

# SIMPOSIO

## PREECLAMPSIA:

### ACTUALIZACIÓN

1. Hospital Central "Dr. Urquinaona". Maracaibo, Venezuela.
2. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Guayaquil. Ecuador.
3. Universidad Nacional Estatal de Milagro. Milagro. Ecuador.
  - a Médico especialista, Doctor en Ciencias Médicas
  - b Médico especialista y Docente

#### DECLARACIÓN DE ASPECTOS ÉTICOS

**Reconocimiento de autoría:** Todos los autores declaran que han realizado aportes a la idea, diseño del estudio, recolección de datos, análisis e interpretación de datos, revisión crítica del contenido intelectual y aprobación final del manuscrito que estamos enviando.

**Financiamiento:** Los autores certifican que no han recibido apoyos financieros, equipos, en personal de trabajo o en especie de personas, instituciones públicas y/o privadas para la realización del estudio.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

**Recibido:** 28 marzo 2107

**Aceptado:** 18 abril 2017

Correspondencia:

Dr. Eduardo Reyna-Villasmil.

Hospital Central "Dr. Urquinaona"

Final Av. El Milagro, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

58162605233

sippenbauch@gmail.com

Citar como: Reyna-Villasmil E, Mayner-Tresol G, Herrera-Moya P. Exosomas placentarios y preeclampsia. Rev Peru Ginecol Obstet. 2017;63(2):219-225.

## Exosomas placentarios y preeclampsia

### Placental exosomes and preeclampsia

Eduardo Reyna-Villasmil<sup>1,a</sup>, Gabriel Mayner-Tresol<sup>2,b</sup>, Pedro Herrera-Moya<sup>3,b</sup>

#### RESUMEN

El éxito del embarazo se asocia con una correcta placentación, esencial para el crecimiento y desarrollo del feto. El sincitiotrofoblasto en el embarazo normal produce y secreta una variedad de elementos necesarios para lograr este objetivo, entre ellos, los exosomas placentarios. Estos llevan proteínas citoplasmáticas y ligadas a la membrana y ácidos nucleicos que pueden reprogramar a las células receptoras. Dependiendo de sus interacciones con el sistema inmune pueden dividirse en inmuno-estimulantes o inmuno-supresores. La producción y secreción de exosomas placentarios inmunosupresores provoca un efecto protector en la unidad feto-placentaria. Aquellos aislados del plasma materno son activos *in vitro* y se incorporan a las células diana por endocitosis. Su efecto está regulado por factores que incluyen tensión de oxígeno y se correlaciona con la perfusión placentaria. La preeclampsia es un síndrome caracterizado por una disminución del flujo sanguíneo útero-placentario asociado a una invasión trofoblástica alterada que puede conducir a hipoxia placentaria y disfunción endotelial, liberando materiales nocivos en la circulación, lo que ocasiona daños en la función endotelial. Se han reportado cambios en la liberación, concentración en plasma materno, composición y actividad de exosomas placentarios en asociación con la preeclampsia. En esta revisión se analiza el origen de los exosomas placentarios y cómo podrían estar involucrados en la fisiopatología de la preeclampsia.

**Palabras clave.** Exosomas; Preeclampsia; Placenta; Microvesículas; Disfunción endotelial.

#### ABSTRACT

The success of pregnancy is associated with a correct placentation that is essential for the growth and development of the fetus. In a normal pregnancy, the syncytiotrophoblast produces and secretes a variety of elements necessary to achieve this goal, among them placental exosomes. These carry cytoplasmic and membrane-bound proteins and nucleic acids that can reprogram the receptor cells. Depending on their interactions with the immune system, they can be divided into immunostimulants or immunosuppressants. The production and secretion of immunosuppressive placental exosomes causes a protective effect on the fetal-placental unit. Those isolated from maternal plasma are active *in vitro* and are incorporated into the target cells by endocytosis. Their effect, regulated by factors that include oxygen tension, correlates with placental perfusion. Preeclampsia is a syndrome characterized by a decrease in uteroplacental blood flow associated with an altered trophoblastic invasion that can lead to placental hypoxia and endothelial dysfunction, releasing harmful materials into the circulation and causing damage to endothelial function. Reports have associated changes in the release, concentration in maternal plasma, composition, and activity of placental exosomes with preeclampsia. In this review, we analyze the origin of placental exosomes and how they might be involved in the pathophysiology of preeclampsia.

**Keywords:** Exosomes; Preeclampsia; Placenta; Microvesicles; Endothelial dysfunction.



## INTRODUCCIÓN

La preeclampsia (PE) es una alteración de la placentación que produce modificaciones en el flujo sanguíneo placentario, generando condiciones adversas para el desarrollo del feto<sup>(1,2)</sup>. Estas alteraciones conducen a producción y liberación de fragmentos celulares, micropartículas y vesículas extracelulares (VE)<sup>(3-6)</sup>. Varios factores están involucrados en la señalización que produce disfunción endotelial, entre ellos los exosomas. Estos afectan las funciones endoteliales y la interacción entre células endoteliales, musculares lisas y pericitos. Se ha demostrado que existe correlación entre el número de VE circulantes y la disfunción endotelial en enfermedades cardiovasculares<sup>(7)</sup>. En este artículo se examina la relación entre los exosomas placentarios (EP) y la PE.

## METODOLOGÍA DE LA BÚSQUEDA DE LA INFORMACIÓN

Entre marzo y abril de 2017 se realizó una revisión sistemática en la que se examinaron bases de datos electrónicas (PubMed, EMBASE, Web

of Science, Scopus, TRIP database, SciELO y LILACS) para investigar estudios elegibles para la revisión en los últimos 10 años (2007 a 2017). Con términos libres y términos meSH, se inició la búsqueda específica. Los términos de búsqueda fueron: exosomas, preeclampsia, vesículas extracelulares, microARN, placenta e inmunología. Se incluyeron todos los artículos realizados en cultivos celulares, modelos animales experimentales y humanos. Los trabajos estaban escritos en inglés y español.

## VESÍCULAS EXTRACELULARES Y EXOSOMAS

Las VE son estructuras de bicapa lipídica que se liberan hacia el medio extracelular<sup>(8)</sup>. La producción y liberación es una forma de comunicación intercelular sin necesidad de contacto directo intercelular. Existen varios tipos que se pueden clasificar por sus características (tabla 1)<sup>(9,10)</sup>.

Una de estas vesículas extracelulares son los exosomas. Son los menores y tienen una forma definida de generación y secreción. La definición es que son VE con las siguientes caracterís-

TABLA 1. ALGUNAS DE LAS PRINCIPALES DIFERENCIAS DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES.

Características	Exosomas	Micropartículas Microvesículas	Microvellosidades libres	Cuerpos apoptóticos
Densidad de flotación	1,13 a 1,19 g / mL	No determinado	No determinado	1,16 g / mL
Sedimentación (g)	100 000 a 110 000	10 000 a 100 000	10 000	1 500 a 100 000
Forma	Transformación en forma de copa, translúcida a la microscopia electrónica	Diversas formas, electrón denso y / o translúcido	Diversas formas, redondas, alargadas y cilíndricas	Irregular y heterogénea
Composición de la membrana lipídica	Balsas lipídicas ricas en colesterol, esfingomielina y ceramida, fosfatidilserina expuesta	Fosfatidilserina expuesta, algunos enriquecidos en colesterol diacilglicerol, algunos no determinados	No determinado	No determinado
Marcadores de identificación específicos	Tetraspaninas (CD63, CD9, CD83), miembros del complejo ESCRT (Tsg101, Alix)	Integrinas, selectinas, CD40 y otras dependiendo del tipo de célula	Varios dependiendo del tipo de célula	Histonas, ADN
Almacenamiento intracelular	Sí	No	No	No
Origen en la celda	Compartimiento endosómico / Cuerpos vesiculares múltiples	Membrana plasmática	Membrana plasmática	Fragmentos de células muertas, no indeterminado
Mecanismo de clasificación	Dependiente de ceramida y ubiquitina	Desconocido	Desconocido	Fragmentos de células muertas, no determinado
Mecanismos de liberación / secreción	Exocitosis por fusión de los cuerpos vesiculares múltiples con la membrana plasmática	Separación de la membrana plasmática	Separación de la membrana plasmática	Separación de la membrana plasmática y fragmentación celular



ticas<sup>(9-14)</sup>: 1) tamaño 30-100 nm, 2) densidad de flotación de 1,13 a 1,19 g/mL cuando se aíslan por ultracentrifugación; 3) presencia de tetraspaninas en su membrana rica en lípidos; 4) forma de copa observada por microscopía electrónica (figura 1); y, 5) origen endosómico.

## BIOGÉNESIS DE LOS EXOSOMAS

La formación de exosomas tiene características claves, que la diferencian del resto de las VE, ya que se forman por desprendimiento de la membrana. Las vesículas intraluminales (VI) están formadas por una membrana que forman los cuerpos vesiculares múltiples (CVM) (figura 2)<sup>(10)</sup>. Las proteínas se almacenan en los CVM de dos maneras: transporte directo desde el complejo de Golgi o por endocitosis de proteínas. Estas conservan la orientación, preservan su estructura tridimensional y mantienen su actividad biológica. La composición proteica es similar a la composición de su célula de origen<sup>(10,11)</sup>. La forma en la cual se realiza la composición de las VI y cuáles proteínas / ácidos nucleicos aún no es comprendida. El contenido y mecanismo de selección específica difiere de acuerdo a la célula originaria<sup>(14,15)</sup>.

Una pieza necesaria para la selección de proteínas en los CVM es el sistema de clasificación endosómico necesario para el transporte. Este sistema de proteínas transmembrana permite

FIGURA 1. EXOSOMAS AISLADOS DE SOBRENADANTES DE CULTIVOS DE CÉLULAS PLACENTARIOS EN LA QUE SE OBSERVA SU TAMAÑO Y FORMA TÍPICA DE COPA.

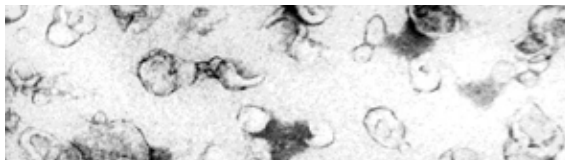
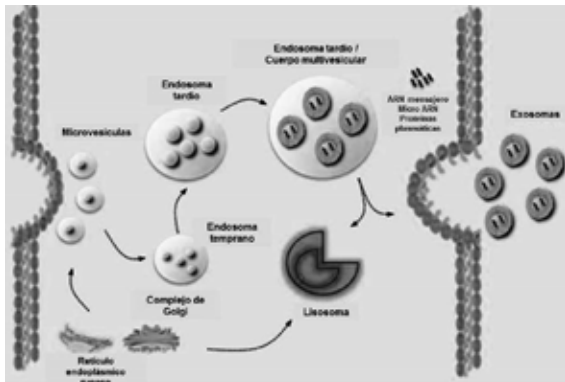


FIGURA 2. DESCRIPCIÓN ESQUEMÁTICA DE LA BIOGÉNESIS Y SECRECIÓN DE LOS EXOSOMAS.



la formación de las VI<sup>(16-19)</sup>. Otro mecanismo de clasificación consiste en un complejo rico en lípidos, ceramida y esfingolípidos<sup>(20,21)</sup>. La membrana de los exosomas posee tetraspaninas, las cuales estabilizan la estructura y participan en la orientación de las proteínas unidas al glicosilfosfatidilinositol<sup>(22,23)</sup>. Estos complejos forman dominios enriquecidos que facilitan la fusión / fisión<sup>(24,25)</sup>.

Los CVM pueden ser transportados para degradación a los lisosomas (CVM degradantes) o hacia la membrana celular donde se expulsan las VI hacia el espacio extracelular como exosomas (CVM exocíticos). Los mecanismos que deciden este evento son desconocidos, pero la actividad de la GTPasas Rab parece ser determinante. Se ha sugerido que Rab7 interviene en el transporte hacia los lisosomas, mientras que Rab11, Rab35, Rab27a y Rab27b permiten el acoplamiento de CVM a la membrana celular<sup>(26-29)</sup>.

## COMPOSICIÓN DE LOS EXOSOMAS

Los exosomas poseen una bicapa lipídica rica en colesterol, esfingolípidos y tetraspaninas<sup>(30)</sup>. Comparten proteínas comunes, a pesar del diferente origen y muestran características específicas de la función de la célula de origen. Las proteínas involucradas en la generación, tráfico y estructura incluyen elementos del sistema de clasificación endosómico necesario para el transporte (Alix y Tsg101), proteínas Rab y tetraspaninas. No existen marcadores específicos para su asignación por origen, por lo que las tetraspaninas se utilizan como marcadores<sup>(10,30,31)</sup>. Los exosomas también contienen ácidos ribonucleicos, ARN mensajero, microARN, y ADN mitocondrial con capacidad de reprogramar otras células<sup>(14,32-34)</sup>.

## PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS EXOSOMAS

El proceso de secretar proteínas a través de los exosomas tiene ventajas<sup>(31)</sup>: 1) conserva la estructura tridimensional y actividad biológica de las proteínas; 2) suministra de señales independiente al contacto intercelular; 3) mayor concentración y disponibilidad; 4) independiente a la síntesis de proteínas de *novo*; y, 5) produce efectos biológicos a distancia.

Los exosomas cargados con sustancias antigénicas activan el sistema inmune, mientras que aquellos derivados de neoplasias malignas y cé-

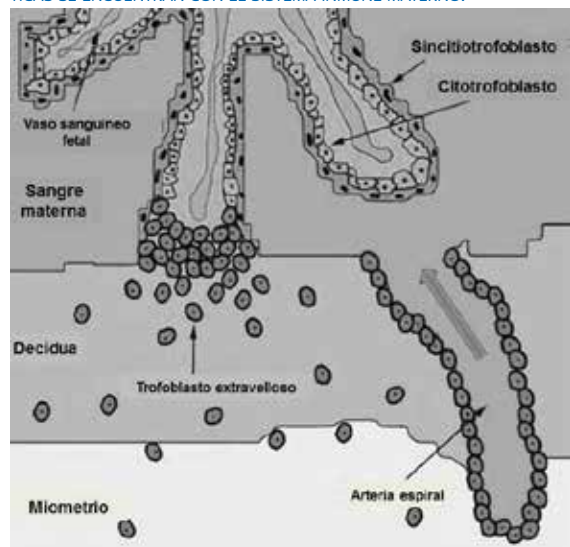
lulas epiteliales, incluidos los placentarios, son 'tolerógenos'<sup>(12,31,35,36)</sup>. Aquellos de origen tumoral regulan negativamente los mecanismos inmunitarios o alteran la función supresora de las células T reguladoras<sup>(36-38)</sup>. Los EP se asemejan a los tumorales modificando la respuesta inmune utilizando mecanismos similares<sup>(39-41)</sup>. Se ha demostrado que el ARN mensajero contenido dentro puede transferir información genética<sup>(14)</sup>. Se ha descrito que el microARN transferido a células T inhibe varios genes en células dendríticas<sup>(33)</sup>.

### EMBARAZO COMO DESAFÍO PARA EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

La placenta humana contiene genes maternos y paternos, pero estos últimos se expresan preferentemente, haciéndola vulnerable a ser reconocida como extraña y activar el sistema inmune<sup>(42,43)</sup>. Existen dos interfaces feto-maternas inmunológicamente importantes que ayudan a evitar la respuesta inmunológica (figura 3). El sincitiotrofoblasto está en contacto directo con la sangre materna y las células inmunitarias circulantes, mientras que el trofoblasto se encuentra con las células inmunes maternas locales<sup>(40)</sup>.

La placenta posee mecanismos para evitar la respuesta inmunológica, ya que es un órgano inmunomodulador. Además, el útero es un sitio inmunitario 'privilegiado'<sup>(43)</sup>. El término 'privilegio inmune' se refiere a las condiciones de regiones donde disminuye la inflamación y el rechazo del aloinjerto.

FIGURA 3. INTERFASE MATERNO-FETAL DONDE LAS CÉLULAS TROFBLÁSTICAS SE ENCUENTRAN CON EL SISTEMA INMUNE MATERNO.



Esto no significa un bloqueo total de la respuesta, sino una adaptación estrictamente regulada<sup>(44)</sup>. Tres regiones que poseen privilegios inmunológicos son cerebro, ojo y útero. Las células cerebrales y oculares tienen capacidad limitada de regeneración y necesitan estar protegidas. En el útero, el sistema inmunológico desarrolla tolerancia al aloinjerto para asegurar la supervivencia<sup>(42)</sup>.

### SINCITIOTROFOBLASTO HUMANO COMO PRODUCTOR DE VESÍCULAS EXTRACELULARES

La placenta genera hormonas, proteínas y elementos extracelulares, e incluso microvellosidades completas, durante el embarazo. Se ha demostrado que las micropartículas placentarias están elevadas en preeclámpticas en comparación con el embarazo normal<sup>(45,46)</sup>. El sincitiotrofoblasto produce proteínas importantes y sus células son ricas en orgánulos<sup>(11)</sup>. Además de la síntesis de proteínas *de novo*, existe evidencia de recirculación de proteínas de la membrana celular<sup>(47)</sup>. El reciclaje y síntesis de nuevas proteínas en los CVM indican que el sincitiotrofoblasto es productor de exosomas.

### LIBERACIÓN DE EXOSOMAS PLACENTARIOS

El número de exosomas aumenta en la circulación materna durante el embarazo. La concentración en la sangre de las embarazadas es mayor que en mujeres no embarazadas<sup>(48,49)</sup>. Aquellos aislados de la circulación materna durante el embarazo normal muestran cambios funcionales con la progresión de la edad gestacional. Se ha demostrado que los EP en la circulación materna producen activación de las células T circulantes<sup>(50,51)</sup>. Esto representa un papel esencial para evitar una respuesta inmune excesiva y en el desarrollo de tolerancia inmune en el embarazo humano normal<sup>(52-55)</sup>.

Existe escasa información sobre los efectos de los EP en el feto y la madre. Los datos disponibles demuestran su papel en la interfase materno-fetal. Se ha descrito que inducen la secreción de citoquinas pro-inflamatorias en macrófagos humanos<sup>(56)</sup>.

### EXOSOMAS PLACENTARIOS EN LA PREECLAMPSIA

Se ha demostrado que los EP pueden correlacionarse con las complicaciones obstétricas. Algunas patologías del embarazo se asocian con



disfunción placentaria y muestran perfiles de liberación de EP diferentes y específicos<sup>(49,57)</sup>. En la PE, el deterioro de la función placentaria provoca marcada liberación de exosomas, que pueden estar involucrados en la patogénesis del síndrome. Los EP promueven la producción de citocinas proinflamatorias y la disfunción endotelial<sup>(58,59)</sup>.

Los EP se han identificado en el plasma materno en el primer trimestre del embarazo en preeclámpticas<sup>(59)</sup>. La actividad en diversas funciones de la interacción con las células diana en condiciones normales o patológicas no se ha establecido completamente<sup>(8)</sup>. Sin embargo, se han utilizado diferentes modelos para abordar esta cuestión. El uso de hipoxia modifica el número de VE liberadas de varios tipos celulares<sup>(60)</sup>. Esto puede causar disfunción directa de las células endoteliales y contribuir a la placentación anormal.

Se conoce que las proteínas y lípidos de las EP se alteran en la PE<sup>(61)</sup>. Entre las proteínas, 25 de ellas eran únicas para las preeclámpticas, incluyendo integrinas, anexinas e histonas<sup>(62)</sup>. También se demostró que la sincitina-2 disminuyó en los EP de las preeclámpticas en comparación con las embarazadas normales<sup>(63)</sup>. Además, se han identificado 200 alteraciones lipídicas en las EP obtenidas de preeclámpticas<sup>(64-69)</sup>.

Con esta evidencia, se plantea la posibilidad que el efecto de los exosomas está determinado por origen celular y/o contenido. Se ha propuesto que dirigen la función placentaria temprana normal y son importantes en los trastornos placentarios y pueden ser utilizados como marcadores de PE<sup>(70)</sup>.

## CONCLUSIONES

En resumen, los exosomas parecen desempeñar un papel importante en la comunicación intercelular y la reprogramación de células blanco. Una característica clave importante es su capacidad para modular el sistema inmune en la dirección de activación o inhibición. Los EP y su contribución como inmunomoduladores durante el embarazo temprano humano es el tema principal de investigación en la actualidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burton GJ, Fowden AL. The placenta: a multifaceted, transient organ. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2015;370(1663):20140066. doi: 10.1098/rstb.2014.0066.
- Gyselaers W, Peeters L. Physiological implications of arteriovenous anastomoses and venous hemodynamic dysfunction in early gestational uterine circulation: a review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26(9):841-6. doi: 10.3109/14767058.2013.766705.
- Holme AM, Roland MC, Henriksen T, Michelsen TM. In vivo uteroplacental release of placental growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase-1 in normal and preeclamptic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(6):782.e1-782.e9. doi: 10.1016/j.ajog.2016.07.056.
- Sahay AS, Sundrani DP, Joshi SR. Regional changes of placental vascularization in preeclampsia: a review. *IUBMB Life.* 2015;67(8):619-25. doi: 10.1002/iub.1407.
- Wu F, Tian FJ, Lin Y, Xu WM. Oxidative stress: placenta function and dysfunction. *Am J Reprod Immunol.* 2016;76(4):258-71. doi: 10.1111/aji.12454.
- Cheng SB, Sharma S. Preeclampsia and health risks later in life: an immunological link. *Semin Immunopathol.* 2016;38(6):699-708.
- Sutaria DS, Badawi M, Phelps MA, Schmittgen TD. Achieving the promise of therapeutic extracellular vesicles: the devil is in details of therapeutic loading. *Pharm Res.* 2017;34(5):1053-1066. doi: 10.1007/s11095-017-2123-5.
- Aharon A. The role of extracellular vesicles in placental vascular complications. *Thromb Res.* 2015;135 Suppl 1:S23-5. doi: 10.1016/S0049-3848(15)50435-0.
- Rashed M, Bayraktar E, K Helal G, Abd-Ellah MF, Amero P, Chavez-Reyes A, et al. Exosomes: from garbage bins to promising therapeutic targets. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3). pii: E538. doi: 10.3390/ijms18030538.
- Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(8):569-79. doi: 10.1038/nri855.
- Scherjon S, Lashley L, van der Hoorn ML, Claas F. Fetus specific T cell modulation during fertilization, implantation and pregnancy. *Placenta.* 2011;32 Suppl 4:S291-7. doi: 10.1016/j.placenta.2011.03.014.
- Pitt JM, Kroemer G, Zitvogel L. Extracellular vesicles: masters of intercellular communication and potential clinical interventions. *J Clin Invest.* 2016;126(4):1139-43. doi: 10.1172/JCI87316.
- Khohia S, Ranghino A, Garnieri P, Lopatina T, Deregibus MC, Rispoli P, et al. Extracellular vesicles as new players in angiogenesis. *Vascul Pharmacol.* 2016;86:64-70. doi: 10.1016/j.vph.2016.03.005. E
- Ekström K, Valadi H, Sjöstrand M, Malmhäll C, Bossios A, Eldh M, et al. Characterization of mRNA and microRNA in human mast cell-derived exosomes and their transfer to other mast cells and blood CD34 progenitor cells. *J Extracell Vesicles.* 2012;1. doi: 10.3402/jev.v1i0.18389.
- Jiang XC, Gao JQ. Exosomes as novel bio-carriers for gene and drug delivery. *Int J Pharm.* 2017;521(1-2):167-175. doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.02.038.
- Wollert T. Reconstituting multivesicular body biogenesis with purified components. *Methods Cell Biol.* 2012;108:73-92. doi: 10.1016/B978-0-12-386487-1.00004-3.



17. Falguières T, Luyet PP, Gruenberg J. Molecular assemblies and membrane domains in multivesicular endosome dynamics. *Exp Cell Res*. 2009;315(9):1567-73. doi: 10.1016/j.yexcr.2008.12.006.
18. Babst M. A protein's final ESCRT. *Traffic*. 2005;6(1):2-9.
19. Hanson PI, Shim S, Merrill SA. Cell biology of the ESCRT machinery. *Curr Opin Cell Biol*. 2009;21(4):568-74. doi: 10.1016/j.ceb.2009.06.002.
20. Trajkovic K, Hsu C, Chiantia S, Rajendran L, Wenzel D, Wieland F, et al. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science*. 2008;319(5867):1244-7. doi: 10.1126/science.1153124.
21. de Gassart A, Geminard C, Fevrier B, Raposo G, Vidal M. Lipid raft-associated protein sorting in exosomes. *Blood*. 2003;102(13):4336-44.
22. Perez-Hernandez D, Gutiérrez-Vázquez C, Jorge I, López-Martín S, Ursa A, Sánchez-Madrid F, et al. The intracellular interactome of tetraspanin-enriched microdomains reveals their function as sorting machineries toward exosomes. *J Biol Chem*. 2013;288(17):11649-61. doi: 10.1074/jbc.M112.445304.
23. Charrin S, Jouannet S, Boucheix C, Rubinstein E. Tetraspanins at a glance. *J Cell Sci*. 2014;127(Pt 17):3641-8. doi: 10.1242/jcs.154906.
24. Earnest JT, Hantak MP, Park JE, Gallagher T. Coronavirus and influenza virus proteolytic priming takes place in tetraspanin-enriched membrane microdomains. *J Virol*. 2015;89(11):6093-104. doi: 10.1128/JVI.00543-15.
25. Sala-Valdés M, Ailane N, Greco C, Rubinstein E, Boucheix C. Targeting tetraspanins in cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2012;16(10):985-97. doi: 10.1517/14728222.2012.712688.
26. Rush JS, Ceresa BP. RAB7 and TSG101 are required for the constitutive recycling of unliganded EGFRs via distinct mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*. 2013;381(1-2):188-97. doi: 10.1016/j.mce.2013.07.029.
27. Savina A, Fader CM, Damiani MT, Colombo MI. Rab11 promotes docking and fusion of multivesicular bodies in a calcium-dependent manner. *Traffic*. 2005;6(2):131-43.
28. Hsu C, Morohashi Y, Yoshimura S, Manrique-Hoyos N, Jung S, Lauterbach MA, et al. Regulation of exosome secretion by Rab35 and its GTPase-activating proteins TBC1D10A-C. *J Cell Biol*. 2010;189(2):223-32. doi: 10.1083/jcb.200911018.
29. Li W, Hu Y, Jiang T, Han Y, Han G, Chen J, et al. Rab27A regulates exosome secretion from lung adenocarcinoma cells A549: involvement of EPI64. *APMIS*. 2014;122(11):1080-7. doi: 10.1111/apm.12261.
30. Simpson RJ, Jensen SS, Lim JW. Proteomic profiling of exosomes: current perspectives. *Proteomics*. 2008;8(19):4083-99. doi: 10.1002/pmic.200800109.
31. Record M. Intercellular communication by exosomes in placenta: a possible role in cell fusion? *Placenta*. 2014;35(5):297-302. doi: 10.1016/j.placenta.2014.02.009.
32. Guescini M, Genedani S, Stocchi V, Agnati LF. Astrocytes and glioblastoma cells release exosomes carrying mtDNA. *J Neural Transm (Vienna)*. 2010;117(1):1-4. doi: 10.1007/s00702-009-0288-8.
33. Villarroya-Beltri C, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Madrid F, Mittelbrunn M. Analysis of microRNA and protein transfer by exosomes during an immune synapse. *Methods Mol Biol*. 2013;1024:41-51. doi: 10.1007/978-1-62703-453-1\_4.
34. Verweij FJ, van Eijndhoven MA, Middeldorp J, Pegtel DM. Analysis of viral microRNA exchange via exosomes in vitro and in vivo. *Methods Mol Biol*. 2013;1024:53-68. doi: 10.1007/978-1-62703-453-1\_5.
35. Ostman S, Taube M, Telemo E. Tolerosome-induced oral tolerance is MHC dependent. *Immunology*. 2005;116(4):464-76.
36. Greening DW, Gopal SK, Xu R, Simpson RJ, Chen W. Exosomes and their roles in immune regulation and cancer. *Semin Cell Dev Biol*. 2015;40:72-81. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.02.009.
37. Clayton A, Mitchell JP, Court J, Linnane S, Mason MD, Tabi Z. Human tumor-derived exosomes down-modulate NKG2D expression. *J Immunol*. 2008;180(11):7249-58.
38. Mrizak D, Martin N, Barjon C, Jimenez-Pailhes AS, Mustapha R, Niki T, et al. Effect of nasopharyngeal carcinoma-derived exosomes on human regulatory T cells. *J Natl Cancer Inst*. 2014;107(1):363. doi: 10.1093/jnci/dju363.
39. Hedlund M, Stenqvist AC, Nagaeva O, Kjellberg L, Wulff M, Baranov V, et al. Human placenta expresses and secretes NKG2D ligands via exosomes that down-modulate the cognate receptor expression: evidence for immunosuppressive function. *J Immunol*. 2009;183(1):340-51. doi: 10.4049/jimmunol.0803477.
40. Ernerudh J, Berg G, Mjösberg J. Regulatory T helper cells in pregnancy and their roles in systemic versus local immune tolerance. *Am J Reprod Immunol*. 2011;66 Suppl 1:31-43. doi: 10.1111/j.1600-0897.2011.01049.x.
41. Stenqvist AC, Nagaeva O, Baranov V, Mincheva-Nilsson L. Exosomes secreted by human placenta carry functional Fas ligand and TRAIL molecules and convey apoptosis in activated immune cells, suggesting exosome-mediated immune privilege of the fetus. *J Immunol*. 2013;191(11):5515-23. doi: 10.4049/jimmunol.1301885.
42. Renfree MB, Ager EI, Shaw G, Pask AJ. Genomic imprinting in marsupial placentation. *Reproduction*. 2008;136(5):523-31. doi: 10.1530/REP-08-0264.
43. Alijotas-Reig J, Llorba E, Gris JM. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta*. 2014;35(4):241-8. doi: 10.1016/j.placenta.2014.02.004.
44. Niederkorn JY. See no evil, hear no evil, do no evil: the lessons of immune privilege. *Nat Immunol*. 2006;7(4):354-9.
45. Halim AT, Ariffin NA, Azlan M. Review: the multiple roles of monocytic microparticles. *Inflammation*. 2016;39(4):1277-84. doi: 10.1007/s10753-016-0381-8.
46. Reddy A, Zhong XY, Rusterholz C, Hahn S, Holzgreve W, Redman CW, et al. The effect of labour and placental separation on the shedding of syncytiotrophoblast microparticles, cell-free DNA and mRNA in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*. 2008;29(11):942-9. doi: 10.1016/j.placenta.2008.08.018.



47. Riquelme G. Review: Placental syncytiotrophoblast membranes--domains, subdomains and microdomains. *Placenta*. 2011;32 Suppl 2:S196-202. doi: 10.1016/j.placenta.2011.01.002.
48. Cetković A, Miljic D, Ljubić A, Patterson M, Ghatei M, Stamenković J, et al. Plasma kisspeptin levels in pregnancies with diabetes and hypertensive disease as a potential marker of placental dysfunction and adverse perinatal outcome. *Endocr Res*. 2012;37(2):78-88. doi: 10.3109/07435800.2011.639319.
49. Sabapatha A, Gercel-Taylor C, Taylor DD. Specific isolation of placenta-derived exosomes from the circulation of pregnant women and their immunoregulatory consequences. *Am J Reprod Immunol*. 2006;56(5-6):345-55.
50. Taylor DD, Akyol S, Gercel-Taylor C. Pregnancy-associated exosomes and their modulation of T cell signaling. *J Immunol*. 2006;176(3):1534-42.
51. Martins VR, Dias MS, Hainaut P. Tumor-cell-derived microvesicles as carriers of molecular information in cancer. *Curr Opin Oncol*. 2013;25(1):66-75. doi: 10.1097/CCO.0b013e32835b7c81.
52. Kotlabova K, Doucha J, Hromadnikova I. Placental-specific microRNA in maternal circulation--identification of appropriate pregnancy-associated microRNAs with diagnostic potential. *J Reprod Immunol*. 2011;89(2):185-91. doi: 10.1016/j.jri.2011.02.006.
53. Miura K, Miura S, Yamasaki K, Higashijima A, Kinoshita A, Yoshiura K, et al. Identification of pregnancy-associated microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem*. 2010;56(11):1767-71. doi: 10.1373/clinchem.2010.147660.
54. Keerthikumar S, Chisanga D, Ariyaratne D, Al Saffar H, Anand S, Zhao K, et al. ExoCarta: a web-based compendium of exosomal cargo. *J Mol Biol*. 2016;428(4):688-92. doi: 10.1016/j.jmb.2015.09.019.
55. Luo SS, Ishibashi O, Ishikawa G, Ishikawa T, Katayama A, Mishima T, et al. Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes. *Biol Reprod*. 2009;81(4):717-29. doi: 10.1095/biolreprod.108.075481.
56. Atay S, Gercel-Taylor C, Suttles J, Mor G, Taylor DD. Trophoblast-derived exosomes mediate monocyte recruitment and differentiation. *Am J Reprod Immunol*. 2011;65(1):65-77. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00880.x.
57. Sarker S, Scholz-Romero K, Perez A, Illanes SE, Mitchell MD, Rice GE, et al. Placenta-derived exosomes continuously increase in maternal circulation over the first trimester of pregnancy. *J Transl Med*. 2014;12:204. doi: 10.1186/1479-5876-12-204.
58. Messerli M, May K, Hansson SR, Schneider H, Holzgreve W, Hahn S, et al. Feto-maternal interactions in pregnancies: placental microparticles activate peripheral blood monocytes. *Placenta*. 2010;31(2):106-12. doi: 10.1016/j.placenta.2009.11.011.
59. Van Wijk MJ, Boer K, Nisell H, Smarason AK, Van Bavel E, Kublicki KR. Endothelial function in myometrial resistance arteries of normal pregnant women perfused with syncytiotrophoblast microvillous membranes. *BJOG*. 2001;108(9):967-72.
60. Salomon C, Kobayashi M, Ashman K, Sobrevia L, Mitchell MD, Rice GE. Hypoxia-induced changes in the bioactivity of cytotrophoblast-derived exosomes. *PLoS One*. 2013;8(11):e79636. doi: 10.1371/journal.pone.0079636.
61. Reyna-Villasmil E, Santos-Bolívar J, Suárez-Torres I. Micropartículas en el embarazo y la preeclampsia. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*. 2013;73(4):261-267.
62. Baig S, Kothandaraman N, Manikandan J, Rong L, Ee KH, Hill J, et al. Proteomic analysis of human placental syncytiotrophoblast microvesicles in preeclampsia. *Clin Proteomics*. 2014;11(1):40. doi: 10.1186/1559-0275-11-40.
63. Vargas A, Toufaily C, LeBellego F, Rassart É, Lafond J, Barbeau B. Reduced expression of both syncytin 1 and syncytin 2 correlates with severity of preeclampsia. *Reprod Sci*. 2011;18(11):1085-91. doi: 10.1177/1933719111404608.
64. Vargas A, Zhou S, Éthier-Chiasson M, Flipo D, Lafond J, Gilbert C, et al. Syncytin proteins incorporated in placenta exosomes are important for cell uptake and show variation in abundance in serum exosomes from patients with preeclampsia. *FASEB J*. 2014;28(8):3703-19. doi: 10.1096/fj.13-239053.
65. Baig S, Lim JY, Fernandis AZ, Wenk MR, Kale A, Su LL, et al. Lipidomic analysis of human placental syncytiotrophoblast microvesicles in adverse pregnancy outcomes. *Placenta*. 2013;34(5):436-42. doi: 10.1016/j.placenta.2013.02.004.
66. Ouyang Y, Mouillet JF, Coyne CB, Sadovsky Y. Review: placenta-specific microRNAs in exosomes - good things come in nano-packages. *Placenta*. 2014;35 Suppl:S69-73. doi: 10.1016/j.placenta.2013.11.002.
67. Auvinen E. Diagnostic and prognostic value of MicroRNA in viral diseases. *Mol Diagn Ther*. 2017;21(1):45-57. doi: 10.1007/s40291-016-0236-x.
68. Mouillet JF, Ouyang Y, Bayer A, Coyne CB, Sadovsky Y. The role of trophoblastic microRNAs in placental viral infection. *Int J Dev Biol*. 2014;58(2-4):281-9. doi: 10.1387/ijdb.130349ys.
69. Pant S, Hilton H, Burczynski ME. The multifaceted exosome: biogenesis, role in normal and aberrant cellular function, and frontiers for pharmacological and biomarker opportunities. *Biochem Pharmacol*. 2012;83(11):1484-94. doi: 10.1016/j.bcp.2011.12.037.
70. Salomon C, Yee S, Sarker S, Scholz-Romero K, Illanes S, Mitchell M, et al. Plasma from first trimester pre-symptomatic women who subsequently developed preeclampsia reduces extravillous trophoblast cells migration, a possible role of placental-derived particles. *Placenta* 2014;35:A83. doi: 10.1016/j.placenta.2014.06.268.