

Efecto Terapéutico de los Exosomas en el ACV Isquémico en Animales de Experimentación

Therapeutic Effect of Exosomes on Ischemic Stroke in Experimental Animals

Carvalho, P.^{*,**} & Astudillo, P.^{***,****,*****}

CARVALLO, P. & ASTUDILLO, P. Efecto terapéutico de los exosomas en el ACV isquémico en animales de experimentación. *Int. J. Morphol.*, 34(4):1300-1307, 2016.

RESUMEN: La posibilidad de que los exosomas funcionen como una nueva forma de comunicación intercelular para establecer y mantener circuitos cerebrales está comenzando a ser explorada. Los exosomas son liberados desde células e interactúan con otras células receptoras para mediar cambios fisiológicos. Todas las células cerebrales liberan exosomas incluyendo las células madre neuronales, las neuronas, astrocitos, microglia, oligodendrocitos y las células endoteliales. El objetivo de esta revisión es reunir evidencia actualizada sobre las funciones de protección, antiinflamación y regeneración de los exosomas en el ataque cerebrovascular (ACV) isquémico en ratas. Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura sensible y específica en base de datos Medline, EMBASE, Web of Science, Scopus, TRIP database, SciELO y LILACS con términos libres y meSH. Los exosomas generados de CSMs pueden ser utilizados para el tratamiento del ACV. Los exosomas de oligodendrocitos también ejercen una variedad de efectos sobre las neuronas receptoras e influyen un amplio espectro de la fisiología neuronal. En conjunto estos resultados sugieren que los exosomas de las CSMs mediados con miR-133b se transfieren a astrocitos y neuronas, las que regulan la expresión génica, beneficiando tanto la remodelación de neuritas, como la recuperación funcional después de un ACV. Sería importante en el futuro desarrollar métodos para cuantificar y caracterizar los exosomas en el cerebro con isquemia. Esto permitiría correlacionar entre la cantidad de exosomas en el cerebro y la recuperación funcional entregando información sobre sus mecanismos de acción.

PALABRAS CLAVE: Exosomas; Neuroprotección; Isquemia cerebral; Ataque cerebrovascular; Ratas.

INTRODUCCIÓN

Hasta 1990 los exosomas fueron considerados como el mejor bioproducto de la homeostasis celular. El término exosoma fue inicialmente usado para vesículas de 40 a 1000 nm que son liberadas por una gran variedad de células. Luego, esta nomenclatura fue adoptada para vesículas liberadas durante la diferenciación de reticulocitos como consecuencia de la fusión de un endosoma multivesicular con la membrana plasmática.

Actualmente los exosomas se definen como vesículas liberadas al espacio extracelular a partir del endosoma (Raposo & Stoorvegel, 2013) y como microvesículas con rango de 40-100 nm (Qin & Xu, 2014). Los exosomas poseen membrana y otros componentes citosólicos que incluyen proteínas, lípidos, ARN, una composición que difiere dependiendo de su sitio de biogénesis. Muchos mecanismos están involucrados en la formación de vesículas

extracelulares, lo cual se refleja en su heterogeneidad, tamaño y composición (Lo Cicero *et al.*, 2015).

La posibilidad de que los exosomas, funcionen como una nueva forma de comunicación intercelular para establecer y mantener circuitos cerebrales está comenzando a ser explorada. Los exosomas son liberados desde células e interactúan con otras células receptoras para mediar cambios fisiológicos (Sharma *et al.*, 2013). Todas las células cerebrales liberan exosomas (Emanueli *et al.*, 2015) incluyendo las células madres neuronales, neuronas, astrocitos, microglia, oligodendrocitos y células endoteliales. Resulta de interés investigar sobre este tema por la prevalencia tanto a nivel mundial como a nivel nacional de enfermedades cerebrovasculares y a que esta área en relación a exosomas y sus aplicaciones ha sido poco investigada en seres humanos.

* Doctorado en Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

** Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Católica de Temuco, Chile

*** Departamento de Cirugía, Traumatología y Anestesiología, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

**** Doctorado en Ciencias Médicas, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

***** Doctorado en Psicología, Salud y Calidad de Vida, Universidad de Girona, Girona, España.

Para comprender el potencial terapéutico de los exosomas en enfermedades neurológicas cerebrales es necesario determinar como ellos atraviesan la barrera hematoencefálica y mejorar los métodos de aislación, carga, caracterización y blanco de diferentes tipos celulares. Los exosomas son producidos por diferentes tipos de células, sin embargo se debe investigar la mejor fuente de células productoras. Las células dendríticas y células mesenquimales son usadas actualmente, pero la inducción de células madres pluripotenciales son una gran promesa ya que tienen una larga vida, pueden ser almacenadas y derivadas desde los fibroblastos de los pacientes, con un bajo riesgo de reacción inmune (Wood *et al.*, 2011).

Los exosomas son liberados por la mayoría de las células bajo condiciones fisiológicas, por otro lado la activación celular o las transformaciones neoplásicas aumentan su liberación (Xin *et al.*, 2013b). En el sistema nervioso, los exosomas participan en la comunicación entre ARNs. Estos exosomas pueden actuar localmente dentro de la terminal presináptica o son transportados hacia el soma de la neurona presináptica (Xin *et al.*, 2013a). Actualmente se piensa que las CSMs (células del estroma mesenquimal) promueven la recuperación neurológica a través de su interacción con células del parénquima cerebral. Las CSMs producen e inducen en las células parenquimatosas efectos biológicos tales como: factores neurotróficos, proteasas y morfógenos; los cuales mejoran el microambiente neurovascular que rodea un área dañada por la isquemia cerebral, así como la remodelación del tejido. Es por esta razón que se hace necesario reunir evidencia actualizada sobre las funciones de protección, antiinflamación y regeneración de los exosomas en el ataque cerebrovascular (ACV) isquémico en ratas.

MATERIAL Y MÉTODO

Diseño: Revisión bibliográfica, búsqueda sistemática de la literatura (Arias *et al.*, 2012; Manterola *et al.*, 2013; Santander *et al.*, 2013)

Pregunta de búsqueda: ¿Cuál es la función de los exosomas en ratas con enfermedad cerebral isquémica en términos de protección, antiinflamación y regeneración?

Fuentes de búsqueda: PubMed, EMBASE, Web of Science, Scopus, TRIP database, SciELO y LILACS. La búsqueda fue realizada el 31 de Agosto de 2015.

Estrategia de búsqueda: Con términos libres y términos meSH sin límites. Se inicia una búsqueda sensible y luego específica.

Límites: sin límites. Solo en Scopus se utilizaron límites y estos fueron: "Biochemistry Genetics and Molecular Biology y Neurosciences".

Comandos utilizados en cada base de datos:

Pubmed: ((((((((((exosome) OR microvesicle) OR microparticle) OR apoptotic body) OR microvesicles) OR "Exosomes"[Mesh]) OR "Endocytosis"[Mesh])) AND (((((Neuron protection) OR neuron Regeneration) OR neuron function protection) OR neuron function regeneration) OR neuron anti inflammation)) AND (((((((((((Brain neurons) OR Brain Neuron) OR Brain Presynaptic cell) OR Brain Postsynaptic cell) OR Oligodendrocyte) OR Brain dendritic cells) OR cerebral dendritic cells) OR microRNA) OR brain inflammatory disease) OR cerebral nervous system) OR brain nervous system) OR "Oligodendroglia"[Mesh]) OR "MicroRNAs"[Mesh]) OR "Brain Diseases"[Mesh])) AND (((((((((((rat) OR genus Rattus) OR Degeneration of cerebral axons) OR Ischaemic Stroke) OR Ischemic Stroke) OR synaptic) OR synaptic function) OR "Rats"[Mesh]) OR "Mice"[Mesh]) OR "BrainIschemia"[Mesh]) OR "Synaptic Transmission"[Mesh]) OR "Hypoxia-Ischemia, Brain"[Mesh]) OR "Cerebral Infarction"[Mesh])) AND (((((Neuron communication) OR Intercellular communications) OR exosome release) OR "Cell Communication"[Mesh])) OR "Neurotransmitter Agents"[Mesh])

EMBASE: (Stroke OR brain ischemia OR Ischemia) AND Rats AND Exosomes

Web of Science: Exosomes AND Rats AND Stroke

Scopus: ((Neuron protection OR Neuron antiinflammation OR Neuron regeneration) AND (Stroke OR brain ischemia OR ischemia) AND exosomes AND rats)

TRIP database: Exosomes AND Rats AND Stroke

SciELO: Exosomes

LILACS: Exosomes AND Rats AND Stroke.

Criterios de inclusión: Artículos de investigación de exosomas y sus funciones de protección, antiinflamación y regeneración. Artículos en ratas con enfermedad cerebral isquémica.

Criterios de exclusión: Artículos de investigación en estructuras del sistema nervioso diferentes al cerebro y su vasculatura, como por ejemplo la retina, enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer o en enfermedades infecciosas, y un estudio realizado en seres humanos (Tabla I).

Tabla I. Referencias bibliográficas obtenidas según bases de datos consultadas.

Fuente	Artículos obtenidos	Descartado por título y resumen	Duplicados	Artículos atingentes
PubMed	11	9	0	2
EMBASE	6	4	0	2
Web of Science	5	2	2	1
Scopus	57	54	1	1
TRIP database	1	0	1	0
SciELO	3	1	2	0
LILACS	3	1	2	0

Evaluación calidad metodológica de los artículos en extenso: Los 6 estudios fueron sometidos a análisis de calidad metodológica aplicando una puntuación que ha sido previamente validada y publicada (Manterola *et al.*, 2003; Vial *et al.*, 2005; Manterola *et al.*, 2007; Moraga *et al.*, 2013). Está compuesta por 3 ítems: el primero, relacionado con el tipo de diseño del estudio; el segundo, con el tamaño de la población estudiada ajustada según haya o no justificación del tamaño

de la muestra y el tercero, relacionado con la metodología empleada en el estudio en cuestión (objetivos, justificación del diseño, criterios de inclusión de la muestra y justificación de ésta). De esta forma, se generó un baremo que es la suma de los ítems 1, 2 y 3, cuya puntuación final puede fluctuar entre 6 y 36, asignándose 6 puntos al estudio de menor calidad metodológica y 36 al de mejor calidad metodológica, con un punto de corte de calidad de 18 puntos (Tabla II).

Tabla II. Escala MINCIR de Calidad Metodológicas para estudios de terapia (Moraga *et al.*, 2014)

<i>Dominio 1. Diseño del estudio</i>	<i>Puntaje asignado</i>
Ensayo clínico multicéntrico	12
Ensayo clínico controlado, con asignación aleatoria y doble enmascaramiento *	9
Ensayo clínico sin asignación aleatoria, con enmascaramiento simple o sin enmascaramiento**	6
Cohorte concurrente o prospectiva	4
Cohorte histórica o retrospectiva y estudio de casos y controles	3
Corte transversal	3
Series de casos y reportes de casos	1
<i>Dominio 2. Población estudiada por factor de justificación</i>	<i>Puntaje asignado</i>
≥201	6 ó 12
151-200	5 ó 10
101-150	4 ó 8
61-100	3 ó 6
31-60	2 ó 4
≤30	1 ó 2
<i>Dominio 3. Metodología empleada</i>	<i>Puntaje asignado</i>
Item 1. Objetivo	
-Se plantean objetivos claros y concretos	3
-Se plantean objetivos vagos	2
-No se plantean objetivos	1
Item 2. Diseño	
-Se menciona y justifica el diseño empleado	3
-Se menciona el diseño empleado	2
-No se menciona ni justifica el diseño empleado	1
Item 3. Criterios de selección de la muestra	
-Se describen criterios de inclusión y de exclusión	3
-Se describen criterios de inclusión o de exclusión	2
-No se describen criterios de selección	1
Item 4. Tamaño de la muestra	
-Justifica la muestra empleada	3
-No justifica la muestra empleada	1
Puntuación final	Puntaje final
Dominio 1 + (Dominio 2 x factor de justificación) + Dominio 3	6 a 36

*Incluye ensayos clínicos con asignación aleatoria restringida (conglomerados) y cuasi-experimentales

**Incluye estudios experimentales (antes y después)

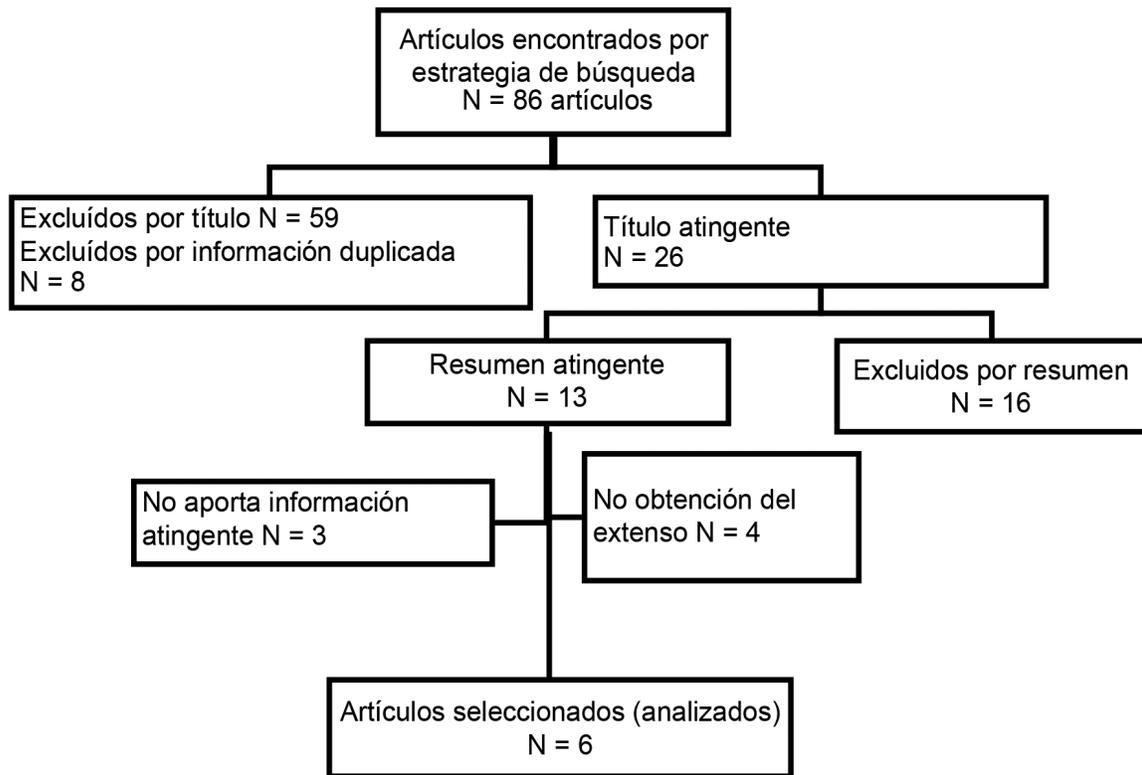


Fig. 1. Flujograma de selección de artículos

RESULTADOS

Luego de que 13 artículos cumplieron los criterios de inclusión en el resumen, se intentó la obtención de sus extensos. Posterior a la lectura de los extensos, solo seis artículos cumplieron los criterios de inclusión (Fig. 1). En relación a la calidad del reporte de los artículos analizados, cabe mencionar que de estos sólo uno supero los 18 puntos de calidad metodológica, con un promedio de $12,1 \pm 5$ puntos y las publicaciones respecto al tema son en promedio del año 2014 (Tabla III).

Los artículos de Xin *et al.* (2013a), Xin *et al.* (2013b) y Fröhlich *et al.* (2015) describieron su diseño del estudio y sus objetivos se plantearon en forma clara y concreta. En relación a los diseños experimentales solo Xin *et al.* (2013b) explicaron con claridad la población estudiada. En cuanto a la justificación del diseño metodológico se destacaron Drago *et al.* (2013), Xin *et al.* (2013a) y Kalani *et al.* (2015). Ningunos de los artículos señaló los criterios de inclusión y exclusión de la muestra estudiada ni justificó el tamaño de la muestra empleada.

Tabla III. Calidad Metodológica de artículos analizados según escala MINCIR.

Autor	Diseño estudio	Población	Objetivo	Diseño justificado	Criterios selección	Tamaño muestra	Puntaje final
Drago <i>et al.</i> , 2013	1	n/a *	3	3	1	1	9
Fröhlich <i>et al.</i> , 2014	6	2	3	1	1	1	14
Kalani <i>et al.</i> , 2015	1	n/a *	3	3	1	1	9
Xin <i>et al.</i> , 2013a	6	2	2	3	2	1	16
Xin <i>et al.</i> , 2013b	6	6	3	1	2	1	19
Xin <i>et al.</i> , 2014	1	n/a *	2	2	1	n/a *	6

*n/a: no aplica, por tratarse de una revisión bibliográfica.

Efecto neuroprotector de los exosomas en la isquemia cerebral. En su revisión bibliográfica Kalani *et al.* refirieron que los exosomas de curcumina encapsulada y los exosomas primarios de curcumina (exosomas liberados por células tratadas con curcumina) es necesario que sean evaluados en relación a su uso como una nueva terapia para el ACV isquémico. La curcumina es derivada de la raíz de *Curcumin longa* y debido a sus propiedades medicinales se la ha denominado oro amarillo. La curcumina proporciona un efecto protector vascular en personas con riesgo de ACV. Las propiedades preventivas de ACV pueden ser atribuidas a: 1) Neuroprotección vía barrido de radicales libres, inhibiendo la síntesis de óxido nítrico y peroxidación de lípidos. 2) Propiedad antilipidémica por disminución de colesterol y aumento del HDL. 3) Propiedad de antiagregación plaquetaria, inhibiendo la agregación plaquetaria. La habilidad de la curcumina de cruzar la barrera hematoencefálica también favorece su selección sobre otras terapias para ACV. Sin embargo sus desventajas son: pobre absorción, metabolismo rápido y rápida eliminación sistémica.

Fröhlich *et al.* utilizaron OGD (oxígeno-glucosa deprivación) para simular un modelo *in vitro*, de isquemia cerebral con muerte celular por necrosis y apoptosis. Los resultados sugirieron que los exosomas de oligodendrocitos liberan enzimas antioxidantes tales como catalasa y SOD1 (superóxido dismutasa 1), lo que confiere la capacidad de resistencia al estrés de las neuronas que reciben a los exosomas.

Efecto antiinflamatorio de los exosomas en la isquemia cerebral. La entrega dirigida de exosomas de curcumina encapsulada al cerebro a través de una vía intranasal, estudiada en ratas, ha sido efectiva para tratar inflamación cerebral. Esta actividad antiinflamatoria puede ser explicada por la supresión de la producción de IL-1, IL-8 y TNF- alfa (Kalani *et al.*).

Efecto regenerador de los exosomas en la isquemia cerebral. Xin *et al.* (2013a) administraron exosomas generados por células mesenquimales a ratas con oclusión de la arteria cerebral media y observaron la recuperación funcional, así como los mecanismos de recuperación. 28 días después del ACV el tamaño de la lesión isquémica fue similar tanto en el grupo control tratado con buffer fosfato salino (PBS) como en el grupo tratado con exosomas. Los exosomas administrados por vía intravenosa, a través de la cola, incrementaron la remodelación de las neuritas en la zona de lesión isquémica. La sustancia blanca en el centro de la lesión fue destruida y los fascículos de axones mielinizados fueron parcialmente dañados y desorganizados después del ACV. La densidad axonal en la zona de la lesión fue incrementada por el tratamiento con exosomas en comparación con el gru-

po tratado con PBS. Se observó acumulación de neurofilamentos fosforilados en axones y dendritas después del ACV. Los resultados mostraron que el tratamiento con exosomas aumentó significativamente el área inmunoreactiva SMI-31 en la zona de isquemia comparada con tratamiento con PBS.

La vesícula proteica presináptica sinaptosina es un indicador de plasticidad sináptica y sinaptogénesis. El tratamiento con exosomas aumentó significativamente la densidad axonal y áreas con sinaptosina en la zona de isquemia comparado con el control. Esto sugiere que el tratamiento aumenta la remodelación de neuritas y la plasticidad sináptica en las zonas de isquemia en ratas.

Las células de estroma mesenquimal generaron aumento de exosomas. La neurogénesis y angiogénesis en la zona de isquemia aumentó la proliferación celular en la zona subventricular en el cuerpo estriado y corteza. El tratamiento con exosomas aumento el número de doblecortin, (marcador de neuroblastos) y el factor von Willebrand (marcador de células endoteliales). Para examinar el efecto de los exosomas sobre los neuroblastos se midió el porcentaje de células en la zona de isquemia en las ratas tratadas con exosomas y en aquellas tratadas con PBS, sugiriendo que los exosomas promueven neurogénesis después del ACV. La angiogénesis involucra proliferación de células endoteliales y de nuevos capilares a partir de vasos ya existentes y se pudo comprobar que los exosomas también promovieron la angiogénesis.

Este estudio mostró que el tratamiento del ACV con exosomas derivados de CSMs, mejoró significativamente los resultados neurológicos y contribuyó la remodelación neurovascular. Los exosomas de las CSMs contienen miRNAs, ARN mensajero y proteínas, las cuales pueden ser transferidas a células receptoras y por lo tanto modificar sus características. Como el miARN tiene un rol primordial en la regulación génica, el miARN encapsulado dentro de los exosomas de las CSMs, tienen un efecto primario en la recuperación de la isquemia. Las condiciones celulares afectan la composición de los exosomas, los exosomas derivados de CSMs expuestos a tejido isquémico contienen miARN aumentado (miARN-133b), el cual facilita la remodelación de neuritas.

Xin *et al.* (2013b) emplearon las tecnologías knock-in y knock down para aumentar o disminuir el nivel de miR-133b en CSMs (miR-133b+ CSMs o miR-133b- CSMs) y sus correspondientes exosomas como ganancia o pérdida de la función de miR-133b y luego fueron administradas esas CSMs a ratas sometidas a oclusión de la arteria cerebral media (ACM) para comprobar *in vivo* si los exosomas

transfieren miR-133b a las células nerviosas y promueven la remodelación y recuperación funcional. El miR-133b en CSM induce recuperación funcional, esto fue comprobado a través del test de la caída del pie. El aumento en la expresión de miR-133b en CSMs y su liberación de exosomas mejoró la recuperación funcional después del ACV y también demostró remodelación en las neuritas en las zonas de lesión isquémica al día 14 después de la oclusión de la ACM. Etiquetando exosomas con una proteína fluorescente verde se demostró que los exosomas enriquecidos con partículas extracelulares fueron liberados por las CSMs y transferidos a los astrocitos y neuronas adyacentes. La expresión de blancos selectivos para miR-133b, factor de crecimiento de tejido conectivo y el gen homólogo ras miembro de la familia A, se observaron significativamente disminuidos en la zona de isquemia después del tratamiento con miR-133b+ CSMs, mientras que su expresión se mantuvo a niveles elevados después del tratamiento con miR-133b-CSMs o con tratamiento placebo con CSMs.

La revisión de Xin *et al.* (2014) se enfocó en los mecanismos paracrinosis de los exosomas de las CSM y la regulación y transferencia de miARNs los cuales mejoran la reparación y la recuperación funcional y las perspectivas sobre el desarrollo del rol de las CSM como mediadoras de la transferencia de exosomas. El ACV induce cambios en el perfil del miARN de las CSMs y en su liberación de exosomas y el miARN participa activamente en los procesos de recuperación después del ACV (Xin *et al.*, 2013a). La liberación de siARN funcional en el cerebro de ratón por inyección sistémica de exosomas, es posible dirigirla a las células nerviosas modificando la membrana proteica exosomal (Xin *et al.*).

Drago *et al.* en su revisión bibliográfica, se refirieron a la más reciente identificación de factores secretados de CSMs y CNP (células madres nerviosas/progenitoras), incluyendo aquellos que son transportados dentro de exosomas y sus potenciales efectos sobre la reparación cerebral. También examinaron los avances en perfiles moleculares que han posibilitado el mapeo de células madres (CMs). Sin embargo como son vesículas con membrana bilipídica, con muchas proteínas ligadas a membrana y diversos contenidos, los exosomas pueden representar un agente terapéutico que tiene el potencial de tratar enfermedades neurológicas. Con este objetivo en mente, es importante realizar una caracterización de los factores neurotróficos y regenerativos presentes en los exosomas secretados tanto por CSMs como por células madres neuroprogenitoras, en un intento de seleccionar e identificar las moléculas responsables del efecto terapéutico de los secretomas de las células madres. Los exosomas tienen efectos beneficiosos similares en terapias regenerativas, la pro-

ducción de exosomas de células madres podría ser modificada promoviendo terapias para la reparación de tejido cerebral. Esto se podría conseguir a través de manipulación *in vitro* de células madres para mejorar la secreción de factores pro-regenerativos y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas usando exosomas generados *in vitro*, enriquecidos con factores de crecimiento, citoquinas, quimioquinas y miRNAs regulatorios que promuevan regeneración del daño tisular.

Fröhlich *et al.* refirieron que la administración de exosomas de oligodendrocitos influencia la actividad neuronal aumentando el número de potenciales de acción sin alterar la amplitud de su espiga. Los exosomas derivados de microglia actúan sobre la terminal presináptica, en la sinapsis excitatoria, incrementando la liberación de vesículas sinápticas a través de la inducción del metabolismo de esfingolípidos. Un mecanismo similar debiera ser el responsable del incremento de la actividad neuronal a través de los exosomas derivados de oligodendrocitos.

Uno de los efectos de la señalización puede ser la activación o represión de ciertos genes por fosforilación del factor de transcripción cAMP. Adicionalmente los exosomas tienen distintos mARNs y miARNs los cuales pueden presentar efectos sobre la expresión génica neuronal. Los resultados indicaron que los exosomas de oligodendrocitos alteran la expresión génica neuronal y de identifico *Ier3*, *Vgf* y *Bdnf* como genes blanco silenciados en respuesta a la transferencia horizontal desde los oligodendrocitos a las neuronas.

La transferencia de exosomas de oligodendrocitos disminuye la expresión de doblecortina neuronal. Los exosomas de oligodendrocitos pueden influenciar la expresión génica neuronal por liberación de miARNs por mediación del gen silenciado. Los precursores de oligodendroglia acumulados en las lesiones del SNC pueden estar involucrados en los procesos de reparación del cerebro a través de estimulación de la regeneración axonal y la secreción de exosomas.

DISCUSION

Los exosomas generados de CSMs pueden ser utilizados para el tratamiento del ACV (Xin *et al.*, 2013a). Los exosomas de oligodendrocitos ejercen una variedad de efectos sobre las neuronas receptoras e influyen un amplio espectro de la fisiología neuronal (Fröhlich *et al.*). En conjunto, estos resultados sugieren que los exosomas de las CSMs mediados con miR-133b se transfieren a astrocitos y neuronas, las cuales regulan la expresión génica, beneficiando tanto la remodelación de neuritas como la recuperación funcional después del ACV (Xin *et al.*, 2013a).

Los exosomas, por su mezcla de factores paracrinos, son ideales para el tratamiento del ACV. En contraste con células exógenas administrada en forma sistémica, los exosomas a causa de su pequeña dimensión pueden atravesar fácilmente la barrera hematoencefálica. La administración exógena de CSMs puede tener muchos efectos adversos tales como modulación o transformación maligna de tumores y pueden obstruir vasos sanguíneos de pequeño calibre. Los exosomas por su pequeño tamaño no causan obstrucción vascular ni se han referido otros efectos adversos relacionados con su uso. Los productos de los exosomas requieren de una amplia caracterización y aislación con el fin de asegurar su función biológica y evitar efectos adversos en el tratamiento del ACV isquémico.

Por ser estudios recientemente desarrollados, es conveniente impulsar y desarrollar nuevos proyectos de investigación que aporten más evidencia dada las proyecciones de la terapia con exosomas. El uso de exosomas en

reparación cerebral aún no ha sido bien caracterizada en modelos *in vivo*. (Drago *et al.*). Se requiere explicar en forma detallada de qué modo los exosomas participan en los procesos de neuroprotección, antiinflamación y regeneración del tejido cerebral. Si el aspecto epigenético de la curcumina en relación a su potencial neuroprotector para tratar la isquemia cerebral llega a ser aclarado, podrá constituir una nueva terapia para esta enfermedad (Kalani *et al.*).

Una importante contribución sería poder desarrollar métodos para cuantificar la cantidad de exosomas en el cerebro con isquemia lo que permitiría correlacionar entre los niveles de exosomas en el cerebro y la recuperación funcional proporcionando información sobre sus mecanismos de acción. El desarrollo de tratamientos con células madres locales versus sistémicas que utilizan exosomas, en vez de la célula madre completa, está emergiendo como un exitoso nuevo concepto en medicina regenerativa (Drago *et al.*).

CARVALLO, P. & ASTUDILLO, P. Therapeutic effect of exosomes on ischemic stroke in experimental animals. *Int. J. Morphol.*, 34(4):1300-1307, 2016.

SUMMARY: The possibility that exosomes function as a new form of inter cellular communication to establish and maintain brain circuits is beginning to be investigated. Exosomes are released from cells and interact with other receptor cells to mediate physiological changes. All brain cells release exosomes including neural stem cells, neurons, astrocytes, microglia, oligodendrocytes and endothelial cells. The aim of this review is to gather current evidence on the protective, anti-inflammatory and regenerative functions of exosomes in ischemic stroke in rats. A systematic search of sensitive and specific literature was carried out in the following database search engines: Medline, EMBASE, Web of Science, Scopus, TRIP database, SciELO and LILACS with free and MeSH terms data. MSC generated exosomes can be used in the treatment of stroke. Oligodendrocyte exosomes also exert a variety of effects on receptor neurons and influence a wide spectrum of neuronal physiology. Together these results suggest that MSC exosome-mediated transfer of miR-133b to astrocytes and neurons, thus regulating gene expression, benefiting both neurite remodeling, such as functional recovery following a stroke. It would be important in the future to develop methods to quantify and characterize exosomes in brain ischemia. This would allow correlation between the amount of exosomes in the brain and functional recovery providing information relevant to its action mechanisms.

KEY WORDS: Exosomes; Neuroprotection; Brain chemia; Cerebrovascular attack; Rats.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, E.; Astudillo, P.; Manterola, C. & Grupo MINCIR (Metodología e Investigación en Cirugía). Segunda neoplasia tras el tratamiento del cáncer prostático localizado. *Actas Urol. Esp.*, 36(10):583-9, 2012.
- Drago, D.; Cossetti, C.; Iraci, N.; Gaude, E.; Musco, G.; Bachi, A. & Pluchino, S. The stem cell secretome and its role in brain repair. *Biochimie*, 95(12):2271-85., 2013.
- Emanuelli, C.; Shearn, A. I.; Angelini, G. D. & Sahoo, S. Exosomes and exosomal miRNAs in cardiovascular protection and repair. *Vascul. Pharmacol.*, 71:24-30, 2015.
- Fröhlich, D.; Kuo, W. P.; Frühbeis, C.; Sun, J. J.; Zohendner, C. M.; Luhmann, H. J.; Pinto, S.; Toedling, J.; Trotter, J. & Krämer-Albers, E. M. Multifaceted effects of oligodendroglial exosomes on neurons: impact on neuronal firing rate, signal transduction and gene regulation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 369(1652):20130510, 2015.
- Kalani, A.; Kamat, P. K.; Kalani, K. & Tyagi, N. Epigenetic impact of curcumin on stroke prevention. *Metab. Brain Dis.*, 30(2):427-35, 2015.
- Lo Cicero, A.; Stahl, P. D. & Raposo, G. Extracellular vesicles shuffling intercellular messages: for good or for bad. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 35:69-77, 2015.

- Manterola, D. C.; Pineda, N. V.; Vial, G. M.; Losada, M. H. & Muñoz, N. S. Revisión sistemática de la literatura. Propuesta metodológica para su realización. *Rev. Chil. Cir.*, 55(2):204-8, 2003.
- Manterola, C.; Pineda, V.; Vial, M. & Astudillo, P. Utilización de analgésicos opiáceos en el proceso diagnóstico y de toma de decisiones sobre pacientes con dolor abdominal agudo no traumático. Revisión sistemática de la literatura. *Cir. Esp.*, 81(2):91-5, 2007.
- Manterola, C.; Astudillo, P.; Arias, E.; Claros, N. & Grupo MINCIR (Metodología e Investigación en Cirugía). Revisión sistemática de la literatura. Qué se debe saber acerca de ellas. *Cir. Esp.*, 91(3):149-55, 2013.
- Moraga, C. J.; Burgos, D. M. E.; Manterola, D. C.; Sanhueza, C. A.; Cartes-Velásquez, V. R.; Urrutia, V. S. & Grupo MINCIR (Metodología e Investigación en Cirugía). Confiabilidad de la escala MINCIR para valorar calidad metodológica de estudios de terapia. *Rev. Chil. Cir.*, 65(3):222-7, 2013.
- Moraga, C. J. Manterola, C.; Cartes-Velásquez, V. R.; Burgos, D. M. E.; Aravena, P. & Urrutia, S. Instrucciones para la utilización de la Escala MINCIR para valorar calidad metodológica de estudios de terapia. *Int. J. Morphol.*, 32:(1)294-8, 2014
- Qin, J. & Xu, Q. Functions and application of exosomes. *Acta Pol. Pharm.*, 71(4):537-43, 2014.
- Raposo, G. & Stoorvegel, W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J. Cell Biol.*, 200(4):373-83, 2013.
- Santander, A. C.; Astudillo, D. P. & Manterola, D. C. Procedimiento de Hartmann vs resección y anastomosis primaria en peritonitis diverticular de colon izquierdo por cirugía abierta. Revisión sistemática de la literatura. *Rev. Chil. Cir.*, 65(3):271-8, 2013.
- Sharma, P.; Schiapparelli, L. & Cline, H. T. Exosomes function in cell-cell communication during brain circuit development. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 23(6):997-1004, 2013.
- Vial, G. M.; Manterola, D. C.; Pineda, N. V. & Losada, M. H. Coledocolitiasis. Elección de una terapia basada en la evidencia. Revisión sistemática de la literatura. *Rev. Chil. Cir.*, 57(5):404-11, 2005.
- Wood, M. J.; O' Loughlin, A. J. & Samira, L. Exosomes and the blood-brain barrier: implications for neurological diseases. *Ther. Deliv.*, 2(9):1095-9, 2011.
- Xin, H.; Li, Y.; Cui, Y.; Yang, J. J.; Zhang, Z. G. & Chopp, M. Systemic administration of exosomes released from mesenchymal stromal cells promote functional recovery and neurovascular plasticity after stroke in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 33(11):1771-5, 2013a.
- Xin, H.; Li, Y.; Liu, Z.; Wang, X.; Shang, X., Cui, Y.; Zhang, Z. G. & Chopp, M. MiR-133b promotes neural plasticity and functional recovery after treatment of stroke with multipotent mesenchymal stromal cells in rats via transfer of exosome-enriched extracellular particles. *Stem Cells*, 31(12):2737-46, 2013b.
- Xin, H.; Li, Y. & Chopp, M. Exosomes/miRNAs as mediating cell-based therapy of stroke. *Front. Cell. Neurosci.*, 8:377, 2014.

Dirección de correspondencia:
Pamela Carvallo Semler
Universidad Católica de Temuco
Manuel Montt 56
Temuco
CHILE

Email: pcarvallosemle@yahoo.es

Recibido : 20-05-2016
Aceptado : 27-08-2016