



L. Milani, O. Ferroni

EXOSOMI, GLI SHUTTLES DELLA COMUNICAZIONE INTERCELLULARE

– LORO RUOLO EMERGENTE E POSSIBILITÀ DIAGNOSTICHE E TERAPEUTICHE

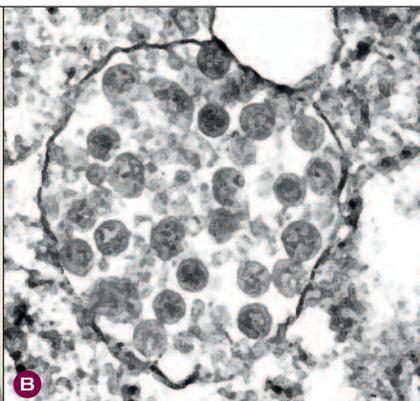
*Quando il saggio indica la luna
... lo stolto guarda il dito.*

LA PECORA, IL RATTO E ALICE NEL PAESE DEGLI ERRORI

In un suo articolo di rivisitazione storica pubblicato in *Cell* – maggio-giugno 2005 (Johnstone, 2005), pochi anni prima del suo decesso e circa 20 anni dopo la sua scoperta degli **exosomi** e loro espulsione dalla membrana plasmatica dei reticolociti maturi di pecora (Pan & Johnstone, 1983), **Rose Johnstone**, nata Mamelak, di origine polacca (Lodz-Polonia, 1928 – Montréal-Canada, 2009) definisce ironicamente tutto il suo

percorso di ricerca che ha condotto alla cruciale scoperta come "Alice nel Paese degli Errori" (*Alice in Blunderland, an Iridescent Dream*), rifacendosi, nella prima parte del titolo di un paragrafo, al titolo della celebre novella di John Kendrick Bangs (1907), parodia del più conosciuto "Avventure di Alice nel Paese delle Meraviglie" di Lewis Carroll (1865).

– "Blunder" in inglese significa errore, fraintendimento, passo falso, abbaglio, a sottolineare le tante difficoltà ed imprevisti incontrati durante lo svolgimento delle proprie sperimentazioni e del suo giovane collaboratore di origine cinese **Bin-Tao Pan** c/o il Dipartimento di Biochimica della Facoltà di



A – Rose Mary Johnstone ritratta al tempo della sua scoperta degli exosomi, nel 1983 (Archivio storico dell'Università McGill, Montréal – Canada).

B – Corpo multivescicolare (MVB) contenente al proprio interno una trentina di Vescicole intraluminali (ILV).

La membrana del MVB si fonde con la membrana plasmatica della cellula madre liberando – così – le ILV. Queste, raggiunto lo spazio extracellulare, sono definiti exosomi (EXO).

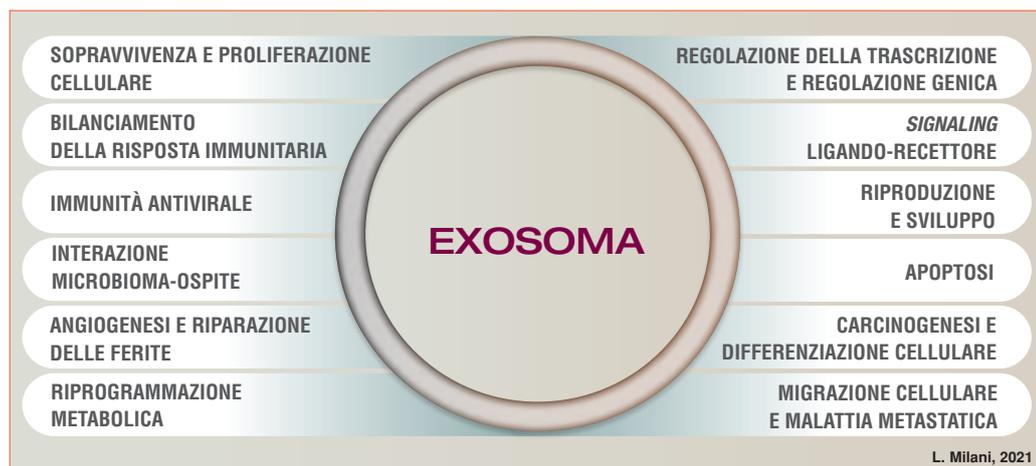


FIG. 1

Principali attività fisiologiche e patologiche prodotte dall'exosoma.

Medicina dell'Università McGill, in Montréal - Canada e ad evidenziare il fatto che, al tempo della scoperta e per molti anni a seguire, gli exosomi fossero stati considerati null'altro se non "scarti", "scorie", "spazzatura" cellulare da eliminare dal citoplasma. Sicuramente un titolo di paragrafo inusuale ed originale, carico delle tante incognite ed errori che una lunga ricerca e scoperta chiave in campo biologico al microscopio elettronico (ME) necessariamente comportano.

– A meno di una settimana [*at the very same time* (Harding *et al.*, 2013)] dalla pubblicazione di Pan & Johnstone, il *Journal of Cell Biology* pubblica un lavoro di **Harding, Heuser & Stahl** (1983) concernente una loro ricerca effettuata c/o l'Università di Washington in St. Louis - USA in cui vengono fotografate al ME alcune minuscole vescicole espulse (*jettisoned* nell'originale inglese = buttate fuori) dai reticolociti maturi di ratto nello spazio extracellulare.

• Il termine "*exosome*" non viene citato né nell'articolo di Pan & Johnstone, né in quello di Harding *et al.*; verrà coniato 4 anni più tardi dalla Prof.ssa Johnstone (Johnstone *et al.*, 1987), anche se lo stesso nome era stato utilizzato 6 anni prima in riferimento – però – ad alcuni frammenti membranari cellulari isolati nei fluidi corporei (Trams *et al.*, 1981) che nulla hanno a che vedere con gli exosomi *stricto sensu*.

È doveroso precisare che i Gruppi di ricerca di Johnstone e di Stahl erano indipendenti e che entrambi stavano svolgendo sperimentazioni sulla formazione ed internalizzazione dei recettori della Transferrina nei reticolociti maturi.

La scoperta della produzione di piccolissime nanoparticelle (in seguito definiti exosomi) espulse dai reticolociti (eritrociti giovani) nello spazio extracellulare è da ritenersi del tutto imprevista e puramente fortuita.

– Nonostante la paternità (meglio detto: maternità) della scoperta degli **exosomi (EXO)** sia ancora oggi dibattuta (Harding *et al.*, 2013), essa viene generalmente attribuita a Johnstone, sia perché la sua pubblicazione è antecedente, anche se solo di qualche giorno, quella di Harding *et al.*, sia perché il termine "*exosome*" è stato ripristinato dalla brillante ricercatrice

canadese in riferimento a quanto da lei scoperto 4 anni prima.

• Rose M. Johnstone è stata la prima ed unica donna a ricoprire la Cattedra di Biochimica della Facoltà di Medicina dell'Università McGill di Montréal-Canada e viene ricordata anche come attivissima promotrice del riconoscimento dei Diritti delle Donne nel mondo accademico e scientifico, impegno che ha mantenuto con continuità e fermezza anche dopo il pensionamento, fino alla sua morte, *aetatis suae* 81 anni.

– Come suddetto, inizialmente gli EXO furono considerati come sottoprodotti del metabolismo cellulare senza riconoscere loro un ruolo, un impatto significativo neppure sulle cellule prossime alla cellula madre.

Infatti, dal 1983 (anno della scoperta) al 2000, il numero di pubblicazioni sugli EXO è estremamente esiguo; solo a partire dai primi anni del nuovo Millennio, circa 20 anni **dopo** la loro scoperta, l'interesse dei ricercatori per gli EXO si è focalizzato ed è letteralmente esploso.

• Ad oggi si contano 8500 pubblicazioni ca, la fondazione di 2 Società scientifiche dedicate (*American Society for Exosomes and Microvesicles* e *International Society for Extracellular Vesicles*), una Rivista specializzata [*Journal of Extracellular Vesicles* (fattore di impatto 2019: 14.976)], l'istituzione di 2 *database* (*Exocarta* e *Vesiclepedia*) e di un portale di ricerca (*exRNA*).

EXOSOMI

– I MESSAGGERI MISTERIOSI

Gli EXO sono piccolissime microvescicole (nanoparticelle) tendenzialmente rotondeggianti o ovalari del **diametro di 50-100 nm*** generate dalla membrana dei Corpi multivescicolari

* **1 nanometro (nm)** = 1×10^{-9} m = 1 miliardesimo di metro = 10 ångström.

In passato il nanometro era denominato millimicron (1/1000 micron).

Mediante un exosoma è 1000 volte più piccolo della cellula che lo genera.

– Un milione di exosomi possono essere contenuti sulla punta di una matita.

endocellulari (vedi pag. 3, FIG. B e FIG. 3) attraverso un processo di espulsione nello spazio extracellulare, veri e propri *shuttles* che trasportano al proprio interno un carico di proteine (Simpson *et al.*, 2009), lipidi (Vidal *et al.*, 1989) ed acidi nucleici (Valadi *et al.*, 2007; Waldenstrom *et al.*, 2012) in grado di “consegnare” il proprio contenuto alle cellule destinarie (*recipient*) che incontrano e di poterle riprogrammare.

Gli EXO sono e rappresentano una nuova modalità di **comunicazione intercellulare** che riveste un ruolo capitale in molti processi cellulari, come ad es. la risposta immunitaria, la prima individuata (Raposo *et al.*, 1996; Greening *et al.*, 2015), la trasduzione di segnale (Gangoda *et al.*, 2015), la presentazione dell’antigene (Mittelbrunn *et al.*, 2011) e molti altri (Fernandes *et al.*, 2020) (FIG. 1).

– Gli EXO possono venir rilasciati virtualmente da **tutte** le cellule eucariote (Ruivo *et al.*, 2017), cellule con nucleo definito, isolato dal resto del citoplasma da una membrana. Recentemente gli EXO sono stati fotografati anche dopo espulsione da cellule procariote (Kalluri & LeBleu, 2020).

• Tutte le **cellule animali e vegetali** generano EXO; variando il proprio carico secondo i tipi cellulari da cui derivano, gli EXO offrono – tra le altre – preziose informazioni prognostiche in un *range* molto vasto di malattie, come: **1)** infiammazione cronica (Lesser *et al.*, 2016; Hessvik & Llorente, 2018); **2)** malattie del metabolismo lipidico (Record *et al.*, 2014); **3)** malattie cardiovascolari (Kishore *et al.*, 2016); **4)** malattie epatiche (Sung *et al.*, 2018); **5)** malattie renali (Gonzalez-Carlero *et al.*, 2014); **6)** malattie neurodegenerative (Howitt & Hill, 2016); **7)** tumori (Salem *et al.*, 2016) ed altre.

Nell’uomo gli EXO sono stati isolati in diversi “fluidi” corporei come sangue (Caby *et al.*, 2005), urina (Pisitkun *et al.*, 2004),

saliva (Ogawa *et al.*, 2011), sudore (Wu *et al.*, 2018), sperma (Ronquist & Brody, 1985; Park *et al.*, 2011; Aalberts *et al.*, 2012), latte (Admyre *et al.*, 2007), liquido amniotico (Asea *et al.*, 2008), liquido cerebrospinale (Vella *et al.*, 2008), liquido ascitico (Andre *et al.*, 2002) e bile (Masyuk *et al.*, 2010).

– Questi EXO a specifico profilo genomico, proteico e lipidico riflettono l’origine cellulare come “impronte digitali” o “firme” delle cellule che li hanno generati e – conseguentemente – possono garantire grandi potenzialità di utilizzo come *biomarker* di molte malattie (vedi dopo).

Anche se i liquidi biologici sono relativamente semplici da ottenere (biopsie “liquide”) e sono ricchi in EXO, questi non sono ancora stati utilizzati come *biomarker* nella pratica clinica corrente (Zhang *et al.*, 2019).

È questione solo di pochi anni poiché gli studi dedicati sono in sviluppo esponenziale in tutto il mondo. Poter disporre di uno o più *biomarker* di malattia prima che questa si palesi clinicamente significa dirigerne il decorso e la prognosi.

Gli EXO derivati da cellule neoplastiche contengono RNA che può venire incorporato nelle cellule sane, promuovendo – così – la diffusione del tumore primitivo (Skog *et al.*, 2008).

Sebbene la maggior parte delle ricerche abbia utilizzato cellule di specie di Mammiferi, alcune hanno dimostrato che anche ceppi di *Leishmania* e di *Mycobacterium* sono in grado di generare EXO e regolare – così – la difesa dell’ospite (Silvermann *et al.*, 2010).

– Allo stesso modo questa “via” consente la disseminazione di molecole utilizzate dai patogeni per tentare di sovvertire la risposta immunitaria dell’ospite e promuovere la persistenza o la difficile risoluzione di infezioni/infestazioni.

Nell’uomo, come nei parassiti, le proteine contenute nel car-

	EXOSOMI	MICROVESCICOLE	ECTOSOMI	PARTICELLE MEMBRANARIE	VESCICOLE EXOSOMA-LIKE	VESCICOLE APOPTOTICHE
ORIGINE	ENDOSOMI	MEMBRANA PLASMATICA	MEMBRANA PLASMATICA	MEMBRANA PLASMATICA	COMPARTIMENTI INTERNI	ND
DIMENSIONI	50-100 nm	100-1000 nm	50-200 nm	50-80 nm	20-50 nm	50-500 nm
SEDIMENTAZIONE	100.000 g	10.000 g	160.000-200.000 g	100.000-200.000 g	175.000 g	1.200 g, 10.000 g o 16.000 g
COMPOSIZIONE LIPIDICA (parziale)	COLESTEROLO SFINGOMIELINE CERAMIDI FOSFATIDIL-SERINA ESPOSTA	FOSFATIDIL-SERINA ESPOSTA	COLESTEROLO DIACIL-GLICEROLO FOSFATIDIL-SERINA ESPOSTA	ND	NON CONTENGONO LIPIDI	ND
PRINCIPALI MARCATORI PROTEICI	TETRASPANINE (CD63, CD9) ALIX TSG 101	INTEGRINE, SELECTINE	ENZIMI PROTEOLITICI NO CD63	NO CD63	RECCETTORE AL TNF (TNF R1)	ISTONI

TAB. 1

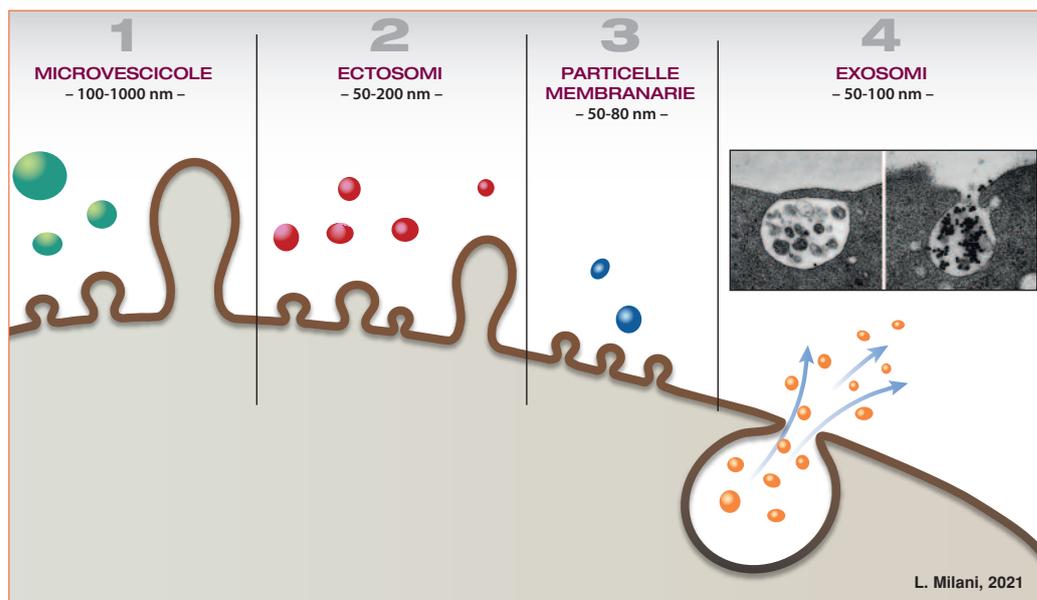
Caratteristiche chimico-fisiche di differenti tipi di vescicole scoperte nel *milieu* extracellulare.

– Le Vescicole apoptotiche sono rinvenute nel *milieu* extracellulare **solo** in seguito ad apoptosi di una cellula; ND = non definito.

– Tradotto dagli autori da Javalet, 2016 (vedi Bibliografia); adattato da Théry, 2009 (vedi Bibliografia).

FIG. 2

Le Microvescicole (1), gli Ectosomi (2) e le Particelle membranarie (3) derivano da una gemmazione (exvaginazione) della membrana cellulare e contengono prevalentemente il citosol della cellula che le/i ha generate/i. Gli exosomi (4) vengono – invece – liberati direttamente nello spazio extracellulare grazie ad una invaginazione della membrana cellulare, passando – conseguentemente – attraverso una discontinuità della membrana cellulare che, successivamente, si richiude. Ogni exosoma, come 1, 2 e 3, è provvisto di doppia membrana.



L. Milani, 2021

go exosomiale e trasportate a distanza rimangono integre e mantengono attività catalitica come le native (sono le stesse!), modificando la fisiologia ed il destino delle cellule destinarie (Colombo *et al.*, 2013; Kalra *et al.*, 2016).

- Tale comunicazione intercellulare consente fisiologicamente di coordinare in maniera armonica l'insieme delle funzioni cellulari di un organismo e di promuovere – così – l'omeostasi funzionale allargata *sensu* Cannon (Cannon, 1929) e lo stato allostatico *sensu* Sterling & Eyer (Sterling & Eyer, 1988).

BIOGENESI DEGLI EXOSOMI

Per chiarezza terminologica e per correggere alcune traduzioni errate o interpretazioni dubbie è necessario precisare che le cellule secernono differenti tipi di vescicole extracellulari: le prime 3 si formano a partire da una **gemmazione** (*budding*) della membrana plasmatica (**Microvescicole**, **Ectosomi** e **Particelle membranarie**) (TAB. 1; FIG. 2).

- Gli EXO hanno – invece – **origine intracellulare** e vengono liberati nello spazio extracellulare grazie alla fusione di un Corpo multivescicolare maturo con la membrana cellulare che, dopo l'espulsione degli EXO, si richiude. Non occorre mai soluzione di continuità tra citoplasma e "liquido" extracellulare.

Recentemente sono stati descritti anche i cosiddetti EXO-like (vedi TAB. 1) di origine intracellulare la cui funzione non è stata ancora chiaramente definita (Fernades *et al.*, 2020; Lu & Huang, 2020).

– Sinteticamente e cronologicamente la formazione degli EXO avviene sostanzialmente in **4 tappe** (FIG. 3):

- **1^a tappa:** formazione per **gemmazione interna** della membrana cellulare di una piccola Vescicola endocitica.
- **2^a tappa:** ingrossamento della Vescicola endocitica a costituire un **Endosoma** che genera al proprio interno poche piccole Vescicole intraluminali (**ILV - IntraLuminal Vesicles**).
- **3^a tappa:** formazione di un Corpo multivescicolare (**MVB - MultiVesicular Body**).

I MVB sono così formati durante la maturazione dell'Endosoma (vedi 2^a tappa), processo attraverso il quale le ILV (vedi 2^a tappa) sono generate grazie all'invaginazione della membrana limitante. I MVB erano già stati osservati esattamente 20 anni prima della scoperta degli EXO (Fuchs, 1963; Polycard *et al.*, 1963), ma anche ad essi non era stata conferita alcuna importanza biologica.

– A questo punto il MBV può andare incontro a 2 destini: o **3a)** fondersi con un Lisosoma, organulo cellulare contenente enzimi litici in grado di degradare le componenti organiche (sistema digerente della cellula) o **3b)** migrare in direzione della membrana cellulare. Recentemente sono state identificate le proteine e/o i complessi lipoproteici necessari per il trasporto dei MVB all'interno della cellula (Hurley & Hanson, 2010; Hanson *et al.*, 2012; Henne *et al.*, 2012).

- **4^a tappa:** fusione del MVB con la membrana cellulare e liberazione nello spazio extracellulare delle ILV, che – da questo momento – sono definiti EXO.

Da Endosoma ad EXO le progressive invaginazioni della membrana plasmatica per la formazione di elementi sempre più numerosi e sempre più piccoli sono garantite dal cosiddetto "marchingegno" (*machinery*) ESCRT (*Endosomal Sorting Complex Requiring for Transport*) costituito da 4 complessi multiproteici (0-I-II-III) (FIG. 4).

È il Calcio intracellulare il vero regolatore della fusione del MVB alla membrana cellulare conducendo all'espulsione degli EXO (Savina *et al.*, 2003; 2005). Questo ruolo è coadiuvato dalla proteina ALIX (Baietti *et al.*, 2012) di cui è stata de-

finita la struttura tridimensionale (Fisher *et Al.*, 2007; Larios *et Al.*, 2020).

– Questo modello dinamico, formulato nelle sue linee essenziali e pubblicato da Harding, Heuser & Stahl nel 1983, ha resistito alle prove del tempo, come uno dei 3 autori, Philip Stahl (*Distinguished Plenary Speaker*), che al tempo aveva coordinato la sperimentazione, ha affermato nel 2014 in un Congresso organizzato da ISEV (*International Society for Extracellular Vesicles*) in Rotterdam - Paesi Bassi e – più recentemente – confermato in una sua pubblicazione (Stahl & Raposo, 2019).

EXOSOMI – IL CARGO

Ad ogni tappa, da Vescicola endocitica ad EXO, vengono caricate al proprio interno quantità selezionate di vari RNA, proteine e lipidi.

Ad oggi circa 4400 proteine, 200 lipidi, 1700 RNA messaggeri (**RNAm**) e 800 microRNA (**RNAmi**) sono stati individuati nei diversi EXO esaminati (Mathivanan *et Al.*, 2012; Kim *et Al.*, 2013).

– Particolarmente interessante è il ruolo svolto dagli RNA, potenti regolatori genici. Infatti gli RNA incorporati negli EXO **possono modificare l'espressione genica delle cellule destinarie** (Valadi *et Al.*, 2007; Nolte-t Hoen *et Al.*, 2012).

I diversi RNA non sono codificanti all'interno degli EXO, ma sicuramente interferiscono con gli RNA delle cellule destinarie.

È così che i tumori metastatizzano a distanza (Minciacchi *et Al.*, 2015). È così che gli EXO prodotti da cellule sane di un determinato organo rigenerano le cellule malate dello stesso organo di un paziente (**terapia rigenerativa exosomiale**).

Gli RNAmi contenuti negli EXO sono fondamentalmente di 5 tipi:

1) MicroRNA (RNAmi) - costituiti da 20-22 nucleotidi. Questi RNAmi sono stati proposti come *biomarker* non invasivi, ad esempio del colangio-carcinoma (Puik *et Al.*, 2017), del tumore polmonare a piccole cellule (Hu *et Al.*, 2020) e del tumore polmonare non a piccole cellule (Grimolizzi *et Al.*, 2017). Gli RNAmi rappresentano il 76% di tutte le letture mappali; vengono trasferiti alle cellule destinarie determinando una modificazione fenotipica transitoria o persistente (Mittelbrunn *et Al.*, 2011) e genotipica attraverso la DNApolimerasi-RNA-dipendente = trascrittasi inversa = retrotrascrittasi.

2) lncRNA - costituiti da 200 nucleotidi implicati nella regolazione della differenziazione cellulare, nel ciclo cellulare e nell'epigenetica (Hu *et Al.*, 2015), nell'angiogenesi e nella metastatizzazione e crescita neoplastica (Hewson & Morris, 2016).

3) CirRNA (RNA circolari) - *biomarker* con proprietà diagnostiche, prognostiche e predittive.

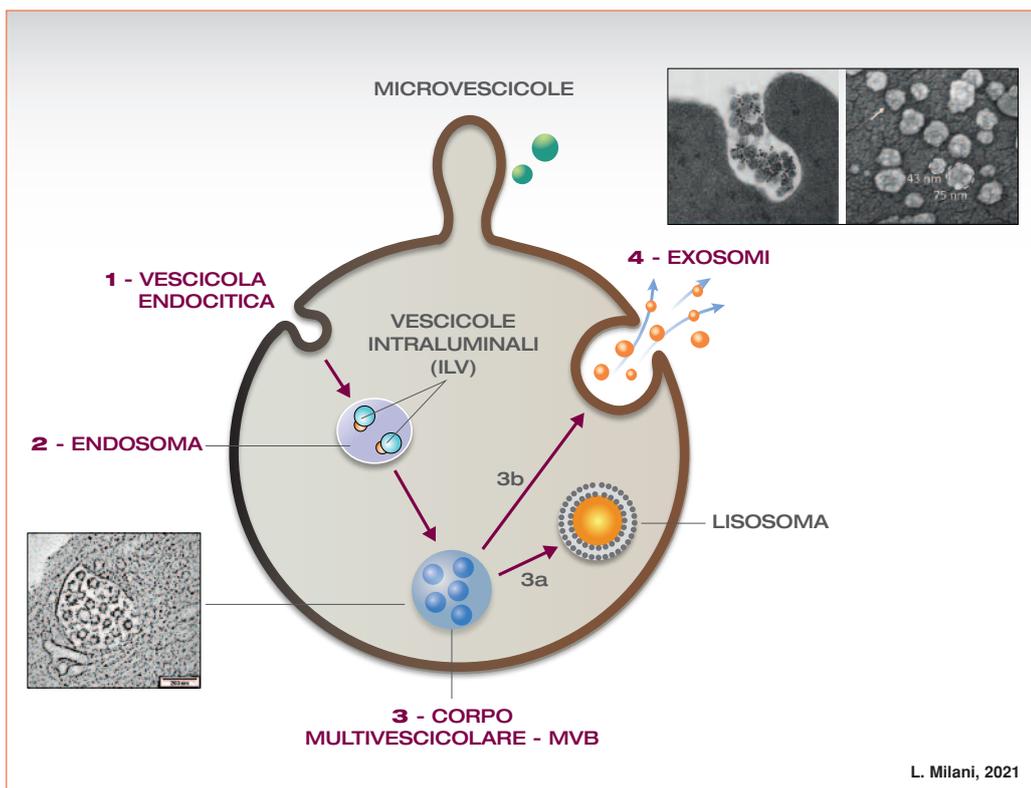


FIG. 3

Generazione degli exosomi e delle Microvescicole.

– I Corpi multivescicolari (MVB) (3) si formano durante la maturazione degli Endosomi (2), processo attraverso cui le Vescicole intraluminali (ILV) sono generate grazie all'invaginazione della membrana limitante dell'Endosoma. I MVB si possono fondere con i Lisosomi (3a) per la degradazione del loro contenuto o (3b) fondersi con la membrana cellulare liberando le ILV che, oltrepassato il limite imposto dalla membrana cellulare, prendono nome di exosomi.

– Gli exosomi sono "impronte digitali" miniaturizzate delle cellule che li hanno generati.

L. Milani, 2021

4) RNA messaggeri (RNAm).

5) **altri RNA** (*long non coding RNA*; *piwi interacting RNA*, *RNA transfer*, *RNA small nuclear*, *RNA small nucleolar*).

– Oltre agli RNA, gli EXO possono contenere anche DNA frazionato (Sharma & Johnson, 2019; Spada *et al.*, 2020).

Oltre agli RNA, gli EXO contengono proteine come le **4 Tetranspanine** che partecipano nella penetrazione degli EXO nelle cellule destinarie e negli eventi di fusione, le **Heat Shock Proteins** (HSP) coinvolte nella presentazione, nel legame con l'antigene e nella formazione dei MVB (liberazione degli EXO) e le **Proteine di adesione cellulare**. Il *cargo* EXO è ricco anche in lipidi come Colesterolo, Sfingomieline, Ceramidi, Fosfatidil-serina ed Acidi arachidonico e fosfatidico. – La composizione tipo di un EXO è esposta in **FIG. 5**.

LA COMUNICAZIONE INTERCELLULARE

Tradizionalmente le cellule comunicano con le cellule *vicini* attraverso il contatto diretto (*gap junctions*, proteine di superficie), oppure a distanza (ormoni, chemochine, citochine), oltre a segnali elettrici e chimici (nucleotidi, peptidi a catena corta e lipidi).

– Gli EXO hanno modalità di comunicazione del tutto diversa

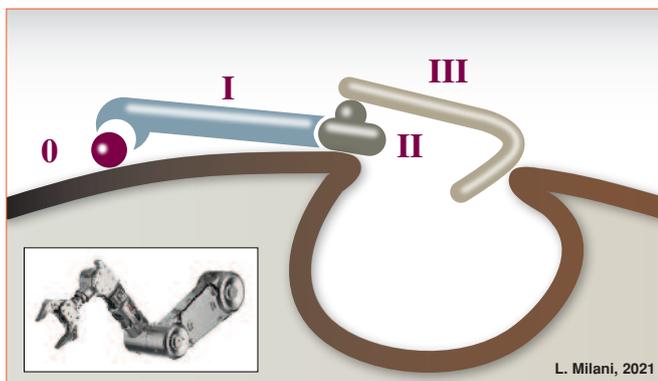


FIG. 4

Grafica schematica del “marchingegno” (*machinery* nell'originale inglese) ESCRT (*Endosomal Sorting Complex Requiring for Transport*) costituito da IV subunità proteiche in linea (0, I, II, III) che “fabbrica” le invaginazioni e “salda” le membrane da Endosoma ad EXO. Come un braccio robotico, ESCRT-I tira a sé ESCRT-0 “arricciando” la membrana plasmatica mentre ESCRT-II la spinge verso il basso. Quando si è formata una endovesiccola, ESCRT-III avvicina i 2 lembi (*neck*) lipoproteici della membrana genitrice.

• ESCRT è un meccanismo filogenetico antichissimo, presente anche negli *Archaea* comparsi sulla Terra 3,5 miliardi di anni fa, i Procarioti che – ancora attualmente – possono vivere in situazioni ambientali estreme. La Natura ama i moduli e li ripete.

– Adattato dal primo autore da Raiborg & Stenmark, 2009 (vedi Bibliografia).

e peculiare: dalla cellula parentale alle cellule destinarie penetrano direttamente in queste, vicine o lontane. Una volta penetrati nelle cellule destinarie le stimolano attraverso ligandi localizzati sulla loro superficie, trasferiscono i recettori attivati e le **riprogrammano epigeneticamente** attraverso la consegna del loro *cargo*.

Una vera e propria... consegna a domicilio.

– Questo comportamento unico ed emergente in Biologia e Medicina razionalizza – ad esempio – la loro enorme importanza in Immunologia come attivazione, soppressione, tolleranza immunitaria e presentazione dell'antigene (Raposo *et al.*, 1996; Zitvogel *et al.*, 1998; Clayton *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011; Smyth *et al.*, 2013; Okoye *et al.*, 2014); gli EXO derivati da staminali mesenchimali hanno evidenziato grandi capacità di riduzione dell'estensione dell'infarto miocardico (Lai *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2017), dell'infarto renale (van Koppen *et al.*, 2012), nella rimarginazione delle ferite (Zhang *et al.*, 2015), nelle malattie epatiche (Tan *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2018), nella protezione dei neuroni (Xin *et al.*, 2012), nella riduzione dei danni retinici prodotti in seguito di interventi effettuati con i laser (Yu *et al.*, 2016), oltre che nel controllo della patogenicità virale e nella terapia dell'invecchiamento precoce, solo per citare gli esempi più pregnanti.

EXOSOMI E MALATTIE EPATICHE

L'efficacia terapeutica degli EXO da cellule staminali stromali mesenchimali (MSC) e da epatociti è stata studiata in modelli animali *in vitro* ed *in vivo*.

Di seguito l'elenco aggiornato ed esaustivo dei riferimenti bibliografici più significativi, in ordine cronologico crescente:

1. **FIBROSI EPATICA** - Masyuk *et al.*, 2013; Charrier *et al.*, 2014; Hyun *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016; Nojima *et al.*, 2016; Lou *et al.*, 2017; Shen *et al.*, 2017; Qu *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2018 a; Mardpour *et al.*, 2019; Povero *et al.*, 2019; Rong *et al.*, 2019; Fiore *et al.*, 2020; Bruno *et al.*, 2020 a;b.
2. **CARCINOMA EPATICO** - Kogure *et al.*, 2011; Fonsato *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020.
3. **EPATITI, EPATOTOSSICITÀ DA FARMACI** - Li *et al.*, 2013; Lemoine *et al.*, 2014; Tan *et al.*, 2014; Abbas & Hamideh, 2014; Brigstock, 2015; Cai *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2018 b.
4. **STEATOEPATITE NON ALCOLICA (NASH)** - Bruno *et al.*, 2020 b.
5. **RIGENERAZIONE EPATICA POST EPATECTOMIA PARZIALE** - Herrera *et al.*, 2010.

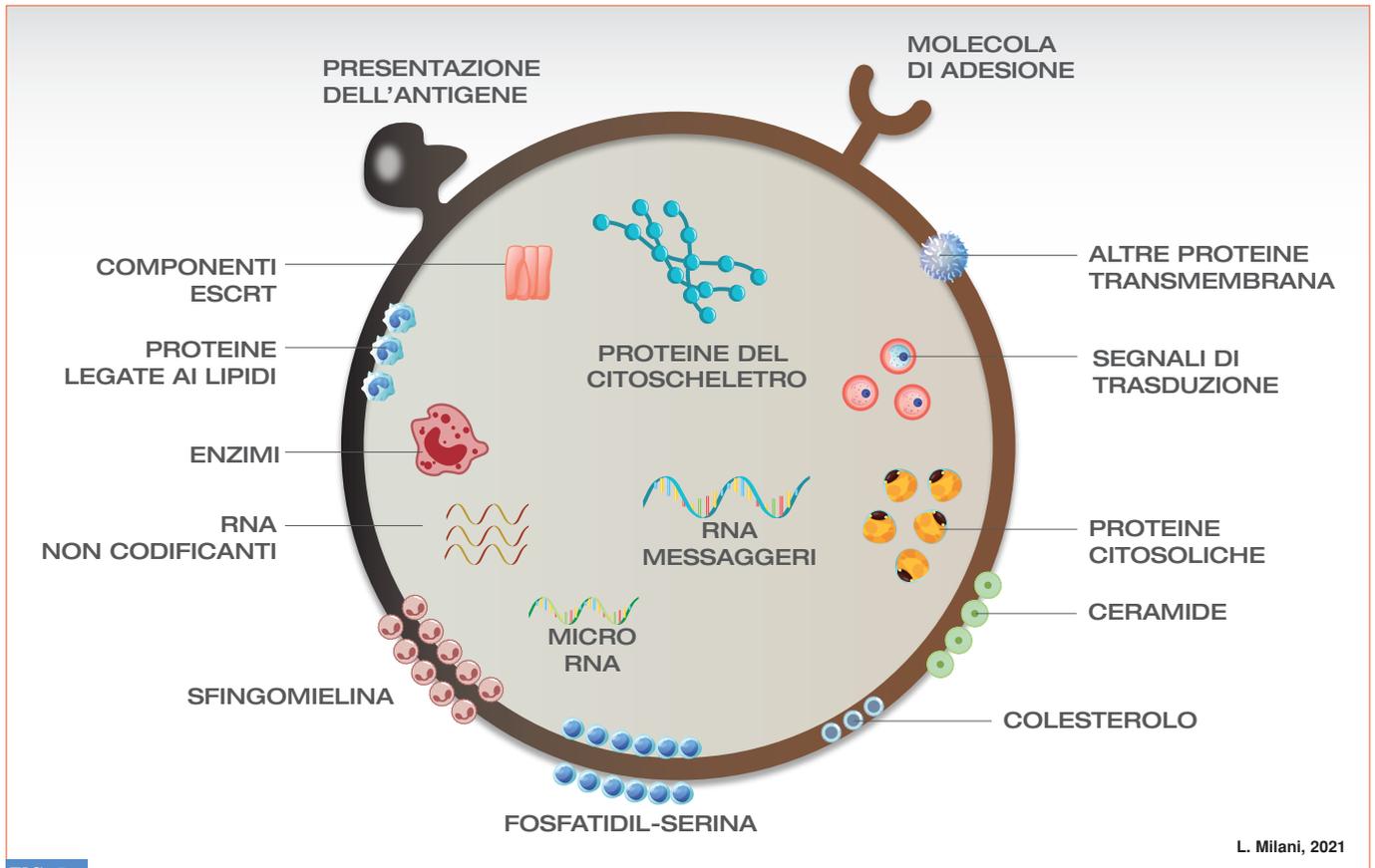


FIG. 5

Composizione tipo di un exosoma. Il cargo.

6. **BIOMARKER DELLE EPATOPATIE** - Wang *et Al.*, 2017; Barile & Vassalli, 2017.

Questi dati della Letteratura scientifica più recente evidenziano il grande impatto terapeutico offerto dagli EXO nelle epatopatie ed il loro potere antidegenerativo, antispasmodico e come potenziali *biomarker* delle affezioni epatiche.

► In questo contesto una menzione particolare è rivolta a **Epatoguna** (Guna Spa - Milano), integratore alimentare a base di liofilizzato epatico processato intatto da suini giovani sani sec. la metodica Neorland[®], Colina e Tè verde.

Il liofilizzato epatico contenuto in Epatoguna è fonte di exosomi ben conservati e biologicamente attivi su cellule staminali umane, come ben evidenziato dai risultati della sperimentazione condotta dal Gruppo di ricerca coordinato dal Prof. C. Ventura – CNR, Bologna (Ferroni *et Al.*, 2019).

– Cito dagli A.A. (dalla Discussione nell'articolo): 1) *“il fegato di suino Neorland[®] contiene esosomi; 2) questi vengono internalizzati dalle cellule umane e sono biologicamente attivi”*. Il liofilizzato epatico Neorland[®] è esclusivo di Epatoguna.

– La **Colina** è una sostanza lipotropica che previene il deposito lipidico nel parenchima epatico. Bassi contenuti alimentari di Colina favoriscono la NAFLD

(*Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*), attuale e più corretta definizione della “vecchia” Steatosi epatica.

L'apporto nutraceutico di Colina aumenta la sintesi di lipoproteine a bassissima densità (VLDL) favorendo – così – il trasporto dei Trigliceridi all'esterno della cellula, evitandone l'accumulo nel citoplasma dell'epatocita (Lombardi *et Al.*, 1968; Yasuda *et Al.*, 2020).

– Il **Tè verde** [*Camellia sinensis* (L.) Kuntze] (titolato al 95% in Epigallocatechina-3-gallato) è protettivo il parenchima epatico e riduce i *marker* infiammatori; abbassa i Trigliceridi epatici (Xu *et Al.*, 2020), la ALT (Yu *et Al.*, 2017) e controlla l'insulino-resistenza (Pham *et Al.*, 2014).

LA BOTTIGLIA SULLA SPIAGGIA

La scoperta che i linfociti presentano recettori anche per ormoni ipotalamici (CRF, GHRH, LHRH), ormoni (Cortisolo, Pro-



lattina, GH, Melatonina), peptidi neuroendocrini (Encefaline, β -Endorfina, Somatostatina, NGF, ACTH, Sostanza P, CGRP), neurotrasmettitori (Adrenalina, Noradrenalina, Acetilcolina, Dopamina) e che – a propria volta – rilascino peptidi neuroendocrini e che la funzione immunitaria sia influenzata anche da alcuni ormoni, neurotrasmettitori ed altri messaggeri (*in* Milani, 2018) è altamente suggestiva del potente **scambio informativo** (*cross-talk*) tra P, N, E ed I.

Ciascuno dei 4 “attori” del Supersistema PNEI è performante **solo** se è interconnesso contemporaneamente agli altri 3, garantendo – così – la “vera” omeostasi psico-organica. Non altro.

– Ciascuno di questi 4 “attori” agisce a distanza attraverso meccanismi elettrochimici, sinapsi, ligandi, ecc. o modificazioni delle proprie cellule o delle cellule destinatarie, non necessariamente *target*.

– Tutto in Natura è informazione.
Il Tutto stesso è informazione, in formazione.

I *network* ed i *network* di *network* sono i garanti dell’allineamento delle espressioni della Vita. Soprintendono ai Domini di Coerenza.

– Un solo loro sbilanciamento ipo/ipera allerta il Tutto dell’individuo nel tentativo compensatorio di far ripartire l’orologio ad alta complicazione inceppatosi.

• A questi 4 Sistemi, recentemente se ne è aggiunto un 5°, il Sistema exosomiale/microvescicolare che – attraverso la propria comunicazione intercellulare a breve e lungo raggio d’azione – trasferisce soprattutto microRNA e RNAmessaggeri che impattano sulle cellule destinarie lungo il proprio “viaggio”, veicolati dai fluidi corporei, giungendo a destinazione come... bottiglie messaggere spiaggiate – tesoro di Nettuno.

– Gli studi sugli EXO sono letteralmente esplosi esponenzialmente negli ultimi 5 anni e prospettano nuove, inaspettate ed affascinanti opportunità in diagnostica precoce (*biomarker*) (Simpson *et al.*, 2009; Heubner *et al.*, 2015; Fais *et al.*, 2016) e in terapia come “sistema di consegna di farmaci” (*drug delivery system*) (El Andaloussi *et al.*, 2013; Johnsen *et al.*, 2014; Vader *et al.*, 2016; Batrakova *et al.*, 2016; Ingato *et al.*, 2016) o come EXO processati da **Tessuti animali** o **vegetali** sani biocompatibili con quelli umani.

– L’effetto terapeutico delle cellule staminali è con tutta probabilità mediato dal rilascio degli EXO da esse prodotti: questi hanno la capacità di *ricapitolare* l’effetto delle staminali e – conseguentemente – apporteranno ulteriore linfa alle loro applicazioni pratiche... la Medicina Rigenerativa, il sogno – ora sempre più tangibile – di ogni medico e di ogni paziente. ■

Bibliografia

- A** – Aalberts M. *et al.* – Identification of distinct population of prostasomes that differentially express prostate stem cells antigen, annexin A1, and GLIPR2 in humans. *Biol. Reprod.* 86:82; **2012**.
- Abbas A.I.F. & Hamideh M.H. – Biological Functions of Exosome in the Liver in Health and Disease. *Hepat Mon.* **2014** May; 14(5): e13514.
- Admyre C. *et al.* – Exosome with immune modulatory features are present in human breast milk. *J. Immunol.* 179: 1969-1978; **2007**.
- Andre F. *et al.* – Malignant effusion and immunogenetic turnover-derived exosomes. *Lancet*, **2002**, 360: 295-305.
- Asea A. *et al.* – Heat Shock protein containing exosomes in mid-trimester amniotic fluids. *J. Reprod. Immunol.*, **2008**; 79: 12-17.
- B** – Baietti M.F. *et al.* – Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat Cell Biol.* **2012** Jun 3; 14(7): 677-85.
- Barile L. & Vassalli G. – Exosomes: Therapy delivery tools and biomarkers of diseases. *Pharmacol. Ther.* **2017** Jun; 174: 63-78.
- Batrakova E.V. *et al.* – Development and regulation of exosome-based therapy products. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.* **2016** Sep; 8(5): 744-57.
- Brigstock D.R. – Exosome platforms for assessment and therapy of chronic liver disease. *Grantome*, **2015**.
- Bruno S. *et al.* (a) – Extracellular Vesicles: A Therapeutic Option for Liver Fibrosis. *Int. Journ. Mol. Sci.*, **2020**, 21, 4255. doi: 10.3390/ijms21124255.
- Bruno S. *et al.* (b) – HISC-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Liver Fibrosis and Inflammation in a Murine Model of Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Mol. Ther.* **2020**, 28, 479-489.
- C** – Caby M.P. *et al.* – Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int. Immunol.* **2005**; 17: 879-887.
- Cai S. *et al.* – Emerging role of exosomes in liver physiology and pathology. *Hepatol. Res.* **2017**; 47: 194-203.
- Cannon W.B. – Organization for physiological homeostasis. *Physiological reviews*, 9, **1929**, 339-427.
- Charrier A. *et al.* – Exosomes mediate intercellular transfer of pro-fibrogenic connective tissue growth factor (CCN2) between hepatic stellate cells, the principal fibrotic cells in the liver. *Surgery*, **2014**;156: 548-55.
- Chen L. *et al.* – Fibrogenic Signaling Is Suppressed in Hepatic Stellate Cells through Targeting of Connective Tissue Growth Factor (CCN2) by Cellular or Exosomal MicroRNA-199a-5p. *Am J Pathol.* **2016** Nov; 186(11): 2921-2933.
- Chen L. *et al.* (a) – Combatting Fibrosis: Exosome-Based Therapies in the Regression of Liver Fibrosis. *Hepatology Communications /Vol 3. Issue 2*; **2018**. <https://doi.org/10.1002/hep4.1290>.
- Chen L. *et al.* (b) – BMSCs Derived MIR-223-Containing Exosomes Contribute to Liver Protection in Experimental Autoimmune Hepatitis. *Mol. Immunol.* **2018**, 95, 38-46.
- Clayton L.A. *et al.* – Cancer exosomes express CD39 and CD73 which suppress Tcells through adenosine production. *J Immunol*, **2011**; 187(2): 676-683.
- Colombo M. *et al.* – Analysis of ESCRT functions in exosome biogenesis, composition and secretion highlights the heterogeneity of extracellular vesicles. *Journal of cell science* **2013**, 126 (Pt 24):5553-65.
- E** – El Andaloussi S. *et al.* – Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov.* **2013** May;12(5):347-57.
- F** – Fais S. *et al.* – Evidence-Based Clinical Use of Nanoscale Extracellular Vesicles in Nanomedicine. *ACS Nano.* **2016** Apr 26;10(4):3886-99.
- Fernandes M. *et al.* – Exosome-like Nanoparticles. A New Type of Nanocarrier. *Curr Med Chem.* **2020**; 27(23): 3888-3905.
- Ferroni O. *et al.* – Epatoguna. Il liofilizzato di fegato di suino Neorland® è fonte di esosomi ben conservati e biologicamente attivi su staminali umane. *La Med. Biol.*, **2019**/1; 3-9.
- Fiore E. *et al.* – Human umbilical Cord Perivascular Cells-Derived Extracel-

- ular Vesicles Mediate Transfer of IGF-1 to the Liver and Ameliorate Hepatic Fibrogenesis in Mice. *Gene Ther.* **2020**, 27; 62-73.
- Fisher R.D. *et Al.* – Structural and biochemical studies of ALIX/AIP1 and its role in retrovirus budding. *Cell.* **2007**, 128: 841-852.
- Fonsato V. *et Al.* – Human liver stem cell-derived microvesicles inhibit hepatoma growth in SCID mice by delivering antitumor microRNAs. *Stem Cells*, **2012**; 30: 1985-1998.
- Fuchs V. – Electron microscope observation on multivesicular bodies in endothelial and skeletal muscle cells. *Z Mikrosk Anat Forsch* 70: 391-396; **1963**.
- G** –Gangoda L. *et Al.* – Extracellular vesicles including exosomes are mediated of signal transduction: are they protective or pathogenetic? *Proteomics*, **2015**; 15(2-3): 260-271.
- Gonzalez-Calero L. *et Al.* – Exosomes: a potential key target in cardio-renal syndrome. *Front Immunol.* **2014**; 5: 465.
- Greening D.W. *et Al.* – Exosomes and their role in immune regulation and cancer. *Semir Cell Dev Biol.*, **2015**; 40: 72-81.
- Grimolizzi F. *et Al.* – Exosomal miR-126 as a circulating biomarker in non-small-cell lung cancer regulating cancer progression. *Sci Rep.* **2017**, 15277 (2017).
- H** –Hanson P.I. *et Al.* – Multivesicular body morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, **2012**; 28: 337-62.
- Harding C., Heuser J., Stahl P. – Receptor-mediated endocytosis of transferrin receptor in rat reticulocyte. *J Cell Biol.*, **1983**, 97: 329-339.
- Harding C.V. *et Al.* – Exosomes: Looking back three decades and into the future. *J Cell Biol.* **2013** Apr 29; 201(3): 485.
- Henne W.M. *et Al.* – The endosomal sorting complex ESCRT-II mediates the assembly and architecture of ESCRT-III helices. *Cell* **2012** Oct 12; 151(2): 356-71.
- Herrera M.B. *et Al.* – Human liver stem cell-derived microvesicles accelerate hepatic regeneration in hepatectomized rats. *J. Cell Mol. Med.* Vol 14, 68. **2010**; 1505-1518.
- Hessvik N.P. & Llorente A. – Current Knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell. Mol. Life Sci.* (**2018**), 75: 193-208.
- Heubner A.R. *et Al.* – Exosomes in urine biomarker discovery. *Adv Exp Med Biol.* **2015**; 845:43-58.
- Hewson C. & Morris K.V. – Form and function of exosome-associated long non-coding RNAs in cancer. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 394, 41-56 (**2016**).
- Howitt J. & Hill A.T. – Exosomes in the pathology of neurodegenerative diseases. *J Biol Chem.*, **2016**; 291(52): 26589-26597.
- Hu C. *et Al.* – Role of exosomal microRNAs in lung cancer biology and clinical applications. *Cell Prolif.* E12828, **2020**. <https://doi.org/10.1111/cpr.12828>.
- Hu Y. *et Al.* – Fibroblast-derived exosomes contribute to chemoresistance through priming cancer stem cells in colorectal cancer. *Plos One*, 10, e0125625 (**2015**).
- Hurley J. H. & Hanson P.I. – Membrane budding and scission by the ESCRT machinery: It's all in the neck. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **2010**, 11(8): 556-66.
- Hyun J. *et Al.* – MicroRNA125b-mediated Hedgehog signaling influences liver regeneration by chorionic plate-derived mesenchymal stem cells. *Sci Rep.* **2015**; 5:14135.
- I** –Ingato D. *et Al.* – Good things come in small packages: Overcoming challenges to harness extracellular vesicles for therapeutic delivery. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.* **2016** Sep;8(5):744-57.
- J** –Javalet C. – Rôle des exosomes comme nouvelle voie de communication entre les neurones. *Neuroscience [q.bio.NC]*. Université Grenoble Alpes, **2016**.
- Jiang W. *et Al.* – Human umbilical cord MSC-derived exosomes suppress the development of CC14-induced liver injury through antioxidant effect. **2018**. Article ID: 6079642. [10.1155/2018/6079642](https://doi.org/10.1155/2018/6079642).
- Johnsen K.B. *et Al.* – A comprehensive overview of exosomes as drug delivery vehicles - endogenous nanocarriers for targeted cancer therapy. *Biochim Biophys Acta.* **2014** Aug;1846(1):75-87.
- Johnstone R.M. – Revisiting the road to the discovery of exosomes. *Blood Cells Mol Dis.*, **2005**, May-Jun; 34(3): 214-9.
- Johnstone R.M. *et Al.* – Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem.* **1987**; 262(19): 9412-9420.
- K** –Kalluri R. & LeBleu V.S. – The biology, function and biomedical applications of exosomes. *Science*, **2020**, Vol. 367, Issue 6478, eaau6977.
- Kalra H. *et Al.* – Focus on extracellular vesicles with continuous community annotation. *PloS Biology*, **2016**, 10(12), p. e10014501.
- Kim D.K. *et Al.* – EVpedia: an integrated database of high-throughput data for systemic analyses of extracellular vesicles. *J. Extracell Vesicles*, **2013**.
- Kishore R. *et Al.* – Tiny shuttles for information transfer: exosomes in cardiac health and disease. *J Cardiovasc Transl Res*, **2016**; 9(3): 169-175.
- Kogure T. *et Al.* – Intercellular nanovesicle-mediated microRNA transfer: A mechanism of environmental modulation of hepatocellular cancer cell growth. *Hepatology*, **2011**; 54; 1237-1248.
- L** –Lai R.C. *et Al.* – Exosomes secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res.*, **2010**; 4(3): 214-222.
- Larios J. *et Al.* – ALIX- and ESCRT-III-dependent sorting of tetraspanins to exosomes. *Journal of Cell Biology* (**2020**) 219(3).
- Lemoine S. *et Al.* – The emerging role of microvesicles in liver diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* **2014** Jun; 11(6):350-61.
- Lesser C. *et Al.* – Exosomes in the nose induce immune cell trafficking and harbour an altered protein cargo in chronic airway inflammation. *J Transl Med.*, **2016**; 14(1): 181.
- Li T. *et Al.* – Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis. *Stem Cells Dev.* **2013** Mar 15; 22(6):845-54.
- Li X. *et Al.* – The significance of exosomes in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer.* **2020** Jan 4; 19(1):1. doi: 10.1186/s12943-019-1085-0.
- Liu L. *et Al.* – Exosomes derived from mesenchymal stem cells rescue myocardial ischaemia/reperfusion injury by inducing cardiomyocyte autophagy via AMPK and Akt pathways. *Cell Physiol Biochem*, **2017**; 43(1):52-68.
- Lombardi B. *et Al.* – Choline-deficiency fatty liver: impaired release of hepatic triglycerides. *J. Lipid Res.*, **1968** Jul; 9(4): 437-46.
- Lou G. *et Al.* – Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. *Exp. Mol. Med.* **2017** Jun 16; 49(6): e346.
- Lu M. & Huang Y. – Bioinspired exosome-like therapeutics and delivery nanoplatfoms. *Biomaterials*, Vol. 242, June **2020**, 119925.
- M** –Mardpour S. *et Al.* – Hydrogel-Mediated Sustained Systemic Delivery of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Improves Hepatic Regeneration in Chronic Liver Failure. *ACS Appl Mater. Interfaces*, **2019**, 11, 37421-37433.
- Masyuk A.I. *et Al.* – Biliary exosomes influence cholangiocyte regulatory mechanism and proliferation through interaction with primary cilia. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2010**; 299: G990-G999. doi10.1152/ajpgi.00093.2010.
- Masyuk A.I. *et Al.* – Exosomes in the pathogenesis, diagnostics and therapeutics of liver diseases. *J Hepatol.* **2013** Sep;59(3):621-5.
- Mathivanan S. *et Al.* – Database of exosomal proteins, RNA and lipids. *Nucleic Acid Res.*, **2012**; 40, 1241-1244.
- Milani L. – La P di PNEI, il Sistema della Ricompensa e i 4 cervelli dell'Uomo. Prima Parte. Un'eredità inaspettata. *La Med Biol.*, **2018**/1; 3-14.
- Minciacchi V.R. *et Al.* – Extracellular vesicles in cancer: exosomes, microvesicles and the emerging role of large oncosomes. *Semin Cell Dev Biol*, **2015**; 40: 41-51.
- Mittelbrunn M. *et Al.* – Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. *Nat Commun.*, **2011**; 2: 282.
- N** –Nojima H. *et Al.* – Hepatocyte exosomes mediate liver repair and regeneration via sphingosine-1-phosphate. *J Hepatol.* **2016** Jan; 64(1):60-8.
- Nolte-’t Hoen E.N.M. *et Al.* – Deep sequencing of RNA from immune cell-derived vesicles uncovers the selective incorporation of small non-coding RNA biotypes with potential regulatory functions. *Nucleic Acids Research*, **2012** Oct, 40(8); 9272-85.

- O**–Ogawa Y. *et al.* – Proteomic analyses of tub types of exosomes in human whole saliva. *Biol. Pharm. Bull.* **2011**; 34: 13-23.
- Okoye I.S. *et al.* – MicroRNA-containing T-regulatory-cell-derived exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells. *Immunity*, **2014**.08.008.
- P**–Pan B.T. & Johnstone R.M. – Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocyte in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell*, **1983**, 33: 967-978.
- Park K.H. *et al.* – Co2+ signaling tools acquired from prostatesome are required for progesterone-induced sperm mobility. *Sci Signal*. 4: ra31; **2011**.
- Pham N.M. *et al.* – Coffee and green tea consumption is associated with insulin resistance in Japanese adults. *Metabolism*. **2014** Mar; 63(3): 400-8.
- Pisitkun T. *et al.* – Identification and proteomic profiling of exosomes in human urine. *Proc. Natl- Acad. Sci. USA*, **2004**; 101: 13368-13373.
- Policard A. *et al.* – A still little known infrastructure of the cytoplasm, multi-vesicular bodies. *Nouv Rev Fr Hematol*, **1963**, 3: 421-433.
- Povero D. *et al.* – Human induced Pluripotent Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Reduce Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrosis. *JCI Insights*, **2019**, 5.
- Puik J.R. *et al.* – miRNA profiling for diagnosis, prognosis and stratification of cancer treatment in cholangiocarcinoma. *Pharmacogenomics* 18, 1343-1358 (**2017**).
- Q**–Qu Y. *et al.* – Exosomes Derived from MIR-181-5p-Modified Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Prevent Liver Fibrosis. *J. Cell. Mol. Med.* **2017**, 21, 2491-2502.
- R**–Raiborg C. & Stenmark H. – The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature*. **2009** Mar 26; 458(7237): 445-52.
- Raposo G. *et al.* – B-lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J Exp Med.*, **1996**; 183(3): 1161-1172.
- Record M. *et al.* – Emerging concepts on the role of exosomes in lipid metabolic diseases. *Biochimie*. **2014**; 96: 67-74.
- Rong X. *et al.* – Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Alleviate Liver Fibrosis in Rats. *Stem Cells Int.* **2019**, 3212643.
- Ronquist G. & Brody I. – The prostatesome: its secretion and function in man. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**; 822, 203-218.
- Ruivo C.F. *et al.* – The biology of cancer exosomes: insight and new perspectives. *Cancer Res*, 77, 6480-6488; **2017**.
- S**–Salem K.Z. *et al.* – Exosomes in tumor angiogenesis. *Methods Mol Biol (Clifton, NJ)* **2016**; 1464:25-34.
- Savina A. *et al.* – Exosome release is regulated by a calcium-dependent mechanism in K562 cells. *Journal of Biological Chemistry*. **2003** May 30; 278(22), 20083-20090.
- Savina A. *et al.* – Rab1 promotes docking and fusion of multivesicular bodies in a calcium-dependent manner. *Traffic* **2005** Feb, 6(2); 131-143.
- Sharma A. & Johnson A. – Exosome DNA: Critical regulator of tumor immunity and diagnostic biomarker. *Journal of Cellular Physiology*, **2019**; 235(41). DOI: 10.1002/jcp.29153.
- Shen J.S. *et al.* – The role of exosomes in hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Cell Mol Med.* **2017** May; 21(5):986-992.
- Silvermann J.M. *et al.* – Leishmania exosomes modulate innate and adaptive immune responses through effects on monocyte and dendritic cells. *J. Immunol.*, **2010**; 185: 5011-5022.
- Simpson R.J. *et al.* – Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev Proteomics*. **2009** Jun;6(3):267-83.
- Skog J. *et al.* – Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat. Cell Biol.*, **2008**; 10: 1470-76.
- Smyth L.A. *et al.* – CD73 expression on extracellular vesicles derived from CD4+CD25+FOXP3+Tcells contributes to their regulatory function. *Eur J Immunol.*, **2013**; 43(9): 2430-2440.
- Spada S. *et al.* – Isolation of DNA from exosomes. *Methods Enzymol*, **2020**; 636: 173-183.
- Stahl P.D. & Raposo G. – Extracellular Vesicles: Exosomes and Microvesicles, Integrators of Homeostasis. *Physiology (Bethesda)*, **2019** May 1; 34(3): 169-177.
- Sterling P. & Eyer J. – Allostasis: a new paradigm to explain arousal pathology. In S. Fisher & J. Reason (Eds), *Handbook of life stress, cognition and health* (629-649). John Wiley & Sons, **1988**.
- Sun F. *et al.* – Exosomes in the Oncobiology, Diagnosis, and Therapy of Hepatic Carcinoma: A New Player of an Old Game. *Biomed Res Int.* **2018**; 2018: 2747461.
- Sung S. *et al.* – Liver-Derived Exosomes and Their Implications in Liver Pathobiology. *Int J Mol Sci.*, **2018** Dec; 19(12): 3715.
- T**–Tan C.Y. *et al.* – Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models. *Stem Cell Res Ther.* **2014**; 5(3):76.
- Théry C. *et al.* – Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nature Reviews Immunology*, **2009**; 9(8), 581-593.
- Trams E.G. *et al.* – Exfoliation of membrane ectoenzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* **1981** Jul 6; 645(1): 63-70.
- V**–Vader P. *et al.* – Extracellular vesicles for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* **2016** Nov 15;106(Pt A):148-156.
- Valadi H. *et al.* – Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* **2007**; 9(6): 654-659.
- van Koppen A. *et al.* – Human embryonic mesenchymal stem cell-derived conditioned medium rescues kidney function in rats with established chronic kidney diseases. *PLoS ONE*, **2012**; 7(6): e38746.
- Vella L.J. *et al.* – Enrichment of prion protein in exosomes derived from ovine cerebral spinal fluid. *Vet Immunol Immunopathol.* **2008** Aug 15; 124(3-4): 385-93.
- Vidal M. *et al.* – Asymmetric distribution of phospholipids in the membrane of vesicles released during in vitro maturation of guinea pig reticulocytes: evidence precluding a role for “aminophospholipid translocase”. *J Cell Physiol*, **1989**; 140(3): 455-462.
- W**–Waldenstrom A. *et al.* – Cardiomyocyte microvesicles contain DNA/RNA and convey biological messages to target cells. *PLoS ONE*, **2012**; 7(4): e34653.
- Wang S. *et al.* – Exosomal miRNAs as biomarkers in the diagnosis of liver disease. *Biomark. Med.* **2017** May;11(6):491-501.
- Wu C.X. *et al.* – Proteomic Profiling of Sweat Exosome Suggests its Involvement in Skin Immunity. *J. Invest Dermatol*, **2018** Jan, Issue 1; 89-97.
- X**–Xin H. *et al.* – Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* **2012**; 30(7): 1556-1564.
- Xu R. *et al.* – Effect of green tea consumption on blood lipids: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition Journal*, 19. Article number: 48(**2020**).
- Y**–Yasuda R. *et al.* – Reduced Serum Cholesterol and Triglyceride Levels in a Choline-Deficient L-Amino Acid-Defined High-Fat Diet (CDAHFD)-Induced Mouse Model of Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH). *Biol Pharm Bull.* **2020**; 43(4): 616-618.
- Yu B. *et al.* – Exosomes derived from MSCs ameliorate retinal laser injury partially by inhibition of MCP-1. *Scientific reports*. **2016**; 6: 34562.
- Yu Z. *et al.* – Effect of Green Tea Supplements on Liver Enzyme Elevation: Results from a Randomized Intervention Study in the United States. *Cancer Prev Res (Phila)*, Published online August 1, **2017**. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-17-0160.
- Z**–Zhang H. *et al.* – CD4(+) T cell-released exosomes inhibit CD8(+) cytotoxic T-lymphocyte responses antitumor immunity. *Cell Mol Immunol.*, **2011**; 8(1): 23-30.
- Zhang B. *et al.* – HucMSC-exosome mediated-Wnt4 signaling is required for cutaneous wound healing. *Stem Cells (Dayton, Ohio)* **2015**; 33(7): 2158-2168.
- Zhang Y. *et al.* – Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell Biosci.*, **2019**; 9: 19.
- Zitvogel L. *et al.* – Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med*, **1998**; 4(5):594-600.

N.d.R.

Le voci bibliografiche Ferroni O. *et Al.*, 2019 e Milani L., 2018 sono consultabili in

www.medibio.it → [La Medicina Biologica](#).

La Redazione ringrazia gli editor dei siti web da cui sono tratte le immagini di:

Fig. p. 3 (sn)

https://tce-live2.s3.amazonaws.com/media/home-page-images/Rose_Johnstone-crop2.jpg

Fig. p. 3 (dx)

<https://7marco7isella7.files.wordpress.com/2020/08/figura-18.jpg>

Fig. 2 (inserto fotografico)

<https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQVQNPAMqLvGhXS9teSjlXR3iKwWploZLAOXQ&usqp=CAU>

Fig. 3 (inserto fotografico in basso a sn)

<https://7marco7isella7.files.wordpress.com/2020/08/figura-16.jpg>

Fig. 3 (inserto fotografico in alto a sn)

https://tce-live2.s3.amazonaws.com/media/new_article_images/RoseJohnstone/Exosomes.jpg

Fig. 3 (inserto fotografico in alto a dx)

<https://www.osservatorioterapieavanzate.it/images/news/esosomi.jpg>

Fig. p. 9

https://t4.ftcdn.net/jpg/02/13/36/75/240_F_213367521_DPtwGI0YdRcdaQ-Vuh8Opq4tggCMuQ0GT.jpg

La Figura in pag. 3 e le Figg. 1, 2, 3, 4, 5 sono del primo autore.

Riferimento bibliografico

MILANI L., FERRONI, O. – Exosomi, gli *shuttles* della comunicazione intercellulare.

– Loro ruolo emergente e possibilità diagnostiche e terapeutiche.

La Med. Biol., 2021/2; 3-13.

primo autore

Prof. Leonello Milani

– Direttore Scientifico de La Medicina Biologica e di *Physiological Regulating Medicine*

Via Palmanova, 71

I – 20132 Milano