfı olmadan kendi kendine birleşmesiyle oluşan 30-90 nm'lik yapılardır. VLP'ler, büyük ölçüde protein bazlı yapılarının bir sonucu olarak, diğer sentetik nanopartikül sistemlerine göre kontrol ve moleküler seviye hassasiyetinde çok sayıda avantaj sunar [14]. VLP'ler humoral bağışıklık sistemine güçlü antijen sunarak bağışıklık yanıtı oluştururlar. VLP'lerin yüzeyleri, antikor üretimini indüklemek için ideal, tekrarlayan bir yapıya sahiptir [14,15].

VLP'ler, bir rekombinant alt birim aşılardan sınıftır. VLP'ler doğal virüslere benzer, ancak bulaşıcı genetik materyalden yoksundur. VLP'ler, güçlü immünojenisite ve güvenlik nedeniyle umut verici aşılar. Prokaryotik veya ökaryotik ekspresyon sistemlerinde veya *in vitro* olarak üretilir. Birçok hastalığı hedefleyen VLP tabanlı aşı adayları klinik geliştirme aşamasındadır [16].

Piyasada bulunan rekombinant aşılar, GlaxoSmithKline tarafından üretilen Engerix® (hepatit B virüsü [HBV]) ve Cervarix® (insan papilloma virüsü [HPV]) yanında Merck and Co., Inc. Tarafından üretilen Recombivax HB ® (HBV) ve Gardasil ® (HPV), yüksek oranda saflaştırılmış VLP'lere dayanmaktadır [16].

2009–2010 yıllarında yaşanan H1N1 influenza pandemisinde, pandeminin başlangıcından sonra aşı sağlamak için influenza virüsü genetik dizilerinden hızla VLP'ler geliştirilebilmiştir. Bir veya iki doz rekombinant A (H1N1) influenza VLP aşısının güvenliliği ve immünojenisitesi, Meksika'da yürütülen iki aşamalı, Faz 2, randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada değerlendirilmiş ve ciddi yan etkileri olmadığı, iyi tolere edilebilen güvenli bir aşı olduğu anlaşılmıştır. VLP aşı grupları, tek bir aşılama sonrası plaseboya kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek güçlü bağışıklık tepkileri göstermiştir [17].

Son yıllarda yaşanmakta olan COVID-19 pandemisinin eradikasyonu amacıyla da VLP aşıları umut vadetmektedir. Ülkemizde İhsan ve Mayda Gürsel tarafından geliştirilen ve SARS-CoV-2 antijenleri taşıyacak şekilde tasarlanmış VLP temelli aşı hayvan çalışmalarında etkili bağışıklık yanıtı yol açmıştır ve klinik çalışmaları devam etmektedir [18].

### **Virozomlar**

Virozomlar hedef hücreler ile etkileşimlerinden sorumlu olan viral zarf proteinlerinin lipozomlar ile kombinasyonu ile oluşturulan nanoboyutlu komplekslerdir [19]. Viral proteinleri sayesinde immün sistem hücreleri içerisinde uzun süre kalabilirler. Böylece virozomlar aktif taşıyıcı sistemler olarak kullanılabilir [20]. Virozomlar çoğalmaz. Yüzeylerindeki glikoproteinler, virozoma yapısal stabilite ve homojenlik kazandırır. Aynı zamanda hedeflemeye ve reseptör aracılı endositoza yardımcı olur [21].

Zarla çevrili virüslerin, hücre yüzeylerine bağlanması ve kaynaşması, viral zarf üzerindeki spike glikoproteinleri ile gerçekleştirilir. 1975'de Almeida ve arkadaşları influenza virüsünden türetilen viral spike proteinleri içeren lipozomları geliştirmişlerdir. İnfluenza virüsünden saflaştırılmış önceden oluşturulmuş hemagglutinin (HA), nöraminidaz (NA) ve lipozomlar kullanarak, vezikül yüzeyinden çıkıntı yapan spike proteinlere sahip zar vezikülleri oluşturmayı başarmışlardır [22–24].

Virozomlar, zarlarında viral füzyon proteinleri taşıyan veziküllerdir. İnfluenza virozomları için bu, influenza HA'nın virozomal membrana sabitlendiği anlamına gelir. Kapsüllenmiş materyalin etkili

sitozolik iletimi için, virozomlar, türetildikleri doğal virüsle aynı ölçüde bağlanabilecekleri ve kaynaşabilecekleri uygun şekilde yeniden oluşturulmalıdır [23].

Yapılan bir çalışmada, mukozal bağışıklık tepkisini indüklemek ve COVID-2019 aşısının etkinliğini artırmak için nazal uygulanan solunabilir bir biyoteknolojik virüs nanoaşısı tasarlanmıştır. Solunabilir virozomu taklit eden nanoaşı, nükleik asit, kapsid ve spike proteini dahil olmak üzere SARS-CoV-2'ye benzer bir yapıya sahiptir ve nazal yolla uygulanır. Elde edilen ön sonuçlara göre, geleneksel enjektelerde edilebilir aşıların aksine, solunabilir nanoaşı, solunum mukozal bağışıklığını daha iyi teşvik edebilmiş ve solunum salgılarında virüsü etkili bir şekilde nötralize eden ve virüsün solunum yoluyla vücuda girmesini önleyen yüksek titreli immünoglobulin A salgılayabilmiştir [25].

Virozomların ilaç ve gen iletiminde de uygulamaları, klinik ve prelinik çalışmaları bulunmaktadır. Doksorubisin (kanser tedavisi), HIV proteinleri (AIDS tedavisi), metotreksat (kolon, göğüs, akciğer kanseri) yüklü virozom bazlı çalışmalar literatürde bulunmaktadır [24,26].

**Tablo 2.** Piyasadaki VLP ve Virozom Bazlı Ürünler [17,24,27]

Ticari adı	Aşının türü	Etkili olduğu hastalık	Taşıyıcı sistem
<b>Gardasil®</b>	Rekombinant HPV	Servikal ve vajinal kanser gibi HPV ile ilişkili hastalık	VLP
<b>Cervarix®</b>	Rekombinant HPV	HPV ile ilişkili hastalık	VLP
<b>Engerix®</b>	Rekombinant HBV	HBV enfeksiyonlarına karşı	VLP
<b>Recombivax HB®</b>	Rekombinant HBV	HBV enfeksiyonlarına karşı	VLP
<b>Epaxal™ (Crucell)</b>	Hepatit A aşısı	Hepatit a enfeksiyonlarına karşı	Virozom
<b>Inflexal® V</b>	Grip aşısı	Grip enfeksiyonlarına karşı	Virozom

### Kendiliğinden Oluşan Viral Nanopartiküller

'Kendi kendine montaj' terimi, kovalent olmayan etkileşimler tarafından yönlendirilen, tek tek moleküllerin bir supramoleküler düzenekte kendiliğinden düzenlenmesini ifade eder [28]. Kendiliğinden oluşan nanopartiküller, nanopartikül oluşturma yeteneğine sahip viral glikoproteinlerin kullanılmasıyla elde edilebilir [13].

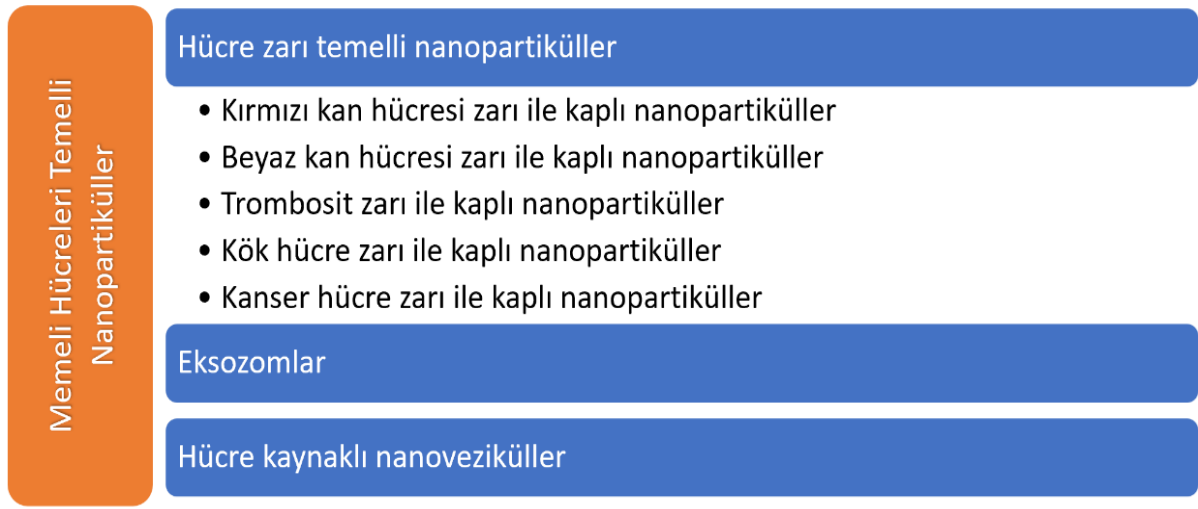
Peptitler ve proteinler, pH, sıcaklık, iyonik kuvvet gibi değişen çevresel koşullara ve ayrıca konakçı ve moleküler etkileşimlere yanıt olarak çeşitli boyut ve şekillerde nanoyapılarda kendi kendine birleşebilir. Kendi kendine birleşen bu nanopartiküller iyi biyoyoumluluk gösterirler ve hem hidrofobik hem de hidrofilik ilaçlar için yüksek yükleme kapasitesine sahiptirler. Kendi kendine bir araya getirilen nanomalzemeler, spesifik olarak tümör hücrelerini hedeflemek için fonksiyonel kısımlarla modifiye edilebilir. Böylece kanser tedavisinde yüksek potansiyele sahip olabilirler [29].

VLP bazlı aşılar yüksek üretim maliyeti ve istenmeyen immünojenisite özelliklerinden dolayı aşı etkinliğini sınırlarken, kendiliğinden birleşen nanopartiküller ise tipik olarak biyoyoumluluk ve biyolojik olarak parçalanabilirlik avantajı sunarlar [29].

Hücre yüzeyi ile ilişkili viral glikoproteinlerin, hücrel sitotoksinite ve antiviral immün gözetiminde hedef antijenler olarak önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir [30]. Kanekiyo ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada Epstein-Barr virüsü (EBV)'ne karşı immünite oluşumdan sorumlu olan EBV glikoprotein 350/220'nin farklı domainlerini içeren bir kendiliğinden oluşan nanopartikül bazlı aşı tasarımı yapılmıştır. İlgili glikoproteinin CR2-bağlanma bölgesini içeren nanopartiküllerle uygulanması sonucu farelerde ve insan olmayan primatlarda güçlü nötralize edici antikor cevabı elde edilmiştir [31].

### Memeli Hücreleri Temelli Nanopartiküller

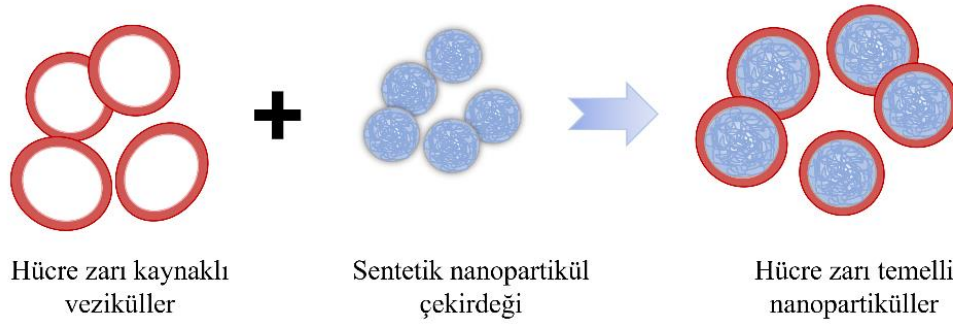
Memeli hücreleri temelli nanopartiküller genel olarak hücre zarı temelli nanopartiküller, eksozomlar ve hücre kaynaklı nanoveziküller olarak üç bölüme ayrılabilirler (Şekil 3).



Şekil 3. Memeli hücreleri temelli nanopartiküllerin sınıflandırılması

### Hücre Zarı Temelli Nanopartiküller

Hücre zarı temelli nanopartiküllerin; ilaç taşınmasında kullanılması, detoksifikasyon ve bağışıklık modülasyonu olmak üzere üç temel uygulama üzerinde çalışmaları mevcuttur [32]. Nanopartiküllerin hücre zarıyla kaplanması sonucunda, nanopartiküller hücre zarının doğal fizikokimyasal özelliklerini ve zara bağlı proteinler, antijenler ve immünolojik parçaların varlığından dolayı da hücre zarının biyolojik işlevlerini kazanırlar [33]. Hücre zarı ile kaplanmış nanopartiküllerin immünosupresif ve hastalık hedefleme yetenekleri yanında uzun dolaşım süreleri gelecek için umut vaat etmektedir. Hücre zarı kaplı nanopartiküller; kırmızı kan hücresi zarı, beyaz kan hücresi zarı, trombosit zarı, kök hücre zarı ve kanser hücre zarı gibi kaynak hücrelerin türüne göre sınıflandırılmaktadırlar [34,35]. Kaynak hücreler ve nanoparçacık çekirdekleri birleştirilebilir ve çok sayıda terapötik uygulama için hücre zarı kaplı nanopartiküller elde edilebilir (Şekil 4) [36]



Şekil 4. Hücre zarı kaplı nanopartiküllerin temel bileşenlerinin temsili gösterimi

### Kırmızı Kan Hücresi Zarı İle Kaplı Nanopartiküller (KKHNP)

İlaç taşınması çalışmalarında 30 yılı aşkın süredir araştırılmakta olan kırmızı kan hücreleri (KKH) mikrolitre başına 5 milyon olmak üzere toplamda insan vücudundaki sayısı 30 trilyona ulaşan hücresel bileşenlerdir [37,38]. KKH'leri oksijenin hemoglobin yoluyla tüm vücuda taşınmasında görev alırlar. Yapıları esnek, disk şeklinde ve liflidir. KKH'leri insan vücudunda 120 güne kadar yaşarlar. Olgun kırmızı kan hücrelerinin çekirdeği ve organelleri olmadığı için KKH membranlarının ekstraksiyonu ve saflaştırılması diğer hücrelere göre daha uygundur [33,39]. Aynı zamanda kanda bol miktarda bulduklarından izole edilmeleri kolaydır [36].

KKH'ler, sınırlı immün hücre klirensi olan organlardan ve kardiyovasküler sistemden serbestçe geçebilirler [33,40]. Uzun dolaşım yarı ömrüne sahip, biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir olmalarından dolayı ilaç dağıtım sistemlerinde yaygın şekilde kullanılmaktadırlar [41]. KKH'lerin uzun süreli dolaşımında kalmasındaki faktör, transmembran proteini olan CD47'nin makrofajların fagositozundan korunmak için inhibitör reseptör SIRP $\alpha$  ile etkileşime girmesidir [42]. Barclay ve arkadaşları 2014 yılında yaptıkları çalışmayla, kırmızı kan hücrelerinin zarındaki CD47'nin makrofajlarda bulunan sinyal düzenleyici protein olan SIRP $\alpha$  ile etkileşime girerek "beni yeme" sinyali ürettiğini ortaya çıkarmışlardır. KKHNP'ler retiküloendotelial sistemden kaçma özelliği gösterirler [43]. KKH membranlarındaki C8 bağlayıcı protein, homolog kısıtlama proteini, bozunma hızlandırıcı faktör, membran kofaktör proteini ve tamamlayıcı reseptör 1 gibi diğer yüzey membran proteinleri de kompleman sistemin elemanlarının yapışmasını inhibe eder [43].

KKH'leri çevreleyen ortamın ozmotik basıncın azalmasıyla, KKH'ler şişerek küresel hale geçerler [44]. Bu şişme özelliği, eritrositlerin ilaç ve diğer kimyasallarla yüklenmesinin fizibilitesini oluşturur. İlaç taşınmasında KKH'lerin kullanılmasının avantajları arasında uzun süreli dolaşımında kalarak ve bağışıklık sisteminden kaçabilmeleri, yapılarında bulunan fazla miktarda hücre zarı sayesinde yüksek yük kapasitesine kolayca ulaşabilmeleri, biyolojik olarak parçalanabilir olmaları ve oluşturdukları nanopartiküler sistemlerin stabiliteğini arttırmaları sayılabilir [43].



Günümüzde aktif hedefleme etkinliğine sahip ilaç dağıtım sistemlerinin birçoğu spesifik hedefleme ligandlarının sistemin dış yüzeyine kimyasal yollarla modifikasyonu sonucu oluşturulmaktadır. Kimyasal yollarla yapılan sentez kırmızı kan hücresinin membran bütünlüğünü bozabilir ve yüzey proteinlerinin biyolojik dağılımlarını etkileyebilir. Bu nedenle kimyasal yollarla yapılan modifikasyonlar KKHNP'ler için uygun değildir. Bu dezavantajların üstesinden gelebilmek adına hücre zarlarının işlevselleştirilmesi için yenilikçi bir lipid ekleme teknolojisi geliştirilmiştir [45].

KKHNP'lerin klinikte kullanılmasını kısıtlayan nedenlerden biri zayıf hedefleme özelliğidir [46]. KKHNP'lerin tümörlerde birikme olasılığını arttırdığı kanıtlanmış olsa da bu etki sadece vaskülerize tümörle sınırlıdır [47]. KKHNP'lerin hazırlanmasındaki bir diğer zorluk ise kalite kontrolüdür. KKH membranlarının pirojen ve virüsler tarafından kirletilmemesi ve endojen antijenlere karşı potansiyel bağışıklık tepkilerini engellemek için denatüre proteinli KKHNP'ler elimine edilmelidir [33]. İlaç dağıtımını için etkili taşıyıcılar olmasının yanında KKHNP'ler son zamanlarda zararlı antikor ve toksinlerin temizlenmesinde de kullanılmaktadır [11].

Chai ve arkadaşları kırmızı kan hücresi zarıyla kaplı nanopartiküller ile beyin hedefli ilaç dağıtım sistemleri üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. Kondoksininden türetilmiş CDX peptidi beyin endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan nikotinik asetilkolin reseptörlerine karşı yüksek bağlanma afinitesi gösterir ve kan beyin bariyerini geçebilmektedir. Bu çalışmada CDX peptidi bir lipid yerleştirme yöntemi ile KKHNP yüzeyine eklenmiştir. Elde edilen CDX-KKHNP hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak umut verici sonuçlar gözlemlenmiştir. Aynı zamanda glioma fare modeli üzerindeki çalışmalarda, doksorubisin yüklü CDX-KKHNP'lerin hedeflenmemiş ilaç formülasyonlarına göre daha üstün terapötik etkinlik ve daha az toksisiteye sahip oldukları da gözlemlenmiştir [48].

### **Beyaz Kan Hücresi Zarı İle Kaplı Nanopartiküller (BKHNP)**

Beyaz kan hücrelerinin yaygın olarak bilinen bir diğer adı lökositlerdir. Lökositlerin çapı 7–20 µm arasındadır. Lökositlerin çoğu amipsi hareket yapar ve böylelikle kan damarlarına ve kan damarlarından da ekstravasküler dokulara kolayca göç edebilirler [34]. Beyaz kan hücrelerinin, monosit-makrofaj, eozinofil, bazofil, nötrofil ve lenfosit olmak üzere alt türleri vardır. Lökositler vücuttaki hasarı iyileştirmede, patojenlerin istilasını önlemede ve bağışıklık için önemlidir [49]. Lökositler iltihap durumlarında inflamasyonu tanıyabilir ve hastalıklı bölgede bilinçli bir şekilde birikebilir [50]. Lökositler kan dolaşımı ile enflamasyonlu bölgelere alınabilirler. Enflamasyonlu dokuya kolayca alınabilmesinin sebebi doku içinde aşırı eksprese olan kemokinlerden dolayıdır. Lökosit zarı, lökositlerin işlevlerini koruyan çeşitli protein ve antijenleri içermektedir. Örnek olarak zar proteinleri, hücreler arası iletişim ve sinyal iletimi gibi hücresel süreçlerde rol almaktadır [49,51]. Bu nedenle lökosit zarı biyomimetik nanosistem oluşturmak için oldukça uygundur. Makrofajlar ile kaplı nanopartiküller makrofaj zarında bulunan fonksiyonel proteinler vasıtasıyla tümör hücrelerinde vasküler

engelleri geçebilme ve moleküler olarak tanıyabilme özelliklerine sahip olabilirler. Aynı zamanda makrofajların içine kapsüllenmiş ilaçların, renal eliminasyonunu azaltır, karaciğer metabolizmasını sınırlandırır ve immün bağışıklığa karşı korurlar. Makrofajlar kandaki uzun dolaşım sürelerine ek olarak ilaçların gecikmiş salınımını da sağlamaktadır [52]. Diğer bir lökosit hücresi olan T lenfositler, tümör tanıma ve baskılamada önemlidirler. Son yıllarda, lökositlerin kanser tedavisi için ilaç ve nanopartikülleri hedeflenmesi zor bölgelere taşımada etkili olduğunu göstermiştir. Sentetik nanopartiküller, tümörlere ve kan sirkülasyonundaki tümöral kaynaklı hücelere terapötik ilacı verimli bir şekilde iletmek için lökosit yüzey proteinleri ile kaplanabilirler. “Truva atı” olarak adlandırılan bu yaklaşım ile doksorubisin enkapsüle liposomal taşıyıcı sistemlerin dış yüzeyleri beyaz kan hücreleri ile kaplandığında *in vivo* tümör büyümesini diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede azalttığı ortaya konmuştur [53].

Lökosit membranı kaplı formülasyonlar ilaç iletimi için uygulanabilir bir yol olsa da dikkat edilmesi gereken sınırlamaları vardır. *İn vitro* kültür, saflaştırma ve sterilizasyon işlemleri sırasında oluşan lökositlerin epigenetik değişiklikleri üretim lotları arasında tekrarlanabilirliğin düşük olmasına sebep olur [54]. Aynı zamanda lökositlerin canlılık ve fonksiyonları, köken alındıkları kaynağın cinsiyet, yaş, sağlık durumu, etnik köken gibi durumlara bağlı olarak değişebilir [55].

### **Trombosit zarı ile kaplı nanopartiküller (TNP)**

Trombositler kemik iliğindeki olgun megakaryositlerden üretilen kanda dolaşan en küçük kan hücreleridir [56]. Mikrolitre başına yaklaşık 150.000-350.000 trombosit vardır. İnsan vücudunun kan dolaşımında ortalama trombositlerin 7-11 gün ömürleri vardır [57]. Trombositler çok çeşitli membran antijenlerine ve fonksiyonel proteinlere sahiptir. Trombositler bir tıkaç oluşturarak yaralı kan damarlarını kapatma özelliklerinin yanında enfeksiyon, ateroskleroz ve kansere kadar çeşitli hastalıkların neden olduğu vasküler hasarın tedavisini hedeflemede kullanılabilir [21,58]. Genel olarak trombositler vasküler yaralanma, yara iyileşmesinde, enflamatuar reaksiyon ve tromboz sonrası hemostaz sürecinde önemli bir rol oynarlar. Son çalışmalar, trombositlerin bu hemostatik davranışlarının farklı yollarla tümörün büyümesini, invazyonunu ve metastazını desteklediği bulunmuştur. Karsinogenez sırasında sızdıran kan damarları veya enflamatuar reaksiyonlar, trombositlerin heterotipik yapışmasını uyurarak tümör trombüsü oluşturur. Oluşan trombüsler bağışıklık sistemi tarafından tanınmaz ve doğal öldürücü hücreler tarafından saldırıya karşı korunurlar. Ayrıca, tümör trombüsü integrinler, p-selektin ve PECAM-1 dahil olmak üzere trombositlerin yüzey proteinleri yoluyla vasküler endotele yapışabilir. Bu mekanizmaların işleyiş mantığı üzerinde çalışılarak TNP'ler farklı yöntemlerle üretilmişlerdir. Trombosit zarı, CD47 (makrofajlardan kaçmasını sağlayan) ve p-selektin (CD44 gibi adhezyon moleküllerine bağlanarak dolaşımdaki tümör hücelere yüksek afiniteyle bağlanmasını sağlayan) bakımından zengindir [36,59].

TNP'ler düşük maliyet, yüksek biyouyumluluk, azaltılmış immünojenite ve dolaşımdaki tümör hücrelerini hedefleme yeteneği ile biyomimetik ilaç dağıtım sistemleri için en iyi adaylardan biridir. TNP'lerin multipl myelom ve trombüs tedavisinde, aterosklerozun hedeflendirilmesi ve tespitinde, kanser tedavisinde kullanımlarına dair çalışmalar mevcuttur [33].

### **Kök Hücre Zarı İle Kaplı Nanopartiküller**

Kök hücreler, diğer hücre türlerine farklılaşabilen ve aynı türden daha fazla kök hücre üretmek için kendi kendine replikasyon yeteneğine sahip multipotent progenitör hücrelerdendir [32]. Kök hücrelerin kendileri rejeneratif tıpta ve tümörü hedefleyen ilaç verilmesinde kullanılmaktadır [33]. Kök hücrelerden ilaç vektörü olarak üzerine en çok çalışılan grup mezenkimal kök hücrelerdir (MKH). MKH'ler kanda uzun bir süre dolaşabilirler, bağışıklık sisteminden kaçabilirler ve tümör hücrelerini hedefleyebilen ligandlar içerir [60,61]. MKH'ler kemik iliğinden, plasenta ve göbek kordonundan elde edilebilirler [32]. Birçok moleküler tanıma bölgesi içerdikleri için farklı tümör gruplarına ve gelişim aşamalarına bağlanabilirler [62]. Genel olarak tümörlü hücrelerden salınan spesifik sinyal molekülleri mezenkimal kök hücrelerin yüzeyinde bulunan ve tümör hücresine karşılık gelen yüzey proteinleriyle bağlanırlar ve bağlanmış bu yapı MKH'lerin homing davranışını devam ettirirler. Kanser kapsamında mezenkimal kök hücre membranları, istenmeyen etkileri en aza indirmeye çalışan kemoterapötik ajanlar için ideal birer taşıyıcılardır [32]. MKH membranı ile çevrili nanopartiküllerin membransız nanopartiküllere oranla ilaç salınım süresini uzatmaya yardımcı olur [33]. Ancak, stabilite sorunları, biyolojik kontaminasyon riski ve biyogüvenlik endişeleri bu sistemlerin pratikteki kullanımını sınırlandırmaktadır [62].

### **Kanser Hücre Zarı İle Kaplı Nanopartiküller (KHZNP)**

Kanser hücreleri, sonsuz büyüme potansiyeli, immün kaçış, hücre ölümüne direnç, homolog hedefleme yeteneği, dolaşımda uzun süre kalma gibi çeşitli özelliklere sahiptir. Bu özellikleri kanser hücre zarlarının, antikanser tedavi sistemlerinde bir kaplama malzemesi olarak kullanılmasını sağlar [33]. Hastaların otolog plazmasından ya da bir donörden elde edilmesine gerek duyulmaksızın *in vitro* hücre kültüründen elde edilebilirler [63]. KHZ çapa proteinleri ve hücreleri birbirine bağlamada görev alan çeşitli adhezyon glikoproteinlerini içerir. Bu proteinler; Epcam, N-cadherin, Karsinoembriyjenik antijen ve Galectin-3'tür [36]. Proteinler homotipik bağlanmaya aracılık eder ve membran üzerinde benzer proteinleri eksprese eden benzer hücreler tarafından endositozlanırlar. Böylelikle nanopartikül çekirdeklerinin üzerini kaplayabilirler.

Kanser hücrelerinin doğası gereği immün kaçış ve homolog yapışma özelliklerinden esinlenerek çeşitli KHZNP'ler tümörün hedeflenmesi ve tedavi için tasarlanmıştır ve kanser immünoterapisi için yeni bir araştırma alanıdır. Kanser hücre zarı ile kaplı nanopartiküller, hastanın kendi kanserli hücrelerinin toplanıp hazırlanmasından oluştuğu için bireysel tedaviye olanak sağlamaktadır. Aynı zamanda KHZNP'ler immünoadjuvanları da yükleme yeteneğine sahiptir. Böylelikle

immünoadjuvanlarla birlikte tümörle ilişkili antijenlerin ko-lokalizasyonu ve sinerjisi yoluyla kanser aşısının etkinliği daha da artmaktadır [64].

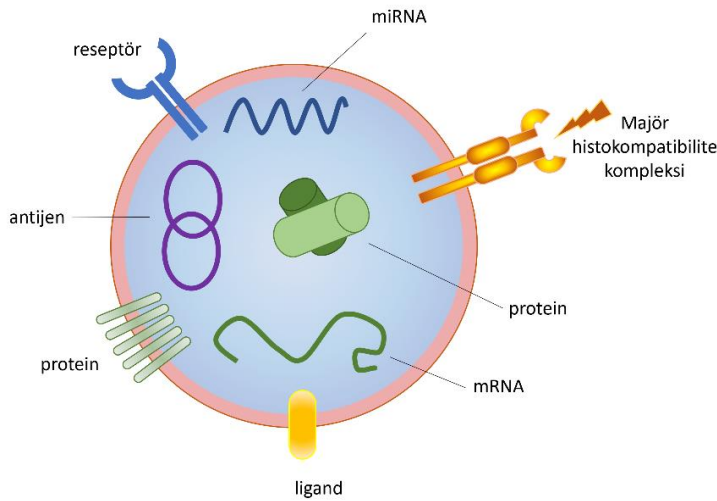
KHZNP'lerin çalışmaları hala laboratuvar aşamalarındadır. KHZNP'ler hazırlanırken kanserojen riskini ortadan kaldırmak için kanser hücrelerinin nükleer ve genetik materyalleri çıkarılmalıdır [32].

### Eksozomlar

Eksozomlar, birçok hücreden normal ve patolojik durumlarda salgılanan, endozomal kökenli, boyutları genellikle 40-150 nm aralığında değişen hücre dışı veziküllerdir [65]. Tüm hücre tipleri tarafından salgılanır. Biyoaktif molekülleri, çeşitli proteinleri ve kodlanan ve kodlamayan RNA'ları paketleyen doğal taşıyıcılar olarak hücreler ve dokular arasında bilgi aktarırlar. Son on yılda, eksozomlar, immün terapi, rejeneratif tıp ve ilaç dağıtımında yeni terapötik efektörler olarak ortaya çıkmıştır [66]. Eksozomların yüzeyleri integrinler, füzyon proteinleri, adezyon molekülleri olmak üzere farklı proteinlerle karakterize edilebilmektedir (Şekil 5) [67].

Nanotaşıyıcı olarak eksozomlar; lipit, protein, mitokondriyal ve genomik DNA'yı taşımada doğal yetenekleri olduğu için birçok yapay nanoveziküllere göre daha avantajlıdır. Bu durum eksozomların ilaç taşıyıcısı olarak kullanılabilmesi için umut vaat etmektedir [68]. Eksozomlar, uzun mesafeli hücreler arası iletişimde önemlidirler ve yüklerini farklı hücrelere taşıyarak alıcı hücrenin fenotipini değiştirebildiği gözlemlenmiştir. İstenilen işleve özgü yüzey proteinlerinin eksozomlara dahil edilmesiyle birlikte belirlenen hedefler için tasarlanabilirler.

Eksozomların izolasyonu farklı teknikler kullanılarak yapılmaktadır. En yaygın kullanılan yöntemler santrifüjleme, immünoafinite kromatografisi ve mikroakışkan teknolojilerdir. Eksozomların kullanılmasında bazı sınırlamalar vardır. Bunlar eksozomları yeterli ve hızlı bir şekilde üretmek, izolasyonu ve saflaştırılması için standartlaştırılmış yöntemlerin mevcut olmaması şeklinde sayılabilir [11,69].



Şekil 5. Eksozom bileşenlerinin şematik gösterimi

Sun ve arkadaşları, antiinflamatuvar amaçla kullanılmak üzere kurkumin yüklü eksozomların kullanıldığını bildirmiştir. Kurkumin, zerdeçalın rizomlarında bulunan doğal polifenoldür ve antiinflamatuvar, antioksidan, antineoplastik özelliklere sahiptir. Bu çalışmada bir dağıtım aracı olarak eksozomlar ile taşınan kurkuminlerin daha stabil ve kanda daha yüksek konsantrasyonda olduğu saptanmıştır. Böylelikle hedef özgülüğünü eksozomlar belirledikten sonra kurkuminin aktivitesi artırılmış, terapötik ancak toksik olmayan etkiyle iltihaplı olan hücelere yönlendirilmesi sağlanmıştır [70].

### **Hücre Kaynaklı Nanoveziküller**

Hücre kaynaklı nanoveziküller temelde hücrelerin çeşitli fiziksel işlemlere maruz kalmasıyla elde edilen nano boyutlardaki veziküllerdir [21]. Üretimi için uygulanan yapay yöntemdeki amaç hücrelerin hidrofilik mikrokanallardan zorlanmasıdır. Bu yöntemle elde edilen hücre kaynaklı nanoveziküller, hücrelerden salgılanan eksozomlara yapıca benzerlik gösterir ve plazma membran proteini, hücre içi proteinleri ve mRNA içerirler [71]. Nanoveziküller hücrelerin hedeflendirilmesinde doğal bir yeteneğe sahiptir. Kemoterapötik ilaçları ilgili dokuya ileterek kötü huylu tümörlerin tedavisinde kullanılabilmesine dair çalışmalar mevcuttur [72].

### **Bakteri Ve Mantarlardan Elde Edilen Nanotaşıyıcı Sistemler**

Bakteriler nükleusu veya zarla çevrili organelleri olmayan basit tek hücreli organizmalardır. Bu yaklaşımda bakteriyel ajanlar güvenli hale getirilerek hastalıkların tedavisi için kullanılırlar. *Salmonella spp.* ve *Escherichia coli* gibi fakültatif anaerobların belirli dokuları ve organları aktif olarak hedeflediği bilinmektedir. Belirli proteinleri eksprese eden anaerobik bakterilerin genetiği değiştirilmiş versiyonları terapötik taşıyıcı sistemler olarak kullanıldığında memeli hücrelerinin ilaç alımını arttırabilirler. Bununla birlikte, canlı tasarlanmış bakterilerin terapötik uygulamalarda kullanılmasında tehlikeler ve zorluklar da görülebilir. Canlı bakteri temelli nano-parçacıkları istenmeyen şekilde enfeksiyonlara neden olabileceği gibi, aynı zamanda antibiyotik direnç genlerini vücutta bulunan diğer bakterilere de aktarılabilirler [2].

Bakteriyel toksin, bakteri hayaleti gibi mikroorganizmaların ya da mantarların, ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımında oldukça umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, *C. novyi NT* bakterisi, tümöre nüfuz etme ve tümörün büyümesini engelleme yeteneği göstermektedir. Bu özelliğine bağlı olarak mikroorganizmanın bütünü yanında sadece belli kısımlarının kullanımı immüno-uyarıcı etki göstermektedir [1].

### **Baktorefeksiyon**

Çıplak veya saflaştırılmış nükleik asitlerin ökaryotik hücelere transferi amacıyla bakterilerin kullanımına baktorefeksiyon denir. Bu yöntemde bakteriyel plazmid, memeli hücreleri tarafından absorbe edilir ve hücrenin genetik materyaline aktarılan ilgili gen ile birleşir [1].

Baktoksezyon, memeli ekspresyon sisteminin kullanılmasını sağlar ve bu nedenle, aynı proteinin bakteriyel hücre kullanılarak ekspresyonuna kıyasla daha güçlü, daha stabil bir ekspresyonla sonuçlanabilir. Bununla birlikte vektörün, hedef dışına sapma olasılığını azaltmak, transfeksiyon ile hedef dokunun transfer verimini ve homojen transfeksiyonu arttırmak amaçlanır. Gen taşınımını sağlayan sistemlerin diğer vektörleriyle karşılaştırıldığında, bakteri hücreleri düşük üretim maliyeti, kolay hazırlığı, daha basit dağıtımı ve daha yüksek iletim yükü gibi özellikleri sayesinde daha avantajlıdır [73].

Örnek olarak *Bifidobacterium longum* (insan gastrointestinal yolağında bulunan patojenik olmayan tür) kanserli dokuya gen iletimi için kullanılmıştır. Tümörlerin içine seçici olarak girebildiği bilinen *Bifidobacterium longum*'un genetiği değiştirilerek endostatin geni ile yüklenmiş ve oral olarak uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlarda karaciğer tümörüne etkin ve yüksek oranda gen aktarımı yapıldığı gözlemlenmiştir [2].

## **Bakteriye Dayalı Biyoteknolojik Stratejiler**

### **Rekombinant Bakteri**

Genetik mühendisliğinde yaşanan gelişmeler, proteinleri (antijenler, antikorlar, sitokinler ve enzimler gibi) kodlayan plazmid vektörlerinin canlı bakterilerde üretilmesine izin vermiştir. Bakteriler, RNA polimerazlara sahip oldukları için ilgili proteinleri üretebilme potansiyeline sahiptir. Bu amaçla kullanılan bakteriler, protein üretimi için en yaygın şekilde tasarlanmış bakteri olan *Lactococcus lactis* gibi patojenik olmayan veya genel olarak güvenli (GRAS) bakteriler ve *Streptococcus gordonii* gibi kommensal bakterileri içerir. Ağız, burun ve vajinal boşluktaki mukozal yüzeylerde kolonize olan bu tür bakteriler, sitokinler ve enzimler gibi biyolojik olarak aktif proteinlerin üretimi ve dağıtımı için potansiyel bir araç görevi görürler [37].

GRAS bakterileri yanında, *Salmonella enterica subsp enterica serovar Typhimurium* gibi canlı zayıflatılmış rekombinant bakteriler de aşı çalışmalarında oldukça olumlu sonuçlar vermiştir [74]. Genel olarak, canlı patojenik mikroorganizma tarafından doğal enfeksiyon, güçlü mukozal ve sistemik bağışıklık tepkileri ortaya çıkarır. Bununla birlikte, zayıflatılmış bakterilerin immün cevabı her zaman olumlu değildir, özellikle bakteriler aşı uygulaması dışındaki uygulamalarda kullanılırsa, burada bağışıklık tepkileri aşılması gereken bir bariyer olarak karşımıza çıkmaktadır [75].

### **Biyohibrit (Mikro-Robot) Bakteri**

Mikrobiyal hücrelerin mikropartiküller, nanopartiküller veya mikro-robotlar gibi canlı olmayan malzemelerle birleştirilmesiyle üstün performans sergileyen biyohibrit bakteriler elde edilebilir [76]. Örneğin, manyetik bir mikro-robot gövdesine bağlanan bakteriler manyetik yönlendirme ile istenen bölgeye hedeflenebilirler. Ayrıca, terapötik ajan yüklü nanopartiküller biyomühendislik ürünü bakteriler

ile hücrelere hedeflenebilirler. Bu sistemler memeli hücrelere penetre olarak taşıdıkları sentetik ilaç, antikör, terapötik peptit veya DNA'nın bakteri aracılığı ile hücre içine girmesine aracılık eder [1].

Biyohibrit yaklaşım, ilaç dağıtım sistemlerinin retikuloendotelial sistem tarafından fagositoza uğramadan önce hedef bölgeye daha hızlı bir şekilde ulaşabilmesini sağlar. Biyohibrit sistemlerin diğer bir avantajı ise biyolojik ve biyolojik olmayan sistemler arasında iş bölümüne izin vermesi, dolayısıyla bakteri hücresinde gerekli mutasyonları azaltmasıdır. Genetiği değiştirilmiş bakterilerin vücutta kullanımına ilişkin ciddi endişeler vardır. Örneğin, herhangi bir mutant zararlı haline geri dönebilir, böylece kontrolü ve muhafazası zorlaşır. Biyohibrit sistemlerde, patojenik olmayan, tercihen gıda sınıfı veya çok az mutasyona sahip veya hiç mutasyona sahip olmayan bakteriler kullanılabilir. PEG gibi birçok farmasötik inert materyal bakteriyel sistemlerin toksik ve immunojenik etkisini azaltmak için biyohibrit sistemlerde kullanılmaktadır [77].

### **Tümör veya Kanser Hücresi Hedefli Bakteriler**

Bakteriler tümörleri istila edebilir, kanser hücrelerinin çoğalması için gerekli besinleri tüketebilir ve kanser hücrelerinde büyüme geriliğine yol açabilirler. Konağın immün sistemini, inflamasyon ile ilişkili yolakları aktif hale getirerek güçlendirirler. Bakterilerin tümör hedefleme kapasitesi de onu tümör tedavisi için uygun bir taşıyıcı yapar [78].

Enfeksiyon aracılı tümör hücrelerinin yıkımına sıklıkla akut toksik etki, sepsis şok ve ölüm eşlik eder. Bu nedenle tümör hedefleyen suşların immünojenisitetlerini azaltmak için genetik olarak modifiye edilmeleri gerekir. Literatürde hücre içi tümör hedefleme uygulamaları amacıyla, normal dokuya kıyasla tümörün kolonizasyonu için kendine özgü bir özelliğe sahip olan ve hipoksik bölgelerde uzun süre etki göstererek doğal olarak kolonize olan zayıflatılmış *S. typhimurium* suşları kullanılmıştır [76].

Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada malign melanom tedavisi için melanin benzeri yapıdaki polidopamini (pDA), anaerobik *Salmonella typhimurium* vektörü ile kompleks (pDA-VNP) hale getirilmiştir. Fototermal etkili pDA ile oluşturulan bu kombinasyonun tümör hedefleme özelliğinin araştırıldığı *in vitro* deneylerde fototermal etkili pDA'nın ışımaya altında pDA-VNP ile inkübe edildikten edilen malign melanoma hücrelerinin canlılığının anlamlı derecede azaldığı gözlemlenmiştir. *In vivo* sonuçlar, yakın kızılötesi lazer ışınlanması sonrası tümörlerdeki pDA-VNP miktarının diğer dokulardan daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, pDA-VNP ile tedavi edilen farelerin, tedavi edilmeyenlere göre daha uzun hayatta kalma süresine sahip olduğu gözlemlenmiştir [79].

Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise akciğer kanseri tedavisinde inhalasyon yoluyla paklitaksel uygulanması amacıyla, *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Lactobacillus casei* (*L. casei*) bakterileri vektör olarak kullanılmıştır. Geliştirilen paklitaksel içeren lipozom formülasyonun *E. coli* ve *L. casei* vektörlerine entegrasyonu stratejisi, sıçan akciğer kanseri hücrelerinde yüksek

antikanser etki göstermiştir. Bu etki, paklitaksel'in bakteriler aracılı taşınım sayesinde hücre giriş veriminin artması ve ayrıca bakteriyel formülasyonun immunostimüle edici etkisi aracılığı ile gerçekleşmiştir [80].

### **Bakteri Hayaletler (BH'ler)**

BH'ler içi boş ve canlı olmayan gram-negatif bakteri zarfıdır. BH'leri, ilk kez Warner Lubitz tarafından biyolojik bir taşıyıcı olarak genetik bir yöntemle Gram-negatif bakterilerden üretilmiştir [75]. BH'ler, gen E aracılı lizise yol açan klonlanmış bakteriyofaj  $\phi$ X174 gen E'nin kontrollü ekspresyonu ile üretilirler [20].

BH'ler sitoplazmik içerikten yoksundur, ancak hücre yüzey morfolojisi normaldir. BH'ler hedef antijene karşı gelişmiş hümmoral ve hüresel bağışıklık tepkisini tetikler. Vücuda verilmesi istenen ilaç veya takviyeler BH'nin iç ya da dış zarına ve BH oluşumu sırasında kapatılan periplazmasına hedeflenebilir. BH'ler çapraz akış filtrasyonu yoluyla saflaştırılarak toplu fermantasyon ile üretilir. Bakteri inaktivasyonunun güvenliği için saflaştırdıktan sonra oluşan kalıntı bakteri DNA'sı stafilokokal nükleaz A kullanımı veya  $\beta$ -propiolakton ile etkisiz hale getirilir [81].

Yapılan araştırmaya göre *E.coli* bakterisinin hayaletine 5-Flourourasil (5-FU) yüklenerek kolorektal kanseri hedefleyen ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmiştir. Geliştirilen taşıyıcı sistemin 5-FU'ü istenildiği gibi yavaş bir şekilde saldığı ortaya konmuştur. Ayrıca, *E. coli* hayaletlerinin etkili hedefleme özelliklerinin bir sonucu olarak, yüklenen 5-FU, kolorektal adenokarsinom hücrelerinde umut verici sitotoksik aktivite göstermiştir [82].

BH'ler aşılardaki antijenler için taşıyıcı ve biyouyumlu ilaç dağıtım araçları olarak da kullanılabilir. Ek olarak, yüksek yükleme kapasitelerine sahip olmaları onları ilaç taşıma sistemleri içinde umut vadeden bir seçim haline getirir [83].

### **Mantarlardan İlham Alan İlaç Taşıyıcı Sistemler**

Mantarlar, metallere karşı toleransları ve metal biyobirikim kabiliyetleri sebebiyle metalik nanopartiküllerin biyolojik üretimi üzerine yapılan araştırmalarda ilgi çekmiştir. Bazı mantar türlerinin hızlı ve kolay üretimi laboratuvar ortamında yapılacak araştırmalarda kolaylık sağlar [84].

Son yıllarda, mantarlar ilaç taşıyıcı sistemler olarak yoğun ilgi görmüştür. Yapılan çalışmalarda mantar hücrelerinin ağır metallere karşı tolerans göstermesi nedeniyle, altın (Au) ve gümüş (Ag) gibi ağır metal iyonları için uygun bir taşıyıcı oldukları görülmüştür. Taşıyıcı kullanılmadan metal iyonları toksik metal nanopartiküllere indirgenebilir ve bu da kanser apoptozuna yol açabilir. *Verticillium sp.*, *Colletotrichum sp.* ve *F. oxysporum* gibi Au nanopartikülü üretebilen birçok mantar bulunurken; *Verticillium sp.*, *F. Oxysporum* ve *Volvariella volvacea* mantarlar da Ag nanopartiküllerini biyosentez yoluyla üretebilmektedir [78].



## Maya Hücreleri

Maya hücreleri, 5-10 µm çapa sahip oval tek hücreli ökaryotik mantarlardır. Maya hücrelerinin, sitoplazmik içeriğin kaybına yol açan çeşitli fiziksel ve kimyasal işlemlere tabi tutularak hazırlanmış “maya mikrokapsülleri” DNA, proteinler ve ilaçlar için bir taşıyıcı görevi görürler [21].

β-glukandan yapılan maya kapsülleri, M hücreleri üzerindeki dectin-1 tarafından tanınabilir. Bu sayede nanopartiküller, oral kullanım ile bağırsak dokusundan hastalıklı bölgelere taşınabilmektedir. Mikrokapsüller, makrofajlar tarafından Peyer yaması yoluyla alınır ve lenfatik yolla sistemik dolaşıma taşınırlar. Maya mikrokapsülleri, pozitif yüklü partiküller için kılıf oluşturarak içindeki ilaçları stabil hale getirir. Alternatif olarak, maya kapsüllerinin polikasyonlar ile ön işleme tabi tutulması sonucu negatif yüklü nanopartiküller de bu sisteme yüklenebilir. Böylece elektrostatik etkileşimler yoluyla, 750 nm boyutuna kadar olan nanopartikülleri kapsüllemek mümkündür. Ayrıca, maya kapsülünün nispeten yüksek bir dozda bile iyi bir güvenlik profili sergilediği gösterilmiştir [85].

Maya hücreleri, lenfatik sistem yoluyla çeşitli dokulara ve hastalıklı bölgelere taşınabilir. Bu benzersiz istila yolu nedeniyle, maya bazlı taşıyıcılar, çeşitli ilaçların ağızdan verilmesi için umut verici araçlar olarak ortaya çıkmıştır [86].

## Biyomimetik Nanotaşıyıcı Sistemlerin Karakterizasyon ve Stabiliteleri

Tüm ilaç taşıyıcı sistemlerde olduğu gibi biyomimetik nanotaşıyıcı sistemlerin farmasötik amaçlı kullanımları için karakterizasyonlarının uygun yöntemler ile ortaya konması ve stabilitelerinin değerlendirilmesi önemlidir. Örneğin, viral partikülün boyutu konakın immün sisteminden kaçışta önemli rol oynamaktadır. Virüslerin eliminasyonundan sorumlu olan monositler, makrofajlar ve diğer fagositik hücreler, özellikle mikrometre aralığındaki partikülleri boyuta bağlı olarak verimli bir şekilde içine alırlar. Mimivirüs benzeri büyük virüsler (~760 nm çapında), fagositoz yoluyla makrofajlar tarafından elimine edilirken, daha küçük virüsler ise klatrin aracılı endositoz yoluyla hücrelerce içselleştirilebilir. Buna bağlı olarak geliştirilecek nanotaşıyıcıların boyutu nihai hedefe uygun olarak belirlenmelidir [87].

Biyolojik değerlendirmelerden önce nanoparçacıkların fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri için karakterizasyonu gerekmektedir. Hücre zarları; elektron yoğunlukları, protein bileşimleri ve yüzey yükleri ile nanoparçacıkların çekirdeklerinden ayırt edilebilirler. Dolayısıyla da hücre zarlarının nanoparçacıklar üzerinde kaplanıp kaplanmadıkları belirlenebilir. Fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla; hücre zarı temelli nanoparçacıkların çekirdek-kabuk yapısını karakterize etmek için transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılmaktadır. Çünkü lipid ve proteinlerden oluşan hücre zarları, nanoparçacıkların çekirdeklerine göre genellikle farklı elektron yoğunluğuna sahiptirler. Aynı zamanda hücre zarı ile kaplanmış nanoparçacıkların boyutu ve zeta potansiyeli de değişmektedir. Membran kaplama ile nanoparçacıkların etrafında difüzyon bariyeri oluşturularak nanoparçacıkların

çekirdeklerinden ilaç salımı da geciktirilebilir. Fizikokimyasal özellikler için yapılan karakterizasyon çalışmaları hücre zarı kaplamasının başarılı olup olmadığını ortaya koymaktadır. Biyolojik özellikleri için yapılan karakterizasyon çalışmalarında ise hücre zarlarının nanoparçacıkların yüzeyindeki biyolojik aktivitelerini doğrulamak için yapılır. Bunun için; sodyum dodesil sülfat- poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ve western blot yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır [88].

Yapılan bir çalışmada kırmızı kan hücresi zarı ile kaplı nanopartikülleri karakterize etmek için partiküller önce uranil asetat ile negatif olacak şekilde boyanmış ve TEM kullanılarak görselleştirilmiş. Ortaya çıkan görselde beklenildiği gibi bir çekirdek-kabuk yapısı görülmektedir. Parçacık boyutu yaklaşık olarak 80 nm'dir ve bu değer dinamik ışık saçılımı ile ölçülen hidrodinamik çapla eşleşir. Parçacık boyutu yaklaşık 70 nm çapında bir polimerik çekirdekten ve 7-8 nm çapında dış lipid tabakadan oluşmaktadır. Bu lipid tabakasının kalınlığı daha önceden rapor edilen kırmızı kan hücrelerinin membran genişliği ile uyumludur. Sonuçların uyumlu çıkması polimerik partikül yüzeyine başarılı bir membran translokasyonunun olduğunu düşündürmektedir [89].

Biyomimetik nanotaşıyıcı sistemler için önemli bir parameter de stabilitelerinin tespit edilmesidir. *In vivo* sirkülasyonda maruz kalınan seruma karşı stabilitenin saptanması yanında, dinamik ışık saçılı yöntemiyle nanotaşıyıcıların boyut ve polidispersite indeksinin zamana bağlı değerlendirilmesi de oldukça önemlidir [89,90].

## SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu derlemede doğadan ilham alan biyomimetik nanotaşıyıcı sistemler virüs temelli, memeli hücresi temelli ve bakteri-mantar temelli olmak üzere üç temel başlık altında incelenmiştir. Virüs temelli taşıyıcı sistemler; doğal olarak bağışıklık sistem tarafından tanınmasını engelleme ve genlerini bir konakçıya kopyalatmak amacıyla hücrelere girme yeteneklerinden dolayı ilaç taşıyıcı sistemler için ilham verici olmuşlardır. Memeli hücreleri temelli nanopartikül geliştirme yaklaşımında ise hücre zarı kaplı olacak şekilde geliştirilen nanopartiküller yanında hücreden salınan eksozomlar ve hücre kaynaklı nanoveziküller çeşitli treapötiklerin taşınması amacıyla kullanılmaktadır. Bunların yanında bakteri ve mantarların ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanımında da oldukça umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Çeşitli bakterilerin belirli dokuları ve organları aktif olarak hedeflediği bilinmektedir. Ayrıca, anaerobik bakterilerin genetiği değiştirilmiş versiyonları terapötik proteinlerin üretilmesi ve taşınması amacıyla kullanılabilir. Mantarlar ise metallerle karşı gösterdikleri tolerans nedeniyle metalik nanopartiküllerin biyolojik üretimi üzerine yapılan araştırmalarda kullanılmaktadır. Doğanın bize sunduğu bu sistemleri anlama çabası taşıyıcı sistem araştırmalarında bizi daha ileriye götürebilir. Bununla birlikte, kontrol edilebilirlik ve seri üretim gibi sentetik sistemlerin avantajları ile biyolojik sistemlerin olağanüstü dağıtım ve biyoyoumluluk işlevlerinin birleştirilmesi ile daha başarılı nanotaşıyıcı sistemlerin geliştirilme potansiyeli olabilecektir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK-218S840 numaralı proje kapsamında hazırlanmıştır.

## YAZAR KATKILARI

Kavram: G.E.A.; Tasarım: G.E.A.; Denetim: G.E.A.; Kaynaklar: E.A., A.A, G.Ç., G.E.A., Literatür taraması: E.A., A.A, G.Ç., G.E.A.; Makalenin yazılması: E.A., A.A, G.Ç., G.E.A.; Kritik inceleme: E.A., A.A, G.Ç., G.E.A.; Diğer: -

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## KAYNAKLAR

1. Shende, P., Basarkar, V. (2019). Recent trends and advances in microbe-based drug delivery systems. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27, 799-809. [CrossRef]
2. Fu, G.F., Li, X., Hou, Y.-Y., Fan, Y.-R., Liu, W.-H., Xu, G.-X. (2005). Bifidobacterium longum as an oral delivery system of endostatin for gene therapy on solid liver cancer. *Cancer Gene Therapy*, 12, 133-140. [CrossRef]
3. Aminu, N., Bello, I., Umar, N.M., Tanko, N., Aminu, A., Audu, M.M. (2020). The influence of nanoparticulate drug delivery systems in drug therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60, 101961. [CrossRef]
4. Şengel-Türk, C.T., Hasçıçek C. (2009). Polimerik nanopartikuler ilaç taşıyıcı sistemlerde yüzey modifikasyonu. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 38(2), 137-154. [CrossRef]
5. Erel-Akbaba, G., Akbaba, H. (2021). Investigation of the potential therapeutic effect of cationic lipoplex mediated fibroblast growth factor-2 encoding plasmid DNA delivery on wound healing. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 29, 329-340. [CrossRef]
6. Torchilin, V.P. (2014). Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(11), 813-827. [CrossRef]
7. Akbaba, H., Karagöz, U., Selamet, Y., Kantarcı, A.G. (2017). Synthesis and characterization of cationic lipid coated magnetic nanoparticles using multiple emulsions as microreactors. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 426, 518-524. [CrossRef]
8. Zhang, H., Liu, J., Chen, Q., Mi, P. (2020). Ligand-installed anti-VEGF genomic nanocarriers for effective gene therapy of primary and metastatic tumors. *Journal of Controlled Release*, 320, 314-327. [CrossRef]

9. Erel-Akbaba, G., Carvalho, L.A., Tian, T., Zinter, M., Akbaba, H., Obeid, P.J., Chiocca, E.A., Weissleder, R., Kantarci, A.G., Tannous, B.A. (2019). Radiation-induced targeted nanoparticle-based gene delivery for brain tumor therapy. *ACS Nano*, 13(4), 4028-4040. [\[CrossRef\]](#)
10. Maslanka Figueroa, S., Fleischmann, D., Goepferich, A. (2021). Biomedical nanoparticle design: what we can learn from viruses. *Journal of Controlled Release*, 329, 552-569. [\[CrossRef\]](#)
11. Parodi, A., Molinaro, R., Sushnitha, M., Evangelopoulos, M., Martinez, J.O., Arrighetti, N., Corbo, C., Tasciotti, E. (2017). Bio-inspired engineering of cell- and virus-like nanoparticles for drug delivery. *Biomaterials*, 147, 155-168. [\[CrossRef\]](#)
12. Unzueta, U., Céspedes, M.V., Vázquez, E., Ferrer-Miralles, N., Mangues, R., Villaverde, A. (2015). Towards protein-based viral mimetics for cancer therapies. *Trends in Biotechnology*, 33(5), 253-258. [\[CrossRef\]](#)
13. Yang, G., Chen, S., Zhang, J. (2019). Bioinspired and biomimetic nanotherapies for the treatment of infectious diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1-17. [\[CrossRef\]](#)
14. Schwarz, B., Uchida, M., Douglas, T. (2017). Biomedical and catalytic opportunities of virus-like particles in nanotechnology. *Advances in Virus Research*, 97, 1-60. [\[CrossRef\]](#)
15. Kanekiyo, M., Buck, C.B. (2017). Virus-like Particle and Nanoparticle Vaccines. In: K. Modjarrad and W.C. Koff (Eds.), *Human Vaccines: Emerging Technologies in Design and Development*, (pp. 87-98). New York: Academic Press. [\[CrossRef\]](#)
16. Kushnir, N., Streatfield, S.J., Yusibov, V. (2012). Virus-like particles as a highly efficient vaccine platform: Diversity of targets and production systems and advances in clinical development. *Vaccine*, 31(1), 58-83. [\[CrossRef\]](#)
17. Gadekar, V., Borade, Y., Kannaujia, S., Rajpoot, K., Anup, N., Tambe, V., Kalia, K., Tekade, R.K. (2021). Nanomedicines accessible in the market for clinical interventions. *Journal of Controlled Release*, 330, 372-397. [\[CrossRef\]](#)
18. Yilmaz, I.C., Ipekoglu, E.M., Bulbul, A., Turay, N., Yildirim, M., Evcili, I., Yilmaz, N.S., Guvencli, N., Aydin, Y., Gungor, B., Saraydar, B., Bartan, A.G., Ibibik, B., Bildik, T., Baydemir, İ., Sanli, H.A., Kayaoglu, B., Ceylan, Y., Yildirim, T., Gursel, M. (2022). Development and preclinical evaluation of virus-like particle vaccine against COVID-19 infection. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 77(1), 258-270. [\[CrossRef\]](#)
19. Mbah, C.C., Attama, A.A. (2018). Vesicular carriers as innovative nanodrug delivery formulations. In: A.M. Grumezescu (Ed.), *Organic Materials as Smart Nanocarriers for Drug Delivery*, (pp. 519-559). India: William Andrew Applied Science Publishers. [\[CrossRef\]](#)
20. Loo, Y.S., Bose, R.J., McCarthy, J.R., Mat Azmi, I.D., Madheswaran, T. (2021). Biomimetic bacterial and viral-based nanovesicles for drug delivery, theranostics, and vaccine applications. *Drug Discovery Today*, 26(4), 902-915. [\[CrossRef\]](#)
21. Sabu, C., Rejo, C., Kotta, S., Pramod, K. (2018). Bioinspired and biomimetic systems for advanced drug and gene delivery. *Journal of Controlled Release*, 287, 142-155. [\[CrossRef\]](#)
22. Almeida, J.D., Edwards, D.C., Brand, C.M., Heath, T.D. (1975). Formation of virosomes from influenza subunits and liposomes. *The Lancet*, 306(7941), 899-901. [\[CrossRef\]](#)

23. Daemen, T., De Mare, A., Bungener, L., De Jonge, J., Huckriede, A., Wilschut, J. (2005). Virosomes for antigen and DNA delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(3), 451-463. [\[CrossRef\]](#)
24. Felnerova, D., Viret, J.F., Glück, R., Moser, C. (2004). Liposomes and virosomes as delivery systems for antigens, nucleic acids and drugs. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(6), 518-529. [\[CrossRef\]](#)
25. Zheng, B., Peng, W., Guo, M., Huang, M., Gu, Y., Wang, T., Ni, G., Ming, D. (2021). Inhalable nanovaccine with biomimetic coronavirus structure to trigger mucosal immunity of respiratory tract against COVID-19. *Chemical Engineering Journal*, 418, 129392. [\[CrossRef\]](#)
26. Huda, S., Alam, M.A., Sharma, P.K. (2020). Smart nanocarriers-based drug delivery for cancer therapy: an innovative and developing strategy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60, 102018. [\[CrossRef\]](#)
27. Correia-Pinto, J.F., Csaba, N., Alonso, M.J. (2013). Vaccine delivery carriers: insights and future perspectives. *International Journal of Pharmaceutics*, 440(1), 27-38. [\[CrossRef\]](#)
28. Whitesides, G.M., Grzybowski, B. (2002). Self-assembly at all scales. *Science*, 295(5564), 2418-2421. [\[CrossRef\]](#)
29. Delfi, M., Sartorius, R., Ashrafizadeh, M., Sharifi, E., Zhang, Y., De Berardinis, P., Zarrabi, A., Varma, R.S., Tay, F.R., Smith, B.R., Makvandi, P. (2021). Self-assembled peptide and protein nanostructures for anti-cancer therapy: targeted delivery, stimuli-responsive devices and immunotherapy. *Nano Today*, 38, 101119. [\[CrossRef\]](#)
30. Khyatti, M., Patel, P.C., Stefanescu, I., Menezes, J. (1991). Epstein-Barr virus (EBV) glycoprotein gp350 expressed on transfected cells resistant to natural killer cell activity serves as a target antigen for EBV-specific antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Journal of Virology*, 65(2), 996-1001. [\[CrossRef\]](#)
31. Kanekiyo, M., Bu, W., Joyce, M.G., Meng, G., Whittle, J.R.R., Baxa, U., Yamamoto, T., Narpala, S., Todd, J.P., Rao, S.S., McDermott, A.B., Koup, R.A., Rossmann, M.G., Mascola, J.R., Graham, B.S., Cohen, J.I., Nabel, G.J. (2015). Rational design of an Epstein-Barr virus vaccine targeting the receptor-binding site. *Cell*, 162(5), 1090-1100. [\[CrossRef\]](#)
32. Xu, C.H., Ye, P.J., Zhou, Y.C., He, D.X., Wei, H., Yu, C.Y. (2020). Cell membrane-camouflaged nanoparticles as drug carriers for cancer therapy. *Acta Biomaterialia*, 105, 1-14. [\[CrossRef\]](#)
33. Choi, B., Park, W., Park, S.B., Rhim, W.K., Han, D.K. (2020). Recent trends in cell membrane-cloaked nanoparticles for therapeutic applications. *Methods*, 177, 2-14. [\[CrossRef\]](#)
34. Li, R., He, Y., Zhang, S., Qin, J., Wang, J. (2018). Cell membrane-based nanoparticles: a new biomimetic platform for tumor diagnosis and treatment. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(1), 14-22. [\[CrossRef\]](#)
35. Zhai, Y., Su, J., Ran, W., Zhang, P., Yin, Q., Zhang, Z., Yu, H., Li, Y. (2017). Preparation and application of cell membrane-camouflaged nanoparticles for cancer therapy. *Theranostics*, 7(10), 2575-2592. [\[CrossRef\]](#)
36. Dash, P., Piras, A.M., Dash, M. (2020). Cell membrane coated nanocarriers - an efficient

- biomimetic platform for targeted therapy. *Journal of Controlled Release*, 327, 546-570. [\[CrossRef\]](#)
37. Yoo, J.W., Irvine, D.J., Discher, D.E., Mitragotri, S. (2011). Bio-inspired, bioengineered and biomimetic drug delivery carriers. *Nature Reviews Drug Discovery*, 10(7), 521-535. [\[CrossRef\]](#)
  38. Föllner, M., Huber, S.M., Lang, F. (2008). Erythrocyte programmed cell death. *IUBMB Life*, 60(10), 661-668. [\[CrossRef\]](#)
  39. Pierige, F., Serafini, S., Rossi, L., Magnani, M. (2008). Cell-based drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(2), 286-295. [\[CrossRef\]](#)
  40. Jia, Y., Duan, L., Li, J. (2016). Hemoglobin-based nanoarchitectonic assemblies as oxygen carriers. *Advanced Materials*, 28(6), 1312-1318. [\[CrossRef\]](#)
  41. Hu, C.-M.J., Fang, R.H., Zhang, L. (2012). Erythrocyte-inspired delivery systems. *Advanced Healthcare Materials*, 1(5), 537-547. [\[CrossRef\]](#)
  42. Legrand, N., Huntington, N.D., Nagasawa, M., Bakker, A.Q., Schotte, R., Strick-Marchand, H., Geus, S.J. de Pouw, S.M., Böhne, M., Voordouw, A., Weijer, K., Di Santo, J.P., Spits, H. (2011). Functional CD47/signal regulatory protein alpha (SIRP $\alpha$ ) interaction is required for optimal human T- and natural killer- (NK) cell homeostasis in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(32), 13224-13229. [\[CrossRef\]](#)
  43. Xia, Q., Zhang, Y., Li, Z., Hou, X., Feng, N. (2019). Red blood cell membrane-camouflaged nanoparticles: a novel drug delivery system for antitumor application. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 9(4), 675-689. [\[CrossRef\]](#)
  44. Hamidi, M., Tajerzadeh, H. (2003). Carrier erythrocytes: an overview. *Drug Delivery: Journal of Delivery and Targeting of Therapeutic Agents*, 10(1), 9-20. [\[CrossRef\]](#)
  45. Fang, R.H., Hu, C.M.J., Chen, K.N.H., Luk, B.T., Carpenter, C.W., Gao, W., Li, S., Zhang, D.E., Lu, W., Zhang, L. (2013). Lipid-insertion enables targeting functionalization of erythrocyte membrane-cloaked nanoparticles. *Nanoscale*, 5(19), 8884-8888. [\[CrossRef\]](#)
  46. Kroll, A.V., Frang, R.H., Zhang, L. (2017). Biointerfacing and applications of cell membrane-coated nanoparticles. *Bioconjugate Chemistry*, 28(1), 23-32. [\[CrossRef\]](#)
  47. Fang, J., Nakamura, H., Maeda, H. (2011). The EPR effect: unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(3), 136-151. [\[CrossRef\]](#)
  48. Chai, Z., Hu, X., Wei, X., Zhan, C., Lu, L., Jiang, K., Su, B., Ruan, H., Ran, D., Fang, R.H., Zhang, L., Lu, W. (2017). A facile approach to functionalizing cell membrane-coated nanoparticles with neurotoxin-derived peptide for brain-targeted drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 264, 102-111. [\[CrossRef\]](#)
  49. Li, A., Zhao, J., Fu, J., Cai, J., Zhang, P. (2021). Recent advances of biomimetic nano-systems in the diagnosis and treatment of tumor. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 161-174. [\[CrossRef\]](#)
  50. Gao, C., Wu, Z., Lin, Z., Lin, X., He, Q. (2016). Polymeric capsule-cushioned leukocyte cell membrane vesicles as a biomimetic delivery platform. *Nanoscale*, 8(6), 3548-3554. [\[CrossRef\]](#)

51. Corbo, C., Parodi, A., Evangelopoulos, M., Engler D.K., Matsunami, R.K., Engler, A.C, Tasciotti, E. (2015). Proteomic profiling of a biomimetic drug delivery platform. *Current Drug Targets*, 16(13), 1540-1547. [[CrossRef](#)]
52. Huang, Y., Gao, X., Chen, J. (2018). Leukocyte-derived biomimetic nanoparticulate drug delivery systems for cancer therapy. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8(1), 4-13. [[CrossRef](#)]
53. Mitchell, M.J., King, M.R. (2015). Leukocytes as carriers for targeted cancer drug delivery. *Expert Opinion Drug Delivery*, 12(3), 375-392. [[CrossRef](#)]
54. Bluestone, J.A. (2005). Regulatory T-cell therapy: is it ready for the clinic? *Nature Reviews Immunology*, 5(4), 343-349. [[CrossRef](#)]
55. Wang, Q., Cheng, H., Peng, H., Zhou, H., Li, P.Y., Langer, R. (2015). Non-genetic engineering of cells for drug delivery and cell-based therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 91, 125-140. [[CrossRef](#)]
56. Patel, S.R., Hartwig, J.H., Italiano, J.E. (2005). The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. *The Journal of Clinical Investigation*, 115(12), 3348-3354. [[CrossRef](#)]
57. Harker, L.A., Roskos, L.K., Marzec, U.M., Carter, R.A., Cherry, J.K., Sundell, B., Cheung, E.N., Terry, D., Sheridan, W. (2000). Effects of megakaryocyte growth and development factor on platelet production, platelet life span, and platelet function in healthy human volunteers. *Blood*, 95(8), 2514-2522. [[CrossRef](#)]
58. Chen, Y., Zhao, G., Wang, S., He, Y., Han, S., Du, C., Li, S., Fan, Z., Wang, C., Wang, J. (2019). Platelet-membrane-camouflaged bismuth sulfide nanorods for synergistic radio-photothermal therapy against cancer. *Biomaterials Science*, 7(8), 3450-3459. [[CrossRef](#)]
59. Li, Z., Hu, S., Cheng, K. (2018). Platelets and their biomimetics for regenerative medicine and cancer therapies. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(45), 7354-7365. [[CrossRef](#)]
60. Wu, M., Le, W., Mei, T., Wang, Y., Chen, B., Liu, Z., Xue, C. (2019). Cell membrane camouflaged nanoparticles: a new biomimetic platform for cancer photothermal therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 4431-4448. [[CrossRef](#)]
61. Liu, Y., Luo, J., Chen, X., Liu, W., Chen, T. (2019). Cell membrane coating technology: a promising strategy for biomedical applications. *Nano-Micro Letters*, 11(1), 100. [[CrossRef](#)]
62. Quesada, M.P., García-Bernal, D., Pastor, D., Estirado, A., Blanquer, M., García-Hernández, A.M., Moraleta, J.M., Martínez, S. (2019). Safety and biodistribution of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells injected intrathecally in non-obese diabetic severe combined immunodeficiency mice: preclinical study. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 16(5), 525-538. [[CrossRef](#)]
63. Sherr, C.J. (1996). Cancer cell cycles. *Science*, 274(5293), 1672-1674. [[CrossRef](#)]
64. Yang, R., Xu, J., Xu, L., Sun, X., Chen, Q., Zhao, Y., Liu, Z. (2018). Cancer cell membrane-coated adjuvant nanoparticles with mannose modification for effective anticancer vaccination. *ACS Nano*, 12(6), 5121-5129. [[CrossRef](#)]



65. Stremersch, S., De Smedt, S.C., Raemdonck, K. (2016). Therapeutic and diagnostic applications of extracellular vesicles. *Journal of Controlled Release*, 244, 167-183. [[CrossRef](#)]
66. Tian, T., Zhang, H.X., He, C.P., Fan, S., Zhu, Y.L., Qi, C., Huang, N.P., Xiao, Z.D., Lu, Z.H., Tannous, B.A., Gao, J. (2018). Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy. *Biomaterials*, 150, 137-149. [[CrossRef](#)]
67. Conde-Vancells, J., Rodriguez-Suarez, E., Embade, N., Gil, D., Matthiesen, R., Valle, M., Falcon-Perez, J.M. (2008). Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes. *Journal of Proteome Research*, 7(12), 5157-5166. [[CrossRef](#)]
68. Camussi, G., Deregibus, M.C., Bruno, S., Cantaluppi, V., Biancone, L. (2010). Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication. *Kidney International*, 78(9), 838-848. [[CrossRef](#)]
69. Kotmakçı, M., Erel-Akbaba, G. (2017). Exosome isolation: is there an optimal method with regard to diagnosis or treatment. In: J. Wang (Ed.), *Novel Implications of Exosomes in Diagnosis and Treatment of Cancer and Infectious Diseases*, (pp.163-182). New York: Intech Open. [[CrossRef](#)]
70. Sun, D., Zhuang, X., Xiang, X., Liu, Y., Zhang, S., Liu, C., Zhang, H.G. (2010). A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 18(9), 1606-1614. [[CrossRef](#)]
71. Jo, W., Jeong, D., Kim, J., Cho, S., Jang, S., Han, C., Kang, J.Y., Gho, Y.S., Park, J. (2014). Microfluidic fabrication of cell-derived nanovesicles as endogenous RNA carriers. *Lab on a Chip*, 14(7), 1261-1269. [[CrossRef](#)]
72. Jang, S.C., Kim, O.Y., Yoon, C.M., Choi, D.S., Roh, T.Y., Park, J., Nilsson, J., Lötvall, J., Kim Y.K., Gho, Y.S. (2013). Bioinspired exosome-mimetic nanovesicles for targeted delivery of chemotherapeutics to malignant tumors. *ACS Nano*, 7(9), 7698-7710. [[CrossRef](#)]
73. Hosseinidoust, Z., Mostaghaci, B., Yasa, O., Park, B.W., Singh, A.V., Sitti, M. (2016). Bioengineered and biohybrid bacteria-based systems for drug delivery. *In Advanced Drug Delivery Reviews*, 106, 27-44. [[CrossRef](#)]
74. Poo, H., Pyo, H.M., Lee, T.Y., Yoon, S.W., Lee, J.S., Kim, C.J., Sung, M.H., Lee, S.H. (2006). Oral administration of human papillomavirus type 16 E7 displayed on lactobacillus casei induces E7-specific antitumor effects in C57/BL6 mice. *International Journal of Cancer*, 119(7), 1702-1709. [[CrossRef](#)]
75. Harisa, G.I., Sherif, A.Y., Yousof, A.M.E., Alanazi, F.K., Salem-Bekhit, M.M. (2020). Bacteriosomes as a promising tool in biomedical applications: immunotherapy and drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, 21(5), 1-13. [[CrossRef](#)]
76. Claesen, J., Fischbach, M.A. (2015). Synthetic microbes as drug delivery systems. *ACS Synthetic Biology*, 4(4), 358-364. [[CrossRef](#)]
77. Rabanel, J.M., Hildgen, P., Banquy, X. (2014). Assessment of PEG on polymeric particles surface, a key step in drug carrier translation. *Journal of Controlled Release*, 185(1), 71-87. [[CrossRef](#)]



78. Wang, R., Yan, H., Yu, A., Ye, L., Zhai, G. (2021). Cancer targeted biomimetic drug delivery system. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63, 102530. [\[CrossRef\]](#)
79. Chen, W., Wang, Y., Qin, M., Zhang, X., Zhang, Z., Sun, X., Gu, Z. (2018). Bacteria-driven hypoxia targeting for combined biotherapy and photothermal therapy. *ACS Nano*, 12(6), 5995-6005. [\[CrossRef\]](#)
80. Zhang, M., Li, M., Du, L., Zeng, J., Yao, T., Jin, Y. (2020). Paclitaxel-in-liposome-in-bacteria for inhalation treatment of primary lung cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 578, 119177. [\[CrossRef\]](#)
81. Langemann, T., Koller, V.J., Muhammad, A., Kudela, P., Mayr, U.B., Lubitz, W. (2010). The bacterial ghost platform system production and applications. *Bioengineered Bugs*, 1(5), 326-336. [\[CrossRef\]](#)
82. Youssof, A.M.E., Alanazi, F.K., Salem-Bekhit, M.M., Shakeel, F., Haq, N. (2019). Bacterial ghosts carrying 5-fluorouracil: a novel biological carrier for targeting colorectal cancer. *AAPS PharmSciTech*, 20(2), 1-12. [\[CrossRef\]](#)
83. Kudela, P., Koller, V.J., Lubitz, W. (2010). Bacterial ghosts (BGs)-advanced antigen and drug delivery system. *Vaccine*, 28(36), 5760-5767. [\[CrossRef\]](#)
84. Moghaddam, A.B., Namvar, F., Moniri, M., Tahir, P.M., Azizi, S., Mohamad, R. (2015). Nanoparticles biosynthesized by fungi and yeast: a review of their preparation, properties, and medical applications. *Molecules*, 20, 16540-16565. [\[CrossRef\]](#)
85. Hu, X., Zhang, J. (2017). Yeast capsules for targeted delivery: the future of nanotherapy? *Nanomedicine*, 12(9), 955-957. [\[CrossRef\]](#)
86. Hu, X., Yang, G., Chen, S., Luo, S., Zhang, J. (2020). Biomimetic and bioinspired strategies for oral drug delivery. *Biomaterials Science*, 8(4), 1020-1044. [\[CrossRef\]](#)
87. Somiya, M., Kuroda, S. (2015). Development of a virus-mimicking nanocarrier for drug delivery systems: the bio-nanocapsule. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 95, 77-89. [\[CrossRef\]](#)
88. Choi, B., Park, W., Park, S.B., Rhim, W.K., Han, D.K. (2020). Recent trends in cell membrane-cloaked nanoparticles for therapeutic applications. *Methods*, 177, 2-14. [\[CrossRef\]](#)
89. Akbaba, H., Erel-Akbaba, G., Kotmakçı, M., Başpınar, Y. (2020). Enhanced cellular uptake and gene silencing activity of survivin-sirna via ultrasound-mediated nanobubbles in lung cancer cells. *Pharmaceutical Research*, 37(8), 165. [\[CrossRef\]](#)
90. Hu, C.M.J., Zhang, L., Aryal, S., Cheung, C., Fang, R.H., Zhang, L. (2011). Erythrocyte membrane-camouflaged polymeric nanoparticles as a biomimetic delivery platform. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(27), 10980-10985. [\[CrossRef\]](#)