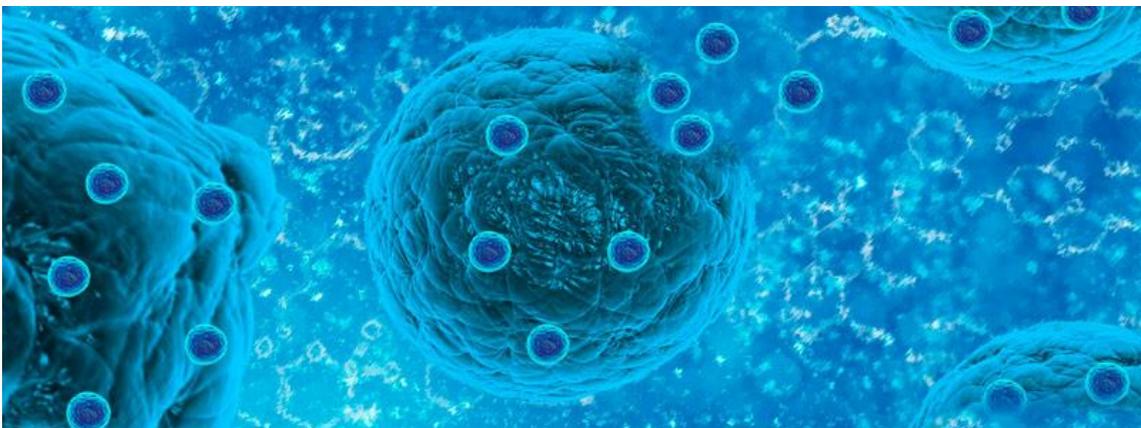




PAPEL FISIOLÓGICO Y FISIOPATOLÓGICO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES

TRABAJO DE FIN DE GRADO



LAURA SANTOS TRASSIERRA



TRABAJO FIN DE GRADO

Revisión Bibliográfica

PAPEL FISIOLÓGICO Y FISIOPATOLÓGICO DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES

Autor: Laura Santos Trassierra

Tutora: Ángela del Carmen Fontán Lozano

Universidad de Sevilla, Grado de Farmacia

Departamento de Fisiología

Sevilla, 2022.

RESUMEN

Las vesículas extracelulares (VE) son vesículas limitadas por una membrana lipídica, secretadas por la mayoría de las células y que constan de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos derivados de la célula de origen. Estas vesículas constituyen un elemento fundamental en la comunicación intercelular tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, además de en procesos terapéuticos, debido a su capacidad para transportar componentes bioactivos e interactuar con las células. Las vesículas extracelulares participan en el mantenimiento de la homeostasis celular, potencian la regeneración de tejidos, modulan el sistema inmunitario, favorecen el progreso de enfermedades, ... Además, se pueden generar vesículas extracelulares mediante bioingeniería, las cuales pueden emplearse como vehículos de administración de fármacos. Esta revisión bibliográfica proporciona una visión general de los mecanismos, funciones y aplicaciones que llevan a cabo las vesículas extracelulares en los distintos procesos fisiológicos y fisiopatológicos.

Palabras clave: vesículas extracelulares, papel fisiológico, patologías, diagnóstico, tratamiento.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Definición de vesículas extracelulares	1
1.2. Reseña histórica	1
1.3. Tipos y composición de las VEs	2
1.4. Captación de las vesículas extracelulares por células diana	3
2. OBJETIVOS	5
3. METODOLOGÍA	5
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6
4.1. Fisiología de las vesículas extracelulares	6
4.1.1. VE en la orina	6
4.1.2. VE en la saliva	7
4.1.3. VE en el fluido broncoalveolar	7
4.1.4. VE en el fluido nasal	7
4.1.5. VE en el líquido sinovial	8
4.1.6. VE en la sangre	8
4.1.7. VE en la reproducción	9
<i>VEs en el fluido uterino</i>	9
<i>VEs en el plasma seminal</i>	9
<i>Desarrollo embrionario</i>	10
<i>Transmisión intergeneracional</i>	11
4.2. Fisiopatología de las VEs	12
4.2.1. VEs en cáncer	12
4.2.2. VEs en enfermedades metabólicas	13
4.2.3. VEs en enfermedades cardiovasculares	14
4.2.4. VEs en enfermedades neurodegenerativas	15
4.2.5. VEs en enfermedades infecciosas (SARS-CoV-2)	17
4.3. Aplicaciones de las VEs	18
4.3.1. Marcadores de diagnóstico	19
4.3.2. Oportunidades terapéuticas	19
4.3.3. Avances terapéuticos	20
<i>VEs y vacunas</i>	20
<i>VEs en bioingeniería</i>	20
5. CONCLUSIONES	21
6. BIBLIOGRAFÍA	22

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Definición de vesículas extracelulares

La comunicación entre las células es un proceso distintivo entre los diferentes organismos pluricelulares y puede estar mediado por contacto directo entre células, o bien, a través de moléculas secretadas por las mismas. En los últimos años, se ha descubierto un nuevo proceso para esta comunicación que consiste en la transferencia, entre células, de proteínas de membrana y citosólicas, lípidos y ARN a partir de vesículas extracelulares (VEs), las cuales son definidas por Witwer et al. (2013) como un conjunto heterogéneo de vesículas que se encuentran limitadas por una bicapa lipídica y que no pueden replicarse debido a que no tienen un núcleo funcional.

Estas vesículas, en un principio, eran consideradas como restos de células adherentes, sin embargo, actualmente son reconocidas como mediadores de la comunicación intercelular, siendo imprescindibles en el mantenimiento de la homeostasis, la inducción o amortiguación de la inflamación y el fomento de la reparación de tejidos dañados. El término “vesículas extracelulares” incluye varios subtipos de estructuras membranosas liberadas por células, como son los exosomas, microvesículas, ectosomas, cuerpos apoptóticos (Witwer et al., 2013).

1.2. Reseña histórica

En 1946, Chargaff y West pudieron demostrar, por primera vez, la existencia y función de las VEs al estudiar la tromboplastina y las plaquetas. Esto se observó en un estudio realizado para comprobar que los precipitados de plasma libres de plaquetas participan en la coagulación de la sangre. Más adelante, en 1967, Wolf et al. aportaron estudios que indicaban que el material coagulante del plasma propuesto por Chargaff consistía en material rico en lípidos originados en las plaquetas, demostrándose esto último en microscopía electrónica y que es conocido como “polvo de plaquetas”. De esta manera, se consideró que Wolf et al. fueron quienes proporcionaron por primera vez la descripción tanto de las vesículas extracelulares como de su función en dichas condiciones citadas.

Durante la década de los 70, se introdujo el término exosoma, que hace referencia a fragmentos de ADN transferidos entre células (Fox et al., 1970). Sin embargo, estas partículas no se podían considerar como exosomas o vesículas extracelulares debido a la falta de asociación de los fragmentos de ADN con las bicapas lipídicas. En 1981, Trams et al. introdujeron este concepto al estudiar la exfoliación de ectoenzimas de membrana en forma de microvesículas. Observaron que las vesículas derivadas de líneas normales y tumorales poseían capacidad 5' nucleotidasa (enzima implicada en el catabolismo de los nucleótidos pirimidínicos provenientes de la

degradación del ARN en la maduración del glóbulo rojo), lo que indica que la presencia de esta enzima continua tras el proceso de exfoliación.

Posteriormente, en el contexto de estudios sobre vesículas intracelulares, Johnstone et al. (1987) explicaron la formación de cuerpos multivesiculares, los cuales contienen receptores de transferrina y son capaces de fusionarse a la membrana celular para liberarse al medio exterior.

Raposo et al. (1996) impulsaron un nuevo interés por las VEs en el campo de la inmunología al explicar que el complejo formado por el cuerpo multivesicular y el exosoma podía estar implicado en la activación inmunitaria y la estimulación de las respuestas inmunitarias adaptativas. Esto se debe a que estos exosomas pueden presentar antígenos y son capaces de activar linfocitos T, a través de antígenos leucocitarios humanos (HLA) localizados en su superficie.

En 2007, Valadi et al. identificaron miARN en las VEs, el cual podía ser captado por las células dianas, dando lugar a una nueva vía para la comunicación celular.

A partir de aquí y conforme han pasado los años, el número de publicaciones relacionadas con las vesículas extracelulares se ha visto incrementado, siendo 2021 el año en el que más artículos científicos relacionados con las mismas se incorporaron en PubMed.

1.3. Tipos y composición de las VEs

La clasificación de las vesículas extracelulares se basa en su biogénesis, contenido y tamaño, distinguiéndose así entre exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos (Figura 1). Teniendo en cuenta estos criterios, se denominan microvesículas de desprendimiento (MV) o ectosomas aquellas vesículas que presentan un diámetro entre 100 y 1000 nm y que son liberadas por gemación externa a partir de la membrana plasmática de células, conteniendo componentes de membrana de la célula de origen. Por otro lado, la liberación de vesículas mediante gemación hacia dentro de la membrana endosomal da lugar a los cuerpos multivesiculares, los cuales darán lugar a exosomas tras la fusión de estos cuerpos con la membrana plasmática. Estos exosomas tienen un tamaño de 30-200 nm y poseen ciertos marcadores de superficie como, por ejemplo, las tetraspaninas. Por último, la liberación de vesículas a partir de células en apoptosis da lugar a cuerpos apoptóticos, los cuales tienen un diámetro de 200-5000 nm y contienen fragmentos de ADN, ARN no codificantes y órganos celulares (Théry et al., 2018).

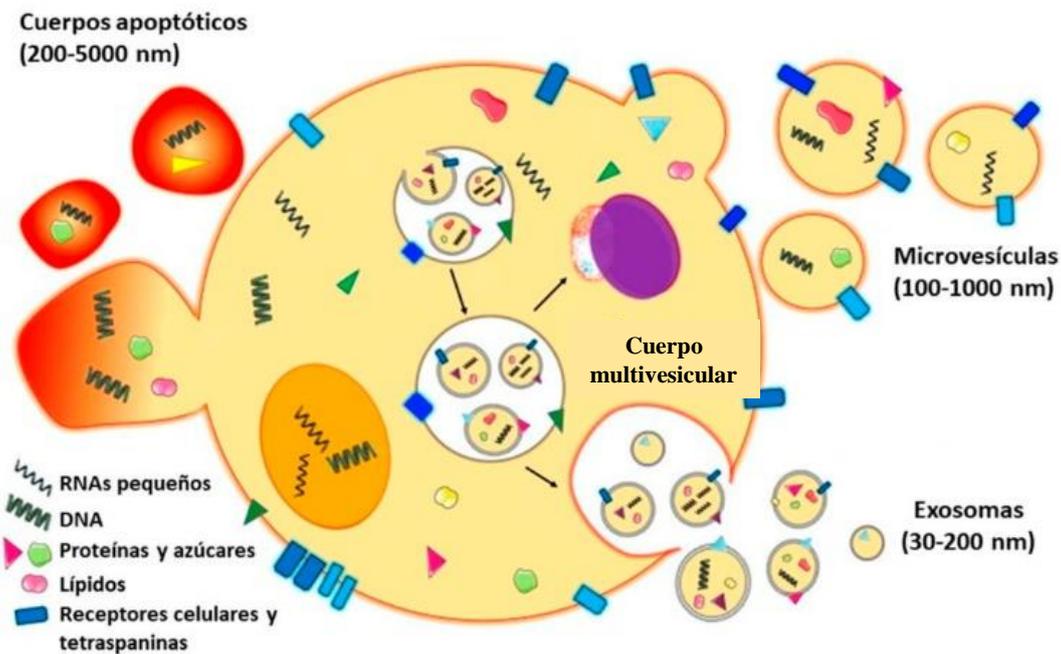


Figura 1. Representación esquemática de los principales tipos de vesículas extracelulares y su contenido (Drurey et al., 2020). Las microvesículas presentan un tamaño de 100-1000 nm y se forman por gemación externa a partir de la membrana plasmática de las células, presentando el mismo contenido que la célula de la que procede. Tras la fusión de los cuerpos multivesiculares con la membrana plasmática, se forman los exosomas, con un tamaño de 30-200 nm y presentando tetraspaninas (proteínas que actúan como marcadores de superficie). Las vesículas liberadas de células en apoptosis se denominan cuerpos apoptóticos, presentan un tamaño de 200-5000 nm y contienen ADN, ARN y órganos celulares.

En cuanto al contenido de las VEs, estas presentan diversas proteínas, lípidos y ácidos nucleicos: las proteínas que forman parte, comúnmente, de las VEs están asociadas a los mecanismos de biogénesis, y el contenido en lípidos depende de la célula de origen de la VE, así como algunos lípidos se relacionan con diferentes tipos de vesículas extracelulares de forma específica. De esta manera, las microvesículas y los exosomas son más ricos en fosfatidilserina, confiriéndole esto una mayor facilidad para su penetración en las células receptoras (Fitzner et al., 2011). Por su parte, los ácidos nucleicos se encuentran en un número reducido en forma de ADN (Guescini et al., 2010) ya que, principalmente, el material genético de las VEs se encuentra como ARN. Asimismo, Peruzzotti-Jametti et al. (2021) afirman que existen estudios recientes que determinan que las VEs también pueden presentar mitocondrias procedentes de la célula de origen.

1.4. Captación de las vesículas extracelulares por células diana

En lo que respecta a la captación de las VEs, Mulcahy et al. (2014), afirman que estas vesículas entran en las células mediante fusión con la membrana plasmática o por endocitosis. A

su vez, la endocitosis se puede dividir en endocitosis mediada por clatrina, por caveolina, por balsas lipídicas, macropinocitosis y fagocitosis (Figura 2). La forma por la que las VEs son captadas depende tanto del tipo de célula y el estado fisiológico en el que esta se encuentre, como de si los ligandos de la superficie de la vesícula reconocen a los receptores de la superficie de la célula receptora.

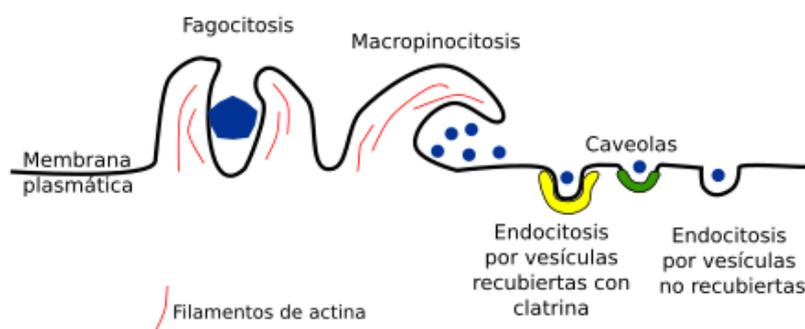


Figura 2. Representación esquemática de los tipos de endocitosis (Megías et al., 2019). Las vesículas extracelulares pueden ser captadas por distintos tipos de endocitosis, como son la endocitosis mediada por clatrina, por caveolina, por balsas lipídicas, macropinocitosis y fagocitosis.

No obstante, existen mecanismos de entrada específicos para ciertos tipos de células, como, por ejemplo, la endocitosis dependiente de clatrina en neuronas, la macropinocitosis para microglia, la endocitosis mediada por receptor para células dendríticas, la endocitosis mediada por caveolina en células epiteliales y la endocitosis dependiente de colesterol y balsa lipídica en células tumorales (Morelli et al., 2004).

Otro método que puede servir como captación de VEs consiste en la fusión de la membrana de la vesícula con la membrana plasmática, lo cual requiere condiciones de pH bajo. Por su parte, la mejora de la captación celular y liberación citosólica del contenido de la vesícula se consigue por combinación de un péptido fusogénico sensible al pH, el cual promueve la fusión de las membranas endosomal y VE dentro de las células (Nakase y Futaki, 2015).

Así, la interacción de la vesícula extracelular junto con la entrada en las células determinan los efectos funcionales de la vesícula. Además, en muchos casos, el contenido de las VEs desempeña funciones que pueden depender de si este entra en el citoplasma o, también, en el núcleo. La entrada directa al citoplasma se puede producir por fusión de las VEs con la membrana plasmática de las células receptoras, siendo la endocitosis la entrada más común. A partir de esta entrada, el contenido de la vesícula puede seguir dos caminos: salir inherentemente degradado o ser expulsado de nuevo a través de la fusión de la membrana plasmática con el cuerpo multivesicular (Mulcahy et al., 2014).

Otro proceso para la liberación del contenido de la vesícula consiste en la entrada de la vesícula, unida a luciferina de manera artificial, en el citosol, que contiene luciferasa (encargada de la degradación de luciferina y, por tanto, de la apertura de la vesícula y posterior liberación de su contenido). Por tanto, existen múltiples mecanismos de transferencia funcional o de degradación del contenido de las vesículas extracelulares, los cuales van a ser utilizados por los diferentes tipos de células para la captación de las vesículas (Abrami et al., 2013).

2. OBJETIVOS

Este trabajo de revisión tiene como **objetivo principal** realizar una revisión actualizada de la bibliografía existente sobre las funciones de las vesículas extracelulares en el individuo sano y ante determinadas patologías.

Para ello, surge la necesidad de plantear los siguientes **objetivos específicos**:

- **O.E.1:** Determinar el impacto de las vesículas extracelulares en procesos fisiológicos, como la regulación de funciones celulares, la coagulación, la reproducción.
- **O.E.2:** Identificar el papel de las vesículas extracelulares en distintas patologías.
- **O.E.3:** Conocer las aplicaciones terapéuticas de las vesículas extracelulares en clínica.

3. METODOLOGÍA

Para realizar este trabajo de revisión bibliográfica se ha llevado a cabo una búsqueda exhaustiva de información en diferentes fuentes y soportes bibliográficos tales como diversas páginas web y artículos científicos.

La mayoría de los artículos científicos han sido buscados en la base de datos PUBMED, los cuales han sido publicados durante los últimos 10-15 años, aunque, también, se han consultado artículos de mayor antigüedad con la finalidad de descubrir los primeros conocimientos y aportaciones que se tenían sobre las vesículas extracelulares, así como para saber cuándo y dónde empezaron a utilizarse.

Las palabras clave empleadas para poder conseguir la información requerida han sido palabras como: extracellular vesicles, origin, biogenesis, functions, pathogeny, urine, saliva, bronchoalveolar fluid, nasal fluid, sinovial fluid, blood, plasma, sperm, cancer, diseases, SARS-CoV-2.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fisiología de las vesículas extracelulares

La comunicación entre las células, como bien se ha mencionado anteriormente, es fundamental para mantener la homeostasis corporal y, en dicha comunicación, están implicadas las vesículas extracelulares. Dado que la mayoría de las VEs se liberan de células nucleadas (a pesar de que las primeras VEs descritas proceden de células anucleadas) y que su composición varía conforme cambian las condiciones fisiológicas y patológicas, se consideran fundamentales en la regulación de las funciones celulares y los mecanismos de las enfermedades (Yáñez-Mó et al., 2015).

Las VEs se pueden aislar de la mayoría de las células y fluidos biológicos tales como la saliva, la orina, el líquido del lavado nasal y bronquial, el líquido amniótico, la leche materna, el plasma, el suero y el líquido seminal (Pisitkun et al., 2004; Lässer et al., 2012; Keller et al., 2011; Caby et al., 2005; Poliakov et al., 2009). En estos fluidos biológicos, las VEs desarrollan una serie de funciones, algunas de las cuales se explicarán brevemente y otras con mayor extensión.

4.1.1. VE en la orina

Las vesículas extracelulares urinarias proceden de las células del tracto urogenital y desempeñan un papel como mediadores potenciales de la señalización intrarrenal (Fang et al., 2013). A pesar de que, en un principio, las VEs urinarias se consideraban como partícipes de la eliminación de proteínas y lípidos de las células envejecidas (van Balkom et al., 2011), estas constituyen un mecanismo de señalización entre células a lo largo de la nefrona. Esta señalización tiene lugar a través de la secreción y recaptación del contenido de las VEs (proteínas y ARNm), lo que puede afectar a la función de la célula receptora (Knepper y Pisitkun, 2007).

Por ejemplo, la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa liberada a partir de VEs procedentes de las células epiteliales proximales disminuye la actividad del canal de sodio epitelial sensible a amilorida en las células receptoras distales y en las células del conducto colector. Esto hace referencia a que las células proximales, mediante VEs, participan en el ajuste de la reabsorción de sodio en el túbulo distal y el conducto colector (Jella et al., 2016).

Se conoce, también, que debido a la existencia de proteínas inmunitarias innatas (proteínas y péptidos antimicrobianos) en las VEs urinarias (procedentes de células inmunitarias presentes en el tracto urogenital), estas contribuyen a la defensa del organismo dentro del sistema urinario (Hiemstra et al., 2017). Sin embargo, el papel fisiológico de las VEs urinarias sigue estando en estudio.

4.1.2. VE en la saliva

La saliva constituye otro fluido biológico que presenta VEs, procedentes de células ductales y acinares. Estas VEs poseen proteínas (Xiao y Wong et al., 2012) y ARN (Keller et al., 2011; Ogawa et al., 2013), contenido que puede introducirse en los queratinocitos orales y macrófagos, donde modulan la expresión génica y alteran la expresión de proteínas, lo que indica que son VEs biológicamente activas (Palanisamy et al., 2010).

Las VEs salivares contienen, también, factor tisular y CD26, una proteína que corta varios péptidos diferentes. Así, gracias a CD26, estas VEs cortan la sustancia P y las quimiocinas (Ogawa et al., 2008), las cuales están implicadas en el funcionamiento del sistema inmunológico. Asimismo, de igual forma que el factor tisular inicia la coagulación de la sangre ante una lesión, las VEs de la saliva inducen la coagulación del plasma, al presentar también estas VEs salivares factor tisular. Esto último se refleja en el acto de lamer una herida, donde se mezcla la saliva con la sangre, permitiendo que las VEs que contienen factor tisular ayuden en el proceso de coagulación y, por tanto, eviten la entrada de patógenos (Berckmans et al., 2011).

4.1.3. VE en el fluido broncoalveolar

En el fluido de lavado broncoalveolar (BALF) (líquido que se inyecta en una parte del pulmón y luego se recolecta), las VEs liberadas a partir de células dendríticas localizadas en el pulmón contienen el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I y II, además de CD54, CD63 y la molécula coestimuladora CD86 (Admyre et al., 2003). Estas VEs se secretan ante una lesión y desempeñan su función principal en la inmunidad del pulmón, como respuesta a diferentes estímulos (como la exposición al polen de abedul) (Torregrosa et al., 2012).

Actúan como vehículos de transporte de señales ante nanopartículas (Zhu et al., 2012) y para respuestas inmunitarias sistémicas inducidas por alérgenos (Denzer et al., 2000). Esto se observa en un estudio realizado, en el que, tras una exposición a nanopartículas de óxido de hierro magnético, aumentó la secreción de VEs y estas fueron liberadas rápidamente desde los alveolos a la circulación sistémica, transfiriendo sus señales al sistema inmunitario. Como consecuencia se produjo la maduración de las células dendríticas y la activación de las células T esplénicas (Zhu et al., 2012).

Además, en respuesta a alérgenos, las VEs del BALF expresan el receptor eliminador CD36, implicado en el reconocimiento bacteriano (Denzer et al., 2000).

4.1.4. VE en el fluido nasal

Las VEs se encuentran, también, en las secreciones nasales de humanos sanos, las cuales producen efectos inmunomoduladores. Además, en el contexto de desarrollo de vacunas, dado que estas VEs constituyen una fuente importante de antígenos (Kulp y Kuehn, 2010), siguen en

estudio por su posible uso para la administración de fármacos, ya que estas VEs podrían tener efectos terapéuticos en el cerebro (dada la facilidad para el acceso al SNC a través del epitelio olfativo, neuronas sensoriales primarias y bulbo olfatorio) y pulmones (Zhuang et al., 2011).

4.1.5. VE en el líquido sinovial

El líquido sinovial se define como aquel líquido transparente secretado por las membranas en las cavidades articulares, las vainas de los tendones y las bolsas, y que actúa como lubricante. Este líquido sinovial es rico en VEs, que proceden de células de tejidos articulares o de leucocitos infiltrados en las articulaciones afectadas por artritis, y que regulan la liberación de quimiocinas y citosinas en los sinoviocitos (células que forman parte de las articulaciones), incrementando la respuesta inflamatoria (Berckmans et al., 2002).

Estas VEs presentes en este fluido biológico han sido estudiadas, principalmente, en individuos con enfermedades autoinmunes, siendo desconocido su papel en estado no patológico.

4.1.6. VE en la sangre

La mayoría (99,8%) de las vesículas extracelulares liberadas a partir de células sanguíneas son producidas por células hematopoyéticas mientras que el 0,2% derivan de tejidos (Li et al., 2020). Así, a pesar de que anteriormente se indica que la mayoría de las VEs son secretadas por células nucleadas, los glóbulos rojos (células anucleadas) también constituyen una fuente de VEs, concretamente, en la sangre.

En cuanto a la implicación de las VEs sanguíneas en la coagulación de la sangre, estudios demuestran la existencia de VEs pro y anticoagulantes de diversas fuentes, presentes en la sangre, las cuales contribuyen, simultáneamente, a la homeostasis celular (Figura 3) (Yáñez-Mó et al., 2015).

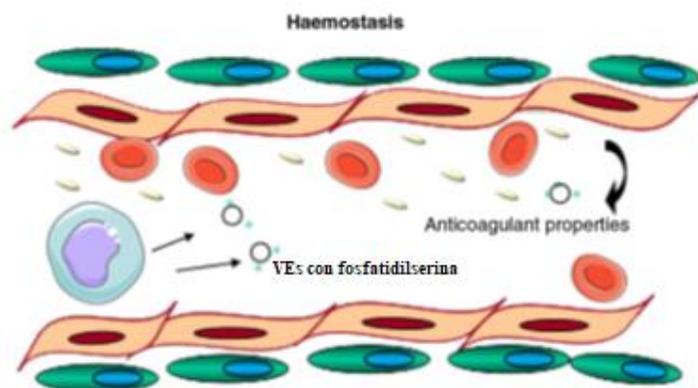


Figura 3: Coagulación y VEs (Yáñez-Mó et al., 2015). Diferentes células, moléculas procoagulantes (factor tisular y/o fosfatidilserina) y moléculas anticoagulantes presentes en las VE se encuentran, en condiciones normales, a niveles bajos, contribuyendo al mantenimiento del equilibrio homeostático en la coagulación sanguínea.

Asimismo, la presencia de IgM en la circulación hace que estas vesículas se encarguen de la regulación de la coagulación. Los anticuerpos IgM endógenos se unen a epítomos concretos de oxidación (malondialdehído y fosfatidilcolina oxidada) presentes en las VEs procoagulantes, regulando estas tanto la coagulación como la trombosis. Esto se demostró al observar que el complejo formado por los anticuerpos IgM unidos a las vesículas extracelulares procoagulantes está relacionado con un potencial coagulatorio bajo, lo que indica que estos anticuerpos constituyen un factor protector con función anticoagulante directa. Es decir, el grado de coagulación se relaciona de manera inversa con los niveles de IgM unidos a las VEs (Obermayer et al., 2021).

Por otra parte, durante la realización de ejercicio, se produce un aumento en la liberación de VEs a la circulación, estando esto relacionado con la situación de estrés agudo que aparece durante el mismo. Esto se demuestra con el aumento, en la circulación, del marcador Hsp70 (marcador que protege a las células de posibles daños) existiendo un vínculo entre la respuesta al estrés agudo y la liberación de VEs dependiente de este marcador. Así, las VEs ayudan a eliminar los productos de desecho celulares generados en situación de estrés y a mantener la homeostasis celular (Beninson et al., 2014).

4.1.7. VE en la reproducción

VEs en el fluido uterino

Las VEs procedentes del líquido uterino (úterosomas) y del líquido luminal oviductal (oviductosomas) transfieren información directamente, como miARN (Ng et al., 2013) o proteínas (Kumamoto et al., 2009), participando así en el proceso de implantación del embrión ya que contribuyen a la diafonía endometrio-embrión (Yáñez-Mó et al., 2015).

Además, las VEs secretadas por las células epiteliales uterinas contienen la proteína transmembrana glicosilada (proteína de la familia de inmunoglobulinas) inductora de metaloproteínasa en la matriz extracelular. Esta proteína estimula la producción de metaloproteínasa a partir de células de fibroblastos uterinos y coordina la remodelación de la matriz extracelular (proceso requerido al inicio de la menstruación, para la regeneración del revestimiento endometrial durante el ciclo menstrual y para la invasión endometrial ectópica en endometriosis) (Braundmeier et al., 2012).

VEs en el plasma seminal

Las VEs presentes en el plasma seminal (porción líquida que junto con los espermatozoides forman el semen) se originan en el conducto del epidídimo y las glándulas accesorias masculinas (Sahlén et al., 2010).

Los distintos tipos de VEs entran en contacto con los espermatozoides y, al igual que las VEs y otros factores (cambios de pH, temperatura, calcio, bicarbonato) del tracto reproductor femenino, inducen su capacidad fecundante al modificar su composición molecular y comportamiento, lo que indica que estas VEs están implicadas en la capacitación del espermatozoide (Figura 4). Asimismo, durante el tránsito por el epidídimo, los epididimosomas están implicados en la captación de nuevas proteínas para el gameto masculino (Cooper, 1998). Además, una vez que los espermatozoides abandonan los testículos, estos entran en contacto con los prostasomas, los cuales regulan la capacitación y la exocitosis del acrosoma (Bailey et al., 2010).

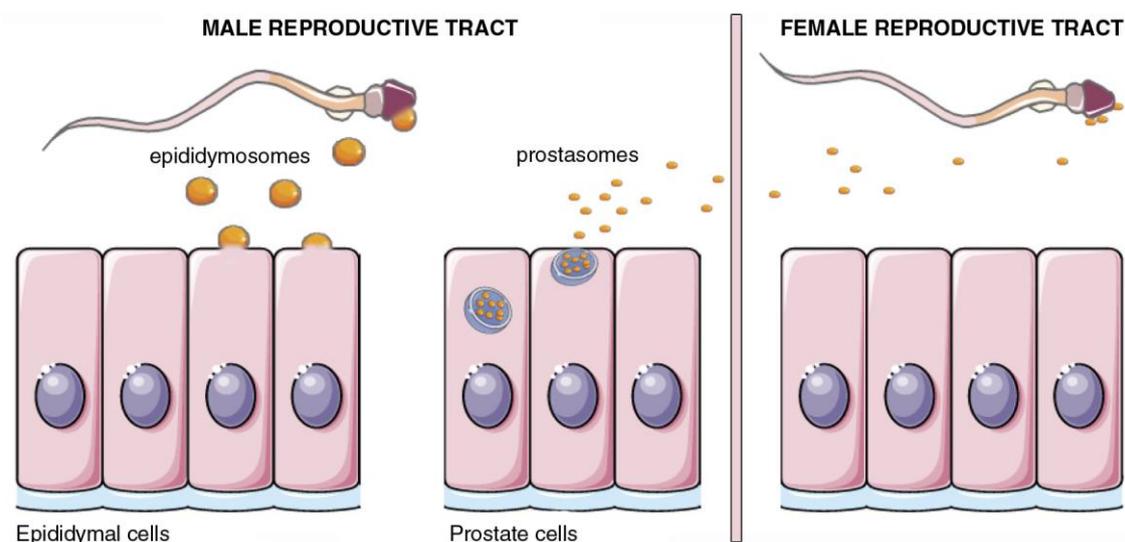


Figura 4: VEs en el tracto reproductivo masculino y femenino (Yáñez-Mó et al., 2015). Las VEs procedentes de las células epiteliales del epidídimo (epididimosomas) se unen a los espermatozoides y les transfieren su contenido para su maduración. Por su parte, las células epiteliales de la próstata también liberan VEs (prostasomas), las cuales interactúan con los espermatozoides en el tracto reproductivo femenino y, así, facilitan su llegada al ovocito.

También, los prostasomas son los responsables de proteger a los espermatozoides del sistema inmunitario femenino durante su trayecto hacia el óvulo (Ronquist, 2012). Esto es debido a que macrófagos, neutrófilos y todas las células natural-killer atacan a los espermatozoides (Wira et al., 2005) al inducir fagocitosis. Para evitar esto, los prostasomas tienen la capacidad de inhibir dicha fagocitosis (Skibinski et al., 1992), así como inhiben toda actividad de las células natural-killer al presentar la proteína prostasómica CD48 (ligando responsable de activar el receptor de las células natural-killer) (Tarazona et al., 2011).

Desarrollo embrionario

Las vesículas extracelulares participan, también, en la comunicación entre las células durante el desarrollo embrionario. Durante este proceso, llevan a cabo una serie de funciones en

procesos como la formación de gradientes morfogénicos, migración celular y el desarrollo de la polaridad celular (Yáñez-Mó et al., 2015).

En el proceso de formación de gradientes morfogénicos, las vesículas extracelulares se encuentran implicadas en la secreción de proteínas WNT (proteínas de señalización fundamentales en el desarrollo embrionario y fetal) funcionales en el organismo. Esto se demostró al observar que dichas proteínas se localizan en la membrana externa de las VEs, las cuales poseen, además, tetraspaninas CD63 y CD81 implicadas en el tráfico de moléculas (Gross et al., 2012).

El paso de las proteínas WNT a las vesículas extracelulares es dependiente de los complejos de clasificación endosomal requeridos para el transporte (ESCRT) (complejo implicado en la formación de cuerpos multivesiculares por aglomeración de proteínas), así como es mediada por la proteína Evi Ykt6 (proteína que controla los endosomas tempranos reciclados) (Gross et al., 2012). Además, la secreción de morfógenos modificados con lípidos (proteínas con una doble modificación lipídica) depende también de la maquinaria ESCRT y es llevada a cabo por las VEs localizadas en los citonemas (filopodios especializados de señalización y necesarios para la generación del gradiente en el tejido) para crear un gradiente morfogénico en el tejido (Gradilla et al., 2014).

Por otro lado, las vesículas extracelulares participan, también, en la regulación de la polaridad celular y del patrón de crecimiento del tejido (Lakkaraju et al., 2008). Las proteínas involucradas en dicha regulación, como la Rab11 (regula la exocitosis) y la syntaxina-3 (regula el establecimiento del epitelio polarizado), se localizan en las VEs (Savina et al., 2002). Asimismo, el papel de las VEs en la polaridad celular también es avalado por su implicación en la señalización de Notch, que es imprescindible en dicha polaridad (Hermle et al., 2013).

Por tanto, todo esto demuestra la participación de las VEs en las principales rutas del desarrollo embrionario.

Transmisión intergeneracional

Las vesículas extracelulares se encargan, también, de la transmisión de señales clave de maduración desde las células epiteliales del epidídimo hasta los espermatozoides, las cuales son necesarias para el desarrollo postespermatogénico normal (Rodgers et al., 2015; Conine et al., 2018). De esta manera, la inhibición de este mecanismo supone una alteración del curso de desarrollo del embrión en la fertilización.

Por ejemplo, ante una situación de estrés crónico, las vesículas extracelulares transmiten una señal modificada desde las células epiteliales del epidídimo hasta los espermatozoides en

maduración, afectando esto al contenido de miARN de los espermatozoides y, por tanto, presentando consecuencias en las crías adultas (Rodgers et al., 2015).

4.2. Fisiopatología de las VEs

Las vesículas extracelulares, como se ha comentado con anterioridad, se encuentran implicadas en distintos procesos patológicos, de los cuales existen numerosas publicaciones e investigaciones de mayor extensión en relación a las escasas investigaciones realizadas sobre el papel fisiológico de las mismas. Debido a esto, en este apartado, aparecerán tejidos no mencionados en el epígrafe de las VEs en la fisiología.

4.2.1. VEs en cáncer

La comunicación entre las células tumorales se produce, principalmente, a través de citosinas, quimiocinas o factores de crecimiento. No obstante, también se produce por vesículas extracelulares derivadas de dichas células, desempeñando a su vez una función importante en la progresión del tumor. Esto significa que, al mismo tiempo que aumenta o madura el tumor, va a incrementar también la producción de vesículas extracelulares, haciendo que avance el tumor (Naito et al., 2017).

Esto es así dado que las VEs producidas por los tumores se comunican con células estromales vecinas (células endoteliales y fibroblastos). Por ejemplo, las VEs derivadas de glioblastoma (vesículas que contienen ARNm, miARN y proteínas angiogénicas) son captadas por las células estromales receptoras, desencadenando el crecimiento del tumor primario y la proliferación de las células endoteliales, conduciendo todo esto a metástasis (Skog et al., 2008) (Figura 5).

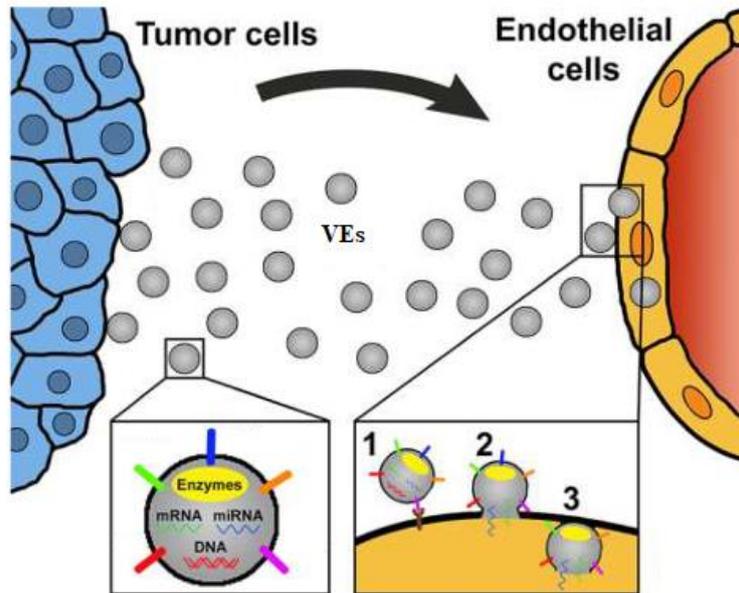


Figura 5: Proliferación del tumor en las células endoteliales a través de las VEs (Ludwig y Whiteside, 2018). El contenido de las VEs (proteínas, ARNm, miARN y ADN) procedentes de las células tumores es captado por las células endoteliales, promoviendo así el crecimiento tumoral y, por tanto, dando lugar a metástasis.

También, la expresión génica relacionada con la angiogénesis de las células endoteliales es activada por las VEs derivadas del cáncer de páncreas, las cuales expresan tetraspanina 8 (Nazarenko et al., 2010). De Wever et al. (2008) explicó que el crecimiento tumoral pancreático estaba estimulado, además, por VEs que contienen TGF- β (VEs de tumores pancreáticos), dado que este último es responsable de la conversión de los fibroblastos en miofibroblastos.

4.2.2. VEs en enfermedades metabólicas

Las VEs presentes en pacientes de enfermedades metabólicas son secretadas por células del tejido adiposo, páncreas, músculo e hígado, al plasma y encargadas de mediar efectos diferenciales en las células del sistema inmune, además de presentar alterado su contenido proteico (Lakhter et al., 2015). Además, ante una situación de resistencia a la insulina, aumenta tanto la secreción de VEs (Freeman et al., 2018) como la captación de las mismas por parte de los leucocitos, manifestando esto vías de expresión génica alteradas y relacionadas con la supervivencia celular, el estrés oxidativo y la función inmunitaria (Figura 6) (Couch et al., 2017).

Por su parte, el número de VEs procedentes de los adipocitos aumenta, también, en personas obesas, así como disminuye tras la limitación de energía o tras cirugía bariátrica y, por tanto, tras la pérdida de peso debido a que la obesidad altera la carga de ARNm, miARN y proteínas presentes en las VEs (Hubal et al., 2017). Estas VEs se encuentran implicadas en la vinculación de la adiposidad y la resistencia a la insulina en tejidos periféricos, como el hígado (Thomou et al., 2017; Koeck et al., 2014), así como actúan de mensajeras entre los adipocitos y otras células

del tejido adiposo mediante el transporte de miARN, produciendo cambios significativos en distintas proteínas con el objetivo de aumentar la sensibilidad a la insulina (Figura 6) (Takata et al., 2013).

Por ejemplo, las VEs procedentes de los adipocitos, a través de estímulos químicos, atraen monocitos, desencadenando la inflamación del tejido adiposo que se observa en pacientes obesos resistentes a la insulina (Eguchi et al., 2015).

En la diabetes tipo 2, aquellas VEs que poseen la proteína “Sonic hedgehog” controlan la activación de los macrófagos y la resistencia a la insulina (Song et al., 2018). Y, aquellas VEs derivadas de los macrófagos inflamatorios M1 interfieren en la diferenciación de los adipocitos y en la señalización de la insulina, mientras que aquellas derivadas de los macrófagos inflamatorios M2 mejoran la captación de glucosa de los adipocitos (Figura 6) (Zhang et al., 2015).

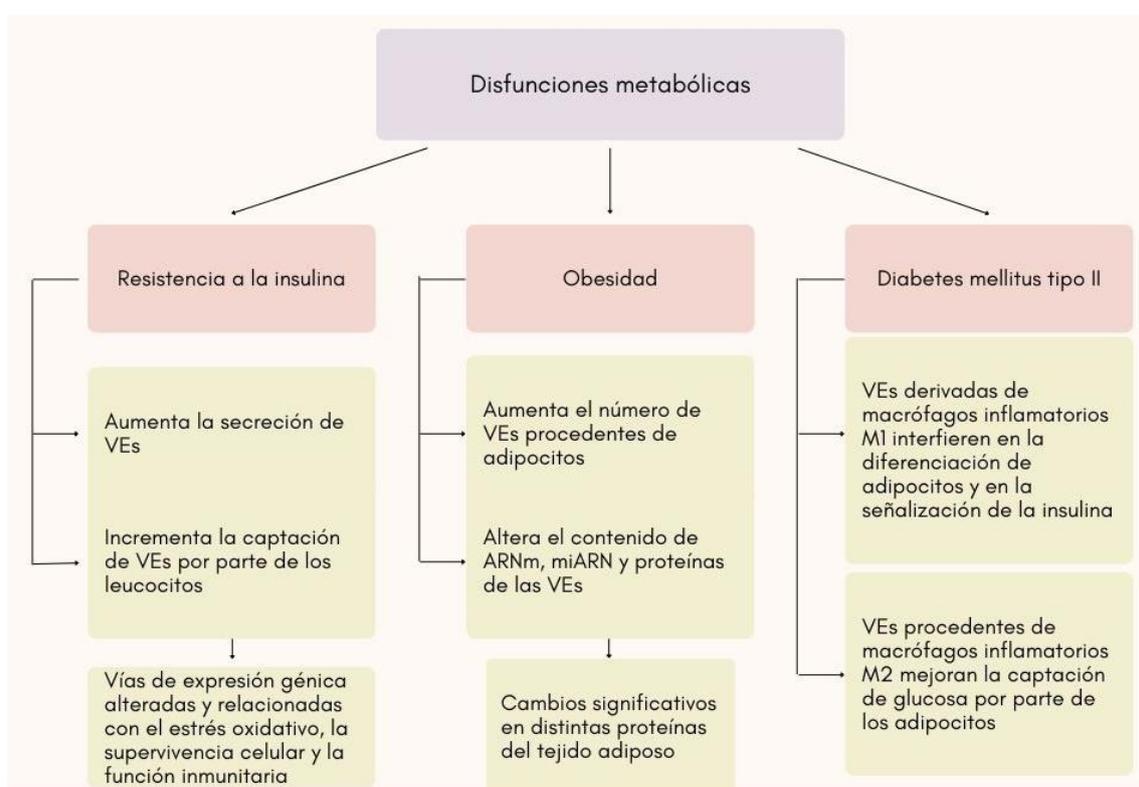


Figura 6: Disfunciones metabólicas y sus efectos sobre las VEs. Representación esquemática de los efectos que conllevan las disfunciones metabólicas sobre las VEs y, por consiguiente, sobre las funciones de las mismas.

4.2.3. VEs en enfermedades cardiovasculares

A nivel cardiovascular, las vesículas extracelulares son secretadas por células como los cardiomiocitos, células musculares lisas vasculares (VSMC), células endoteliales, fibroblastos, células inmunitarias, plaquetas, leucocitos y eritrocitos, y están implicadas en funciones vitales tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (Chong et al., 2019).

Entre las principales causas de mortalidad por enfermedad cardiovascular se encuentra la aterosclerosis. En esta enfermedad se encuentran implicados las vesículas extracelulares, así como en la proliferación y migración de las VSMC, disfunción endotelial, equilibrio calcio-fósforo, metabolismo de lípidos celulares y en la inflamación de la pared vascular, conllevando todo esto a una remodelación vascular (Yang et al., 2019).

Los niveles circulantes de VEs, durante lesiones ateroscleróticas, se encuentran aumentados y estas vesículas pueden tener orígenes celulares distintos. Por ejemplo, los pacientes con síndrome metabólico presentan concentraciones elevadas de VEs derivadas de plaquetas, eritrocitos y células endoteliales, lo cual está relacionado con el estrés oxidativo (estado fisiopatológico que agrava la salud cardiovascular) (Xu et al., 2017).

Este aumento en los niveles de VEs trae consigo repercusiones clínicas importantes: las VEs endoteliales en lesiones de alto riesgo (lesiones excéntricas) son mayores que en lesiones de bajo riesgo (lesiones concéntricas), así como las lesiones con trombos tienen mayor número de VEs endoteliales que en lesiones no trombóticas (Sarlon-Bartoli et al., 2013). Además, los niveles altos de VEs se relacionan con la vulnerabilidad de la placa, demostrándose esto al observar que el nivel de VEs endoteliales circulantes es más alto en pacientes con síndromes coronarios agudos que en pacientes con agina estable (Bernal-Mizrachi et al., 2003).

Por tanto, el aumento en el número de VEs durante lesiones cardíacas conlleva a una remodelación vascular, dada su implicación en los diferentes procesos mencionados anteriormente.

4.2.4. VEs en enfermedades neurodegenerativas

A nivel del sistema nervioso central, las VEs son liberadas a partir de neuronas, oligodendrocitos, microglia y astrocitos, mientras que, a nivel del sistema nervioso periférico, son liberadas por células gliales y neuronas. Dichas VEs actúan como reguladores de la función celular en el SNC y SNP, lo que indica que llevan a cabo una función fundamental en este sistema (Frühbeis et al., 2012).

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por presentar neuroinflamación y pérdida de las vainas de mielina como consecuencia de la muerte de los oligodendrocitos (lo que conduce a una transmisión de impulsos nerviosos más lenta). En este contexto, las VEs afectan a la neurogénesis (en el adulto), y están implicadas en la reparación de neuronas dañadas (Court et al., 2011). En la neurogénesis, controlan la biogénesis prematura de las vainas de mielina sobre los axones de las neuronas, proceso mediado por VEs liberadas a partir de los oligodendrocitos, las cuales promueve la diferenciación de los mismos y la formación de mielina (Bakhti et al.,

2011). Además, estas VEs procedentes de oligodendrocitos contienen una gran cantidad de proteínas formadores de mielina, tales como PLP, MBP, MOG Y CNP (Figura 7).

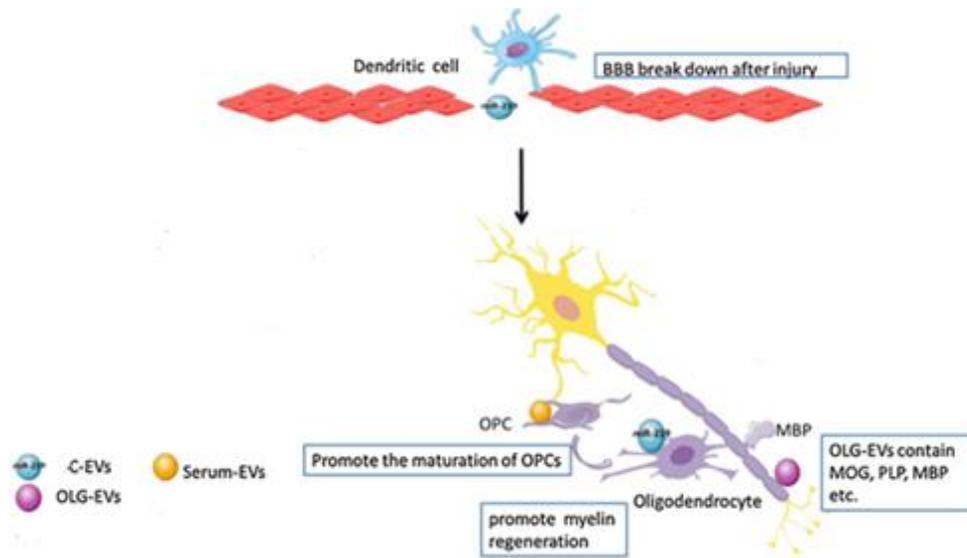


Figura 7: Vesículas extracelulares y su papel en enfermedades neurodegenerativas (Xiao et al., 2021).

En primer lugar, las VEs están implicadas en la regeneración de las vainas de mielina mediante su interacción con las células precursoras de oligodendrocitos (OPC), lo que promueve su maduración y, por tanto, la regeneración de mielina. También, esta regeneración de mielina se consigue dado que las VEs contienen proteínas formadoras de mielina, como PLP, MBP y MOG.

Por otro lado, en situaciones de estrés celular (privación de oxígeno y glucosa), la secreción de VEs a partir de oligodendrocitos y su captación por neuronas dan lugar a una mayor viabilidad neuronal y a cambios en la fisiología neuronal, como una tasa de activación elevada (Fröhlich et al., 2014).

También, las VEs procedentes de los astrocitos participan en la neuroprotección y estimulación del crecimiento axonal, lo cual se debe a la sinapsina (glicoproteína asociada a estas vesículas). Sin embargo, a pesar de esto, las VEs son responsables de la patogenia de las enfermedades del sistema nervioso central (Paschón et al., 2016). Esto se refleja en la presencia de determinadas proteínas en las VEs, tales como la proteína β -amiloide ($A\beta$) y α -sinucleína (Rajendran et al., 2006).

Por tanto, el hecho de que las células liberen VEs beneficiosas o patogénicas se debe al contenido de estas vesículas, lo cual depende del tipo celular del que procedan y del estado fisiológico o patológico de esta célula de origen.

La enfermedad del Alzheimer, una de las enfermedades neurodegenerativas, se caracteriza por liberar la proteína β -amiloide asociada a las VEs, ya que estas proteínas se encuentran aglomeradas en cuerpos multivesiculares y se liberan tras la fusión con la membrana

plasmática. Esto indica que dichas VEs están implicados en la formación de placas amiloides (Rajendran et al., 2006).

En esta enfermedad, la inyección de VEs procedentes de células dendríticas puede constituir un efecto neuroprotector. Esto se debe a la posibilidad de introducir, en estas VEs, ARNpi de la enzima 1 de escisión de amiloide del sitio β , unido al péptido RVG (encargado del direccionamiento). De esta manera, gracias al ARNpi, se consigue eliminar la proteasa BACE 1, eliminando así el β -amiloide y, por tanto, disminuyendo la formación de placas amiloides (Alvarez-Erviti et al., 2011).

4.2.5. VEs en enfermedades infecciosas (SARS-CoV-2)

Durante las infecciones virales, las vesículas extracelulares actúan como vectores de entrega de materiales virales, ya que transportan e incorporan ácidos nucleicos, proteínas y lípidos derivados de los patógenos desde las células infectadas a las células sanas. Por tanto, las VEs desempeñan un papel fundamental en la patogénesis de la infección (Yoshikawa et al., 2019).

Estudios recientes demuestran la existencia de dos mecanismos por los que se puede propagar la infección de SARS-Cov-2 mediada por VEs. En primer lugar, las VEs se encargan de transportar miARN, proteínas del virus y del receptor de superficie de la enzima convertidora de angiotensina 2 (receptor ACE2) desde las células infectadas a las células sanas, haciendo que estas últimas sean más susceptibles a la infección por el virus (Figura 8). La transferencia del receptor ACE2 desde células infectadas a células sanas y mediante VEs se produce como consecuencia de la infección por SARS-CoV-2 dada la elevada afinidad que posee este virus por el receptor (Wan et al., 2020).

El progreso de esta infección requiere varios pasos, entre los que se incluyen la unión de la proteína de pico (S), localizada en la superficie del virus, con el receptor ACE2. A esta unión, le sigue la escisión intracelular de la proteína S, etapa mediada por la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2) (Hoffmann et al., 2020).

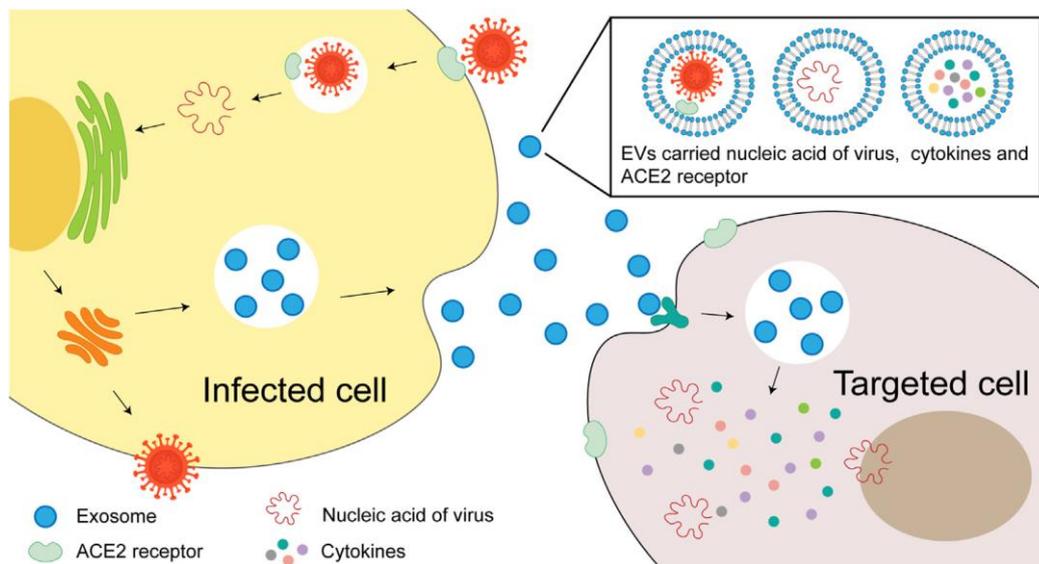


Figura 8: Papel de las VEs en el progreso de la infección por SARS-CoV-2 (Yan et al., 2021). Las VEs se encuentran implicadas en la transmisión de esta infección dado que contienen miARN, proteínas virales y el receptor ACE2, haciendo que las células sanas se vuelvan más susceptibles a la invasión del virus.

Un segundo mecanismo por el que se puede propagar la infección viral mediada por VEs involucra a la tetraspanina CD9, una proteína transmembrana que ejerce un papel fundamental en el proceso de unión e incorporación de las VEs en las células receptoras. Esta proteína y TMPRSS2, en su conjunto, participan en la escisión de las glicoproteínas de fusión viral, facilitando una entrada rápida de coronavirus en las células pulmonares (Earnest et al., 2017). También, esta tetraspanina produce una aceleración de la infección viral y mejora la eficiencia de la transducción viral en las células responsables del sistema inmunitario, como son las células B y los linfocitos T (Böker et al., 2018).

Sin embargo, las VEs procedentes de las células infectadas pueden promover una respuesta inmunitaria humoral y celular en el organismo, dado que transmiten antígenos virales y propios (Gunasekaran et al., 2017).

4.3. Aplicaciones de las VEs

El interés acerca de las VEs está creciendo y sus potenciales aplicaciones en diversas enfermedades, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, metabólicas, neurológicas, infecciosas, etc., han demostrado la utilización de las VEs como biomarcadores para diagnóstico, pronóstico y monitorización de terapias en diversas enfermedades (Shah et al., 2018).

4.3.1. Marcadores de diagnóstico

En el ámbito clínico, las vesículas extracelulares se emplean, también como herramientas de diagnóstico de distintas enfermedades. Por ejemplo, en las enfermedades cardiovasculares, la concentración de VEs procedentes de glóbulos rojos aumenta en infarto de miocardio por elevación de segmento ST (STEMI, un tipo de ataque cardíaco causado por la obstrucción repentina de la rama izquierda) (Giannopoulos et al., 2017). También, las VEs derivadas de plaquetas son indicativas de un próximo daño vascular en aquellos pacientes que presentan antecedentes de accidente cerebrovascular, por lo que modular la formación de estas VEs tiene implicaciones beneficiosas y puede convertirse en una nueva diana terapéutica, siendo esto último objeto de investigación (Rosinska et al., 2019).

Por tanto, en este caso, tanto elevados niveles de VEs procedentes de glóbulos rojos y de plaquetas se consideran marcadores de diagnóstico para la enfermedad cardiovascular.

4.3.2. Oportunidades terapéuticas

Las vesículas extracelulares constituyen una vía alternativa de administración de fármacos para el tratamiento de distintas enfermedades, presentando una serie de ventajas (✓) e inconvenientes (✗):

- ✓ Las VEs poseen tropismo celular, es decir, capacidad para dirigirse a un órgano o tejido de forma específica (Walker et al., 2019).
- ✓ Dado que constituyen una forma de encapsular fármacos, favorece la protección de los mismos frente a la degradación en circulación sanguínea (Vader et al., 2016).
- ✓ Las VEs emplean mecanismos endógenos para su captación, tráfico intracelular y para la transmisión de su contenido a las células receptoras (Vader et al., 2016).
- ✗ Ausencia de protocolos para la obtención de VEs a nivel industrial (Lu et al., 2017).
- ✗ Es necesario mejorar su biodistribución in vivo, dado que es fundamental para que ejerzan el papel terapéutico de forma deseada (Lu et al., 2017).
- ✗ Para controlar la cantidad y dosis de fármaco encapsulado en las VEs, es necesario mejorar la eficacia de dicha encapsulación (Lu et al., 2017).

Además, el empleo de VEs a nivel terapéutico se puede observar en enfermedades tales como el cáncer. Esta estrategia terapéutica basada en VEs depende de la composición de proteínas de la superficie de las mismas, dirigiéndose a un tejido u otro en función de las mismas (Hoshino et al., 2015). Esto se demostró cuando Wahlgren et al. (2012) explicaron que las VEs, a las que se les introduce ARNpi (ARN interferente pequeño) artificial contra la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), reduciendo, in vitro, la expresión del gen MAPK1. Por tanto, surge como estrategia terapéutica a nivel de medicina personalizada de cáncer renal al bloquear el crecimiento del tumor.

Shtam et al. (2013) demostraron, también, que se produce una importante reducción de la transcripción de la proteína RAD51 en líneas celulares de cáncer de colon HCT116 mediante su incubación con VEs que contienen ARNpi contra RAD51. Como consecuencia, se produce la muerte de las células cancerosas receptoras, lo que demuestra el beneficio del empleo de VEs como vehículos de administración de fármacos.

4.3.3. Avances terapéuticos

VEs y vacunas

Nogueira et al., (2015) han demostrado potentes resultados del empleo de vacunas basadas en vesículas extracelulares procedentes de células infectadas y de patógenos. Además, los parásitos, helmintos, hongos, bacterias y células infectadas por virus liberan, también, VEs (Lener et al., 2015). No obstante, existe riesgo de propagación de patógenos al transferir ARN funcional estas VEs (Kalamvoki et al., 2014).

Un ejemplo de ello se encuentra en las VEs derivadas de bacterias, que transportan proteínas bioactivas, lípidos, ácidos nucleicos y factores de virulencia, y que se están estudiando para su empleo en vacunas. Con respecto a las vacunas convencionales y desde un punto de vista tumorigénico e infeccioso, presentan la ventaja de ser más seguras (van der Grein et al., 2018) y eficaces contra enfermedades infecciosas que aún carecen de tratamientos eficaces (por ejemplo, tuberculosis y enfermedades entéricas (Kaparakis-Liaskos et al., 2015) dado que no las VEs no pueden dividirse ni multiplicarse).

VEs en bioingeniería

A través de la manipulación de las células de origen de las VEs, se pueden obtener VEs con determinadas características. Por ejemplo, para mejorar la transmisión de ARNpi al cerebro, Álvarez-Erviti et al. (2011) emplearon VEs modificadas. Esta modificación consistió en la introducción de un péptido de la glicoproteína viral de la rabia (RVG) en la superficie de la vesícula, el cual actúa como péptido de direccionamiento hacia el cerebro. Con esto consiguieron una mayor acumulación de ARNpi en el cerebro después de inyecciones intravenosas y, por tanto, una desactivación de determinados genes (objetivo terapéutico, por ejemplo, de la enfermedad del Alzheimer).

Otro avance de ingeniería se basa en utilizar vesículas extracelulares diseñados optogenéticamente, es decir, mediante técnicas ópticas y genéticas, con el objetivo de introducir proteínas de interés en las VEs. Para ello, Yim et al. (2016) introdujeron las proteínas deseadas en VEs utilizando interacciones proteína-proteína reversibles y controladas por luz azul. Asimismo, también se puede introducir la proteína de interés mediante la vía de dominio tardío (dominio L), que consiste en que proteínas que presentan el dominio L (como la proteína Ndfip

1) reconocen a proteínas con dominios WW. De esta manera, se introduce la proteína intracelular recombinasa Cre (unida a dos dominios WW) en VEs, proteína capaz de inducir la recombinación del ADN en las células receptoras (células del sistema nervioso), constituyendo esto una oportunidad terapéutica para las enfermedades cerebrales (Sterzenbach et al., 2017).

Por último, las VEs híbridas resultan ser, también, una estrategia alternativa para mejorar la administración de tratamientos. Estas VEs se consiguen fusionando la membrana de la VE con liposomas mediante el método de congelación y descongelación, con la finalidad de aumentar el tiempo de circulación de las VEs en sangre y reducir su absorción por el sistema de fagocitos mononucleares (ya que los liposomas son componentes naturales del organismo y no producen efecto tóxico ni incompatibilidad con los tejidos) (Sato et al., 2016).

5. CONCLUSIONES

Los datos obtenidos hasta el momento acerca de las vesículas extracelulares demuestran la implicación de estas en diferentes funciones fisiológicas y fisiopatológicas, al mismo tiempo que son partícipes en el diagnóstico de enfermedades específicas y en el avance de nuevas terapias. A nivel fisiológico, a pesar de que la biología de las vesículas extracelulares (composición molecular, mecanismos de absorción) sigue siendo línea de investigación, estudios realizados hasta la fecha muestran el papel que ejercen las vesículas extracelulares mediante el transporte de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos hacia diferentes células con el objetivo de regular distintos procesos fisiológicos.

Haciendo referencia al objetivo de regular los procesos fisiológicos, este trabajo de revisión bibliográfica ilustra las funciones mediadas por las vesículas extracelulares en los fluidos biológicos (sangre, orina, líquido seminal, entre otros) y en determinados procesos fisiológicos, como es la reproducción. Así, por ejemplo, la existencia de VEs pro y anticoagulantes en la sangre contribuye al mantenimiento del equilibrio fisiológico, así como la regulación de la coagulación está mediada por VEs sanguíneas unidas a anticuerpos IgM.

Asimismo, en lo que respecta al proceso de la reproducción, destacar la importancia de la existencia de las epididimosomas y prostasomas dado que, tras la liberación de su contenido a los espermatozoides, facilitan tanto la maduración como la llegada al ovocito de los mismos.

Por otro lado, a nivel fisiopatológico, las VEs contribuyen a la progresión de distintas enfermedades, debido también al transporte de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos relacionados con la patogenia de la enfermedad. Por ejemplo, la progresión del glioblastoma mediada por las VEs es debida a la presencia de ARNm, miARN y proteínas angiogénicas en las mismas, y a su interacción con las células receptoras, lo que desencadena el crecimiento del tumor.

Otro ejemplo es el caso de la infección por SARS-CoV-2, donde se produce la progresión de la enfermedad por dos mecanismos mediados por VEs.

Por último, en el ámbito clínico, se ha visto también cómo las VEs se emplean en el diagnóstico de enfermedades específicas y en el tratamiento de las mismas de forma novedosa. De esta forma, las VEs siguen siendo objeto de estudio en cuanto a su empleo como agentes terapéuticos, siendo algunos enfoques terapéuticos la administración de fármacos mediante VEs, terapias inmunomoduladoras o regenerativas y la obtención de vacunas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abrami, L., Brandi, L., Moayeri, M., Brown, M. J., Krantz, B. A., Leppla, S. H. y van der Goot, F. G. (2013). Hijacking multivesicular bodies enables long-term and exosome-mediated long-distance action of anthrax toxin. *Cell reports*, 5(4), 986–996. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.10.019>

Admyre, C., Grunewald, J., Thyberg, J., Gripenbäck, S., Tornling, G., Eklund, A., Scheynius, A. y Gabrielsson, S. (2003). Exosomes with major histocompatibility complex class II and costimulatory molecules are present in human BAL fluid. *The European respiratory journal*, 22(4), 578–583. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00041703>

Bailey J. L. (2010). Factors regulating sperm capacitation. *Systems biology in reproductive medicine*, 56(5), 334–348. <https://doi.org/10.3109/19396368.2010.512377>

Bakhti, M., Winter, C., & Simons, M. (2011). Inhibition of myelin membrane sheath formation by oligodendrocyte-derived exosome-like vesicles. *The Journal of biological chemistry*, 286(1), 787–796. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.190009>

Beninson, L. A. y Fleshner, M. (2014). Exosomes: an emerging factor in stress-induced immunomodulation. *Seminars in immunology*, 26(5), 394–401. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2013.12.001>

Berckmans, R. J., Nieuwland, R., Tak, P. P., Böing, A. N., Romijn, F. P., Kraan, M. C., Breedveld, F. C., Hack, C. E. y Sturk, A. (2002). Cell-derived microparticles in synovial fluid from inflamed arthritic joints support coagulation exclusively via a factor VII-dependent mechanism. *Arthritis and rheumatism*, 46(11), 2857–2866. <https://doi.org/10.1002/art.10587>

Berckmans, R. J., Sturk, A., van Tienen, L. M., Schaap, M. C. y Nieuwland, R. (2011). Cell-derived vesicles exposing coagulant tissue factor in saliva. *Blood*, 117(11), 3172–3180. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-06-290460>

Bernal-Mizrachi, L., Jy, W., Jimenez, J. J., Pastor, J., Mauro, L. M., Horstman, L. L., de Marchena, E., & Ahn, Y. S. (2003). High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *American heart journal*, 145(6), 962–970. [https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(03\)00103-0](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(03)00103-0)

Böker, K. O., Lemus-Diaz, N., Rinaldi Ferreira, R., Schiller, L., Schneider, S., & Gruber, J. (2018). The Impact of the CD9 Tetraspanin on Lentivirus Infectivity and Exosome Secretion. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 26(2), 634–647. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.11.008>

Braundmeier, A. G., Dayger, C. A., Mehrotra, P., Belton, R. J., Jr, & Nowak, R. A. (2012). EMMPRIN is secreted by human uterine epithelial cells in microvesicles and stimulates metalloproteinase production by human uterine fibroblast cells. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 19(12), 1292–1301. <https://doi.org/10.1177/1933719112450332>

Caby, M. P., Lankar, D., Vincendeau-Scherrer, C., Raposo, G. y Bonnerot, C. (2005). Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *International immunology*, 17(7), 879–887. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxh267>

Chargaff, E. y West, R. (1946). The biological significance of the thromboplastic protein of blood. *The Journal of biological chemistry*, 166 (1), 189–197.

Chong, S. Y., Lee, C. K., Huang, C., Ou, Y. H., Charles, C. J., Richards, A. M., Neupane, Y. R., Pavon, M. V., Zharkova, O., Pastorin, G. y Wang, J. W. (2019). Extracellular Vesicles in Cardiovascular Diseases: Alternative Biomarker Sources, Therapeutic Agents, and Drug Delivery Carriers. *International journal of molecular sciences*, 20(13), 3272. <https://doi.org/10.3390/ijms20133272>

Conine, C. C., Sun, F., Song, L., Rivera-Pérez, J. A. y Rando, O. J. (2018). Small RNAs Gained during Epididymal Transit of Sperm Are Essential for Embryonic Development in Mice. *Developmental cell*, 46(4), 470–480.e3. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.06.024>

Cooper T. G. (1998). Interactions between epididymal secretions and spermatozoa. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 53, 119–136.

Couch, Y., Akbar, N., Roodselaar, J., Evans, M. C., Gardiner, C., Sargent, I., Romero, I. A., Bristow, A., Buchan, A. M., Haughey, N. y Anthony, D. C. (2017). Circulating endothelial cell-derived extracellular vesicles mediate the acute phase response and sickness behaviour associated with CNS inflammation. *Scientific reports*, 7(1), 9574. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09710-3>

Court, F. A., Midha, R., Cisterna, B. A., Grochmal, J., Shakhbazau, A., Hendriks, W. T. y Van Minnen, J. (2011). Morphological evidence for a transport of ribosomes from Schwann cells to regenerating axons. *Glia*, 59(10), 1529–1539. <https://doi.org/10.1002/glia.21196>

De Wever, O., Pauwels, P., De Craene, B., Sabbah, M., Emami, S., Redeuilh, G., Gespach, C., Bracke, M. y Berx, G. (2008). Molecular and pathological signatures of epithelial-mesenchymal transitions at the cancer invasion front. *Histochemistry and cell biology*, 130(3), 481–494. <https://doi.org/10.1007/s00418-008-0464-1>

Denzer, K., van Eijk, M., Kleijmeer, M. J., Jakobson, E., de Groot, C., & Geuze, H. J. (2000). Follicular dendritic cells carry MHC class II-expressing microvesicles at their surface. *Journal of immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 165(3), 1259–1265. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.3.1259>

Drurey, C., Coakley, G., y Maizels, R. M. (2020). Extracellular vesicles: new targets for vaccines against helminth parasites. *International journal for parasitology*, 50(9), 623–633. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.04.011>

Earnest, JT, Hantak, MP, Li, K., McCray, PB, Jr, Perlman, S. y Gallagher, T. (2017). La tetraspanina CD9 facilita la entrada del MERS-coronavirus mediante el andamiaje de los receptores y las proteasas de las células huésped. *Patógenos PLoS*, 13 (7), e1006546. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006546>

Eguchi, A., Mulya, A., Lazic, M., Radhakrishnan, D., Berk, M. P., Povero, D., Gornicka, A., & Feldstein, A. E. (2015). Microparticles release by adipocytes act as "find-me" signals to promote macrophage migration. *PloS one*, 10(4), e0123110. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123110>

Fang, D. Y., King, H. W., Li, J. Y., & Gleadle, J. M. (2013). Exosomes and the kidney: blaming the messenger. *Nephrology (Carlton, Vic.)*, 18(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/nep.12005>

Fitzner, D., Schnaars, M., van Rossum, D., Krishnamoorthy, G., Dibaj, P., Bakhti, M., Regen, T., Hanisch, U. K. y Simons, M. (2011). Selective transfer of exosomes from oligodendrocytes to microglia by macropinocytosis. *Journal of cell science*, 124(Pt 3), 447–458. <https://doi.org/10.1242/jcs.074088>

Freeman, D. W., Noren Hooten, N., Eitan, E., Green, J., Mode, N. A., Bodogai, M., Zhang, Y., Lehrmann, E., Zonderman, A. B., Biragyn, A., Egan, J., Becker, K. G., Mattson, M. P., Ejiogu, N. y Evans, M. K. (2018). Altered Extracellular Vesicle Concentration, Cargo, and Function in Diabetes. *Diabetes*, 67(11), 2377–2388. <https://doi.org/10.2337/db17-1308>

Fox, A.S. y Yoon, S.B. (1970). DNA-induced transformation in *Drosophila*: Locus-specificity and the establishment of transformed stocks. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*, 67 (3), 1608–1615. <https://doi.org/10.1073/pnas.67.3.1608>

Fröhlich, D., Kuo, WP, Frühbeis, C., Sun, JJ, Zehendner, CM, Luhmann, HJ, Pinto, S., Toedling, J., Trotter, J. y Krämer-Albers, EM (2014). Efectos multifacéticos de los exosomas oligodendrogiales en las neuronas: impacto en la tasa de disparo neuronal, transducción de señales y regulación génica. *Transacciones filosóficas de la Royal Society de Londres. Serie B, Ciencias biológicas*, 369 (1652), 20130510. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0510>

Frühbeis, C., Fröhlich, D. y Krämer-Albers, E. M. (2012). Emerging roles of exosomes in neuron-glia communication. *Frontiers in physiology*, 3, 119. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00119>

Giannopoulos, G., Vrachatis, D. A., Oudatzis, G., Paterakis, G., Angelidis, C., Koutivas, A., Sianos, G., Cleman, M. W., Filippatos, G., Lekakis, J., & Deftereos, S. (2017). Circulating Erythrocyte Microparticles and the Biochemical Extent of Myocardial Injury in ST Elevation Myocardial Infarction. *Cardiology*, 136(1), 15–20. <https://doi.org/10.1159/000447625>

Gradilla, A. C., González, E., Seijo, I., Andrés, G., Bischoff, M., González-Mendez, L., Sánchez, V., Callejo, A., Ibáñez, C., Guerra, M., Ortigão-Farias, J. R., Sutherland, J. D., González, M., Barrio, R., Falcón-Pérez, J. M. y Guerrero, I. (2014). Exosomes as Hedgehog carriers in cytoneme-mediated transport and secretion. *Nature communications*, 5, 5649. <https://doi.org/10.1038/ncomms6649>

Gross, J. C., Chaudhary, V., Bartscherer, K. y Boutros, M. (2012). Active Wnt proteins are secreted on exosomes. *Nature cell biology*, 14(10), 1036–1045. <https://doi.org/10.1038/ncb2574>

Guescini, M., Genedani, S., Stocchi, V. y Agnati, L. F. (2010). Astrocytes and Glioblastoma cells release exosomes carrying mtDNA. *Journal of neural transmission* (Vienna, Austria: 1996), 117(1), 1–4. <https://doi.org/10.1007/s00702-009-0288-8>

Gunasekaran, M., Xu, Z., Nayak, D. K., Sharma, M., Hachem, R., Walia, R., Bremner, R. M., Smith, M. A. y Mohanakumar, T. (2017). Donor-Derived Exosomes With Lung Self-Antigens in Human Lung Allograft Rejection. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 17(2), 474–484. <https://doi.org/10.1111/ajt.13915>

Hermle, T., Guida, M. C., Beck, S., Helmstädter, S. y Simons, M. (2013). *Drosophila* ATP6AP2/VhaPRR functions both as a novel planar cell polarity core protein and a regulator of endosomal trafficking. *EMBO J.* 2013; 32(2):245-59.

Hiemstra, T. F., Charles, P. D., Gracia, T., Hester, S. S., Gatto, L., Al-Lamki, R., Floto, R. A., Su, Y., Skepper, J. N., Lilley, K. S. y Karet Frankl, F. E. (2014). Human urinary exosomes as innate immune effectors. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 25(9), 2017–2027. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013101066>

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, TS, Herrler, G., Wu, NH, Nitsche, A., Müller, MA, Drosten, C. y Pöhlmann, S. (2020). La entrada de células SARS-CoV-2 depende de ACE2 y TMPRSS2 y está bloqueada por un inhibidor de proteasa clínicamente probado. *Celda*, 181 (2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>

Hoshino, A., Costa-Silva, B., Shen, T. L., Rodrigues, G., Hashimoto, A., Tesic Mark, M., Molina, H., Kohsaka, S., Di Giannatale, A., Ceder, S., Singh, S., Williams, C., Soplop, N., Uryu, K., Pharmed, L., King, T., Bojmar, L., Davies, A. E., Ararso, Y., Zhang, T., ... Lyden, D. (2015). Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*, 527(7578), 329–335. <https://doi.org/10.1038/nature15756>

Hubal, M. J., Nadler, E. P., Ferrante, S. C., Barberio, M. D., Suh, J. H., Wang, J., Dohm, G. L., Pories, W. J., Mietus-Snyder, M. y Freishtat, R. J. (2017). Circulating adipocyte-derived exosomal MicroRNAs associated with decreased insulin resistance after gastric bypass. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 25(1), 102–110. <https://doi.org/10.1002/oby.21709>

Jella, KK, Yu, L., Yue, Q., Friedman, D., Duke, BJ y Alli, AA (2016). GAPDH exosomal de las células del túbulo proximal regulan la actividad de ENaC. *PloS uno*, 11 (11), e0165763. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165763>

Johnstone, R.M., Adam, M., Hammond, J.R., Orr, L. y Turbide, C. (1987). Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *The Journal of biological chemistry*, 262(19), 9412–9420.

Kalamvoki, M., Du, T. y Roizman, B. (2014). Cells infected with herpes simplex virus 1 export to uninfected cells exosomes containing STING, viral mRNAs, and microRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(46), E4991–E4996. <https://doi.org/10.1073/pnas.1419338111>

Kaparakis-Liaskos, M. y Ferrero, R. L. (2015). Immune modulation by bacterial outer membrane vesicles. *Nature reviews. Immunology*, 15(6), 375–387. <https://doi.org/10.1038/nri3837>

Keller, S., Ridinger, J., Rupp, A. K., Janssen, J. W. y Altevogt, P. (2011). Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics. *Journal of translational medicine*, 9, 86. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-86>

- Knepper, M. A. y Pisitkun, T. (2007). Exosomes in urine: who would have thought...? *Kidney international*, 72(9), 1043–1045. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002510>
- Koeck, E. S., Iordanskaia, T., Sevilla, S., Ferrante, S. C., Hubal, M. J., Freishtat, R. J. y Nadler, E. P. (2014). Adipocyte exosomes induce transforming growth factor beta pathway dysregulation in hepatocytes: a novel paradigm for obesity-related liver disease. *The Journal of surgical research*, 192(2), 268–275. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.06.050>
- Kulp, A. y Kuehn, M. J. (2010). Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annual review of microbiology*, 64, 163–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073413>
- Kumamoto, K., Yang, X. Z., Hasegawa, A., Komori, S. y Koyama, K. (2009). CD52 expression is induced in the mouse uterus at the time of embryo implantation. *Journal of reproductive immunology*, 82(1), 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2009.07.003>
- Lakhter, A. J. y Sims, E. K. (2015). Minireview: Emerging Roles for Extracellular Vesicles in Diabetes and Related Metabolic Disorders. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 29(11), 1535–1548. <https://doi.org/10.1210/me.2015-1206>
- Lakkaraju, A. y Rodriguez-Boulan, E. (2008). Itinerant exosomes: emerging roles in cell and tissue polarity. *Trends in cell biology*, 18(5), 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2008.03.002>
- Lässer, C., Eldh, M. y Lötvall, J. (2012). Isolation and characterization of RNA-containing exosomes. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (59), e3037. <https://doi.org/10.3791/3037>
- Lener, T., Gimona, M., Aigner, L., Börger, V., Buzas, E., Camussi, G., Chaput, N., Chatterjee, D., Court, F. A., Del Portillo, H. A., O'Driscoll, L., Fais, S., Falcon-Perez, J. M., Felderhoff-Mueser, U., Fraile, L., Gho, Y. S., Görgens, A., Gupta, R. C., Hendrix, A., Hermann, D. M., ... Giebel, B. (2015). Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials - an ISEV position paper. *Journal of extracellular vesicles*, 4, 30087. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.30087>
- Li, Y., He, X., Li, Q., Lai, H., Zhang, H., Hu, Z., Li, Y. y Huang, S. (2020). EV-origin: Enumerating the tissue-cellular origin of circulating extracellular vesicles using exLR profile. *Computational and structural biotechnology journal*, 18, 2851–2859. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.10.002>
- Lu, M., Xing, H., Yang, Z., Sun, Y., Yang, T., Zhao, X., Cai, C., Wang, D. y Ding, P. (2017). Avances recientes en vesículas extracelulares en el suministro terapéutico: desafíos, soluciones y oportunidades. *Revista europea de productos farmacéuticos y biofarmacéuticos: publicación oficial de Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik eV*, 119, 381–395. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.07.010>

Ludwig, N. y Whiteside, T. L. (2018). Potential roles of tumor-derived exosomes in angiogenesis. *Expert opinion on therapeutic targets*, 22(5), 409–417. <https://doi.org/10.1080/14728222.2018.1464141>

Megías M, Molist P, Pombal MA. (2019). Atlas de histología vegetal y animal. Recuperado (2022) de : <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>

Morelli, A. E., Larregina, A. T., Shufesky, W. J., Sullivan, M. L., Stolz, D. B., Papworth, G. D., Zahorchak, A. F., Logar, A. J., Wang, Z., Watkins, S. C., Falo, L. D., Jr, y Thomson, A. W. (2004). Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells. *Blood*, 104(10), 3257–3266. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-03-0824>

Mulcahy, L. A., Pink, R. C. y Carter, D. R. (2014). Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *Journal of extracellular vesicles*, 3, 10.3402/jev.v3.24641. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24641>

Naito, Y., Yoshioka, Y., Yamamoto, Y. y Ochiya, T. (2017). How cancer cells dictate their microenvironment: present roles of extracellular vesicles. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 74(4), 697–713. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2346-3>

Nakase, I. y Futaki, S. (2015). Combined treatment with a pH-sensitive fusogenic peptide and cationic lipids achieves enhanced cytosolic delivery of exosomes. *Scientific reports*, 5, 10112. <https://doi.org/10.1038/srep10112>

Nazarenko, I., Rana, S., Baumann, A., McAlear, J., Hellwig, A., Trendelenburg, M., Lochnit, G., Preissner, K. T. y Zöller, M. (2010). Cell surface tetraspanin Tspan8 contributes to molecular pathways of exosome-induced endothelial cell activation. *Cancer research*, 70(4), 1668–1678. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2470>

Ng, Y. H., Rome, S., Jalabert, A., Forterre, A., Singh, H., Hincks, C. L. y Salamonsen, L. A. (2013). Endometrial exosomes/microvesicles in the uterine microenvironment: a new paradigm for embryo-endometrial cross talk at implantation. *PloS one*, 8(3), e58502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058502>

Nogueira, P. M., Ribeiro, K., Silveira, A. C., Campos, J. H., Martins-Filho, O. A., Bela, S. R., Campos, M. A., Pessoa, N. L., Colli, W., Alves, M. J., Soares, R. P. y Torrecilhas, A. C. (2015). Vesicles from different *Trypanosoma cruzi* strains trigger differential innate and chronic immune responses. *Journal of extracellular vesicles*, 4, 28734. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.28734>

Obermayer, G., Afonyushkin, T., Göderle, L., Puhm, F., Schrottmaier, W., Taqi, S., Schwameis, M., Ay, C., Pabinger, I., Jilma, B., Assinger, A., Mackman, N. y Binder, C. J. (2021). Natural

IgM antibodies inhibit microvesicle-driven coagulation and thrombosis. *Blood*, 137(10), 1406–1415. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007155>

Ogawa, Y., Kanai-Azuma, M., Akimoto, Y., Kawakami, H. y Yanoshita, R. (2008). Exosome-like vesicles with dipeptidyl peptidase IV in human saliva. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 31(6), 1059–1062. <https://doi.org/10.1248/bpb.31.1059>

Ogawa, Y., Taketomi, Y., Murakami, M., Tsujimoto, M. y Yanoshita, R. (2013). Small RNA transcriptomes of two types of exosomes in human whole saliva determined by next generation sequencing. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 36(1), 66–75. <https://doi.org/10.1248/bpb.b12-00607>

Palanisamy, V., Sharma, S., Deshpande, A., Zhou, H., Gimzewski, J. y Wong, DT (2010). Análisis nanoestructurales y transcriptómicos de exosomas derivados de saliva humana. *PloS uno*, 5 (1), e8577. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008577>

Paschon, V., Takada, S. H., Ikebara, J. M., Sousa, E., Raeisossadati, R., Ulrich, H. y Kihara, A. H. (2016). Interplay Between Exosomes, microRNAs and Toll-Like Receptors in Brain Disorders. *Molecular neurobiology*, 53(3), 2016–2028. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9142-1>

Peruzzotti-Jametti, L., Bernstock, J. D., Willis, C. M., Manferrari, G., Rogall, R., Fernandez-Vizarra, E., Williamson, J. C., Braga, A., van den Bosch, A., Leonardi, T., Krzak, G., Kittel, Á., Benincá, C., Vicario, N., Tan, S., Bastos, C., Bicci, I., Iraci, N., Smith, J. A., Peacock, B., ... Pluchino, S. (2021). Neural stem cells traffic functional mitochondria via extracellular vesicles. *PLoS biology*, 19(4), e3001166. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001166>

Pisitkun, T., Shen, R. F. y Knepper, M. A. (2004). Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(36), 13368–13373. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403453101>

Poliakov, A., Spilman, M., Dokland, T., Amling, C. L. y Mobley, J. A. (2009). Structural heterogeneity and protein composition of exosome-like vesicles (prostasomes) in human semen. *The Prostate*, 69(2), 159–167. <https://doi.org/10.1002/pros.20860>

Rajendran, L., Honsho, M., Zahn, T. R., Keller, P., Geiger, K. D., Verkade, P. y Simons, K. (2006). Alzheimer's disease beta-amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(30), 11172–11177. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603838103>

Raposo, G., Nijman, H.W., Stoorvogel, W., Liejendekker, R., Harding, C.V., Melief, C.J. y Geuze, H.J. (1996). B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *The Journal of experimental medicine*, 183 (3), 1161–1172. <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161>

Rodgers, A. B., Morgan, C. P., Leu, N. A. y Bale, T. L. (2015). Transgenerational epigenetic programming via sperm microRNA recapitulates effects of paternal stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(44), 13699–13704. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508347112>

Ronquist G. (2012). Prostatosomes are mediators of intercellular communication: from basic research to clinical implications. *Journal of internal medicine*, 271(4), 400–413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2011.02487.x>

Rosińska, J., Ambrosius, W., Maciejewska, J., Narożny, R., Kozubski, W., & Łukasik, M. (2019). Association of platelet-derived microvesicles and their phenotypes with carotid atherosclerosis and recurrent vascular events in patients after ischemic stroke. *Thrombosis research*, 176, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2019.01.014>

Sahlén, G., Nilsson, O., Larsson, A., Carlsson, L., Norlén, B. J. y Ronquist, G. (2010). Secretions from seminal vesicles lack characteristic markers for prostatosomes. *Upsala journal of medical sciences*, 115(2), 107–112. <https://doi.org/10.3109/03009730903366067>

Sarlon-Bartoli, G., Bennis, Y., Lacroix, R., Piercecchi-Marti, M. D., Bartoli, M. A., Arnaud, L., Mancini, J., Boudes, A., Sarlon, E., Thevenin, B., Leroyer, A. S., Squarcioni, C., Magnan, P. E., Dignat-George, F. y Sabatier, F. (2013). Plasmatic level of leukocyte-derived microparticles is associated with unstable plaque in asymptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(16), 1436–1441. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.03.078>

Sato, Y. T., Umezaki, K., Sawada, S., Mukai, S. A., Sasaki, Y., Harada, N., Shiku, H. y Akiyoshi, K. (2016). Engineering hybrid exosomes by membrane fusion with liposomes. *Scientific reports*, 6, 21933. <https://doi.org/10.1038/srep21933>

Savina, A., Vidal, M. y Colombo, M. I. (2002). The exosome pathway in K562 cells is regulated by Rab11. *Journal of cell science*, 115(Pt 12), 2505–2515. <https://doi.org/10.1242/jcs.115.12.2505>

Shah, R., Patel, T. y Freedman, J. E. (2018). Circulating Extracellular Vesicles in Human Disease. *The New England journal of medicine*, 379(10), 958–966. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1704286>

Shtam, T. A., Kovalev, R. A., Varfolomeeva, E. Y., Makarov, E. M., Kil, Y. V., & Filatov, M. V. (2013). Exosomes are natural carriers of exogenous siRNA to human cells in vitro. *Cell communication and signaling : CCS*, 11, 88. <https://doi.org/10.1186/1478-811X-11-88>

Skibinski, G., Kelly, R. W., Harkiss, D. y James, K. (1992). Immunosuppression by human seminal plasma--extracellular organelles (prostasomes) modulate activity of phagocytic cells. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y.: 1989)*, 28(2), 97–103. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1992.tb00767.x>

Skog, J., Würdinger, T., van Rijn, S., Meijer, D. H., Gainche, L., Sena-Esteves, M., Curry, W. T., Jr, Carter, B. S., Krichevsky, A. M. y Breakefield, X. O. (2008). Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nature cell biology*, 10(12), 1470–1476. <https://doi.org/10.1038/ncb1800>

Song, M., Han, L., Chen, F. F., Wang, D., Wang, F., Zhang, L., Wang, Z. H., Zhong, M., Tang, M. X. y Zhang, W. (2018). Adipocyte-Derived Exosomes Carrying Sonic Hedgehog Mediate M1 Macrophage Polarization-Induced Insulin Resistance via Ptch and PI3K Pathways. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 48(4), 1416–1432. <https://doi.org/10.1159/000492252>

Sterzenbach, U., Putz, U., Low, L. H., Silke, J., Tan, S. S. y Howitt, J. (2017). Engineered Exosomes as Vehicles for Biologically Active Proteins. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 25(6), 1269–1278. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.030>

Takata, A., Otsuka, M., Yoshikawa, T., Kishikawa, T., Ohno, M., & Koike, K. (2013). MicroRNAs and liver function. *Minerva gastroenterologica e dietologica*, 59(2), 187–203.

Tarazona, R., Delgado, E., Guarnizo, M. C., Roncero, R. G., Morgado, S., Sánchez-Correa, B., Gordillo, J. J., De Julián, J. y Casado, J. G. (2011). Human prostasomes express CD48 and interfere with NK cell function. *Immunobiology*, 216(1-2), 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2010.03.002>

Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): A position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles* (2018) 7:1535750. doi: 10.1080/20013078.2018.1535750

Thomou, T., Mori, M. A., Dreyfuss, J. M., Konishi, M., Sakaguchi, M., Wolfrum, C., Rao, T. N., Winnay, J. N., Garcia-Martin, R., Grinspoon, S. K., Gorden, P. y Kahn, C. R. (2017). Adipose-

derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues. *Nature*, 542(7642), 450–455. <https://doi.org/10.1038/nature21365>

Torregrosa Paredes, P., Esser, J., Admyre, C., Nord, M., Rahman, Q. K., Lukic, A., Rådmark, O., Grönneberg, R., Grunewald, J., Eklund, A., Scheynius, A. y Gabriëlsson, S. (2012). Bronchoalveolar lavage fluid exosomes contribute to cytokine and leukotriene production in allergic asthma. *Allergy*, 67(7), 911–919. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2012.02835>.

Trams, E.G., Lauter, C.J., Salem, N. y Heine, U. (1981). Exfoliation of membrane ecto-enzymes in the form of micro-vesicles. *Biochimica et biophysica acta*, 645 (1), 63–70. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90512-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90512-5)

Vader, P., Mol, E. A., Pasterkamp, G., & Schiffelers, R. M. (2016). Extracellular vesicles for drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 106(Pt A), 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.02.006>

Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J.J. y Lötval, J.O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature cell biology*, 9(6), 654–659. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>

van Balkom, B. W., Pisitkun, T., Verhaar, M. C. y Knepper, M. A. (2011). Exosomes and the kidney: prospects for diagnosis and therapy of renal diseases. *Kidney international*, 80(11), 1138–1145. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.292>

van der Grein, S. G., Defourny, K., Slot, E. y Nolte-t Hoen, E. (2018). Intricate relationships between naked viruses and extracellular vesicles in the crosstalk between pathogen and host. *Seminars in immunopathology*, 40(5), 491–504. <https://doi.org/10.1007/s00281-018-0678-9>

Wahlgren, J., De L Karlson, T., Brisslert, M., Vaziri Sani, F., Telemo, E., Sunnerhagen, P., & Valadi, H. (2012). Plasma exosomes can deliver exogenous short interfering RNA to monocytes and lymphocytes. *Nucleic acids research*, 40(17), e130. <https://doi.org/10.1093/nar/gks463>

Walker, S., Busatto, S., Pham, A., Tian, M., Suh, A., Carson, K., Quintero, A., Lafrence, M., Malik, H., Santana, M. X., & Wolfram, J. (2019). Extracellular vesicle-based drug delivery systems for cancer treatment. *Theranostics*, 9(26), 8001–8017. <https://doi.org/10.7150/thno.37097>

Wan, Y., Shang, J., & Graham, R. (2020). RS Bar ic, F. LiReceptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J. Virol.*

Wira, C. R., Fahey, J. V., Sentman, C. L., Pioli, P. A. y Shen, L. (2005). Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immunological reviews*, 206, 306–335. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00287.x>

Witwer K. W., Buzás E. I., Bemis L. T., Bora, A., Lässer, C., Lötval, J., Nolte-t Hoen, E. N., Piper, M. G., Sivaraman, S., Skog, J., Théry, C., Wauben, M. H., & Hochberg, F. (2013). Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research. *Journal of extracellular vesicles*, 2, 10.3402/jev.v2i0.20360. <https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20360>

Wolf, P. (1967). The nature and significance of platelet products in human plasma. *British journal of haematology*, 13(3), 269–288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1967.tb08741.x>

Xiao, Y., Wang, SK, Zhang, Y., Rostami, A., Kenkare, A., Casella, G., Yuan, ZQ y Li, X. (2021). Papel de las vesículas extracelulares en las enfermedades neurodegenerativas. *Avances en neurobiología*, 201, 102022. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2021.102022>

Xiao, H. y Wong, D. T. (2012). Proteomic analysis of microvesicles in human saliva by gel electrophoresis with liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 723, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.02.018>

Xu, X., Wen, Z., Zhao, N., Xu, X., Wang, F., Gao, J., Jiang, Y., & Liu, X. (2017). MicroRNA-1906, a Novel Regulator of Toll-Like Receptor 4, Ameliorates Ischemic Injury after Experimental Stroke in Mice. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 37(43), 10498–10515. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1139-17.2017>

Yan, Y. Y., Zhou, W. M., Wang, Y. Q., Guo, Q. R., Zhao, F. X., Zhu, Z. Y., Xing, Y. X., Zhang, H. Y., Aljofan, M., Jarrahi, A. M., Makabel, B. y Zhang, J. Y. (2021). The Potential Role of Extracellular Vesicles in COVID-19 Treatment: Opportunity and Challenge. *Frontiers in molecular biosciences*, 8, 699929. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.699929>

Yang, B., Chen, Y. y Shi, J. (2019). Exosome Biochemistry and Advanced Nanotechnology for Next-Generation Theranostic Platforms. *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 31(2), e1802896. <https://doi.org/10.1002/adma.201802896>

Yáñez-Mó, M., Siljander, P. R., Andreu, Z., Zavec, A. B., Borràs, F. E., Buzas, E. I., Buzas, K., Casal, E., Cappello, F., Carvalho, J., Colás, E., Cordeiro-da Silva, A., Fais, S., Falcon-Perez, J. M., Ghoarial, I. M., Giebel, B., Gimona, M., Graner, M., Gursel, I., Gursel, M., ... De Wever, O. (2015). Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *Journal of extracellular vesicles*, 4, 27066. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>

Yim, N., Ryu, S. W., Choi, K., Lee, K. R., Lee, S., Choi, H., Kim, J., Shaker, M. R., Sun, W., Park, J. H., Kim, D., Heo, W. D. y Choi, C. (2016). Exosome engineering for efficient intracellular delivery of soluble proteins using optically reversible protein-protein interaction module. *Nature communications*, 7, 12277. <https://doi.org/10.1038/ncomms12277>

Yoshikawa, F., Teixeira, F., Sato, M. N. y Oliveira, L. (2019). Delivery of microRNAs by Extracellular Vesicles in Viral Infections: Could the News be Packaged? *Cells*, 8(6), 611. <https://doi.org/10.3390/cells8060611>

Zhang, Y., Shi, L., Mei, H., Zhang, J., Zhu, Y., Han, X. y Zhu, D. (2015). Inflamed macrophage microvesicles induce insulin resistance in human adipocytes. *Nutrition & metabolism*, 12, 21. <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0016-3>

Zhu, M., Li, Y., Shi, J., Feng, W., Nie, G. y Zhao, Y. (2012). Exosomes as extrapulmonary signaling conveyors for nanoparticle-induced systemic immune activation. *Small (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)*, 8(3), 404–412. <https://doi.org/10.1002/sml.201101708>

Zhuang, X., Xiang, X., Grizzle, W., Sun, D., Zhang, S., Axtell, R. C., Ju, S., Mu, J., Zhang, L., Steinman, L., Miller, D. y Zhang, H. G. (2011). Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, 19(10), 1769–1779. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.164>