



EKSOZOMLAR VE NÖRODEJENERATİF HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ
EXOSOMES AND ITS RELATIONSHIP WITH NEURODEGENERATIVE

Derya Deniz KANAN¹, Özge GÜNEY², Fazilet AKSU³

¹NiğdeÖmer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Niğde

²Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji AD, Adana

³Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji AD, Adana

ÖZ

Nanoteknolojinin sağlık ve fen bilimleri alanında oluşturduğu yeni bakış açısı, DNA moleküllerinin özel yöntemlerle incelenmesine, geliştirilmesine ve üretilmesine olanak sağlayarak, biyoteknoloji bilim dalına esin kaynağı olmuştur. Özellikle ilaç dağıtım sistemlerinde nanoteknolojik uygulamalar ile ilaçların farmakokinetiği, farmakodinamiği ve terapötik endeksleri geliştirilmiş, ilacın sürekli ve kontrollü salınımı sağlanmış ve bu sayede ilacın yan etkileri azaltılarak hedeflenen doku ve hücrelerde etkin bir biyo-yararlanım göstermesi hedeflenmiştir. Nano boyuttaki yapıların biyoteknolojideki etkin kullanımları ile elde edilen gelişmelerle birlikte, her türlü hücreden salgılanan ve hücre dışı veziküller olarak adlandırılan veziküler yapılar, tıp ve biyoloji alanında heyecan verici çalışmaların yapılmasına olanak sağlamıştır. Biyomoleküllerin transmembran reseptörleri ve genetik bilgi aktarımında iletişim aracı olarak hücre dışı veziküllerin kullanıldığı çalışmalar son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Bu nedenle şimdilerde biyoteknolojinin doğal lipozomları olarak nitelendirilen hücre dışı veziküller, hastalıkların tanı ve tedavisinde hem biyo-uyumlulukları hem de kolay elde edilebilir olmaları sebebiyle oldukça önem kazanmıştır.

ABSTRACT

The new perspective that nanotechnology has created in the field of health and science has inspired the field of biotechnology by allowing DNA molecules to be examined developed and produced by special methods. With nanotechnological applications especially in drug delivery systems, the pharmacokinetics, pharmacodynamics and therapeutic indices of drugs have been improved, the drug has been released continuously and in a controlled manner, thereby reducing the side effects of the drug and it is aimed to show an effective bioavailability in targeted tissues and cells. With the advances achieved with the effective use of nanosized structures in biotechnology, the vesicular structures secreted from all kinds of cells and called extracellular vesicles have enabled exciting studies in the field of medicine and biology. Studies using transmembrane receptors of biomolecules and extracellular vesicles as communication tools in genetic information transfer have gained importance in recent years. For this reason, extracellular vesicles, which are now considered as natural liposomes of biotechnology, have gained importance in the diagnosis and treatment of diseases due to their biocompatibility and their easy availability.

Anahtar kelimeler: Eksozom, nanoteknoloji, nörodejeneratif hastalıklar.

Keywords: Exosome, nanotechnology, neurodegenerative diseases.

Makale Geliş Tarihi : 14.01.2021
Makale Kabul Tarihi: 05.02.2021

Corresponding Author: Öğr. Üyesi Dr. Derya Deniz Kanan, deryakanan@ohu.edu.tr ORCID ID: 0000-0002-4357-4966, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Merkez Yerleşke, Bor Yolu üzeri, Niğde, 51240
Dr. Öğr. Özge Güney, oscheshn@gmail.com ORCID ID: 0000-0002-3121-1754
Prof. Dr. Fazilet Aksu, faziletaksu@gmail.com ORCID ID: 0000-0003-3585-2599

GİRİŞ

Hücre dışı veziküller sıklıkla *apoptotik veziküller*, *mikroveziküller* ve *eksozomlar* olarak alt gruplara ayrılır. Bunlardan en küçük boyutta olanı *eksozomlar*'dır. Eksozomlar endozomal ağdan tomurcuklanarak salgılanırken, mikroveziküller doğrudan plazma zarından tomurcuklanarak oluşmaktadır. Hücreler tarafından salgılanan bu hücre dışı veziküller, hedef hücreler tarafından endositoz, fagositoz veya plazma zarı ile doğrudan füzyon yoluyla alınmaktadır. Gerçekleşen bu işlemde, hücre dışı veziküllerdeki protein ve RNA'lar aracılığı ile hedef hücreler arasında iletişimi sağlamaktadır.

Eksozomları diğer hücre dışı veziküllerden ayıran en önemli özellikleri, kendilerine özgü biyogenez yolları, lipid kompozisyonları ve taşıdıkları kargo içerikleridir (1). Yapısında ısı-şok proteinleri (Heat shock proteins: HSP60, HSP70, HSPA5, CCT2 ve HSP90), hücre iskelet sistemi proteinleri (Anneksin ailesi; Annexin I, II, V ve VI), integrinler, sitoskelet proteinleri (tubulin, aktin), flattilin proteinleri, seramid ve tetraspannin proteinleri (CD9, CD63, CD81 ve CD82) ile diğer hücre dışı veziküllerden ayırt edilebilmektedir (2). Köken aldıkları hücrenin proteinleri, lipid yapıları, biyogenez yolları ve taşıdıkları içerikler, eksozomların kendi aralarında özgün olmalarını sağlamaktadır (3). Ayrıca yapısında bulunan nükleik asitler (DNA, RNA, mRNA, miRNA) ile birçok tıbbi durum ve hastalık hakkında veri kaynağı olduğundan eksozomların, izole edildikten sonra doğru bir yöntem ile analiz gerekmektedir.

Çift katmanlı lipid yapıdakı zar ile çevrelenmiş bir yapısal özelliğe sahip olan eksozomların, proteomik olarak incelendiklerinde hücre sıvısı, hücre zarı, endozomlar, kolesterol, sfingomiyelin, fosfatidil serin (PS), proteinler, az miktarda çekirdek (RNA, DNA), mitokondri ve golgi cisimciği gibi bir hücreye ait tüm moleküler bileşenlere sahip oldukları gözlemlenmiştir. Sahip oldukları bu bileşenler eksozomların hedef aldığı hücre tarafından tanınmasını sağlamaktadır.

Geçmişten Günümüze Eksozomlar

Yapılan bilimsel çalışmalar ile, hücre içi bir endozom içinde tomurcuklanarak oluşturulan küçük veziküllerin, plazma zarı ile kaynaşmasıyla veziküllerin dışına salınabilen, çoklu veziküler yapıların oluşumunun gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Bu şekilde endozomal multiveziküler gövdelerde (Multivesicular body: MVB) oluşan eksozomların, plazma zarı ile birleşerek hücreden dışarıya doğru salgılandığı ve sonra alıcı hücrelerle etkileşime girdikleri yapılan birçok bilimsel çalışma sonucunda rapor edilmiştir (4). Endozomal kökenli olan bu veziküller, en son 1987 yılında "eksozom" olarak adlandırılmıştır.

Yapılan ilk çalışmalarda eksozomlar, hücrelerdeki atık maddelerin uzaklaştırılmasında rol alan biyoaktif kesecikler olarak bilinmekteydi. Daha sonradan yapılan çalışmalar, eksozomların taşıdıkları biyo-moleküller ile hücreler arasında iletişimi sağlayan, protein ve lipid alışverişine izin veren ve gen ifadelerinin aktarımını sağlayarak hücre farklılaşması, immün regülasyon gibi önemli birçok biyolojik süreçte rol aldıklarını göstermiştir (5-6).

Hücreler arası iletişim kabiliyetleri ile hastalıkların teşhis edilmesinde ve yüklenen maddelerin istenilen hücreye hedeflendirilerek hastalıkların en etkin şekilde tedavi edilmesine yönelik olumlu sonuçlara imkan

veren eksozomlar, zamanla dikkatleri üzerine çekerek büyük önem kazanmışlardır. Yapılan detaylı çalışmalar; eksozomların anjiyogenez, pıhtılaşma, antijen hazırlama ve apoptoz gibi çeşitli biyolojik işlemlerde rol oynadıklarını ortaya koymuştur. Özellikle hücreler arasında nükleik asit alışverişine olanak sağlayarak sinyal yollarını aktive eden eksozomların, erken hastalık teşhisinde, hastalık sürecinin izlenmesi ve kanser, iltihaplanma, oto-yangısal ve oto-immün hastalıklar için etkili tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlayacağı öngörülmektedir.

1. Eksozomların izolasyonu

Eksozomlar; beyin omurilik sıvısı, sinoviyal sıvı, bronkoalveoler lavaj sıvısı, amniyotik membran sıvısı, plazma, anne sütü, idrar, tükürük gibi birçok vücut sıvısında bulunmaktadır (7). Eksozomun sahip olduğu yoğunluk, şekil, büyüklük ve yüzey proteinleri gibi çeşitli faktörlerden yararlanılarak beş farklı eksozom izole etme yöntemi geliştirilmiştir (7). Bu doğrultuda geliştirilen yöntemler; diferansiyel ultracentrifüj tabanlı teknik, büyüklük bazlı teknik (ultrafiltrasyon), immün-affinite yakalama bazlı teknikler, eksozom çökeltilme ve mikro akışkan temelli tekniklerdir (8). En sık kullanılan yöntemlerden biri olan diferansiyel ultracentrifüj tabanlı teknikte, heterojen formdaki süspansiyon bir karışımda partiküllerin yoğunluk, şekil ve boyutlarına göre çökmesi ile izolasyon gerçekleştirilmektedir.

2. Tanı ve tedavide eksozomlar

Son yıllarda yeni endojen dağıtım sistemi olarak nitelenen eksozomlarla yapılan klinik çalışmaların sayısı artmıştır. Hücreler arasında iletişimi sağlayan bu nano veziküllerin, bağışıklığı düzenleme, biyo-bozunur olma, endojen biyoaktif molekülleri yakalama ve kan beyin engelini geçebilme gibi çeşitli özellikleri bulunmaktadır. Mevcuttaki diğer nano veziküllerin klinik uygulamaları ile karşılaştırıldığında, eksozomların stabil, dirençli ve ilaç dağıtım sistemlerinde uygulanabilir yapıda oluşları gibi çok sayıda avantaja sahip olmaları, bunların tanı ve tedavi amaçlı kullanımlarının mümkün olabileceğini ortaya koymaktadır. Hücre içi kökenleri nedeniyle eksozomlar, kanser, nörodejeneratif ve immünolojik hastalıklar gibi birçok hastalıkta meydana gelen biyokimyasal değişiklikleri tespit edebilme yetenekleri ile hastalıkların teşhisinde potansiyel bir biyolojik belirteç olarak kullanılabilir (9-10). Melanom hastalarında tetraspannin belirteci olan plazma CD63 eksozomlarının, sağlıklı bir numuneden elde edilen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu gelişmeyi izleyen bir başka çalışmada da, CD63'ün kanser için, CD81'in de Hepatit C için bir belirteç olarak kullanılabilmesi bildirilmiştir (11,12). Akut böbrek hasarları üzerine yapılan bir klinik çalışmada, non-invaziv yöntemlerle elde edilen idrar eksozomlarındaki proteinler, teşhis amaçlı olarak akut böbrek hasarı olan yoğun bakım hastalarında kullanılmıştır. Araştırma sonucunda sağlıklı bireylerden alınan numunelere kıyasla, eksozomal fetuin-A'nın anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlenmiş ve eksozomal proteinlerin ölçümünün akut böbrek hasarı olan yoğun bakım hastalarında teşhis için ayırt edici bir belirteç olabileceği sonucuna varmışlardır (13). Göğüs kanseri hastaları üzerinde yapılan bir başka çalışmada, sağlıklı bireylerden alınan numuneler ile karşılaştırıldığında, eksozomal

survivin yüksek miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir. Bu nedenle eksozomal survivin (Baculoviral inhibitör of apoptosis repeat-containing 5 or BIRC5), özellikle de survivin-2B'nin diferansiyel ekspresyonunun, göğüs kanseri hastalarında erken teşhiste bir belirteç olarak kullanılabilirliği ifade edilmiştir (14). Eksozomlar üzerinde yapılan ayrıntılı araştırmaların neticesinde gözlemlenen bir başka bulgu da, eksozomların sadece biyolojik belirteç değil aynı zamanda kanserde rol oynayan hücreler arası iletişimin önemli bir aracı olduğudur. Bu bilgi ışığında tümör hücreleri üzerine yapılan klinik çalışmalarda eksozomların, immunolojik fonksiyonu düzenleyerek doğrudan tümörün ilerlemesine etki edebileceği veya tümör anjiyogenezini ve metastazını iyileştirebilecekleri rapor edilmiştir (10,15). Çok sayıda klinik çalışmada, eksozomların sadece kanser değil birçok hastalıkta tedavi amaçlı kullanılabilirlikleri de vurgulanmıştır. Bunlardan biri, inme sonrası nörovasküler yeniden şekillenmeyi ve nörolojik fonksiyonların iyileşmesini sağlayan mezenkimal kök hücrelerden (Mesenchymal stem cell: MSC'ler) salgılanan eksozomların, nörovasküler hücreler üzerinde etkisini inceleyen çalışmalardır. Bu çalışmalarda, eksozomların nörovasküler hücrelere hedeflendirilmek üzere salgılanarak MSC'lerin nörorestoratif etkilerine aracılık edebileceği gösterilmiş ve anlamlı çıkan bu sonuç ile MSC-eksozomun, inme tedavisinde potansiyel bir terapötik yaklaşım olabileceği öngörülmüştür (16,17).

Çağımızda halen kesin ve etkin bir tedavi yöntemi bulunamayan Parkinson ve Alzheimer hastalıkları üzerinde de birtakım çalışmalar yapılmıştır.

Antienflamatuar etkiye sahip olan curcumin bileşiği ile yüklenmiş eksozomların, lipopolisakkaritlerin indüklediği beyin iltihabından koruduğunu rapor eden çalışmalar, mevcut ilaç taşıyıcı sistemlerden daha üstün nitelikli bir sistemin varlığını bir kez daha vurgulamıştır. Bu sistemin mevcut sisteme üstünlükleri, yüklü curcuminin eksozomlar sayesinde çözünürlüğünün ve dolaşım süresinin artmasıdır (18,19).

3. Nörodejeneratif hastalıklarda eksozomlar

Sinir sisteminin birçok hücresinin, merkezi sinir sisteminin fonksiyonu, gelişimi ve hastalıklarında aktif rol oynayabilecek eksozomları saldırdığı bildirilmiştir (20). Eksozomların, Alzheimer hastalığı ve Parkinson hastalığında yer aldığı bilinen amiloid öncü proteini ve α -sinüklein gibi birkaç protein ile ilişkili olduğu bulunmuştur (21). Son bulgular ayrıca, prion adı verilen bir patojenin iletilmesinde eksozomların beklenmedik rolü ve membran değişim şekillerini göstermiştir (22).

3.1. Alzheimer hastalığı (AH)

AH, bunama vakalarının % 60'ından fazlasını oluşturur ve nöropatolojik olarak nörofibril dolaşmalarının ve senil plakların varlığı ile karakterizedir. AH, amiloid beta (amiloid β) fibrillerin beyinde amiloidal plaklar olarak nöron dışında birikmesi ve sinaptik plastisitenin bozulmasıyla patolojik olarak karakterize edilir. Bununla birlikte, amiloid β birikimini en aza indirmeyi amaçlayan tüm denemeler, önemli fayda sağlayamamıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, fokal beyin inflamasyonunun, söz konusu anahtar patolojik süreç olduğunu göstermektedir (23).

Aktive primer kültürlerde astrositlerin, amiloid beta ile mücadelesine yanıt olarak pro-apoptotik eksozom salgı-

ladıkları bildirilmiştir (24). Nöroblastom 2a ve mikrogial hücre hattı BV-2 hücrelerinin eksozomlarının, amiloid betanın hücre dışı enzimatik bozunmasını arttırdığı da bildirilmiştir (25). Ayrıca nöron kaynaklı eksozomların, mikrogia tarafından amiloid beta fibrilizasyonunu ve bozunmasını arttırdığı bildirilmiştir (21). Alzheimer hastalarının beyinlerinde biriktirdiği tespit edilen amiloid peptitler, fosforile edilmiş tau, Thr-181'nun Alzheimer hastalarının beyin omurilik sıvısından izole edilen eksozomlarda yüksek seviyelerde bulunduğu gözlenmiştir. Elde edilen bu bilgiler ışığında, Alzheimer hastalığının erken teşhisi ve hastalığın sürecinin kontrol edilmesinde eksozomların anlamlı bir role sahip olduğu rapor edilmiştir (26,27).

3.2. Parkinson hastalığı (PH)

Son çalışmalar, lösin bakımından zengin reseptör kinaz (LRRK) 2'nin eksozom sekresyonunda ve MVB'lerin plazma zarı ile füzyonunda önemli bir rol oynadığına dair güçlü kanıtlar sağlamıştır (28). LRRK2'nin, Ras protoonkogen familyasının bir üyesi olan Rab5b ile etkileşime girdiği bildirilmiştir (29). Patolojik koşullar altında, AH'nin patogenezinde yer alan tau proteini, yaralanan nöronlardan α -sinüklein toksik formları içeren eksozom-aracılı salımı hızlandırabilir çünkü bu proteinlerin toksisitesini ve oligomerizasyonu arttıran α -sinüklein ile etkileşime girebilir (30). Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda, dopamin yüklenen kan eksozomunun beyne başarıyla hedeflendirildiği ve bu sayede dopaminin dağılımının 15 kat arttığı bulunmuştur. Bu sayede eksozomların Parkinson hastalığında ilaç taşıyıcı sistem olarak etkin bir şekilde kullanılmak üzere geliştirilebileceği rapor edilmiştir (31).

3.3. Multipl skleroz (MS)

MS, merkezi sinir sistemini etkileyen kronik bir otoimmün hastalıktır. Bununla birlikte, hastalığın patogenezinin, çeşitli genetik, çevresel, stres ve immünojenik faktörlerle bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (32). Eksozomlar hakkındaki mevcut araştırmaların çoğu, şu anda yalnızca MS ile ilişkili olarak tanımlanan miR-122 gibi hücre dışı miRNA'ların kullanımına odaklanmıştır (33). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada genç veya çevresel zenginleşmeye maruz kalan sıçanlar tarafından üretilen serum eksozomlarının; miyelin içeriğini, oligodendrosit öncü hücre seviyelerini ve sinir kök hücre seviyelerini önemli ölçüde arttırdığı ve hipokampus kültürlerinde oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (34). Yaşlı hayvanların çevresel zenginleşmeye maruz bırakılması sonucu, eksozomların miyelinizasyonu sağlayıcı kabiliyetlerini geri kazandığı bildirilmiştir. Bu eksozomlar, kompakt miyelin oluşumunda ve korunmasında rol oynayan yüksek düzeyde miR-219 içerir (35) ve miR-219, MS'li insanlarda eksiktir (36). İnterferon gama uyarımlı dendritik hücreler tarafından üretilen eksozomların da, in vivo ve in vitro oksidatif stres toleransını ve miyelinizasyonu arttırdığı bildirilmiştir. İnterferon gama ile uyarılmış dendritik hücre kaynaklı eksozomlar ayrıca yüksek seviyede miR-219 içerir (37).

3.4. Prion hastalıkları

Prion hastalıkları, insan ve hayvanlarda infeksiyöz karakterde, ölümcül, bulaşıcı, nörodejeneratif bozukluklardır. Bulaşıcı ana bileşeni prion ajanı PrP^{Sc} olarak adlandırılan prion proteininin (PrP^C) hücrel formunun anormal bir izoformudur ve beyin dokusunda büyük

süngerimsi vakuollara neden olan nöronal ölüme yol açar (38).

Hem PrP^C hem de PrP^{Sc} formları, eksozomlarla ilişkilendirilmiştir ve PrP^{Sc} içeren eksozomlar, hem hayvanlarda hem de hücre biyolojik analizlerinde bulaşıcı olarak rapor edilmiştir (39). Eksozomal vezikülleri izole etmek için kullanılan kültür hücreleri çalışmaları dışında, eksozom kaynakları olarak öncelikle nöron kültürleri ve beyin-omurilik sıvısı kullanılmıştır ve PrP^C tespit edilmiştir (40). PrP^C, bir glikozil fosfatidil inositol ile plazma zarına bağlanmakta ve PrP^C'nin PrP^{Sc}'ye dönüşümünün bol miktarda lipid biriken bölgelerde meydana geldiği öne sürülmektedir (41). Eksozomlarda lipid yığınlarının varlığı, ayrıca PrP^{Sc}'yi iletme kabiliyetine de yardımcı olabilir.

3.5.Şizofreni

Şizofreni, davranışsal ve bilişsel yetersizliklerin yanı sıra bozulmuş lokomotor aktivitesi ile karakterize nöropsikiyatrik bir hastalıktır. Şizofreninin tanısı, beyin yapısında gözle görülür değişikliklerle ve kortekste dopamin ve glutamat nörotransmisyonundaki değişikliklerle ilişkilidir.Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, prefrontal korteksin donmuş postmortem beyin örneklerinden elde edilen bazı eksozomal miRNA'ların şizofreni veya bipolar bozukluğu olan hastalarda kontrollerle karşılaştırıldığında farklı olarak eksprese edildiği bildirilmiştir. Spesifik olarak, iki eksozom türevli miRNA, şizofreni örneklerinde miR-497 ve bipolar bozukluk örneklerinde miR-29c kontrol örneklerine göre anlamlı olarak artmıştır (42).

3.6.Glioblastoma multiforme (GBM)

Glioblastoma multiforme (GBM) erişkinlerde en sık görülen ve en agresif malign primer beyin tümördür. Tanı konulduktan sonraki medyan sağkalım genellikle bir yıldan azdır ve en iyi şartlarda bile hastaların büyük çoğunluğu iki yıl içinde kaybedilmektedir. Bununla beraber hastaların %5-10'u 2 yıl kadar yaşamaktadır (43). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, GBM hücrelerinin eksozomlarının proliferasyon, istila ve immün baskı ile ilişkili RNA'larla zenginleştirildiği bildirilmiştir (44). Eksozomlar, malign ve vasküler hücreler arasında hipoksi-bağımlı iletişimin güçlü bir aracısını oluşturabilmekte, bu da eksozomların hipoksi kaynaklı GBM gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.Bu nedenle, eksozomlar, kötü huylu tümörlerin oksijenlenme durumunu ve saldırganlığını değerlendirmek için invazif olmayan bir biyo-belirteç olarak görev yapabilir. Son araştırmalar, GBM hastalarının serumundan izole edilen eksozomlarda bulunan 2 miRNA (miR-320 ve miR-574-3p) ve 1 küçük nükleer RNA'nın (RNU6-1) küçük, kodlayıcı olmayan bir RNA imzasının, potansiyel teşhis belirleyicisi olarak hizmet edebileceğini bildirmiştir (45). İlik stromal hücrelerinde üretilen ve hücre dışı eksozomlara yüklenen terapötik miRNA, malign gliomanın yeni bir tedavisi olarak önerilmiştir (46).

SONUÇ

Eksozomlar, tıpta biyo-belirteçlerin geleceğini temsil edebilir, çünkü hastalık biyo-belirteçleri içerebilirler veya protein ve nükleik asitler dahil olmak üzere çeşitli moleküller için vektörler olabilirler. Beyin iltihabının birçok nöroimmün ve nöropsikiyatrik hastalığın patogeneziye katkıda bulunduğunu gösteren kanıtlar artmaktadır (47). Eksozomların işlevi, sadece hücre

içeriklerin salgı mekanizmasından çok daha fazlası gibi görünmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ersöz E, Can OB, Uzunoğlu S. Eksozomların kanserdeki rolü. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2016; 3(1):144-152.
2. Yu B, Zhang X, Li X.Exosomes derived from mesenchymal stem cells.Int J Mol Sci 2014; 15:4142-4157.
3. Schorey JS, Bhatnagar S.Exosome function: from tumor immunology to pathogen biology. Traffic 2008; 9:871-881.
4. Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: A position statement from the international society for extracellular vesicles. Journal of Extracellular Vesicles 2014; 3:26913.
5. Xu W, Yang Z, Lu N. From pathogenesis to clinical application: Insights into exosomes as transfer vectors in cancer. J Exp Clin Cancer Res 2016; 35:156-168.
6. Tkach M, Thery C. Communication by extracellular vesicles: Where we are and where we need to go. Cell 2016; 164:1226-1232.
7. Yuana Y, Sturk A. Extracellular vesicles in physiological and pathological conditions. Blood Rev 2013; 27:31-39.
8. Sharma A, Khatun Z, Shiras A.Tumor exosomes: cellular postmen of cancer diagnosis and personalized therapy. Nanomedicine 2016; 11:421-437.
9. Bunggulawa EJ, Wang W, Wang TN et al.Recent advancements in the use of exosomes as drug delivery systems.J Nanobiotechnol2018; 16:81.
10. Melo SA, Luecke LB, Kahlert C, et al. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. Nature 2015; 523:177-U82.
11. Welker MW, Reichert D, Susser S, et al. Soluble serum CD81 is elevated in patients with chronic hepatitis c and correlates with alanine aminotransferase serum activity.PLoS ONE2012; 7:2.
12. Logozzi M, De Milito A, Lugini L, et al.High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients.PLoS ONE2009; 4:4.
13. Zhou H, Cheruvanky A, Hu X, et al. Urinary exosomal transcription factors, a new class of biomarkers for renal disease. Kidney International 2008; 74:613-621.
14. Khan S, Bennit HF, Turay D, et al. Early diagnostic value of survivin and its alternative splice variants in breast cancer. BMC Cancer 2014; 14:176.
15. Ge R, Tan E, Sharghi-Namini S, et al. Exosomes in cancer microenvironment and beyond: Have we overlooked these extracellular messengers? Cancer Microenviron 2012; 5:323-332.
16. Mincheva-Nilsson L, Baranov V, Nagaeva O, et al. Isolation and characterization of exosomes from cultures of tissue explants and cell lines. Curr Protoc Immunol 2016; 115: 14.42.1-14.42.21.
17. Xin H, Wang F, Li Y, et al. Secondary release of exosomes from astrocytes contributes to the increase in neural plasticity and improvement of functional recovery after stroke in rats treated

- with exosomes harvested from microRNA 133b-overexpressing multipotent mesenchymal stromal cells. *Cell Transplant*. 2017; 26(2):243-257.
18. Sun D, Zhuang X, Xiang X, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Mol Ther* 2010;18:1606-1614.
 19. Zhuang X, Xiang X, Grizzle W, et al. Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain. *Mol Ther* 2011; 19:1769-1779.
 20. Lai CP, Breakefield XO. Role of exosomes/microvesicles in the nervous system and use in emerging therapies. *Front Physiol* 2012; 3:228.
 21. Yuyama K, Sun H, Mitsutake S, et al. Sphingolipid-modulated exosome secretion promotes clearance of amyloid-beta by microglia. *J Biol Chem* 2012; 287:10977-10989.
 22. Fevrier B, Vilette D, Laude H, et al. Exosomes: a bubble ride for prions? *Traffic* 2005; 6:10-17.
 23. Sardi F, Fassina L, Venturini L, et al. Alzheimer's disease, autoimmunity and inflammation. The good, the bad and the ugly. *Autoimmun Rev* 2011; 11(2): 149-153.
 24. Wang G, Dinkins M, He Q, et al. Astrocytes secrete exosomes enriched with proapoptotic ceramide and prostate apoptosis response 4 (PAR-4): potential mechanism of apoptosis induction in Alzheimer disease (AD). *J Biol Chem* 2012; 287:21384-21395.
 25. Bulloj A, Leal MC, Xu H, et al. Insulin-degrading enzyme sorting in exosomes: a secretory pathway for a key brain amyloid-beta degrading protease. *J Alzheimers Dis* 2010;19:79-95.
 26. Rajendran L, Honsho M, Zahn TR, et al. Alzheimer's disease β -amyloid peptides are released in association with exosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(30):11172-11177.
 27. Saman S, Kim W, Raya M, et al. Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early Alzheimer disease. *Journal of Biological Chemistry* 2012; 287(6):3842-3849.
 28. Egre-Abarrategui J, Wade-Martins R. Parkinson disease, LRRK2 and the endocytic-autophagic pathway. *Autophagy* 2009; 5:1208-1210.
 29. Shin N, Jeong H, Kwon J, et al. LRRK2 regulates synaptic vesicle endocytosis. *Exp Cell Res* 2008; 314:2055-2065.
 30. Giasson BI, Forman MS, Higuchi M, et al. Initiation and synergistic fibrillization of tau and alpha-synuclein. *Science* 2003; 300:636-640.
 31. Yuan L, Li JY. Exosomes in Parkinson's Disease: Current perspectives and future challenges. *ACS Chem Neurosci* 2019; 10(2):964-972.
 32. Karagkouni A, Alevizos M, Theoharides TC. Effect of stress on brain inflammation and multiple sclerosis. *Autoimmun Rev* 2013; 12(10):947-953.
 33. Keller A, Leidinger P, Lange J, et al. Multiple sclerosis: microRNA expression profiles accurately differentiate patients with relapsing-remitting disease from healthy controls. *PLoS One* 2009; 4:e7440.
 34. Pusic AD, Kraig RP. Youth and environmental enrichment generate serum exosomes containing miR-219 that promote CNS myelination. *GLIA* 2014; 62:284-299.
 35. Dugas JC, Cuellar TL, Scholze A, et al. Dicer1 and miR-219 are required for normal oligodendrocyte differentiation and myelination. *Neuron* 2010; 65:597-611.
 36. Shin D, Shin JY, McManus MT, et al. Dicer ablation in oligodendrocytes provokes neuronal impairment in mice. *Ann Neurol* 2009; 66:843-857.
 37. Pusic AD, Pusic KM, Clayton BL, et al. IFN γ -stimulated dendritic cell exosomes as a potential therapeutic for remyelination. *J Neuroimmunol* 2014; 266:12-23.
 38. Aguzzi A, Heikenwalder M. Pathogenesis of prion diseases: Current status and future outlook. *Nat Rev Microbiol* 2006; 4:765-775.
 39. Alais S, Simoes S, Baas D, et al. Mouse neuroblastoma cells release prion infectivity associated with exosomal vesicles. *Biol Cell* 2008; 100:603-615.
 40. Faure J, Lachenal G, Court M, et al. Exosomes are released by cultured cortical neurons. *Mol Cell Neurosci* 2006; 31:642-648.
 41. Taylor DR, Hooper NM. The prion protein and lipid rafts. *Mol Membr Biol* 2006; 23:89-99.
 42. Banigan MG, Kao PF, Kozubek JA, et al. Differential expression of exosomal microRNAs in prefrontal cortices of schizophrenia and bipolar disorder patients. *PLoS One* 2013; 8:e48814.
 43. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, et al. Genetic pathways to glioblastoma: A population-based study. *Cancer Res* 2004; 64(19):6892-6899.
 44. Skog J, Wurdinger T, van RS, et al. Glioblastoma microvesicles trans port RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol* 2008; 10:1470-1476.
 45. Manterola L, Guruceaga E, Gallego Perez-Larraya J, et al. A small noncoding RNA signature found in exosomes of GBM patient serum as a diagnostic tool. *Neuro Oncol* 2014; 16:520-527.
 46. Katakowski M, Buller B, Zheng X, et al. Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth. *Cancer Lett* 2013; 335:201-204.
 47. Theoharides TC, Conti P, Economu M. Brain inflammation, neuropsychiatric disorders, and immunoendocrine effects of luteolin. *J Clin Psychopharmacol*. 2014; 34:187-189.