

Micaela José da Silva

Exossomas e o seu papel na comunicação intercelular

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Luís Almeida e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Micaela José da Silva, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº2010143706, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro, que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Setembro de 2015

(Micaela José da Silva)

AGRADECIMENTOS

Neste que foi um dos últimos passos da minha vida académica, não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que contribuíram para a sua concretização nos mais diferentes, mas igualmente importantes, aspetos. Por isso, é com sincera gratidão que deixo aqui um especial agradecimento:

Aos meus pais e irmão por todo o amor, apoio, afeto, confiança e por tudo o que fizeram e fazem por mim.

Ao meu orientador, professor Luís Almeida por toda a ajuda e disponibilidade.

À Dra. Patrícia Albuquerque, pelas sugestões e pela ajuda.

Aos meus amigos de sempre e aos que Coimbra me deu, por partilharem momentos inesquecíveis comigo e por todo o companheirismo demonstrado.

A toda a minha família, pelo carinho e apoio que sempre demonstraram.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, todo o seu corpo docente e não docente, por terem feito destes cinco anos uma vida de pleno conhecimento.

E por fim, mas não menos importante, a Coimbra... Por tudo!

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	2
RESUMO.....	3
ABSTRAT	4
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. EXOSSOMAS	6
2.1. Biogénese.....	6
2.1.1. Mecanismos de formação de MVBs e ILVs	6
2.1.1.1. <u>Mecanismo ESCRT-dependente</u>	7
2.1.1.2. <u>Mecanismos ESCRT-independentes</u>	8
2.2. Composição	8
2.2.1. Proteínas.....	8
2.2.2. Lípidos	9
2.2.3. mRNA e miRNA.....	9
2.3. Secreção	10
3. COMUNICAÇÃO INTERCELULAR.....	11
4. PAPEL DOS EXOSSOMAS NAS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS	11
4.1. Doença de <i>Alzheimer</i>	12
4.2. Doença de <i>Parkinson</i>	13
5. APLICAÇÕES.....	13
5.1. Exossomas como biomarcadores	13
5.2. Exossomas como agentes terapêuticos.....	15
5.3. Ensaio clínicos.....	16
5.4. Patentes e empresas	16
6. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	17
7. CONCLUSÃO	18
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

ABREVIATURAS

A β – do inglês, *Amyloid β*

AGO – do inglês, *ArGO*nauta

APP – do inglês, *Amyloid Precursor Protein*

α -sin – alfa sinucleína

DA – Doença de Alzheimer

DP – Doença de Parkinson

ESCRT – do inglês, *Endosomal Sorting Complex Required for Transport*

HRS – do inglês, *Hepatocyte growth factor–Regulated tyrosine kinase Substrate*

Hsp – do inglês, *Heat shock proteins*

ILVs – do inglês, *IntraLuminal Vesicles*

IstI – do inglês, *Increased sodium tolerance I*

LBPA – do inglês, *LysoBisPhosphatidic Acid*

MHC – do inglês, *Major Histocompatibility Complex*

miR – do inglês, *micro Ribonucleic acid*

miRNA – do inglês, *micro RiboNucleic Acid*

mRNA – do inglês, *messenger RiboNucleic Acid*

MVBs – do inglês, *Multi Vesicular Bodies*

RISC – do inglês, *RNA-induced silencing complex*

RNAi – do inglês, *RiboNucleic Acid of interference*

SNC – Sistema Nervoso Central

SNpc – *Substantia Nigra pars compacta*

STAM – do inglês, *Signal Transducing Adaptor Molecule*

Vps – do inglês, *Vacuolar protein sorting*

RESUMO

Os exossomas são pequenas vesículas libertadas pela maioria dos tipos celulares *in vitro* e *in vivo*, quer sob condições fisiológicas, quer sob condições patológicas. Estes formam-se por invaginação dos endossomas tardios, formando vesículas intraluminais no seu interior que são depois libertadas para o meio extracelular, sob a forma de exossomas, quando estes endossomas se fundem com a membrana plasmática.

Os exossomas transferem proteínas e RNAs (mRNA e microRNA) entre as células, representando assim, um modo importante de comunicação intercelular. É provável que esta capacidade esteja na base de vários processos fisiológicos e patológicos, nos quais os exossomas de diferentes origens celulares têm vindo a ser implicados. Devido a estas características, e pelo facto de estarem presentes em vários fluidos biológicos, os exossomas têm revelado potencial como biomarcadores para o diagnóstico clínico. Para além disso, vários estudos têm vindo a propor algumas aplicações terapêuticas para estas vesículas, realçando assim a sua crescente importância.

Palavras-chave: exossomas; nanovesículas; ILVs; MVBs; proteínas; RNA; comunicação intercelular; biomarcadores; agentes terapêuticos.

ABSTRACT

Exosomes are small vesicles released by most cell types *in vitro* and *in vivo*, either under physiological conditions or under pathological conditions. These are formed by invagination of late endosomes, forming intraluminal vesicles in its interior which are then released into the extracellular medium, in the form of exosomes when these endosomes fuse with the plasma membrane.

Exosomes transfer proteins and RNAs (mRNA and microRNA) between cells, thus representing an important mode of intercellular communication. It is likely that this ability is the base of several physiological and pathological processes in which exosomes from different cell sources have been implicated. Because of these features, and the fact that they are present in various biological fluids, exosomes have shown potential as a biomarker for clinical diagnosis. Furthermore, several studies have been proposing a few therapeutic applications for these vesicles, thus enhancing its growing importance.

Keywords: exosomes; nanovesicles; ILVs; MVBs; proteins; RNA; intercellular communication; biomarkers; therapeutic agents.

I. INTRODUÇÃO

A designação do termo exossoma sofreu várias alterações desde a sua descoberta. Este foi inicialmente usado para descrever vesículas de 40 a 1000 nm que eram libertadas por uma variedade de culturas celulares, contudo a sua origem subcelular não era clara (Trams *et al.*, 1981). Mais tarde foi descrita a libertação de vesículas de 40 a 100 nm de diâmetro durante a diferenciação de reticulócitos como consequência da fusão dos corpos multivesiculares (MVBs) com a membrana plasmática (Harding *et al.*, 1984; Pan *et al.*, 1985). Em 1987, estas vesículas foram novamente isoladas e referidas como exossomas (Johnstone *et al.*, 1987).

Atualmente os exossomas são classificados com base no seu tamanho, densidade e composição molecular (será descrita mais à frente) (Simons *and* Raposo, 2009). Assim, os exossomas são nanovesículas membranares de 40-100 nm de diâmetro. Morfologicamente apresentam-se sob a forma de copo (*cup-shaped* após coloração em negativo) ou como vesículas redondas bem delimitadas, observação efetuada por microscopia de transmissão e crio-eletrónica, respetivamente (Conde-Vancells *et al.*, 2008). Os exossomas flutuam num gradiente de sacarose numa densidade, que varia de 1,13 a 1,19 g/ml (Thery *et al.*, 2006).

A libertação de exossomas foi verificada em várias células, como é o caso das células T citotóxicas, plaquetas, mastócitos, neurónios, oligodendrócitos, células de Schwann, e células epiteliais intestinais (Raposo *and* Stoorvogel, 2013). Para além disso, vesículas com características dos exossomas foram isoladas a partir de diversos fluidos corporais, incluindo sémen (Aalberts *et al.*, 2012), sangue (Caby *et al.*, 2005), urina (Pisitkun *et al.*, 2004), saliva (Palanisamy *et al.*, 2010), leite materno (Admyre *et al.*, 2007), líquido amniótico (Asea *et al.*, 2008), líquido cefalorraquidiano (Street *et al.*, 2012). Esta grande distribuição dos exossomas, bem como a sua composição em proteínas (Thery *et al.*, 2002) e RNAs (Valadi *et al.*, 2007) remetem-nos para a importância destas vesículas, bem como para as suas possíveis funções e, conseqüentemente, para a comunicação intercelular mediada pelos exossomas.

Desde a sua descoberta que os exossomas têm suscitado interesse e a sua investigação tem crescido. Contudo, desde que se descobriu que continham RNAs, a sua investigação intensificou-se. Prova disto é a criação de várias sociedades e até de um jornal exclusivo para temas relacionados com os exossomas. Esta crescente descoberta levou já à indicação de possíveis aplicações de diagnóstico e de terapêutica para estas vesículas.

2. EXOSSOMAS

2.1 Biogénese

Os exossomas derivam da formação de MVBs, que não são mais do que endossomas tardios que contêm vesículas intraluminais (ILVs) no seu interior. Os endossomas tardios fazem parte do chamado sistema endossomal que controla a captação e processamento de vários tipos de macromoléculas do meio extracelular e da membrana plasmática para dentro da célula. Este sistema é constituído por diferentes organelos vesiculares interligados: vesículas de endocitose primárias, endossomas primários, endossomas de reciclagem, endossomas tardios, e lisossomas (Scita *and* Di Fiore, 2010; van Meel *and* Klumperman, 2008).

Os endossomas primários dão origem a endossomas tardios (Stoorvogel *et al.*, 1991) e durante este processo acumulam ILVs no seu interior. Estas ILVs formam-se por invaginação da membrana limitante dos endossomas tardios e, devido particularmente a esta característica morfológica, os endossomas tardios são também chamados de MVBs. Inicialmente

pensava-se que os MVBs se fundiam com os lisossomas para degradar a sua carga intraluminal (Futter *et al.*, 1996). Contudo, além da importância reconhecida desta via de tráfego intracelular, tornou-se claro que os MVBs também se podem fundir com a membrana plasmática para libertar as ILVs como exossomas, no espaço extracelular (Harding *et al.*, 1983; Pan *et al.*, 1985) (Figura 1).

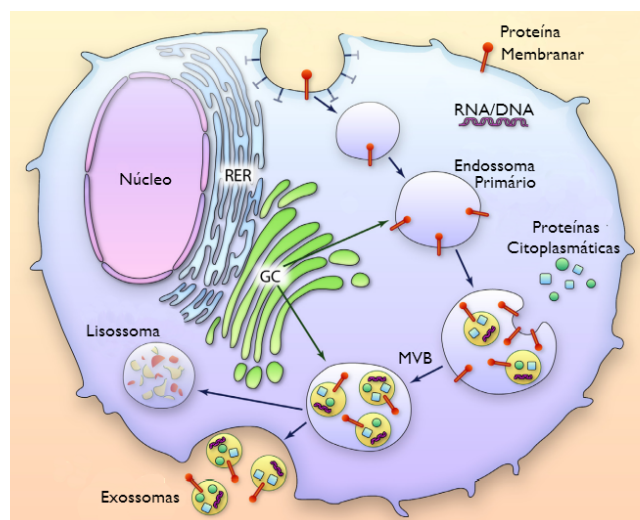


Figura 1 - Representação esquemática da biogénese dos exossomas. Os endossomas primários dão origem a endossomas tardios, e estes sofrem invaginação da sua membrana, formando ILVs no seu interior, passando a designar-se MVBs. Durante este processo as ILVs incorporam lípidos, material genético e proteínas citoplasmáticas. Os MVBs podem fundir-se com os lisossomas, sendo o seu conteúdo degradado, ou, podem fundir-se com a membrana plasmática da célula, libertando as ILVs, que no exterior passam a designar-se exossomas (Waldenstrom *and* Ronquist, 2014). Legenda: RER – Retículo Endoplasmático Rugoso; GC – Complexo de Golgi.

2.1.1 Mecanismos de formação de MVBs e ILVs

Estudos recentes indicam que a maquinaria molecular para a formação de ILVs é mais diversificada do que previamente reconhecido. Em geral, a formação de ILVs envolve a

invaginação da membrana limitante de um endossoma, com inclusão de conteúdo do citoplasma, seguida pela formação de vesículas que se libertam no lúmen do endossoma.

2.1.1.1 Mecanismo ESCRT-dependente

O mecanismo melhor descrito para a formação de MVBs e ILVs é conduzido pelo *Endosomal Sorting Complex Required for Transport* (ESCRT), que é composto por quatro complexos multiproteicos: ESCRT-0, ESCRT-I, ESCRT-II e ESCRT-III, com proteínas associadas: Vps4 (*Vacuolar protein sorting 4*), ALIX, Tsg101, Ist1 homolog (*Increased sodium tolerance 1*), Vps20, Vps24, entre outras (Raiborg and Stenmark, 2009).

O ESCRT-0 forma heterodímero obrigatório com HRS (*Hepatocyte growth factor–Regulated tyrosine kinase Substrate*) e STAM (*Signal Transducing Adaptor*

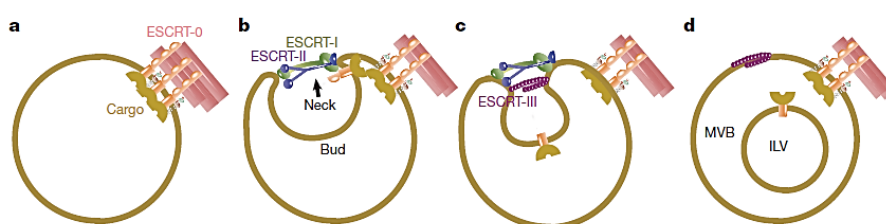


Figura 2 - Mecanismo de formação de ILVs ESCRT-dependente. a: ESCRT-0 aglomera e liga-se a proteínas ubiquitinadas. b: O ESCRT-I e -II contêm vários locais de ligação à membrana que sustentam a abertura desta no “pescoço” da vesícula. c: ESCRT-II recruta Vps20, que por sua vez recruta Snf7 (ambos componentes do ESCRT-III), o principal motor para a cisão da vesícula em formação. d: Após cisão, a carga é internalizada em ILVs, enquanto que o ESCRT-III permanece na parte externa da membrana limitante, até que é reciclado por Vps4 (Wollert and Hurley, 2010).

Molecule) (Raiborg and Stenmark, 2009). Este complexo reconhece e sequestra proteínas transmembranares ubiquitinadas da membrana endossomal limitante. Para além disso, recruta o complexo ESCRT-I, através da interação de HRS com a proteína Tsg101 (*Tumor susceptibility gene 101*), um componente do ESCRT-I (Bache et al., 2003). Por sua vez, o complexo ESCRT-I recruta o ESCRT-II, e estes dois são responsáveis pela invaginação da membrana do MVB. Posteriormente, o ESCRT-III é recrutado pelo ESCRT-II, e conduz à separação da vesícula em formação da membrana, formando ILVs no lúmen dos MVBs (Hanson and Cashikar, 2012; Wollert and Hurley, 2010) (Figura 2).

Os mecanismos de inclusão em ILVs de proteínas citoplasmáticas solúveis ainda não são muito bem compreendidos, mas recentemente foi proposto um papel para a proteína *chaperone*, hsc70: esta liga-se a proteínas citoplasmáticas solúveis que contenham uma sequência *KFERQ*, no exterior da membrana dos MVBs. Verificou-se também que este processo é dependente de Tsg101 e Vps4 (Sahu et al., 2011).

2.1.1.2 Mecanismos ESCRT-independentes

No entanto, algumas evidências sugerem que MVBs e ILVs podem formar-se na ausência dos complexos ESCRT. Verificou-se que a inativação concomitante de quatro proteínas dos complexos ESCRT não suprime a formação de MVBs (Stuffers *et al.*, 2009).

Um dos mecanismos propostos para a formação de ILVs ESCRT-independente é dependente da esfingomielinase. Um estudo realizado em linhas celulares oligodendrogliais mostrou que a formação e secreção de exossomas não requer o sistema ESCRT, mas é dependente da esfingomielinase, uma enzima que produz ceramida (Trajkovic *et al.*, 2008). Estas observações são consistentes com a presença de altas concentrações de ceramida e derivados, em exossomas (Trajkovic *et al.*, 2008). Além disso, a estrutura em forma de cone da ceramida pode induzir curvatura espontânea negativa na bicamada lipídica, promovendo a invaginação da membrana (Simons *and* Raposo, 2009).

Outra via de formação das ILVs baseia-se em tetraspaninas, mais concretamente na proteína CD63. Estudos realizados em melanócitos mostraram que a CD63 promove a entrada em ILVs de *premelanosome* (proteína incorporada em exossomas de células de melanoma), independentemente de ESCRT e da ceramida (Edgar *et al.*, 2014; van Niel *et al.*, 2011). As tetraspaninas são conhecidas por formar oligómeros, interagindo com outras tetraspaninas e com uma variedade de proteínas citoplasmáticas e transmembranares (Zoller, 2009). Estas características reforçam a ideia da formação de ILVs via tetraspaninas.

A possível existência de mecanismos diferentes para formação de ILVs faz com que possam existir subpopulações diferentes de MVBs e ILVs na mesma célula (Simons *and* Raposo, 2009).

2.2 **Composição**

2.2.1 Proteínas

A origem endossomal dos exossomas explica o facto de estes não apresentarem proteínas do núcleo, mitocôndrias, complexo de *Golgi*, ou do retículo endoplasmático. Por outro lado contêm muitas proteínas citoplasmáticas, proteínas da membrana endossomal e proteínas da membrana plasmática (Thery *et al.*, 2002).

Enquanto que algumas das proteínas exossomais podem refletir a sua abundância na célula, outras estão enriquecidas nos exossomas e, portanto, podem ser definidas como proteínas tipicamente exossomais (Alix, flotilinas, Tsg101, CD63), embora não exista ainda consenso quanto às proteínas que definem exclusivamente uma população exossomal (Wubbolts *et al.*, 2003).

Como consequência da sua origem endossomal quase todos os exossomas, independentemente do tipo de célula a partir da qual têm origem, contêm proteínas envolvidas: no transporte e fusão membranar (por exemplo, Rab GTPases, anexinas, flotilinas); na formação de MVBs (por exemplo, Alix e Tsg101), e contêm também *heat shock proteins* (Hsp 70 e Hsp 90), integrinas, tetraspaninas (por exemplo, CD63, CD9, CD81 e CD82), e componentes do citoesqueleto (por exemplo actina e tubulina). Os exossomas também podem conter proteínas envolvidas em funções específicas da célula, como é o caso do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), presente em exossomas de células apresentadoras de antígenos (Thery *et al.*, 2002; Wubbolts *et al.*, 2003).

2.2.2 Lípidos

Os exossomas são ricos em lípidos (*raft-lipids*), tais como colesterol, esfingolípido, ceramida e glicerofosfolípidos de cadeia longa e de ácidos gordos saturados (Subra *et al.*, 2007; Wubbolts *et al.*, 2003).

2.2.3 mRNA e miRNA

Um estudo mostrou que os exossomas contêm mRNAs e microRNAs (miRNAs) que podem ser entregues noutra célula, e ser funcionais neste novo local (Valadi *et al.*, 2007).

Os microRNAs são uma classe de pequenos RNAs não-codificantes que regulam a expressão génica pós-transcricional (Yates *et al.*, 2013). A nível extracelular podem ser detetados em fluidos corporais, complexados com proteínas da família AGO ou em exossomas ou outras microvesículas (Turchinovich *et al.*, 2012).

Tem-se vindo a verificar que o repertório de miRNAs em exossomas pode diferir do da célula produtora (Guduric-Fuchs *et al.*, 2012; Nolte-'t Hoen *et al.*, 2012). Para além disso, um estudo analisou os níveis de expressão de miRNAs de uma variedade de linhas celulares e seus respetivos exossomas, e descreveram que um subconjunto de miRNAs (por exemplo, o miR-150, miR-142-3p, e miR-451) são preferencialmente segregados nos exossomas (Guduric-Fuchs *et al.*, 2012). Isto sugere que a incorporação de miRNAs específicos nos exossomas pode ser ativamente regulada, apesar dos mecanismos subjacentes permanecerem desconhecidos. Um estudo recente identificou uma sequência específica de 4 nucleótidos (GGAG) presente nos miRNAs dos exossomas de células T. A ribonucleoproteína A2B1 liga-se especificamente à sequência GGAG dos microRNAs, direcionando-os para os MVBs, promovendo a sua secreção via exossomas (Villarroya-Beltri *et al.*, 2013).

O facto de se ter verificado que componentes do RISC (*RNA-Induced Silencing Complex*) se acumulavam em MVBs sugere um possível ponto de partida para outra teoria. Teoria essa,

que considera um possível envolvimento do RISC no transporte de RNAs para os exossomas (Gibbins *et al.*, 2009).

2.3 Secreção

Depois de formados, os MVBs podem seguir a via de degradação lisossomal, resultando na digestão das ILVs, ou podem fundir-se com a membrana plasmática libertando os exossomas para o meio extracelular, como já foi referido. Aquilo que leva os MVBs a seguir uma ou outra via ainda é desconhecido, contudo começam já a surgir algumas propostas. Evidências bioquímicas e morfológicas mostram que estes dois destinos distintos dependem de populações distintas de MVBs (e ILVs) que coexistem na mesma célula (Raposo *and* Stoorvogel, 2013). Por exemplo, a ceramida parece ser usada para a génese de uma população de ILVs que não estão destinadas para o transporte para os lisossomas, mas são segregadas como uma classe de exossomas (Trajkovic *et al.*, 2008).

Ainda não são bem conhecidos todos os processos que envolvem a libertação dos exossomas para o meio extracelular (mobilização para, ancoragem, e fusão com a membrana plasmática). Contudo, estudos realizados sugerem que estes processos requerem o citoesqueleto (actina e microtúbulos) associado a motores moleculares (cinesinas e miosinas), pequenas GTPases, nomeadamente Rab, e maquinaria de fusão – SNAREs (*Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor-Attachment protein REceptor*) (Cai *et al.*, 2007).

Relativamente às Rab GTPases, estas são conhecidas por regular o tráfego membranar, e os primeiros indícios da sua participação na libertação de exossomas surgiram a partir de estudos em linhas celulares de reticulócitos, que requeriam a função da Rab 11 para a libertação destas vesículas (Savina *et al.*, 2002). Mais recentemente, num *screening* de RNAi em células HeLa, tendo como alvo 59 membros da família Rab GTPase, o silenciamento da Rab27a ou da Rab27b reduziu significativamente a quantidade de exossomas libertados (Ostrowski *et al.*, 2010).

Uma descoberta interessante, ainda relacionada com a libertação de exossomas, é que esta pode ser regulada. Por exemplo, as plaquetas são estimuladas a libertar exossomas em resposta à ativação do recetor da trombina (Heijnen *et al.*, 1998). Outro exemplo é a despolarização da membrana plasmática, que aumenta a rápida secreção de exossomas por células neuronais (Faure *et al.*, 2006).

3. COMUNICAÇÃO INTERCELULAR

As funções fisiológicas e fisiopatológicas dos exossomas dependem da capacidade destes para interagirem com as células recetoras, a fim de lhes transmitirem o seu conteúdo de proteínas, lípidos e RNAs. Verificou-se que os exossomas podem entrar nas células recetoras por endocitose (Morelli *et al.*, 2004), fagocitose (Feng *et al.*, 2010) de toda a vesícula e/ou por fusão com a membrana plasmática (Parolini *et al.*, 2009). Este processo permite assim a troca de informação e consequentemente a comunicação intercelular.

Desde a descoberta de que os exossomas participam na apresentação de antigénios (Raposo *et al.*, 1996), este novo mecanismo de comunicação intercelular tem sido demonstrado em vários processos. Na tabela I encontra-se um resumo de algumas funções exossomais, mais relevantes, já descritas em células de mamíferos (Lopez-Verrilli *and* Court, 2013).

Tabela I - Funções dos exossomas descritas em células de mamíferos.

Efeito/Função	Referências
Capacidade de apresentação de antigénios	(Raposo <i>et al.</i> , 1996)
Exossomas contêm mRNA e miRNA que podem ser transferidos para outras células onde são funcionais	(Valadi <i>et al.</i> , 2007)
“Trojan horses” para propagação de agentes patogénicos, como por exemplo de priões	(Fevrier <i>et al.</i> , 2004)
Disseminação de doenças neurodegenerativas	(Emmanouilidou <i>et al.</i> , 2010; Saman <i>et al.</i> , 2012)
Efeitos antitumorais	(Zhang <i>et al.</i> , 2011)
Pro-metastásico	(Peinado <i>et al.</i> , 2012)
Biomarcadores para diagnóstico do cancro	(Skog <i>et al.</i> , 2008)

Pela análise da Tabela I vemos que são já atribuídas muitas funções aos exossomas, nomeadamente a sua capacidade de comunicação intercelular, para a qual se tem vindo a manifestar um crescente interesse. Um aspeto importante é a possibilidade do RNA, associado ao exossoma, poder ser entregue a células recetoras, influenciando o seu transcriptoma, proteoma, e funções celulares (Valadi *et al.*, 2007).

4. PAPEL DOS EXOSSOMAS NAS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

A maioria das células do sistema nervoso central (SNC), incluindo neurónios, astrócitos, oligodendrócitos e micróglia libertam exossomas. Estes têm sido isolados não apenas a partir

Exossomas e o seu papel na comunicação intercelular do líquido cefalorraquidiano (Street *et al.*, 2012), mas também a partir do cérebro humano adulto (Banigan *et al.*, 2013).

Os exossomas parecem mediar vários processos vitais, necessários para o normal funcionamento do cérebro. Por exemplo, as células da micróglia podem estimular a atividade sináptica dos neurónios via exossomas (Antonucci *et al.*, 2012). Outro estudo sugere que os exossomas libertados por oligodendrócitos em resposta à ativação de glutamato e captados pelos neurónios possam apoiar o metabolismo neuronal e, conseqüentemente contribuir para a neuroproteção (Fruhbeis *et al.*, 2013). Para além disso, exossomas derivados de células de Schwann parecem aumentar significativamente a regeneração axonal *in vitro* e, melhorar a regeneração do nervo ciático após lesão, *in vivo*, propondo assim um papel de regeneração axonal para os exossomas libertados por este tipo de células (Lopez-Verrilli *et al.*, 2013).

Contudo, estes também estão envolvidos na patogénese de muitas doenças neuroinflamatórias de natureza, tanto infecciosa como neurodegenerativa.

De natureza infecciosa, temos como exemplo o seu possível envolvimento nas doenças priónicas (desordens neurodegenerativas infecciosas, associadas à acumulação de uma proteína priónica anormal), pois um estudo verificou a presença destas proteínas em exossomas, sugerindo a sua propagação pelo organismo (Fevrier *et al.*, 2004).

Relativamente ao envolvimento dos exossomas na patogénese de doenças de natureza neurodegenerativa, estes parecem estar envolvidos, por exemplo, nas doenças de *Alzheimer* e de *Parkinson*, como vou mostrar de seguida. Evidências crescentes sugerem que os exossomas podem servir como veículos para proteínas com conformação anormal e patogénicas, iniciando e propagando a doença às células vizinhas (Fevrier *et al.*, 2004; Vella *et al.*, 2007).

4.1 Doença de Alzheimer

A doença de *Alzheimer* (DA) é a forma de demência associada à idade mais comum em seres humanos (Avramopoulos, 2009; Guo *et al.*, 2010). Esta doença é caracterizada pela acumulação, a nível extracelular, de placas amilóide β ($A\beta$) e, a nível intracelular, de tranças neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada, que conduzem à perda lenta e progressiva de neurónios.

O péptido $A\beta$ é formado pela clivagem proteolítica sequencial da proteína precursora amilóide transmembranar (APP) por duas enzimas associadas à membrana, β -secretase e γ -secretase (Murphy and LeVine, 2010). Um estudo demonstrou que a clivagem da APP, pela β -secretase ocorre num subconjunto específico de endossomas e é incorporada nos MVBs,

Exossomas e o seu papel na comunicação intercelular sendo depois libertada em associação com os exossomas (Rajendran *et al.*, 2006). Curiosamente, foram encontradas proteínas exossomais tais como *Alix* e *flotillin-1* acumuladas em torno de placas amilóides nos cérebros de doentes com DA, reforçando o papel dos exossomas na propagação de A β (Rajendran *et al.*, 2006).

Para além disto, verificou-se que os exossomas podem transportar a proteína tau fosforilada, também associada à neurodegenerescência (Saman *et al.*, 2012), e podem ainda ser responsáveis pela disseminação entre células da proteína tau (Frost *et al.*, 2009) podendo assim contribuir para a disseminação da doença.

4.2 Doença de Parkinson

Depois de DA, a doença de Parkinson (DP) é a doença neurodegenerativa mais comum, afetando quase 1% da população com mais de 50 anos (Russo *et al.*, 2012). As duas marcas patológicas da doença são a presença de inclusões citoplasmáticas denominadas corpos de Lewy e a degenerescência e perda seletiva de neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta* (SNpc), resultando nos principais sintomas a nível motor da DP, entre os quais: tremor de repouso, rigidez muscular, bradicinésia e instabilidade postural (Gallegos *et al.*, 2015). Os corpos de Lewy são agregados proteicos esféricos que contêm ubiquitina e fibras de α -sinucleína (α -sin), localizados na substância *nigra* e em várias estruturas do SNC (Spillantini *et al.*, 1998). A α -sin é uma proteína neuronal pré-sináptica e a sua forma sob oligómeros tóxicos tem vindo a ser associada à DP (Goldberg and Lansbury Jr, 2000).

Um estudo realizado, que recorreu à luciferase de *Gaussia* humanizada, mostrou o envolvimento de exossomas no transporte de α -sin para o ambiente extracelular, difundindo assim os oligómeros tóxicos para outros neurónios (Danzer *et al.*, 2012). Recorrendo a uma cultura de células SH-SY5Y, um estudo mostrou que o *uptake* de exossomas, por neurónios saudáveis, contendo α -Sin induz a morte celular (Emmanouilidou *et al.*, 2010).

Como pudemos ver, os exossomas parecem ter um papel importante na DP através da propagação de α -sin entre neurónios.

5. APLICAÇÕES

5.1 Exossomas como biomarcadores

Os exossomas são libertados pelas células, quer sob condições fisiológicas, quer sob condições patológicas. E, como referido anteriormente, podem transportar proteínas, ácidos nucleicos e lípidos da célula dadora, que indicam a sua condição fisiopatológica, e portanto, podem tornar-se possíveis biomarcadores para o diagnóstico clínico. Além disso, os

Exossomas e o seu papel na comunicação intercelular exossomas podem ser isolados a partir de fluidos biológicos facilmente acessíveis, como o sangue e a urina, tornando-os alvos muito atraentes para aplicação no diagnóstico, prognóstico e resposta a tratamento. Na Tabela 2 estão representadas algumas proteínas exossomais e na Tabela 3 estão representados alguns RNAs exossomais, que têm potencialidade como biomarcadores no diagnóstico clínico (Lin *et al.*, 2015).

Tabela 2- Sumário de proteínas exossomais para aplicações de diagnóstico clínico.

Fluido Biológico	Doença	Proteínas associadas	Referências
Plasma	Hepatite C crónica	CD81	(Welker <i>et al.</i> , 2012)
	Melanoma	CD63, caveolin-1, TYRP2, VLA-4, HSP70, HSP90	(Logozzi <i>et al.</i> , 2009; Peinado <i>et al.</i> , 2012)
	Glioblastoma	Recetor epidermal do fator de crescimento VIII	(Skog <i>et al.</i> , 2008)
	Cancro da Próstata	Survivina	(Khan <i>et al.</i> , 2012)
Urina	Lesão Renal Aguda	Fetuína-A, ATF 3	(Zhou <i>et al.</i> , 2008; Zhou <i>et al.</i> , 2006)
	Lesão Hepática	CD26, CD81, S1c3A1, CD10	(Conde-Vancells <i>et al.</i> , 2010)
	Síndrome de Bartter tipo I	NKCC2	(Gonzales <i>et al.</i> , 2009)
	Cancro da Bexiga	EGF, , resistina, entre outras	(Smalley <i>et al.</i> , 2008)
	Cancro da Próstata	PSA, PCA3	(Nilsson <i>et al.</i> , 2009)
	<i>Parkinson</i>	DJ-1	(Ho <i>et al.</i> , 2014)
Líquido cefalorraquidiano	<i>Alzheimer</i>	Proteína tau fosforilada	(Saman <i>et al.</i> , 2012)

Tabela 3 - Sumário de alguns RNAs exossomais para aplicações de diagnóstico clínico.

Fluido Biológico	Doença	RNAs associados	Referências
Plasma	Cancro do ovário	miR-21, -141, -200a, -200b, -200c, -203, -205, -214	(Taylor and Gercel-Taylor, 2008)
	Cancro do pulmão	miR-17, -3p, -21, -20b, -223, -301, let-7f	(Rabinowits <i>et al.</i> , 2009; Silva <i>et al.</i> , 2011)
	Cancro da próstata	miR-141, miR-375	(Brase <i>et al.</i> , 2011; Mitchell <i>et al.</i> , 2008)
	Carcinoma de células escamosas do esófago	miR-21, miR-1246	(Takeshita <i>et al.</i> , 2013; Tanaka <i>et al.</i> , 2013)
	Doença cardiovascular	miR-1, miR-133a	(Chen <i>et al.</i> , 2006; Kuwabara <i>et al.</i> , 2011)

Cultura celular média	Cancro gástrico	Let-7 família miRNAs	(Ohshima <i>et al.</i> , 2010)
	Cancro colorretal	mRNAs	(Hong <i>et al.</i> , 2009)
Urina	Fibrose renal	miR-29c, CD2APmRNA	(Lv <i>et al.</i> , 2013; Lv <i>et al.</i> , 2014)
Sangue	<i>Alzheimer</i>	miR-137, -181c, -9, -29a/b; miR-193b	(Geekiyana <i>et al.</i> , 2012; Liu <i>et al.</i> , 2014)

Para além dos fluidos biológicos referidos, a saliva é outro fluido facilmente obtido por métodos não invasivos, a partir da qual foram encontrados exossomas que continham proteínas e ácidos nucleicos que podem vir a servir de biomarcadores de doença (Palanisamy *et al.*, 2010). Por exemplo, num estudo em que isolaram miRNAs de exossomas salivares de voluntários saudáveis e de doentes com Síndrome de *Sjögren* é sugerido o potencial destes exossomas como biomarcadores para o diagnóstico de diversas patologias das glândulas salivares, como é o caso do Síndrome de *Sjögren* (Michael *et al.*, 2010). Por outro lado, um estudo que utilizou como modelo ratinhos mostrou a presença de biomarcadores transcriptómicos específicos do cancro pancreático em exossomas presentes na saliva (Lau *et al.*, 2013).

Apesar de terem sido identificados possíveis biomarcadores, são necessários mais estudos que mostrem a sua viabilidade, pois o problema destes estudos é a sua pouca reprodutibilidade, a falta de métodos de isolamento padrão, padrões de biomarcadores, ou métodos de análise padrão (Jia *et al.*, 2014).

5.2 Exossomas como agentes terapêuticos

Para além da sua utilização como biomarcadores, os exossomas também têm vindo a mostrar o seu potencial como agentes terapêuticos.

Uma das aplicações dos exossomas que tem vindo a ser estudada é a sua aplicação a nível oncológico na geração de uma resposta imune contra tumores. Pois, desde a descoberta de que os exossomas derivados de células dendríticas (Dex) podem modular a resposta imune ao expor MHC de classe I e II, e moléculas estimuladoras de células T (Zitvogel *et al.*, 1998), que têm vindo a ser realizados ensaios clínicos para aplicação de vacinas contra tumores contendo Dex. Por exemplo, um estudo de fase I em doentes com melanoma avaliou a vacinação com Dex, tendo-se verificado a sua segurança e até um aumento de células NK (*Natural Killer*) (Escudier *et al.*, 2005).

Outra aplicação bastante promissora dos exossomas é a sua utilização como *drug delivery systems*. Por exemplo, estudos realizados com ratos mostraram uma entrega eficaz de siRNA

Exossomas e o seu papel na comunicação intercelular no cérebro destes animais, através da injeção sistémica de exossomas (Alvarez-Erviti *et al.*, 2011; Cooper *et al.*, 2014).

5.3 Ensaios clínicos

Consultando o sítio “*clinical trials*” e pesquisando pelo termo “*exosome*”, verificamos que existem 11 ensaios em recrutamento, 3 que ainda não estão a recrutar, e 2 completos. Por exemplo, alguns dos ensaios têm como títulos: “*LRRK2 and Other Novel Exosome Proteins in Parkinson's Disease*”; “*Phase I Clinical Trial Investigating the Ability of Plant Exosome to Deliver Curcumin to Normal and Malignant Colon Tissue*”; “*Pilot Study of Exosomes Before and After BRAF Inhibitor Therapy in Patients With Advanced Unresectable or Metastatic BRAF Mutation-positive Melanoma*”; “*Circulating Exosomes As Potential Prognostic And Predictive Biomarkers In Advanced Gastric Cancer Patients: A Prospective Observational Study*”. Lendo estes títulos podemos ver que a maior parte dos ensaios a decorrer se relaciona com os exossomas e o cancro (*Clinical Trials*).

5.4 Patentes e empresas

Consultando o sítio de patentes “*espacenet patent search*”, e pesquisando pelo termo “*exosome*” surgem cerca de 244 entradas, 126 patentes. O que indica já uma grande aposta na biotecnologia com exossomas. A maioria das patentes são relacionadas com métodos de isolamento, deteção e purificação de exossomas, e na sua maioria os requerentes são instituições universitárias. Contudo existem já patentes mais direcionadas para a aplicação dos exossomas. Por exemplo:

- WO2015112382 (A1) — 2015-07-30 - Deteção mediada por exossomas de infeções e doenças; Requerente: Morehouse School of Medicine [US];
- EP2010663 (A1) — 2009-01-07 - Transferência de ácidos nucleicos para as células por exossomas; Requerentes: Loetvall, Jan Olof; Valadi, Hadi (*Espacenet*).

São já algumas as empresas que produzem biotecnologia baseada nos exossomas. De seguida encontra-se uma breve referência a algumas dessas empresas.

- *Exosome Diagnostics*: empresa focada em desenvolver e comercializar diagnósticos revolucionários baseados em fluidos biológicos para prestar cuidados de saúde personalizados e precisos que melhorem vidas. Os diagnósticos aproveitam o potencial dos exossomas presentes em vários fluidos biológicos e que contêm RNA e proteínas da célula de origem. Utilizando a sua tecnologia “*best-in-class*”, está a desenvolver testes de diagnóstico inovadores baseados nos exossomas. Além disso, tem parcerias com várias organizações e indústrias a fim de acelerar a adoção da sua tecnologia (*Exosome Diagnostics*).

- *Life Technologies*: líder na utilização de exossomas em diagnósticos. A empresa desenvolveu tecnologias para capturar e isolar exossomas dos fluidos corporais, e para isolar e analisar as proteínas ou RNA destes. Esta empresa comercializa uma ampla gama de reagentes e *kits* para isolamento total de exossomas, a partir de meios de cultura de células e de vários fluidos corporais. Além disso, também vende *kits* de: isolamento de subpopulações específicas de exossomas; análise de exossomas intactos; isolamento e análise de RNA e proteínas de exossomas (*Life Technologies*).

- *Exosome Sciences, Inc.*: é uma subsidiária da *Aethlon Medical, Inc.*, que cria ferramentas de diagnóstico para detetar e quantificar a presença de exossomas no sangue e noutros fluidos. O seu produto principal, o *Enzyme Linked Lectin Specific Assay*, foi validado para identificar a presença de exossomas subjacentes ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), tuberculose, e a várias formas de cancro, incluindo os do ovário, da mama, colorretal, melanoma e linfoma (*Exosome Sciences*).

- *Exovita Biosciences, Inc.*: é uma *startup* de biotecnologia sediada no Novo México que está a desenvolver terapêuticas para o cancro baseadas nos exossomas aproveitando as defesas naturais do organismo para combater o cancro (*Exovita Biosciences*).

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Apesar de nos últimos anos se verificar um aumento notável de estudos acerca dos exossomas, só se conseguiu levantar uma ponta do véu. Assim, grande parte do futuro passa por continuar a realizar estudos a fim de os ficarmos a conhecer melhor.

Para além da sua potencialidade no diagnóstico clínico como biomarcadores, ilustrada anteriormente, existem já estudos que dirigem os exossomas para outras aplicações, pois estes têm propriedades atraentes que podem ser exploradas para intervenção terapêutica. Um exemplo, já referido, é a aplicação dos exossomas na imunoterapia do cancro, gerando uma resposta imune contra o tumor, tendo já sido realizados ensaios de fase I, que necessitam de ser consolidados com mais ensaios (Viaud *et al.*, 2010). Por outro lado, verificou-se que os exossomas produzidos pelas células tumorais também podem suprimir a resposta imune (Zhang *and* Grizzle, 2011). Isto demonstra o quão complexa é esta área, e por conseguinte o muito que ainda há por descobrir.

O futuro da área dos exossomas passa também pelo desenvolvimento destes enquanto *drug delivery systems*. Pois, este conceito torna-se bastante interessante para possíveis aplicações terapêuticas em doenças do SNC, pela facilidade que os exossomas têm em atravessar a barreira hematoencefálica (Alvarez-Erviti *et al.*, 2011).

Outra questão a explorar é a possível resistência a fármacos causada por exossomas, por diversas formas, ainda não compreendidas (Safaei *et al.*, 2005; Shao *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2014).

7. CONCLUSÃO

Durante os últimos 30 anos tem havido um aumento de estudos que visam compreender a biologia dos exossomas, contudo ainda existem muitas incertezas e há ainda muito por desvendar. Uma das dificuldades à investigação deste tema tem passado pela dificuldade do isolamento dos exossomas e pela falta de procedimentos eficientes e consistentes entre laboratórios. Apesar disso, algumas empresas já desenvolveram, e continuam a desenvolver, kits de isolamento e quantificação dos exossomas, o que permitirá, de certo modo, um crescimento ainda maior da investigação nesta área.

A descoberta de possíveis implicações dos exossomas em processos fisiológicos e patológicos pode ser um ponto de partida para desvendarmos alguns dos mistérios de várias patologias, pois estes foram já associados a algumas, como é o caso da doença de *Alzheimer*. Para além disso, também se tem vindo a mostrar que estes possuem um papel chave na comunicação intercelular e influenciam o fenótipo das células recetoras. Isto leva-nos até às promissoras aplicações dos exossomas, existindo já bibliografia assinalável sobre a sua possível utilização como biomarcadores no diagnóstico clínico.

Para realçar ainda mais a importância destas nanovesículas, surgiram já empresas, na área farmacêutica/biotecnológica, especializadas ou com alguma especialização em exossomas.

“The most provocative interpretation of exosomes is that they represent vesicular carries with virus-like properties that regulate gene regulation” (Simons and Raposo, 2009).

8. BIBLIOGRAFIA

- AALBERTS, M., F. M. VAN DISSEL-EMILIANI, N. P. VAN ADRICHEM, M. VAN WIJNEN, M. H. WAUBEN, T. A. STOUT, AND W. STOOORVOGEL, - Identification of distinct populations of prostasomes that differentially express prostate stem cell antigen, annexin A1, and GLIPR2 in humans. *Biol Reprod*, v. 86 (2012) p. 82.
- ADMYRE, C., S. M. JOHANSSON, K. R. QAZI, J. J. FILEN, R. LAHESMAA, M. NORMAN, E. P. NEVE, A. SCHEYNIUS, AND S. GABRIELSSON, - Exosomes with immune modulatory features are present in human breast milk. *J Immunol*, v. 179 (2007) p. 1969-78.
- ALVAREZ-ERVITI, L., Y. SEOW, H. YIN, C. BETTS, S. LAKHAL, AND M. J. WOOD, - Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol*, v. 29 (2011) p. 341-5.
- ANTONUCCI, F., E. TUROLA, L. RIGANTI, M. CALEO, M. GABRIELLI, C. PERROTTA, L. NOVELLINO, E. CLEMENTI, P. GIUSSANI, P. VIANI, M. MATTEOLI, AND C. VERDERIO, - Microvesicles released from microglia stimulate synaptic activity via enhanced sphingolipid metabolism. *Embo j*, v. 31 (2012) p. 1231-40.
- ASEA, A., C. JEAN-PIERRE, P. KAUR, P. RAO, I. M. LINHARES, D. SKUPSKI, AND S. S. WITKIN, - Heat shock protein-containing exosomes in mid-trimester amniotic fluids. *J Reprod Immunol*, v. 79 (2008) p. 12-7.
- AVRAMOPOULOS, D., - Genetics of *Alzheimer's* disease: recent advances. *Genome Med*, v. 1 (2009) p. 34.
- BACHE, K. G., A. BRECH, A. MEHLUM, AND H. STENMARK, - Hrs regulates multivesicular body formation via ESCRT recruitment to endosomes. *J Cell Biol*, v. 162 (2003) p. 435-42.
- BANIGAN, M. G., P. F. KAO, J. A. KOZUBEK, A. R. WINSLOW, J. MEDINA, J. COSTA, A. SCHMITT, A. SCHNEIDER, H. CABRAL, O. CAGSAL-GETKIN, C. R. VANDERBURG, AND I. DELALLE, - Differential expression of exosomal microRNAs in prefrontal cortices of schizophrenia and bipolar disorder patients. *PLoS One*, v. 8 (2013) p. e48814.
- BRASE, J. C., M. JOHANNES, T. SCHLOMM, M. FALTH, A. HAESE, T. STEUBER, T. BEISSBARTH, R. KUNER, AND H. SULTMANN, - Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *Int J Cancer*, v. 128 (2011) p. 608-16.
- CABY, M. P., D. LANKAR, C. VINCENDEAU-SCHERRER, G. RAPOSO, AND C. BONNEROT, - Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int Immunol*, v. 17 (2005) p. 879-87.
- CAI, H., K. REINISCH, AND S. FERRO-NOVICK, - Coats, tethers, Rabs, and SNAREs work together to mediate the intracellular destination of a transport vesicle. *Dev Cell*, v. 12 (2007) p. 671-82.
- CHEN, J. F., E. M. MANDEL, J. M. THOMSON, Q. WU, T. E. CALLIS, S. M. HAMMOND, F. L. CONLON, AND D. Z. WANG, - The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*, v. 38 (2006) p. 228-33.
- CLINICAL TRIALS, [Consultado a 11 de agosto de 2015], Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=exosome&Search=Search>
- CONDE-VANCELLS, J., E. RODRIGUEZ-SUAREZ, N. EMBADE, D. GIL, R. MATTHIESEN, M. VALLE, F. ELORTZA, S. C. LU, J. M. MATO, AND J. M. FALCON-PEREZ, - Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes. *J Proteome Res*, v. 7 (2008) p. 5157-66.
- CONDE-VANCELLS, J., E. RODRIGUEZ-SUAREZ, E. GONZALEZ, A. BERISA, D. GIL, N. EMBADE, M. VALLE, Z. LUKA, F. ELORTZA, C. WAGNER, S. C. LU, J. M. MATO,

- AND M. FALCON-PEREZ, - Candidate biomarkers in exosome-like vesicles purified from rat and mouse urine samples. *Proteomics Clin Appl*, v. 4 (2010) p. 416-25.
- COOPER, J. M., P. B. WIKLANDER, J. Z. NORDIN, R. AL-SHAWI, M. J. WOOD, M. VITHLANI, A. H. SCHAPIRA, J. P. SIMONS, S. EL-ANDALOUSSI, AND L. ALVAREZ-ERVITI, - Systemic exosomal siRNA delivery reduced alpha-synuclein aggregates in brains of transgenic mice. *Mov Disord*, v. 29 (2014) p. 1476-85.
- DANZER, K. M., L. R. KRANICH, W. P. RUF, O. CAGSAL-GETKIN, A. R. WINSLOW, L. ZHU, C. R. VANDERBURG, AND P. J. MCLEAN, - Exosomal cell-to-cell transmission of alpha synuclein oligomers. *Mol Neurodegener*, v. 7 (2012) p. 42.
- EDGAR, J. R., E. R. EDEN, AND C. E. FUTTER, - Hrs- and CD63-dependent competing mechanisms make different sized endosomal intraluminal vesicles. *Traffic*, v. 15 (2014) p. 197-211.
- EMMANOULIDOU, E., K. MELACHROINOI, T. ROUMELIOTIS, S. D. GARBIS, M. NTZOUNI, L. H. MARGARITIS, L. STEFANIS, AND K. VEKRELLIS, - Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival. *J Neurosci*, v. 30 (2010) p. 6838-51.
- ESCUDIER, B., T. DORVAL, N. CHAPUT, F. ANDRE, M. P. CABY, S. NOVAULT, C. FLAMENT, C. LÉBOULAIRE, C. BORG, S. AMIGORENA, C. BOCCACCIO, C. BONNEROT, O. DHELLIN, M. MOVASSAGH, S. PIPERNO, C. ROBERT, V. SERRA, N. VALENTE, J. B. LE PECQ, A. SPATZ, O. LANTZ, T. TURSZ, E. ANGEVIN, AND L. ZITVOGEL, - Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: results of the first phase I clinical trial. *J Transl Med*, v. 3 (2005) p. 10.
- ESPACENET, [Consultado a 11 de agosto de 2015], Disponível em: <http://worldwide.espacenet.com/>.
- EXOSOME DIAGNOSTICS, [Consultado a 13 de agosto de 2015], Disponível em: <http://www.exosomedx.com/about-us>.
- EXOSOME SCIENCES, [Consultado a 13 de agosto de 2015], Disponível em: <http://www.exosomesciences.com/>.
- EXOVITA BIOSCIENCES, [Consultado a 13 de agosto de 2015], Disponível em: <http://exovitabiotech.com/>.
- FAURE, J., G. LACHENAL, M. COURT, J. HIRRLINGER, C. CHATELLARD-CAUSSE, B. BLOT, J. GRANGE, G. SCHOEHN, Y. GOLDBERG, V. BOYER, F. KIRCHHOFF, G. RAPOSO, J. GARIN, AND R. SADOUL, - Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Mol Cell Neurosci*, v. 31 (2006) p. 642-8.
- FENG, D., W. L. ZHAO, Y. Y. YE, X. C. BAI, R. Q. LIU, L. F. CHANG, Q. ZHOU, AND S. F. SUI, - Cellular internalization of exosomes occurs through phagocytosis. *Traffic*, v. 11 (2010) p. 675-87.
- FEVRIER, B., D. VILETTE, F. ARCHER, D. LOEW, W. FAIGLE, M. VIDAL, H. LAUDE, AND G. RAPOSO, - Cells release prions in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 101 (2004) p. 9683-8.
- FROST, B., R. L. JACKS, AND M. I. DIAMOND, - Propagation of tau misfolding from the outside to the inside of a cell. *J Biol Chem*, v. 284 (2009) p. 12845-52.
- FRUHBEIS, C., D. FROHLICH, W. P. KUO, J. AMPHORN RAT, S. THILEMANN, A. S. SAAB, F. KIRCHHOFF, W. MOBIUS, S. GOEBBELS, K. A. NAVE, A. SCHNEIDER, M. SIMONS, M. KLUGMANN, J. TROTTER, AND E. M. KRAMER-ALBERS, - Neurotransmitter-triggered transfer of exosomes mediates oligodendrocyte-neuron communication. *PLoS Biol*, v. 11 (2013) p. e1001604.
- FUTTER, C. E., A. PEARSE, L. J. HEWLETT, AND C. R. HOPKINS, - Multivesicular endosomes containing internalized EGF-EGF receptor complexes mature and then fuse directly with lysosomes. *J Cell Biol*, v. 132 (1996) p. 1011-23.

- GALLEGOS, S., C. PACHECO, C. PETERS, C. M. OPAZO, AND L. G. AGUAYO, - Features of alpha-synuclein that could explain the progression and irreversibility of *Parkinson's* disease. *Front Neurosci*, v. 9 (2015) p. 59.
- GEEKIYANAGE, H., G. A. JICHA, P. T. NELSON, AND C. CHAN, - Blood serum miRNA: non-invasive biomarkers for *Alzheimer's* disease. *Exp Neurol*, v. 235 (2012) p. 491-6.
- GIBBINGS, D. J., C. CIAUDO, M. ERHARDT, AND O. VOINNET, - Multivesicular bodies associate with components of miRNA effector complexes and modulate miRNA activity. *Nat Cell Biol*, v. 11 (2009) p. 1143-9.
- GOLDBERG, M. S., AND P. T. LANSBURY JR, - Is there a cause-and-effect relationship between [alpha]-synuclein fibrillization and *Parkinson's* disease?. *Nat Cell Biol*, v. 2 (2000) p. E115-E119.
- GONZALES, P. A., T. PISITKUN, J. D. HOFFERT, D. TCHAPYJNIKOV, R. A. STAR, R. KLETA, N. S. WANG, AND M. A. KNEPPER, - Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes. *J Am Soc Nephrol*, v. 20 (2009) p. 363-79.
- GUDURIC-FUCHS, J., A. O'CONNOR, B. CAMP, C. L. O'NEILL, R. J. MEDINA, AND D. A. SIMPSON, - Selective extracellular vesicle-mediated export of an overlapping set of microRNAs from multiple cell types. *BMC Genomics*, v. 13 (2012) p. 357.
- GUO, L., J. DUGGAN, AND M. F. CORDEIRO, - *Alzheimer's* disease and retinal neurodegeneration. *Curr Alzheimer Res*, v. 7 (2010) p. 3-14.
- HANSON, P. I., AND A. CASHIKAR, - Multivesicular body morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, v. 28 (2012) p. 337-62.
- HARDING, C., J. HEUSER, AND P. STAHL, - Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J Cell Biol*, v. 97 (1983) p. 329-39.
- HARDING, C., J. HEUSER, AND P. STAHL, - Endocytosis and intracellular processing of transferrin and colloidal gold-transferrin in rat reticulocytes: demonstration of a pathway for receptor shedding. *Eur J Cell Biol*, v. 35 (1984) p. 256-63.
- HEIJNEN, H. F., N. DEBILI, W. VAINCHENCKER, J. BRETON-GORIUS, H. J. GEUZE, AND J. J. SIXMA, - Multivesicular bodies are an intermediate stage in the formation of platelet alpha-granules. *Blood*, v. 91 (1998) p. 2313-25.
- HO, D. H., S. YI, H. SEO, I. SON, AND W. SEOL, - Increased DJ-1 in urine exosome of Korean males with *Parkinson's* disease. *Biomed Res Int*, v. 2014 (2014) p. 704678.
- HONG, B. S., J. H. CHO, H. KIM, E. J. CHOI, S. RHO, J. KIM, J. H. KIM, D. S. CHOI, Y. K. KIM, D. HWANG, AND Y. S. GHO, - Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells. *BMC Genomics*, v. 10 (2009) p. 556.
- JIA, S., D. ZOCCO, M. L. SAMUELS, M. F. CHOU, R. CHAMMAS, J. SKOG, N. ZAROVNI, F. MOMEN-HERAVI, AND W. P. KUO, - Emerging technologies in extracellular vesicle-based molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn*, v. 14 (2014) p. 307-21.
- JOHNSTONE, R. M., M. ADAM, J. R. HAMMOND, L. ORR, AND C. TURBIDE, - Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem*, v. 262 (1987) p. 9412-20.
- KHAN, S., J. M. JUTZY, M. M. VALENZUELA, D. TURAY, J. R. ASPE, A. ASHOK, S. MIRSHAHIDI, D. MERCOLA, M. B. LILLY, AND N. R. WALL, - Plasma-derived exosomal survivin, a plausible biomarker for early detection of prostate cancer. *PLoS One*, v. 7 (2012) p. e46737.
- KUWABARA, Y., K. ONO, T. HORIE, H. NISHI, K. NAGAO, M. KINOSHITA, S. WATANABE, O. BABA, Y. KOJIMA, S. SHIZUTA, M. IMAI, T. TAMURA, T. KITA, AND T. KIMURA, - Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damage. *Circ Cardiovasc Genet*, v. 4 (2011) p. 446-54.

- LAU, C., Y. KIM, D. CHIA, N. SPIELMANN, G. EIBL, D. ELASHOFF, F. WEI, Y. L. LIN, A. MORO, T. GROGAN, S. CHIANG, E. FEINSTEIN, C. SCHAFER, J. FARRELL, AND D. T. WONG, - Role of pancreatic cancer-derived exosomes in salivary biomarker development. *J Biol Chem*, v. 288 (2013) p. 26888-97.
- LIFE TECHNOLOGIES, [Consultado a 13 de Agosto de 2015], Disponível em: <http://www.lifetechnologies.com/pt/en/home/life-science/cell-analysis/exosomes.html>.
- LIN, J., J. LI, B. HUANG, J. LIU, X. CHEN, X. M. CHEN, Y. M. XU, L. F. HUANG, AND X. Z. WANG, - Exosomes: novel biomarkers for clinical diagnosis. *ScientificWorldJournal*, v. 2015 (2015) p. 657086.
- LIU, C. G., J. SONG, Y. Q. ZHANG, AND P. C. WANG, - MicroRNA-193b is a regulator of amyloid precursor protein in the blood and cerebrospinal fluid derived exosomal microRNA-193b is a biomarker of *Alzheimer's* disease. *Mol Med Rep*, v. 10 (2014) p. 2395-400.
- LOGOZZI, M., A. DE MILITO, L. LUGINI, M. BORGHI, L. CALABRO, M. SPADA, M. PERDICCHIO, M. L. MARINO, C. FEDERICI, E. IESSI, D. BRAMBILLA, G. VENTURI, F. LOZUPONE, M. SANTINAMI, V. HUBER, M. MAIO, L. RIVOLTINI, AND S. FAIS, - High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients. *PLoS One*, v. 4 (2009) p. e5219.
- LOPEZ-VERILLI, M. A., AND F. A. COURT, - Exosomes: mediators of communication in eukaryotes. *Biol Res*, v. 46 (2013) p. 5-11.
- LOPEZ-VERILLI, M. A., F. PICOU, AND F. A. COURT, - Schwann cell-derived exosomes enhance axonal regeneration in the peripheral nervous system. *Glia*, v. 61 (2013) p. 1795-806.
- LV, L. L., Y. H. CAO, H. F. NI, M. XU, D. LIU, H. LIU, P. S. CHEN, AND B. C. LIU, - MicroRNA-29c in urinary exosome/microvesicle as a biomarker of renal fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*, v. 305 (2013) p. F1220-7.
- LV, L. L., Y. H. CAO, M. M. PAN, H. LIU, R. N. TANG, K. L. MA, P. S. CHEN, AND B. C. LIU, - CD2AP mRNA in urinary exosome as biomarker of kidney disease. *Clin Chim Acta*, v. 428 (2014) p. 26-31.
- MICHAEL, A., S. D. BAJRACHARYA, P. S. YUEN, H. ZHOU, R. A. STAR, G. G. ILLEI, AND I. ALEVIZOS, - Exosomes from human saliva as a source of microRNA biomarkers: *Oral Dis*, v. 16 (2010) p. 34-8.
- MITCHELL, P. S., R. K. PARKIN, E. M. KROH, B. R. FRITZ, S. K. WYMAN, E. L. POGOSOVA-AGADJANYAN, A. PETERSON, J. NOTEBOOM, K. C. O'BRIANT, A. ALLEN, D. W. LIN, N. URBAN, C. W. DRESCHER, B. S. KNUDSEN, D. L. STIREWALT, R. GENTLEMAN, R. L. VESSELLA, P. S. NELSON, D. B. MARTIN, AND M. TEWARI, - Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 105 (2008) p. 10513-8.
- MORELLI, A. E., A. T. LARREGINA, W. J. SHUFESKY, M. L. SULLIVAN, D. B. STOLZ, G. D. PAPWORTH, A. F. ZAHORCHAK, A. J. LOGAR, Z. WANG, S. C. WATKINS, L. D. FALO, JR., AND A. W. THOMSON, - Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells. *Blood*, v. 104 (2004) p. 3257-66.
- MURPHY, M. P., AND H. LEVINE, 3RD, - *Alzheimer's* disease and the amyloid-beta peptide. *J Alzheimers Dis*, v. 19 (2010) p. 311-23.
- NILSSON, J., J. SKOG, A. NORDSTRAND, V. BARANOV, L. MINCHEVA-NILSSON, X. O. BREAKFIELD, AND A. WIDMARK, - Prostate cancer-derived urine exosomes: a novel approach to biomarkers for prostate cancer. *Br J Cancer*, v. 100 (2009) p. 1603-7.
- NOLTE-'T HOEN, E. N., H. P. BUERMANS, M. WAASDORP, W. STOORVOGEL, M. H. WAUBEN, AND P. A. T HOEN, - Deep sequencing of RNA from immune cell-derived vesicles uncovers the selective incorporation of small non-coding RNA

- biotypes with potential regulatory functions. *Nucleic Acids Res*, v. 40 (2012) p. 9272-85.
- OHSHIMA, K., K. INOUE, A. FUJIWARA, K. HATAKEYAMA, K. KANTO, Y. WATANABE, K. MURAMATSU, Y. FUKUDA, S. OGURA, K. YAMAGUCHI, AND T. MOCHIZUKI, - Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. *PLoS One*, v. 5 (2010) p. e13247.
- OSTROWSKI, M., N. B. CARMO, S. KRUMEICH, I. FANGET, G. RAPOSO, A. SAVINA, C. F. MOITA, K. SCHAUER, A. N. HUME, R. P. FREITAS, B. GOUD, P. BENAROCH, N. HACOEN, M. FUKUDA, C. DESNOS, M. C. SEABRA, F. DARCHEN, S. AMIGORENA, L. F. MOITA, AND C. THERY, - Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat Cell Biol*, v. 12 (2010) p. 19-30; sup pp 1-13.
- PALANISAMY, V., S. SHARMA, A. DESHPANDE, H. ZHOU, J. GIMZEWSKI, AND D. T. WONG, - Nanostructural and transcriptomic analyses of human saliva derived exosomes. *PLoS One*, v. 5 (2010) p. e8577.
- PAN, B. T., K. TENG, C. WU, M. ADAM, AND R. M. JOHNSTONE, - Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes. *J Cell Biol*, v. 101 (1985) p. 942-8.
- PAROLINI, I., C. FEDERICI, C. RAGGI, L. LUGINI, S. PALLESCI, A. DE MILITO, C. COSCIA, E. IESSI, M. LOGOZZI, A. MOLINARI, M. COLONE, M. TATTI, M. SARGIACOMO, AND S. FAIS, - Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells. *J Biol Chem*, v. 284 (2009) p. 34211-22.
- PEINADO, H., M. ALECKOVIC, S. LAVOTSHKIN, I. MATEI, B. COSTA-SILVA, G. MORENO-BUENO, M. HERGUETA-REDONDO, C. WILLIAMS, G. GARCIA-SANTOS, C. GHAJAR, A. NITADORI-HOSHINO, C. HOFFMAN, K. BADAL, B. A. GARCIA, M. K. CALLAHAN, J. YUAN, V. R. MARTINS, J. SKOG, R. N. KAPLAN, M. S. BRADY, J. D. WOLCHOK, P. B. CHAPMAN, Y. KANG, J. BROMBERG, AND D. LYDEN, - Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET. *Nat Med*, v. 18 (2012) p. 883-91.
- PISITKUN, T., R. F. SHEN, AND M. A. KNEPPER, - Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 101 (2004) p. 13368-73.
- RABINOWITS, G., C. GERCEL-TAYLOR, J. M. DAY, D. D. TAYLOR, AND G. H. KLOECKER, - Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clin Lung Cancer*, v. 10 (2009) p. 42-6.
- RAIBORG, C., AND H. STENMARK, - The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature*, v. 458 (2009) p. 445-52.
- RAJENDRAN, L., M. HONSHO, T. R. ZAHN, P. KELLER, K. D. GEIGER, P. VERKADE, AND K. SIMONS, - Alzheimer's disease beta-amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 103 (2006) p. 11172-7.
- RAPOSO, G., H. W. NIJMAN, W. STOORVOGEL, R. LIEJENDEKKER, C. V. HARDING, C. J. MELIEF, AND H. J. GEUZE, - B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med*, v. 183 (1996) p. 1161-72.
- RAPOSO, G., AND W. STOORVOGEL, - Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends: *The Journal of Cell Biology*, v. 200 (2013) p. 373-383.
- RUSSO, I., L. BUBACCO, AND E. GREGGIO, - Exosomes-associated neurodegeneration and progression of *Parkinson's* disease. *Am J Neurodegener Dis*, v. 1 (2012) p. 217-25.
- SAFAEI, R., B. J. LARSON, T. C. CHENG, M. A. GIBSON, S. OTANI, W. NAERDEMANN, AND S. B. HOWELL, - Abnormal lysosomal trafficking and enhanced exosomal export of cisplatin in drug-resistant human ovarian carcinoma cells. *Mol Cancer Ther*, v. 4 (2005) p. 1595-604.

- SAHU, R., S. KAUSHIK, C. C. CLEMENT, E. S. CANNIZZO, B. SCHARF, A. FOLLENZI, I. POTOLICCHIO, E. NIEVES, A. M. CUERVO, AND L. SANTAMBROGIO, - Microautophagy of cytosolic proteins by late endosomes. *Dev Cell*, v. 20 (2011) p. 131-9.
- SAMAN, S., W. KIM, M. RAYA, Y. VISNICK, S. MIRO, B. JACKSON, A. C. MCKEE, V. E. ALVAREZ, N. C. LEE, AND G. F. HALL, - Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early *Alzheimer* disease. *J Biol Chem*, v. 287 (2012) p. 3842-9.
- SAVINA, A., M. VIDAL, AND M. I. COLOMBO, - The exosome pathway in K562 cells is regulated by Rab11. *J Cell Sci*, v. 115 (2002) p. 2505-15.
- SCITA, G., AND P. P. DI FIORE, - The endocytic matrix. *Nature*, v. 463 (2010) p. 464-473.
- SHAO, H., J. CHUNG, K. LEE, L. BALAJ, C. MIN, B. S. CARTER, F. H. HOCHBERG, X. O. BREAKFIELD, H. LEE, AND R. WEISSELEDER, - Chip-based analysis of exosomal mRNA mediating drug resistance in glioblastoma. *Nat Commun*, v. 6 (2015) p. 6999.
- SILVA, J., V. GARCIA, A. ZABALLOS, M. PROVENCIO, L. LOMBARDIA, L. ALMONACID, J. M. GARCIA, G. DOMINGUEZ, C. PENNA, R. DIAZ, M. HERRERA, A. VARELA, AND F. BONILLA, - Vesicle-related microRNAs in plasma of nonsmall cell lung cancer patients and correlation with survival. *Eur Respir J*, v. 37 (2011) p. 617-23.
- SIMONS, M., AND G. RAPOSO, - Exosomes – vesicular carriers for intercellular communication. *Current Opinion in Cell Biology*, v. 21 (2009) p. 575-581.
- SKOG, J., T. WURDINGER, S. VAN RIJN, D. H. MEIJER, L. GAINCHE, M. SENA-ESTEVEZ, W. T. CURRY, JR., B. S. CARTER, A. M. KRICHEVSKY, AND X. O. BREAKFIELD, - Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*, v. 10 (2008) p. 1470-6.
- SMALLEY, D. M., N. E. SHEMAN, K. NELSON, AND D. THEODORESCU, - Isolation and identification of potential urinary microparticle biomarkers of bladder cancer. *J Proteome Res*, v. 7 (2008) p. 2088-96.
- SPILLANTINI, M. G., R. A. CROWTHER, R. JAKES, N. J. CAIRNS, P. L. LANTOS, AND M. GOEDERT, - Filamentous alpha-synuclein inclusions link multiple system atrophy with *Parkinson's* disease and dementia with Lewy bodies. *Neurosci Lett*, v. 251 (1998) p. 205-8.
- STOORVOGEL, W., G. J. STROUS, H. J. GEUZE, V. OORSCHOT, AND A. L. SCHWARTZT, - Late endosomes derive from early endosomes by maturation: *Cell*, v. 65 (1991) p. 417-427.
- STREET, J. M., P. E. BARRAN, C. L. MACKAY, S. WEIDT, C. BALMFORTH, T. S. WALSH, R. T. CHALMERS, D. J. WEBB, AND J. W. DEAR, - Identification and proteomic profiling of exosomes in human cerebrospinal fluid. *J Transl Med*, v. 10 (2012) p. 5.
- STUFFERS, S., C. SEM WEGNER, H. STENMARK, AND A. BRECH, - Multivesicular endosome biogenesis in the absence of ESCRTs. *Traffic*, v. 10 (2009) p. 925-37.
- SUBRA, C., K. LAULAGNIER, B. PERRET, AND M. RECORD, - Exosome lipidomics unravels lipid sorting at the level of multivesicular bodies. *Biochimie*, v. 89 (2007) p. 205-12.
- TAKESHITA, N., I. HOSHINO, M. MORI, Y. AKUTSU, N. HANARI, Y. YONEYAMA, N. IKEDA, Y. ISOZAKI, T. MARUYAMA, N. AKANUMA, A. KOMATSU, M. JITSUKAWA, AND H. MATSUBARA, - Serum microRNA expression profile: miR-1246 as a novel diagnostic and prognostic biomarker for oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*, v. 108 (2013) p. 644-52.
- TANAKA, Y., H. KAMOHARA, K. KINOSHITA, J. KURASHIGE, T. ISHIMOTO, M. IWATSUKI, M. WATANABE, AND H. BABA, - Clinical impact of serum exosomal microRNA-21 as a clinical biomarker in human esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer*, v. 119 (2013) p. 1159-67.

- TAYLOR, D. D., AND C. GERCEL-TAYLOR, - MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, v. 110 (2008) p. 13-21.
- THERY, C., S. AMIGORENA, G. RAPOSO, AND A. CLAYTON, - Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids: *Curr Protoc Cell Biol*, v. Chapter 3, (2006) p. Unit 3.22.
- THERY, C., L. ZITVOGEL, AND S. AMIGORENA, - Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol*, v. 2 (2002) p. 569-79.
- TRAJKOVIC, K., C. HSU, S. CHIANTIA, L. RAJENDRAN, D. WENZEL, F. WIELAND, P. SCHWILLE, B. BRUGGER, AND M. SIMONS, - Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*, v. 319 (2008) p. 1244-7.
- TRAMS, E. G., C. J. LAUTER, NORMAN SALEM, JR., AND U. HEINE, - Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, v. 645 (1981) p. 63-70.
- TURCHINOVICH, A., L. WEIZ, AND B. BURWINKEL, - Extracellular miRNAs: the mystery of their origin and function. *Trends Biochem Sci*, v. 37 (2012) p. 460-5.
- VALADI, H., K. EKSTROM, A. BOSSIOS, M. SJOSTRAND, J. J. LEE, AND J. O. LOTVALL, , Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, v. 9 (2007) p. 654-659.
- VAN MEEL, E., AND J. KLUMPERMAN, - Imaging and imagination: understanding the endo-lysosomal system. *Histochem Cell Biol*, v. 129 (2008) p. 253-66.
- VAN NIEL, G., S. CHARRIN, S. SIMOES, M. ROMAO, L. ROCHIN, P. SAFTIG, M. S. MARKS, E. RUBINSTEIN, AND G. RAPOSO, - The tetraspanin CD63 regulates ESCRT-independent and -dependent endosomal sorting during melanogenesis. *Dev Cell*, v. 21 (2011) p. 708-21.
- VELLA, L. J., R. A. SHARPLES, V. A. LAWSON, C. L. MASTERS, R. CAPPAL, AND A. F. HILL, - Packaging of prions into exosomes is associated with a novel pathway of PrP processing. *J Pathol*, v. 211 (2007) p. 582-90.
- VIAUD, S., C. THERY, S. PLOIX, T. TURSZ, V. LAPIERRE, O. LANTZ, L. ZITVOGEL, AND N. CHAPUT, - Dendritic cell-derived exosomes for cancer immunotherapy: what's next?. *Cancer Res*, v. 70 (2010) p. 1281-5.
- VILLARROYA-BELTRI, C., C. GUTIERREZ-VAZQUEZ, F. SANCHEZ-CABO, D. PEREZ-HERNANDEZ, J. VAZQUEZ, N. MARTIN-COFRECES, D. J. MARTINEZ-HERRERA, A. PASCUAL-MONTANO, M. MITTELBRUNN, AND F. SANCHEZ-MADRID, - Sumoylated hnRNPA2B1 controls the sorting of miRNAs into exosomes through binding to specific motifs. *Nat Commun*, v. 4 (2013) p. 2980.
- WALDENSTROM, A., AND G. RONQUIST, - Role of exosomes in myocardial remodeling. *Circ Res*, v. 114 (2014) p. 315-24.
- WANG, J., A. HENDRIX, S. HERNOT, M. LEMAIRE, E. DE BRUYNE, E. VAN VALCKENBORGH, T. LAHOUTTE, O. DE WEVER, K. VANDERKERKEN, AND E. MENU, - Bone marrow stromal cell-derived exosomes as communicators in drug resistance in multiple myeloma cells. *Blood*, v. 124 (2014) p. 555-66.
- WELKER, M. W., D. REICHERT, S. SUSSER, C. SARRAZIN, Y. MARTINEZ, E. HERRMANN, S. ZEUZEM, A. PIIPER, AND B. KRONENBERGER, - Soluble serum CD81 is elevated in patients with chronic hepatitis C and correlates with alanine aminotransferase serum activity. *PLoS One*, v. 7 (2012) p. e30796.
- WOLLERT, T., AND J. H. HURLEY, - Molecular mechanism of multivesicular body biogenesis by ESCRT complexes. *Nature*, v. 464 (2010) p. 864-9.
- WUBBOLTS, R., R. S. LECKIE, P. T. VEENHUIZEN, G. SCHWARZMANN, W. MOBIUS, J. HOERNSCHEMEYER, J. W. SLOT, H. J. GEUZE, AND W. STOORVOGEL, - Proteomic and biochemical analyses of human B cell-derived exosomes. *Potential*

- implications for their function and multivesicular body formation. *J Biol Chem*, v. 278 (2003) p. 10963-72.
- ZHANG, H., Y. XIE, W. LI, R. CHIBBAR, S. XIONG, AND J. XIANG, - CD4(+) T cell-released exosomes inhibit CD8(+) cytotoxic T-lymphocyte responses and antitumor immunity. *Cell Mol Immunol*, v. 8 (2011) p. 23-30.
- ZHANG, H. G., AND W. E. GRIZZLE, - Exosomes and cancer: a newly described pathway of immune suppression. *Clin Cancer Res*, v. 17 (2011) p. 959-64.
- ZHOU, H., A. CHERUVANKY, X. HU, T. MATSUMOTO, N. HIRAMATSU, M. E. CHO, A. BERGER, A. LEELAHAVANICHKUL, K. DOI, L. S. CHAWLA, G. G. ILLEI, J. B. KOPP, J. E. BALOW, H. A. AUSTIN, 3RD, P. S. YUEN, AND R. A. STAR, , Urinary exosomal transcription factors, a new class of biomarkers for renal disease. *Kidney Int*, v. 74, (2008) p. 613-21.
- ZHOU, H., T. PISITKUN, A. APONTE, P. S. YUEN, J. D. HOFFERT, H. YASUDA, X. HU, L. CHAWLA, R. F. SHEN, M. A. KNEPPER, AND R. A. STAR, - Exosomal Fetuin-A identified by proteomics: a novel urinary biomarker for detecting acute kidney injury. *Kidney Int*, v. 70 (2006) p. 1847-57.
- ZITVOGEL, L., A. REGNAULT, A. LOZIER, J. WOLFERS, C. FLAMENT, D. TENZA, P. RICCIARDI-CASTAGNOLI, G. RAPOSO, AND S. AMIGORENA, - Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med*, v. 4 (1998) p. 594-600.
- ZOLLER, M., - Tetraspanins: push and pull in suppressing and promoting metastasis. *Nat Rev Cancer*, v. 9 (2009) p. 40-55.