



Universidad
LATINA de Panamá
SUMMUM DESIDERIUM SAPIENTIA



Universidad
LATINA de Panamá
SUMMUM DESIDERIUM SAPIENTIA

FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA
BIOMÉDICA E INSTRUMENTACIÓN

**“TERAPIA EXOSÓMICA COMO ESTRATEGIA
TERAPÉUTICA EN EL ACCIDENTE CEREBROVASCULAR
ISQUÉMICO”**

Proyecto final de graduación presentado como requisito para optar por el título de
Licenciatura en Ingeniería Biomédica e instrumentación en la Universidad Latina
de Panamá

Nombre:
Génesis Nazareth Tuñón Ramos

Profesor asesor:
Dr. Diego Reginensi

Director:
Mgtr. Alfredo Lescher

Panamá, República de Panamá
2024



UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ

DECLARACIÓN JURADA

Yo Génesis Nazareth Tuñón Ramos con cédula número 2-742-551, estudiante graduando del programa/carrera de Licenciatura en Ingeniería Biomédica declaro bajo la gravedad del juramento que el material que aparece en este trabajo de graduación, en la opción: de publicación científica (tesis, proyecto final, pasantía, otro), es de mi producción intelectual, en razón de lo cual exonero a la Universidad Latina de Panamá de cualquier responsabilidad relacionada a este aspecto.

Como constancia, firmo la presente declaración el día 12 del mes de octubre del año 2021.

Firma del estudiante:

Cédula: 2-742-551

DEDICATORIA

Con todo mi amor y gratitud, dedico esta tesis a mi familia, el pilar fundamental que ha sido mi fuente de fortaleza y motivación en cada paso de este camino.

A mis padres Lilibeth y Pio, quienes, con su amor incondicional, sacrificio y sabiduría me han enseñado el verdadero significado de la perseverancia, el esfuerzo, y fe en Dios.

A mi hermana Dakira, por su apoyo inquebrantable, su amor y por siempre ser mi compañera de vida.

A mis abuelos Carmen y pio, quienes, con su apoyo en todo momento, y su ejemplo de vida, me han transmitido valores que me han acompañado en cada desafío.

Sin su cariño, sus enseñanzas y su fe en mí, este logro no habría sido posible. Gracias por ser mi motor, por darme siempre lo mejor de ustedes y por creer en mí, incluso cuando yo dudaba. Este trabajo es un reflejo de todo lo que me han brindado y es mi humilde homenaje a su amor y dedicación.

ÍNDICE.

	Pág.
INTRODUCCIÓN	4
CAPÍTULO I.....	5
1.0 El Problema.....	5
1.1 Antecedentes del Problema de Investigación.....	5
1.2 Planteamiento del Problema	5
1.3 Justificación de la Investigación.....	5
1.4 Objetivos.....	6
1.4.1 Objetivos Generales.....	6
1.4.2 Objetivos Específicos:	6
1.5 Alcance y Límites de la Investigación.....	6
1.6. Línea de Investigación a la que Pertenece el Estudio	6
CAPÍTULO II.....	7
2.0 Marco Teórico	7
2.1. Antecedentes de investigaciones realizadas en el tema.....	7
2.1.1 Accidente cerebro vascular	7-10
2.2. Bases Teóricas que sustentan la investigación	11
2.2.1 Exosomas: conceptos generales	11-13
2.2.2 Exosomas en el SNC, relevancia fisiológica	14-17
2.2.3 Terapia exosómica en el ACV	17-27
2.2.4 Exosomas modificados por bioingeniería	27-29
CAPÍTULO III	29
3.0 Marco Metodológico	29
3.1 Tipo y Diseño de la Investigación	29
CAPÍTULO IV	29
4.0 Análisis e Interpretación de los Resultados	29-32

CONCLUSIONES.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34-42

INTRODUCCIÓN

La isquemia cerebral, es una condición con altos índices de mortalidad y discapacidad a nivel mundial. Se caracteriza por la reducción del flujo sanguíneo al cerebro, conduce a la muerte neuronal y a un deterioro neurológico significativo. Las terapias actuales para esta patología son limitadas, en su capacidad de promover la recuperación del tejido cerebral dañado. La terapia exosómica emerge como una estrategia prometedora, los exosomas son vesículas que transportan elementos biológicos y median la comunicación celular. Demuestran efectos positivos en la recuperación post ictus, reduciendo la inflamación, protegiendo las neuronas de la apoptosis y promoviendo la regeneración del tejido nervioso. Adicionalmente los efectos terapéuticos de los tratamientos basados en exosomas en procesos de remodelación después del accidente cerebro vascular. Revisamos el estado actual de los estudios in vivo e in vitro, proveniente de células neuronales y células madre mesenquimales. Así como también, el potencial de los exosomas de bio ingeniería para mejorar ciertas características de los exosomas nativos que impiden el éxito de las aplicaciones clínicas. Finalmente destacamos el potencial de la terapia exosómica como estrategia para la recuperación después de un accidente cerebrovascular isquémico.

Palabras clave: exosomas, terapia, isquemia, tratamiento.

CAPÍTULO I

1.0 El Problema

1.1 Antecedentes del Problema de Investigación

Una de las principales causas de muerte y discapacidad neurológica en adultos a nivel mundial, es el accidente cerebrovascular (ACV) [1]. Estadísticamente, 6,7 millones de personas cada año mueren debido a un ACV, de las cuales el 87% de las muertes, se relacionan con un ACV isquémico [2]. Cada día los avances médicos y tecnológicos, han llevado a que la esperanza de vida siga aumentando mundialmente; los adultos mayores de 65 años poseen más posibilidades de padecer los ACV debido a que llevar una vida sedentaria y una mala alimentación (alta en azúcar y grasas saturadas), son factores que aumentan el riesgo de padecer esta patología [3].

1.2 Planteamiento del Problema

El ACV se caracteriza por la interrupción repentina de flujo sanguíneo al cerebro, lo que provoca la pérdida de función cerebral en la región afectada [4]. Actualmente, estudios preclínicos se ha desarrollado estrategias potenciales para el tratamiento del ACV isquémico. La principal estrategia paliativa de abordaje para el ACV isquémico, es la trombectomía endovascular, que se define como un procedimiento médico mínimamente invasivo, que consiste en la extracción del coágulo que obstruye la arteria afectada. Actualmente, el único tratamiento terapéutico aprobado por la FDA para tratar la patología, es el activador tisular del plasminógeno (tPA) [3, 5]. Ambos enfoques tienen una ventana de tratamiento estrecha después del inicio del evento, presentando como una posibilidad de aplicación en el paciente, de carácter reducida, ya que a menudo ocurre retraso en el reconocimiento de los síntomas del ACV. Aunque el flujo sanguíneo cerebral en el área afectada por el bloqueo, sea renovado en el momento crítico, no recupera las células cerebrales dañadas, resultado en una discapacidad permanente en personas que sufren un accidente cerebro vascular [6].

1.3 Justificación de la Investigación

Existe una necesidad en el desarrollo de nuevas terapias avanzadas en los pacientes con ACV isquémico que permitan promover la recuperación funcional. Diversos estudios han confirmado que la terapia celular es una alternativa innovadora en el tratamiento y la recuperación funcional, después de un ACV isquémico [7]. Las células madre tienen una gran capacidad antiinflamatoria e inmunomoduladora para promover la regeneración tisular. Sin embargo, esta terapia tiene por principal desventaja en su aplicación, el rechazo inmunológico, asociado a la complejidad de la diferenciación celular *in situ* [8, 9], la invasividad del trasplante terapéutico, y el alto potencial de que ocurran procesos de infección, contaminación y dolor durante el proceso quirúrgico [10].

Evidencias indican que la terapia de células madre, promueve la reparación cerebral a través de diversas señales paracrinas y factores tróficos. Las células madre utilizan diversos mecanismos tróficos, mediados principalmente por exosomas, que implican una compleja interacción de señalización celular y la transferencia de biomoléculas hacia otras células

aledañas, facilitando la transferencia de proteínas y material genético como ARN mensajero (ARNm), microARN (miARN) y otros ARN no codificantes, permitiendo la modulación de las condiciones fisiológicas y patológicas [11, 12]. Los exosomas son pequeñas vesículas de membrana de 30 a 100 nm, provenientes de los cuerpos multi vesiculares, que son liberadas por la mayoría de las células del cuerpo, incluyendo las células madre [13].

Los exosomas presentan características únicas que les permiten tener ventajas comparativas por sobre la terapia celular convencional, como: baja toxicidad[10], biocompatibilidad[14], capacidad de modificación[15]. Los exosomas tiene capacidad de focalización y una baja inmunogenicidad[16]. Además, tienen la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, la cual impide el paso de la mayoría de los tratamientos farmacológicos, lo que hace difícil el desarrollo de terapias en las lesiones del sistema nervioso central[10]. Por ello, la terapia exosómica se presenta como un nuevo enfoque prometedor para el tratamiento de diversos problemas del sistema nervioso.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivos Generales

- Analizar la terapia exosómica como estrategia terapéutica en isquemias cerebrales.

1.4.2 Objetivos Específicos:

- Identificar las terapias actuales asociadas a la isquemia cerebral.
- Inspeccionar la capacidad de los exosomas para reducir la apoptosis neuronal u otros efectos terapéuticos tras un accidente cerebrovascular isquémico, promoviendo la supervivencia de las células neuronales en las zonas afectadas.
- Examinar la terapia exosómica, agrupando estudios in vitro e in vitro de fuentes de exosomas derivados de células madre y neuronas.

1.5 Alcance y límites de la investigación

El alcance de la investigación se centra en analizar la terapia exosómica como tratamiento para isquemias cerebrales, a través de estudios in vivo e in vitro sobre exosomas derivados de células madre y neuronales. Se realizó una búsqueda en bases de datos científicas, entre 2019 y 2024, estudios relacionados con isquemia cerebral y exosomas) y exclusión (estudios en humanos, modelos hemorrágicos, reseñas y trabajos no en inglés). El estudio se limita a estos enfoques específicos, excluyendo otras vesículas extracelulares y estudios no alineados con el objetivo de investigación.

1.6. Línea de investigación a la que pertenece el estudio

Línea de investigación documental

CAPÍTULO II

2.0 Marco Teórico

2.1. Antecedentes de investigaciones realizadas en el tema

2.1.1 Accidente cerebro vascular

El accidente cerebro vascular es de las primeras causas de muerte y discapacidad a nivel mundial [1]. El ACV involucra la obstrucción o ruptura de un vaso sanguíneo cerebral (Ver fig. 1), lo que conlleva que las células cerebrales mueran debido a la carencia de oxígeno por necrosis en las áreas de isquemia más severa y apoptosis en las zonas más periféricas lo que inicia una cascada de eventos tisulares que conllevan a una pérdida de la función neurológica de la zona afectada [17, 18].

El ambiente hipóxico induce un metabolismo anaeróbico en la zona del tejido cerebral afectada [19], el cual tiene la capacidad de destruir o alterar el equilibrio ácido base cerebral [17]. Este daño se vería reflejado en lo que sería la zona de isquemia o penumbra isquémica, esta es la región crítica del cerebro que está en riesgo de infarto pero que aún no está dañada de forma irreversible. Esta zona se caracteriza por una reducción del flujo sanguíneo suficiente para mantener la función celular, lo que la distingue del núcleo isquémico, que ya es tejido muerto [20]. La penumbra cambia de una remodelación tisular que es marcada por el daño a una remodelación que es marcada por la reparación [21].

Existe dos categorías principales de ACV, isquémico y hemorrágico [22]. El ACV isquémico representa la mayoría de los casos de ACV, Según datos de la organización mundial de la salud (OMS), se estima que cada año ocurren más de 12 millones de nuevos casos de ACV, de los cuales alrededor del 85 % son isquémicos, el mismo es causado por la obstrucción de una arteria cerebral debido a un trombo o émbolo [23, 24]. Esta obstrucción interrumpe el flujo sanguíneo y consecuentemente, el suministro de nutrientes y oxígeno en las células cerebrales, lo que conduce a la isquemia (Ver Fig. 1A). En un ACV isquémico, la obstrucción de una arteria cerebral provoca isquemia en las áreas del cerebro irrigadas por esa arteria. Debido a la isquemia, las células nerviosas no reciben suficiente oxígeno, lo que causa hipoxia y muerte celular si no se restablece el flujo sanguíneo a tiempo. La gravedad del daño cerebral y el deterioro neurológico dependen principalmente de la localización y la extensión de la isquemia. La interrupción del flujo sanguíneo afecta distintas áreas del cerebro, y cada región controla funciones específicas [25]. Por ejemplo, un ACV en la arteria cerebral media que es el más común puede causar hemiplejía contralateral y afasia, mientras que un infarto en la arteria cerebral posterior afecta la visión y la memoria. Si la isquemia es focal y pequeña, los déficits suelen ser más localizados y menos severos, lo que permite una recuperación más rápida si se interviene a tiempo. Sin embargo, un infarto masivo que compromete grandes vasos, como la arteria carótida interna, puede llevar a discapacidades severas o incluso la muerte [26]. Por ello, es imperativo restaurar el flujo sanguíneo y los nutrientes / oxígeno, de forma rápida, para promover la minimización de la muerte neuronal y la mejora funcional cerebral [26].

El ACV hemorrágico, ocurre cuando se produce la ruptura de un vaso sanguíneo en el cerebro, lo que da lugar a la extravasación de sangre en el parénquima cerebral o en el espacio subaracnoideo. Esta hemorragia aumenta la presión intracraneal y puede resultar en daño

tisular significativo debido a la compresión del tejido cerebral, asociado a la disminución del flujo sanguíneo local Ver fig. 2A[27]. Aunque menos frecuente que el isquémico, representa el 15% de los casos a nivel mundial, pero está asociado con una mayor mortalidad, alcanzando entre el 30-50% en los primeros 30 días. Se clasifica en hemorragia intracerebral (HIC), que constituye el 10-12% de los ACV y tiene una mortalidad del 35-50%, y hemorragia subaracnoidea (HSA), responsable del 3-5% de los ACV con una mortalidad del 25-50%[5, 28]. En un ACV hemorrágico, el sangrado dentro del cerebro o en el espacio subaracnoideo provoca compresión del tejido cerebral, destrucción de neuronas por necrosis, edema cerebral y un aumento de la presión intracraneal [26]. A diferencia del ACV isquémico, donde la falta de oxígeno causa daño progresivo, el ACV hemorrágico produce un daño inmediato y catastrófico en el tejido cerebral circundante. La acumulación de sangre en la región afectada, desencadena una serie de eventos patológicos, incluyendo: edema cerebral, aumento de la presión intracraneal y deterioro neurológico rápido [2, 29]. En esta revisión se le dará un enfoque hacia el ACV isquémico ya que la alteración de la fosforilación oxidativa mitocondrial durante el ACV isquémico, causada por isquemia e hipoxia en el tejido cerebral, da como resultado un metabolismo energético alterado y una producción reducida de ATP [28]. Además, la ruptura de la barrera hematoencefálica durante el accidente cerebrovascular isquémico puede provocar edema cerebral y deformación hemorrágica, una de las capacidades que poseen los exosomas y que los convierten en una mejor estrategia terapéutica en el tratamiento de ACV es su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica [6].

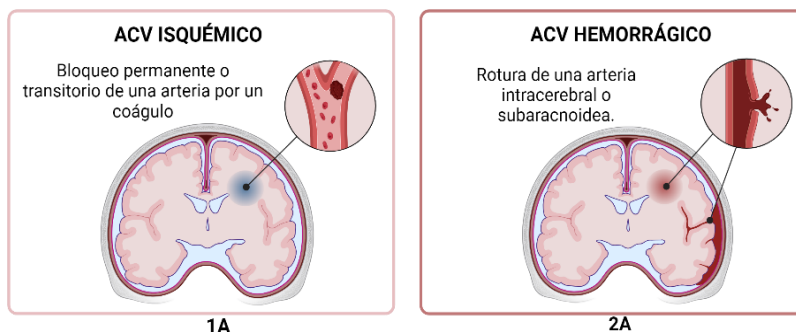


Figura 1 Tipos de accidente cerebrovascular. A la izquierda, el ACV isquémico muestra una arteria cerebral obstruida por un coágulo, lo que interrumpe el flujo sanguíneo y provoca falta de oxígeno en el tejido cerebral. A la derecha, el ACV hemorrágico ilustra la ruptura de un vaso sanguíneo, causando el derrame de sangre en el cerebro, lo que comprime el tejido cerebral y aumenta la presión intracraneal.

El principal objetivo en el manejo de las intervenciones quirúrgicas en ACV isquémico es el área de la penumbra isquémica esta es un área crítica que rodea el núcleo del infarto en la patología del ictus, que se caracteriza por un tejido cerebral gravemente hipo perfundido, pero potencialmente recuperable [30]. Comprender la dinámica de esta región es esencial para desarrollar estrategias terapéuticas eficaces [30]. La penumbra contiene células que, aunque no están muertas, presentan un metabolismo oxidativo alterado, lo que provoca una disfunción del mismo [31], Los estudios proteómicos revelan cambios significativos en la

expresión de las proteínas, como el aumento de los niveles de p53, lo que está relacionado con la apoptosis y la regulación del ciclo celular [13]. Esta homeostasis iónica, favorece la inflamación celular excesiva libereando citocinas y quimiocinas que a su vez genera una excitotoxicidad por glutamato, la activación excesiva de los receptores de glutamato conduce a la sobreestimulación de las neuronas, lo que provoca posibles daños secundarios que pueden influir en los resultados neurológicos posteriores a un accidente cerebrovascular [10,32]. Ver Fig 2. Un alto porcentaje de los ACV isquémico están dado por la oclusión de la arteria cerebral media, que ocasiona una disminución del flujo sanguíneo cerebral, cuyas consecuencias dependerán del grado de oxigenación de la zona afectada [9]. En la actualidad, la mayoría de las terapias actuales están enfocadas en la disolución y remoción de coágulos para restaurar la perfusión cerebral y por ello, hay diversos estudios preclínicos que están centrados en encontrar fármacos capaces de contrarrestar la presencia del trombo oclusivo, como tratamiento terapéutico en los ACV isquémicos agudos [22]. A fecha de hoy, un solo fármaco ha sido aprobado por la FDA y que corresponde al activador tisular del plasminógeno (tPA) Chiesi Farmaceutici presentó una patente para una formulación estable de tPA que incluye ácido tranexámico y sacarosa [10]. La aplicación terapéutica del procedimiento de trombólisis debe administrarse de forma muy rápida y pronta, dentro de las 4,5 horas posteriores al inicio del evento, lo cual dificulta su utilización en muchos pacientes afectados con la patología. Destacan como drogas trombolíticas: alteplasa, tenecteplasa, que tiene una vida media más prolongada y una mayor especificidad para la fibrina que la alteplasa, lo que permite la administración de un solo bolo [1]. Actuando específicamente en el proceso de fibrinólisis, mediante la conversión de plasminógeno en plasmina, una enzima que degrada la fibrina, la principal proteína estructural del coágulo cerebral [17].

La trombectomía corresponde a un procedimiento endovascular que tiene como objetivo la extracción mecánica de los coágulos sanguíneos que obstruyen las arterias cerebrales, restaurando así la perfusión tisular y limitando el daño isquémico agudo [18]. Este tratamiento isquémico se realiza, principalmente, en pacientes con oclusiones en los grandes vasos, como la arteria cerebral media (MCA), en que el procedimiento de trombólisis intravenosa es insuficiente y/o contraindicación médica [8]. Este procedimiento, requiere la inserción de un catéter a través de una arteria periférica, típicamente la arteria femoral, que se guía hasta el sitio de la oclusión en el cerebro mediante imagenología fluoroscópica [17, 19], para aspirar y remover el trombo isquémico mediante dispositivos específicos, como stent retrievers o catéteres de aspiración [20]. La eficacia del procedimiento es altamente dependiente del momento de la aplicación; se recomienda se realice dentro de las primeras seis horas tras los síntomas del ACV [21, 23].

La trombólisis y la trombectomía son pilares fundamentales en el tratamiento del ACV isquémico agudo, teniendo por enfoque principal tanto la disolución, como la remoción del coágulo cerebral [24]. Sin embargo, los recientes avances en investigación aplicada presentan a nuevas posibles terapias avanzadas que ofrecen una nueva perspectiva para complementar y mejorar a los tratamientos tradicionales.

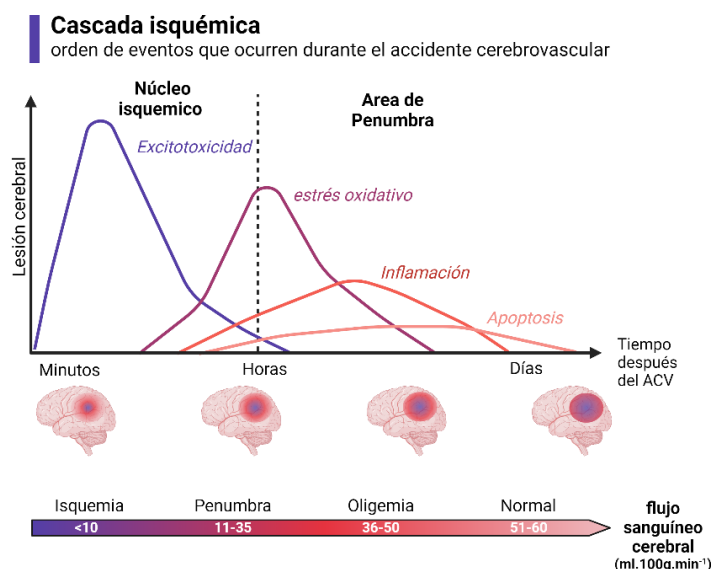


Figura 2. El gráfico de cascada isquémica representa la secuencia de eventos que ocurren en el cerebro durante un accidente cerebrovascular isquémico.

Excitotoxicidad: la activación excesiva de los receptores de glutamato conduce a la sobreestimulación de las neuronas, lo que provoca daño celular y muerte.

Estrés oxidativo: el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) puede dañar las membranas celulares, las proteínas y el ADN.

Respuesta inflamatoria: liberación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, que atraen células inmunes al área afectada.

TABLA I.
TERAPIAS ACTUALES APROBADAS POR LA FDA EXISTENTES PARA EL TRATAMIENTO DE ACV.

Terapia	Tipo terapia	Mecanismo de acción	Indicación	Ventaja	Desventaja	Estudio clínico	Estado de aprobación	Ref
Troombolisis	Terapia farmacológica	Activación del plasminógeno en plasmina, que degrada la fibrina en el coágulo.	ACV isquémico agudo dentro de las primeras 3-4.5 horas desde el inicio de los síntomas.	Administración rápida y no invasiva.	Riesgo de hemorragia intracraneal y limitado a una ventana terapéutica corta.	Estudios como el NINDS y ECASS III han demostrado la eficacia de tPA en mejorar los resultados neurológicos.	Aprobado por la FDA y la EMA para ACV isquémico en 1996 y 2003, respectivamente	[3, 17, 18, 25-28, 33-35]
Trombectomía	Terapia endovascular	Extracción mecánica del coágulo mediante un dispositivo especializado.	ACV isquémico con oclusión de grandes vasos, dentro de las primeras 6-24 horas.	Alta eficacia en la recanalización de arterias principales con mejores resultados en pacientes con grandes oclusiones.	Requiere infraestructura y personal especializado; riesgo de complicaciones vasculares	Estudios como el MR CLEAN y el DAWN han demostrado la superioridad de la trombectomía en grandes oclusiones arteriales	Aprobado por la FDA y la EMA como tratamiento complementario en casos seleccionados de ACV isquémico	[13, 16, 20, 36-40]

2.2. Bases teóricas que sustentan la investigación

2.2.1 Exosomas: conceptos generales.

Las células en la mayoría de los organismos eucariotas, incluyendo microorganismos hasta mamíferos, liberan diferentes tipos vesículas extracelulares (EV) que son transportados a través de los diversos fluidos extracelulares como (plasma sanguíneo, líquido linfático, líquido cefalorraquídeo, líquido intersticial.) para comunicarse con las células vecinas. Además, también pueden viajar a largas distancias a través del flujo de estos fluidos, alcanzando órganos y tejidos distantes, lo que les permite influir en procesos biológicos lejanos, como ocurre en la diseminación tumoral y la metástasis[41-43]. Las EV son una estructura membranosa cerrada, delimitada por una bicapa lipídica [15]. Existen distintos tipos de VE que se diferencian por su tamaño, origen, función y composición, donde se destacan principalmente: los cuerpos apoptóticos [44], las micro vesículas [45] y los exosomas [13, 46, 47]. Los exosomas son un tipo de EV de 60 a 120 nm (en promedio) [48, 49], que desempeñan papeles importantes en procesos como mediadoras de la comunicación intracelular, respuesta inmunitaria, la progresión tumoral y los trastornos neurodegenerativos [6, 50]. Los exosomas se pueden encontrar en diversos fluidos corporales(sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, saliva, lagrimas, leche materna, líquido sinovial, líquido amniótico), en los sobrenadantes de los cultivos celulares (células madre, neuronas, células tumorales y células inmunitarias) y en los tejidos se localizan principalmente en los espacios extracelulares entre las células, incluidos los espacios ocupados por la matriz extracelular (tejido cerebral, cardíaco, adiposo, tumorales)[51-54].

Diversos estudios evidencian que los exosomas están enriquecidos en moléculas biológicamente activas, como micro ARN[10], ARN mensajero[55] y ARN no codificantes[56]; ADN bicatenario[57, 58], ADN mitocondrial[56, 59]; algunos lípidos, como: esfingomielina, colesterol y ceramidas [60, 61] y distintos tipos de proteínas, como: tetraspaninas CD9, CD63, CD81, CD82[61, 62], proteínas de choque térmico (HSP70, HSP90)[60], moléculas de adhesión (integrinas, selectinas, sindecanos)[60, 63, 64] y proteínas del esqueleto celular (actina, tubulina, vimentina)[65], receptores de presentación de antígenos (MHCII, MHCI)[66, 67], receptores inmunitarios como CD86 [61, 62] y diversas enzimas (caspasas, lipasa, Rab27A y Rab11)[68, 69]. Investigaciones indican que los exosomas desarrollan un papel importante en la comunicación intracelular, cuando son captados por la célula receptora, estas decodifican la carga de los exosomas provocando efectos que pueden recuperar o ayudar a la lesión tisular. Por ejemplo, los exosomas derivados de células madre, han mostrado un gran potencial para recuperar lesiones tisulares [70]. Estas pequeñas vesículas pueden promover la regeneración celular al activar rutas de señalización implicadas en la proliferación, diferenciación, y supervivencia celular, además de reducir procesos dañinos como la apoptosis (muerte celular programada) y la inflamación crónica [71-73]. Su rol como moduladores de la respuesta inmune también es crucial para crear un entorno propicio para la reparación tisular, regulando la actividad de células inmunes y limitando la inflamación excesiva que podría dañar el tejido. Así, los exosomas no solo facilitan la recuperación fenotípica de las células dañadas, sino que también promueven la homeostasis y función en tejidos afectados por lesiones, como los del corazón, el cerebro o los tejidos músculo-esqueléticos [74, 75].

Los exosomas se aislados a partir de fluidos biológicos, sobrenadante de cultivos celulares y tejidos disgregados a través de la utilización métodos de aislamiento tales como: Ultracentrifugación[76], precipitación con polímeros[65], cromatografía por exclusión[76, 77] y kits de aislamiento comerciales[78] (TABLA II); no existe un método universal para el aislamiento de exosomas debido a que la estandarización del procedimiento involucra factores, tales como: origen de la muestra[79], heterogeneidad de muestra[15], contaminación[80], condiciones de centrifugación[81], objetivo del estudio[82]. Por ello, la escalabilidad del aislamiento de exosomas es un tema por resolver en el ámbito biomédico [78, 81]. Actualmente aparte de los métodos tradicionales también existen los kits comerciales, como el kit total exosome isolation (thermoFisher Scientific), ExoQuick (systemBiosciences, Palo alto, California, EUA) que utilizan el método de precipitación polimérica [83]. El aislamiento de exosomas es un proceso delicado que requiere ser optimización, para garantizar, el rendimiento y la calidad de los exosomas aislados [84]. El rendimiento se refiere a la concentración o número total de exosomas, que se obtienen de la muestra tras el proceso de aislamiento [85], la calidad de aislamiento se refiere a la pureza de los exosomas aislados, es decir, cuántos de los elementos recuperados en la muestra aislada son exosomas y no otros contaminantes, como proteínas solubles, micro vesículas y restos celulares [80]. Existe una relación importante entre el método de aislamiento y el tipo de muestra de la que se extraen (fluidos biológicos o sobrenadantes de cultivos celulares) [83]. Los fluidos biológicos suelen ser muy complejos, ya que contienen exosomas, proteínas y otras vesículas extracelulares. Además, su concentración de exosomas puede ser más baja, necesitando así métodos que generen alta pureza. Como la cromatografía de exclusión por tamaño y ultracentrifugación [86]. Por otro lado, el sobrenadante de cultivos celulares (células madre, tumorales, inmunitarias, etc.) es menos complejo, suele contener una mayor concentración de exosomas, permitiendo flexibilidad en la elección del método, concediendo el uso de métodos más simples como kits de precipitación o filtración [87].

En el estudio in vivo de ratas Wistar macho adultas, se utilizaron exosomas de células estromales mesenquimales multipotentes para promover la recuperación de ratones que fueron obtenidos por el método de centrifugación, donde inicialmente las muestras se centrifugaron a una velocidad de $3000\times g$ durante 30 minutos para eliminar células muertas y cuerpos apoptóticos. Después, el líquido resultante se guardó en un congelador a -80°C para futuras extracciones de exosomas. El proceso de aislamiento de exosomas se realizó a 4°C , siguiendo varios pasos de centrifugación: primero a $10,000\times g$ durante 30 minutos, y luego a $100,000\times g$ por 2 horas [88]. Por otro lado, para un estudio piloto in humanos, se utilizaron exosomas de células madre mesenquimales que obtuvieron por medio de la técnica de centrifugación. Luego de recolectar el sobrenadante y se centrifugó secuencialmente a 200, 2000 y $10,000\times g$ para la eliminación de células y restos celulares, eliminar vesículas más grandes, los medios acondicionados se pasaron a través de un filtro de 0,22 mm, luego se centrifugaron a $110,000\times g$ durante 2 horas. El pellet se lavó dos veces y re suspendió en PBS nuevamente centrifugado a $110,000\times g$ durante 2 horas [89]. La empresa System biosciences, utiliza para el aislamiento de sus exosomas utiliza del kit ExoQuick aislados por el método de precipitación polimérica [90]. Este método implica el uso de un polímero que interactúa con los exosomas presentes en la muestra y los agrupa, lo que permite su precipitación al centrifugar la mezcla a baja velocidad. El proceso es más rápido que métodos tradicionales como la ultracentrifugación. pero la pureza de los exosomas en comparación a la ultracentrifugación es menor [49, 90].

La Ultracentrifugación es actualmente el método número uno para aislar exosomas para aplicaciones preclínicas y clínicas [79]. Este método implica aclarar el sobrenadante celular a baja velocidad de centrifugación, seguido se le aplica ultracentrifugación a alta velocidad [78]. Sin embargo esta técnica no distingue bien entre exosomas y otras partículas de tamaño y densidad similares, lo que ocasiona presencia de impurezas, como proteínas agregadas, viriones, orgánulos subcelulares o exosomas dañados, comprometiendo la función biológica de los exosomas [79].

Otra variable considerable es que el proceso completo toma más de 4 horas, limitando su reproducibilidad. También se utiliza el método de ultracentrifugación de gradiente de densidad, para mejorar la impureza, pero este requiere mucho más tiempo de centrifugación (>16 horas), lo que dificulta su viabilidad para aplicaciones clínicas a gran escala [81, 84]. Otras técnicas existentes y los kits comerciales, presentan pureza y rendimiento de exosomas aislados diferentes, dificultando su aplicación para procesamiento masivo [78]. Existen varios protocolos de purificar exosomas, se utilizan técnicas de caracterización, como el análisis de marcadores específicos de exosomas (CD63, CD9, CD81) por Western Blot, el tamaño y concentración mediante Nanoparticle Tracking Analysis (NTA), o la visualización directa mediante microscopía electrónica [91]. Actualmente se dificulta comprar la pureza de los exosomas aislados, gracias a la falta de métodos estandarizados para determinar la pureza de los exosomas. Existe la necesidad de desarrollar métodos estandarizados para aislar exosomas con técnicas de purificación rápidas, rentables y reproducibles para las futuras aplicaciones clínicas de exosomas [92].

TÉCNICAS MÁS COMUNES PARA EL AISLAMIENTO DE EXOSOMAS, VENTAJAS Y DESVENTAJAS.

Método	Muestra	Tiempo (min)	Pureza	Ventajas	Desventajas	Ref.
Ultra centrifugación	Orina	14-600	Media - alta	Estándar de preferencia, adecuado para muestras de gran volumen, bajo costo.	Operación lenta y engorrosa, puede llegar a dañar los exosomas.	[76]
Ultrafiltración	Orina	130	Media	Bajo costo, no utiliza equipo especial ni reactivos.	Perdida de exosomas, obstrucción del filtrador de membrana.	[76, 77]
Precipitación	Plasma	30-120	Baja	Método sencillo apto para muestras voluminosas.	Contaminantes potenciales (agregados o residuos polímeros)	[65]
Captura por inmunofinidad	CCM	240	Alta	Alta especialización para subtipos de exosomas	Costoso, depende del anticuerpo.	[87]
Cromatografía por exclusión de tamaño	CCM	15	Media-Alta	Versátil para distintos tipos de muestras, conserva la integridad de las vesículas	Instrumentos costos, procedimiento costo.	[76, 77]
Microfluidica	CMM	60	Alta	Proceso rápido.	Requiere instrumentos especializados	[93]

2.2.2 Exosomas en el SNC, relevancia fisiológica.

Los exosomas son liberados por los diferentes tipos de células del SNC tales como: neuronas y células gliales (p.e astrocitos, oligodendrocitos y microglía) facilitando la transferencia de proteínas, ARN y otras biomoléculas como ADN, MicroARN en diversos procesos fisiológicos, como: la plasticidad sináptica y la homeostasis cerebral, A su vez en el desarrollo embrionario del SNC ya que los exosomas influyen en la diferenciación y el crecimiento de estas células durante el desarrollo cerebral[94].

Los exosomas derivados de astrocitos son importantes reguladores de la actividad sináptica en el sistema nervioso central. Transportan diversos factores neurotróficos que promueven la supervivencia, el crecimiento y la plasticidad neuronal. Además del BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor), algunos otros factores clave transportados por estos exosomas incluyen, NGF (Nerve Growth Factor) que estimula el crecimiento y la supervivencia de neuronas, especialmente en el desarrollo temprano y en procesos regenerativo, Así como el GDNF (Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor) quien promueve la supervivencia de diversas clases de neuronas, incluidas las dopaminérgicas, y es relevante en modelos de enfermedades neurodegenerativas. Y también el NT-3 (Neurotrophin-3) que es importante para la diferenciación y supervivencia neuronal, especialmente en el desarrollo de las neuronas sensoriales y motoras [95]. mediante este mecanismo, las células cerebrales pueden responder a cambios en el microambiente manteniendo una función cerebral adecuada [96].

Además de los astrocitos, las microglías y las neuronas también liberan exosomas que desempeñan funciones cruciales en el sistema nervioso central, especialmente en respuesta a lesiones cerebrales [97]. En el contexto de lesiones cerebrales, los exosomas micro gliales se encargan de modular la inflamación al transportar factores como el TNF- α o IL-1, influyen en la respuesta inflamatoria inicial tras una lesión, lo que puede ser beneficioso o perjudicial dependiendo de la regulación, igual que facilitan la neuro protección cuando transportan factores antiinflamatorios y antioxidantes que ayudan a controlar el daño secundario en el tejido cerebral, promoviendo la regeneración, al estimular la reparación contribuyen a la limpieza de desechos celulares y a la resolución de la inflamación, lo cual es clave en la recuperación post lesión[98]. Las neuronas de diferentes tipos en el sistema nervioso central liberan exosomas, y cada tipo puede tener funciones específicas según su localización y papel en la red neuronal. Por ejemplo, exosomas derivados de las neuronas corticales piramidales transportan proteínas sinápticas, como el receptor AMPA, que modulan la plasticidad sináptica, crucial para el aprendizaje y la memoria [99, 100]. Los exosomas pueden, por lo tanto, estar involucrados en la propagación de proteínas patológicas en enfermedades neurodegenerativas [101]. Por otro lado, los exosomas de neuronas gabaérgicas contienen transportadores y receptores relacionados con el neurotransmisor GABA, influyendo en la regulación de la excitabilidad neuronal, importante en condiciones como la epilepsia [100, 101].

Condiciones patológicas cerebrales, como: los ACV, presentan una disrupción en la cantidad y composición de los exosomas liberados [102]. Las neuronas sufren estrés y muerte celular en áreas afectadas por el ACV. Su liberación de exosomas disminuye drásticamente, lo que puede representar una represión total en áreas gravemente dañadas, aunque en áreas circundantes la liberación puede aumentar, pero los astrocitos en un cerebro sano juegan un papel protector, pero durante el ACV liberan exosomas que contienen proteínas de estrés

celular y señales inflamatorias [102]. Parecido al mecanismo de acción de las microglías activadas tras el daño, liberan más exosomas cargados de citoquinas inflamatorias y factores de estrés oxidativo y el oligodendrocito al sufrir daños en su capacidad de formar mielina, también pueden alterar la liberación de exosomas que contienen proteínas involucradas en la reparación de la mielina [50]. En áreas donde las neuronas y otras células están gravemente afectadas, la liberación de exosomas puede verse significativamente reducida o incluso inhibida. Esto puede deberse a la falta de energía celular y la disfunción de los mecanismos de tráfico vesicular [103].

El análisis de cerebros post mortem de pacientes que sufrieron un ACV ha revelado alteraciones en los perfiles de exosomas, especialmente en la cantidad de micro ARN proinflamatorios y proteínas de estrés. En estudios de tejidos afectados por isquemia, se observaron cambios específicos en la liberación de exosomas en áreas dañadas y no dañadas del cerebro [50, 104, 105]. Este desbalance no solo altera la comunicación intercelular, sino que también puede exacerbar el daño neuronal promoviendo procesos proinflamatorios que conllevan a muerte celular cerebral [106]. Por ello, los exosomas están siendo estudiados tanto como biomarcadores, ya que pueden detectarse en la sangre periférica o en el líquido cefalorraquídeo (LCR) tras pasar a través de la barrera hematoencefálica (BHE), lo que potencia su acción como biomarcadores [93]. En la sangre periférica, los exosomas liberados por las células del sistema nervioso central pueden cruzar la BHE y ser detectados, lo que facilita su análisis para identificar microARN y proteínas específicas del ACV. Exosomas cargados con microARNs proinflamatorios como miR-21 han sido encontrados en niveles elevados en pacientes con ACV, y su análisis en sangre puede correlacionarse con la gravedad y la evolución del daño cerebral. Este mecanismo permite un diagnóstico temprano y seguimiento del ACV sin procedimientos invasivos [94]. Por otro lado, en el líquido cefalorraquídeo (LCR), los exosomas liberados directamente desde las células neuronales y gliales tras un ACV contienen proteínas y ARN que reflejan de manera más directa los cambios en el cerebro. Estos exosomas pueden transportar proteínas de estrés celular, como HSP70 y HSP90, así como citoquinas inflamatorias como IL-6 y TNF- α , que son marcadores claves del daño cerebral y la inflamación post-ictus [94]. Los estudios han mostrado que el número y la composición de los exosomas en el LCR aumentan significativamente en las primeras horas tras el evento isquémico, ayudando a evaluar el pronóstico y la extensión de la lesión [95]. Durante un ictus, la liberación de exosomas por las células dañadas se ve alterada, lo que lleva a un aumento de vesículas con perfiles de ARN específicos (por ejemplo, microARNs proinflamatorios como miR-21) y proteínas relacionadas con el estrés celular, como las proteínas de choque térmico HSP70 y HSP90, y la inflamación (por ejemplo, TNF- α , IL-6) [94]. Estos cambios en la liberación y contenido de exosomas reflejan el estado patológico del cerebro y son útiles no solo como biomarcadores de la progresión del ACV, sino también para predecir la respuesta inflamatoria y el daño tisular a largo plazo [94, 107].

Actualmente, uno de los principales problemas en el tratamiento del ACV es identificar biomarcadores efectivos para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes. Algunos de los biomarcadores más comúnmente estudiados en el ACV, como proteínas pro inflamatorias por ejemplo, IL-6 y TNF- α y factores de crecimiento como el factor de crecimiento endotelial vascular, VEGF, presentan ciertas desventajas [108]. Estos biomarcadores, aunque valiosos, tienen una baja abundancia en circulación y una pobre heterogeneidad, lo que limita su

utilidad clínica. Además, estos marcadores suelen ser detectados mediante análisis invasivos, como la extracción de sangre o el análisis del líquido cefalorraquídeo, lo cual no siempre es práctico en la fase aguda del ACV. Estudios recientes han mostrado que, aunque estas moléculas proporcionan información sobre el estado inflamatorio o vascular del paciente, la variabilidad entre pacientes y su limitada estabilidad en fluidos corporales reduce su efectividad como biomarcadores diagnósticos robustos [93]. Un estudio de 2020 destacó que los niveles de IL-6 aumentan en las primeras horas tras un ACV, pero varían significativamente entre los pacientes dependiendo de la extensión del daño. Otro estudio encontró que los niveles de VEGF están relacionados con la reparación vascular post-ictus, pero su cuantificación no siempre refleja el pronóstico de manera consistente [109, 110]. Esta falta de fiabilidad y homogeneidad en los biomarcadores tradicionales ha llevado a explorar nuevas alternativas, como los exosomas, que ofrecen una mayor precisión al reflejar el microambiente del cerebro durante y después de un ACV, además de ser detectables en la sangre y el LCR [8, 94]. Datos emergentes sugieren que los exosomas cerebrales juegan un papel de reparación tisular y la neuro protección [108, 111]. Después de una lesión cerebral, como un accidente cerebrovascular (ACV) isquémico, la barrera hematoencefálica (BHE) se rompe debido al aumento de la presión intracraneal y otros factores relacionados con el daño tisular. La isquemia cerebral implica la interrupción del flujo sanguíneo, lo que priva a las neuronas y células gliales de oxígeno y glucosa, desencadenando una rápida disfunción celular y despolarización de las membranas neuronales [99]. En respuesta a la falta de energía, las neuronas liberan grandes cantidades de glutamato, un neurotransmisor excitatorio, que activa los receptores NMDA, provocando una sobrecarga de calcio en las células, lo que lleva a la excitotoxicidad y muerte celular. La isquemia también causa la liberación de metaloproteinasas de matriz (MMPs) que degradan las uniones estrechas entre las células endoteliales de la BHE, aumentando su permeabilidad y permitiendo la filtración de líquidos, proteínas plasmáticas y células inmunitarias hacia el tejido cerebral [100]. Esta ruptura de la BHE expone al cerebro a componentes del sistema inmunológico, como leucocitos y citoquinas proinflamatorias, generando una respuesta inflamatoria local que agrava el daño neuronal. Al mismo tiempo, el aumento de la permeabilidad facilita la entrada de líquidos, contribuyendo al edema cerebral (hinchazón) y al incremento de la presión intracraneal. Además, la disfunción de la BHE afecta la eliminación de desechos del cerebro, resultando en la acumulación de metabolitos tóxicos en el espacio extracelular, lo que exacerba el estrés celular y la inflamación. En conjunto, estos mecanismos no solo comprometen la función cerebral, sino que también aumentan el riesgo de muerte celular masiva y deterioro neurológico a largo plazo, complicando el tratamiento y la recuperación tras un ACV [96, 112, 113]. Después del ACV, las células endoteliales cerebrales secretan exosomas que estimulan a las células progenitoras neuronales para diferenciarse en oligodendrocitos para participar en la mielinización [112, 113]. Como también, los pericitos y células endoteliales comienzan a promover la angiogénesis y restablecer la barrera hematoencefálica (BHE) [114]. Los pericitos son capaces de liberar exosomas que actúan como promotores de la angiogénesis y la neurogénesis, facilitando la diferenciación de neuronas y células gliales, así como procesos de migración y proliferación [115]. Se ha demostrado que los exosomas derivados de los pericitos facilitan la diferenciación de neuronas progenitoras en neuronas maduras, además de estimular la proliferación y migración de células madre neurales, contribuyendo a la regeneración del tejido cerebral. Estos exosomas contienen diversas moléculas señalizadoras, como factores neurotróficos, micro ARNs y proteínas que regulan estos procesos, sugiriendo que los pericitos no solo

participan en la formación de nuevos vasos sanguíneos, sino que también juegan un papel importante en la reparación y regeneración neuronal tras una lesión. Estudios previos han destacado el papel de los pericitos en la neurogénesis y la angiogénesis, mostrando cómo los exosomas en este contexto facilitan la comunicación célula-célula y modulan el microentorno cerebral [8, 116]. También, las células progenitoras neuronales secretan exosomas que son capaces de promover procesos de inmunidad periférica al ser capaces de atravesar la BHE [117, 118]. Los exosomas cerebrales son promotores de efectos neuro protectores a largo plazo después de un ACV debido que regulan la respuesta inmune periférica promueven la angiogénesis y estimulan la remodelación dendrítica axonal [119].

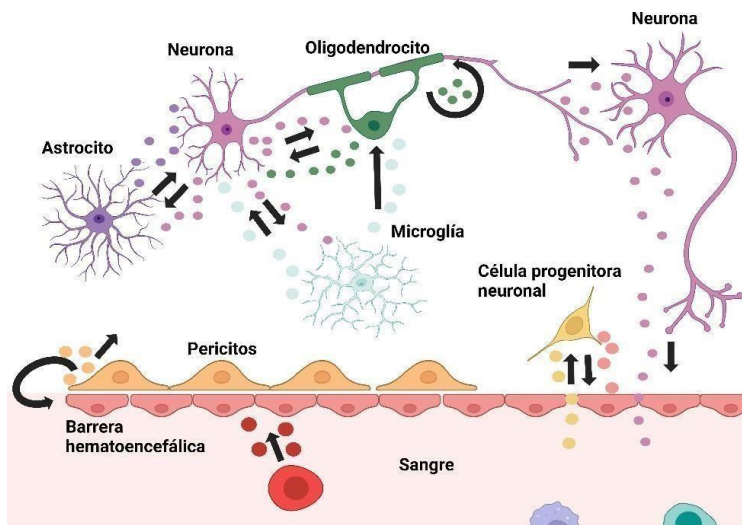


Figura 2. Interacciones celulares en el microentorno cerebral tras un accidente cerebrovascular. La imagen ilustra la participación de diferentes tipos de células del sistema nervioso central, incluyendo neuronas, astrocitos, oligodendrocitos, microglía y pericitos. Estos componentes colaboran en la reparación y regeneración del tejido cerebral después de un ACV. Los pericitos, situados en la barrera hematoencefálica, liberan exosomas que facilitan la angiogénesis y la neurogénesis, promoviendo la diferenciación y migración de células madre neurales, así como la comunicación entre las células. Esta interacción es fundamental para restaurar la funcionalidad neuronal y la integridad de la BHE después de la lesión. [28].

2.2.3 Terapia exosómica en el ACV.

La terapia exosómica se ha enfocado principalmente en el tratamiento del acv isquémico en lugar del acv hemorrágico debido a varias razones relacionadas con la naturaleza de ambas condiciones y los mecanismos de los exosomas [10]. El acv isquémico provoca la muerte de las células cerebrales por falta de oxígeno y nutrientes. La terapia exosómica busca restaurar la función celular mediante la promoción de la regeneración, reducción de la inflamación y activación de procesos como la neurogénesis, angiogénesis y la reparación de tejidos [120, 121]. Los exosomas son particularmente eficaces en este contexto, donde el daño está

vinculado a la falta de oxígeno (hipoxia) y donde la recuperación de la circulación sanguínea y la regeneración neuronal son esenciales [17, 18]. En contraste, el acv hemorrágico involucra la ruptura de un vaso sanguíneo en el cerebro, lo que causa la acumulación de sangre y presión, y potencialmente daño cerebral extenso por compresión y toxicidad de la sangre derramada. Aquí, la prioridad médica es detener la hemorragia y controlar la presión intracraneal, lo cual es más agudo y crítico que los procesos de regeneración celular [2]. Aunque los exosomas tienen propiedades antiinflamatorias, regenerativas y neuroprotectoras, no pueden resolver directamente la hemorragia activa ni controlar la presión intracraneal de manera inmediata, lo que hace que su aplicación inicial en esta condición sea menos relevante [122, 123].

Los exosomas tienen la capacidad de entregar moléculas activas de gran potencial terapéutico [54]; como también, atravesar la barrera hematoencefálica lo que permite la comunicación entre el sistema periférico y el sistema nervioso central (SNC) [124].

Los exosomas son secretados por todos los tipos celulares en el cuerpo, incluyendo las células madre [125]. Destacando, los exosomas de células madre mesenquimales (CMM), que tienen gran capacidad regenerativa, inmunomodulador y su potencial terapéutico en diferentes enfermedades humanas. La aplicación terapéutica de los exosomas se ha observado en diversas aplicaciones [68], tales como: En enfermedades cardíacas, los exosomas derivados de células madre mesenquimales (MSC) pueden promover la reparación del tejido cardíaco tras un infarto al inducir la regeneración miocárdica y reducir la inflamación [126]. En el intestino, los exosomas han sido utilizados para tratar colitis y enfermedades inflamatorias intestinales, mejorando la función de la barrera intestinal y modulando la respuesta inmune [127, 128]. En aplicaciones cutáneas, los exosomas contribuyen a la regeneración de la piel, acelerando la cicatrización de heridas y promoviendo la reparación de tejidos dañados [129]. También se investigan en enfermedades hepáticas y renales, donde pueden reducir la fibrosis y mejorar la función celular [130, 131]. Estas aplicaciones destacan la versatilidad de los exosomas como herramienta terapéutica en diferentes sistemas del cuerpo.

La capacidad terapéutica de los exosomas varía dependiendo del origen celular, ya que los exosomas llevan componentes específicos que evidencian el tipo de célula de la que proviene y también determina su potencial en diferentes aplicaciones clínicas [132]. Por ello, la utilización de exosomas cerebrales se presenta como una opción atractiva en posibles terapias para lesiones cerebrales. En esta revisión nos enfocaremos en la terapia basada en exosomas provenientes de células cerebrales [85, 91, 124, 133] y de células madre [12, 131, 134, 135]. Un enfoque clave en la terapia con exosomas es su capacidad para promover la regeneración tisular y reducir la inflamación, lo que ha sido de particular interés en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y el accidente cerebrovascular [109]. En este contexto, la selección de la vía de administración es crucial para garantizar que los exosomas pueden influir directamente en factores como eficiencia, concentración en el sitio objetivo y velocidad de acción [136].

Existen distintas vías de administración de exosomas, estas se dividen en dos grupos, sistemática y local, la administración sistemática contempla: (A) Intranasal, (B) Inyección intraarterial a través de la arteria carótida común, (C) inyección intravenosa a través de la vena de la cola, (D) Inyección intravenosa a través de la vena femoral o la vena yugular interna y (E) administración intraperitoneal. La administración local incluye: (F) inyección

en el ventrículo cerebral o también conocida como intracerebral [30] (ver fig. 3). La vía de administración más destacada para las aplicaciones terapia exosomal en modelos animales (roedor) de accidente cerebro vascular isquémico es la inyección intravenosa a través de la cola de la vena.[137] Ya que es no invasiva, facilita su aplicación y ofrece la capacidad de distribuir sistemáticamente, por medio del torrente sanguíneo los exosomas por todo el cuerpo [136].

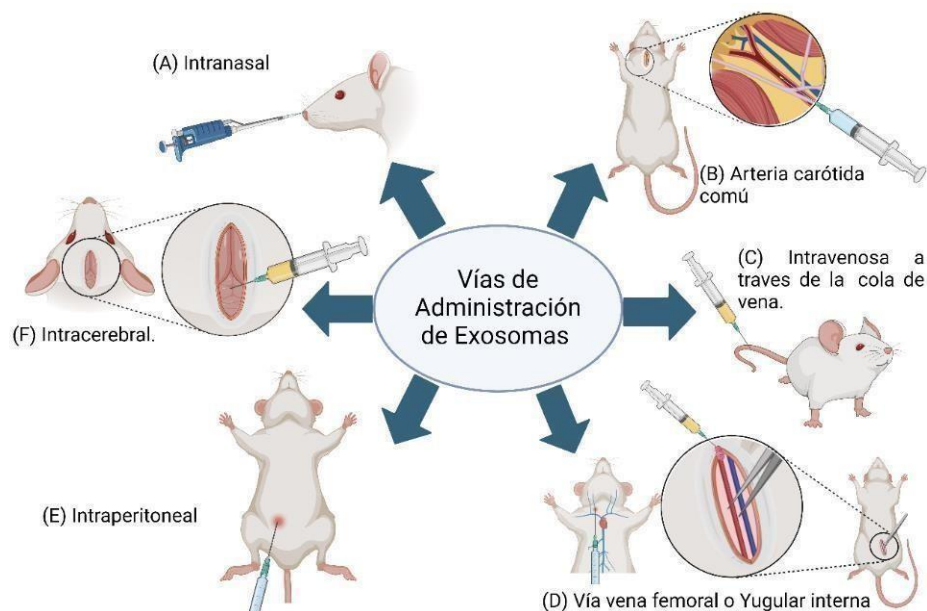


Figura 3. Vías de administración de exosomas: A- vía de administración intranasal, B- vía de administración por medio de la arteria carótida, C- administración por medio de la cola de la vena, D- Inyección intravenosa a través de la vena femoral o la vena yugular interna, E- administración intraperitoneal, F- inyección en el ventrículo cerebral o también conocida como intracerebral.

El sistema cerebral central según estudios genera exosomas que son capaces de promover la angiogénesis, disminuir la inflamación, detienen la apoptosis celular, ayudando así a tatar las lesiones generadas por el ACV isquémico, como se puede observar en la tabla IV, donde se mencionan estudios tanto in vivo, como in vitro, de fuentes de exosomas provenientes de células somáticas [15, 59, 60]. Los exosomas derivados de células cerebrales, como las neuronas o las células gliales, también han mostrado potencial en la mitigación de la apoptosis y en la protección de las células neuronales afectadas, (ver tabla IV). Las neuronas, astrocitos y microglía y células endoteliales, secretan exosomas neuronales que intervienen en la respuesta a lesiones, facilitando la comunicación entre células del sistema nervioso central (SNC) [138].

Los astrocitos, las células gliales más grandes del sistema nervioso central, cumplen funciones cruciales como el soporte estructural de las neuronas, la regulación de la inflamación, el mantenimiento de la barrera hematoencefálica, y la modulación de la actividad sináptica [80].

El estudio in vitro denominado “Efecto neuro protector del pre acondicionamiento isquémico mediado por exosomas derivados de astrocitos y el papel del miR-92b-3p en la isquemia cerebral”. Este estudio in vitro investiga cómo los exosomas derivados de astrocitos pre

acondicionados con privación de oxígeno y glucosa (OGD) protegen a las neuronas en un modelo de isquemia cerebral. Los resultados muestran que estos exosomas son absorbidos por las neuronas y atenúan la muerte neuronal y las apoptosis inducidas por la OGD. Un hallazgo relevante es el micro ARN miR-92b-3p, que se encuentra en niveles aumentados en estos exosomas y ejerce efectos neuro protectores cuando se sobre expresa en las neuronas. Se realizaron estudios de secuenciación de micro ARN, análisis de apoptosis neuronal y estudios de absorción de exosomas para medir los efectos protectores de los exosomas. Comparando diferentes tipos celulares (astrocitos, neuronas y microglía), los exosomas de astrocitos pre acondicionados mostraron ser los más efectivos en reducir la apoptosis y proteger frente a la isquemia in vitro [139].

Por otro lado, otro estudio in vitro: “Los exosomas derivados de astrocitos inducen la recuperación neuronal después de una lesión cerebral traumática mediante la administración de enlaces de hendidura alfa 1-20 k”. Este estudio, tanto in vitro como in vivo, explora el papel de los exosomas derivados de astrocitos que contienen la proteína GJA1-20 k en la recuperación neuronal tras una lesión cerebral traumática (LCT). Los exosomas redujeron la apoptosis neuronal y mejoran la función mitocondrial, promoviendo la recuperación de neuronas dañadas. Los exosomas se administraron a través de un modelo de cultivo celular in vitro y se transfirieron a un modelo de rata con lesión hidráulica por trauma cerebral. Se emplearon técnicas como inmunofluorescencia, análisis de apoptosis (TUNEL), Western blot para detectar proteínas, y tinciones histológicas (TTC y Nissl) se utilizaron para analizar los efectos. Los resultados sugieren que los exosomas que contienen GJA1-20 k son efectivos para reducir la apoptosis neuronal y mejorar la función mitocondrial, favoreciendo la recuperación neuronal tras una LCT. El estudio sugiere que los exosomas derivados de astrocitos, especialmente aquellos que contienen GJA1-20 k, funcionan eficazmente para reducir la apoptosis neuronal y mejorar la función mitocondrial, promoviendo así la recuperación neuronal después de una lesión cerebral [140].

El estudio in vivo “Efecto de los exosomas derivados de astrocitos (AS-Exo) en la regulación de la apoptosis y la autofagia neuronal en modelos de accidente cerebrovascular isquémico.” Investiga el uso de exosomas derivados de astrocitos (AS-Exo) para tratar la isquemia cerebral en ratones. Los exosomas fueron administrados intravenosamente tras inducir isquemia focal mediante la oclusión de la arteria cerebral media. Los resultados mostraron que los AS-Exo mejoraron la viabilidad neuronal, inhibieron la apoptosis inducida por la privación de oxígeno y glucosa (OGD), y redujeron los niveles de mediadores inflamatorios como TNF- α , IL-6 e IL-1 β . El estudio también reveló que los AS-Exo regulan positivamente la autofagia, lo que contribuyó a disminuir la degeneración neuronal en estudios tanto in vitro como in vivo. Los métodos utilizados incluyeron tinción inmunofluorescente para la identificación de astrocitos y la captación de exosomas por neuronas mediante microscopía láser confocal. Se analizaron la viabilidad celular y la apoptosis mediante los ensayos CCK-8 y TUNEL, y se evaluaron proteínas relacionadas con apoptosis (caspasa-3, Bax) y autofagia (Beclin-1, LC3-I, LC3-II, P62) usando Western blot. Además, se midieron los niveles de citoquinas proinflamatorias con ensayos ELISA [141].

En el caso de los exosomas secretados por la microglía, pueden tener roles neuro protectores como neurodegenerativos, dependiendo del contexto patológico [142, 143]. La microglía, como células inmunitarias exclusivas del sistema nervioso central (SNC), juega un papel crucial en diversos procesos fisiológicos cerebrales [144]. Cuando ocurre un accidente

cerebrovascular isquémico, la microglía se activa y puede polarizarse en dos fenotipos diferentes: el fenotipo M1o el fenotipo M2[145]. El estudio in vitro titulado "El miR-424-5p transportado por exosomas desde la microglía pre acondicionada isquémica media la lesión de las células endoteliales cerebrales a través de la regulación negativa de la vía FGF2/STAT3" explora cómo el micro ARN miR-424-5p, transportado en exosomas derivados de microglía activada por privación de oxígeno y glucosa (OGD), afecta a las células endoteliales cerebrales (BMEC) en un modelo de isquemia. Los exosomas de microglía activada por OGD exacerban el daño y la permeabilidad de las BMEC, lo que contribuye a la disfunción de la unidad neurovascular. La inhibición de miR-424-5p en los exosomas redujo significativamente este daño, mejorando la integridad celular y disminuyendo la permeabilidad. Por el contrario, la sobreexpresión de miR-424-5p empeoró la lesión y aumentó la permeabilidad de las BMEC. Para verificar estos efectos, se utilizaron ensayos in vitro de privación de oxígeno y glucosa (OGD) en BMEC, junto con análisis de mi ARN en exosomas, y ensayos de ganancia y pérdida de función para miR-424-5p. Los resultados también fueron validados en un modelo in vivo de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO), donde la inhibición de miR-424-5p redujo la disfunción neurológica y el daño endotelial. El estudio sugiere que la inhibición de miR-424-5p en exosomas de microglía tiene un efecto protector, disminuyendo el daño en las células endoteliales y mejorando la permeabilidad en condiciones de isquemia. En contraste, su sobreexpresión exagera el daño celular, subrayando el papel crítico de miR-424-5p en la regulación de la vía FGF2/STAT3 en la lesión isquémica [145].

El estudio in vivo titulado "Los exosomas derivados de la microglía M2 protegen al cerebro del ratón de la lesión por isquemia-reperusión a través del miR-124 exosomal" investiga el papel de los exosomas derivados de microglía M2 en la protección del cerebro tras una lesión isquémica. Los resultados mostraron que estos exosomas tienen un fuerte efecto neuro protector, reduciendo la apoptosis neuronal y disminuyendo el volumen del infarto cerebral en un modelo de isquemia cerebral en ratones. Además, los ratones tratados con los exosomas demostraron mejoras significativas en sus déficits conductuales tres días después del ataque isquémico. Sin embargo, cuando se inhibió el miR-124 en los exosomas, los efectos protectores disminuyeron considerablemente. La combinación de exosomas M2 con el inhibidor de USP14 restauró completamente los efectos neuro protectores. Los exosomas fueron administrados por vía intravenosa en el cerebro de los ratones inmediatamente después de inducir la isquemia mediante la oclusión de la arteria cerebral media. Los efectos se midieron a través de la evaluación del volumen del infarto, puntuaciones neurológicas y análisis de apoptosis neuronal. También se realizaron estudios mecanicistas para analizar los niveles de expresión de ARN y proteínas en neuronas y tejidos cerebrales. El estudio concluye que los exosomas derivados de la microglía M2, a través de la acción del miR-124, funcionan eficazmente para reducir el daño cerebral isquémico y promover la supervivencia neuronal, destacando su potencial terapéutico tanto en modelos in vitro como in vivo [137]. En resumen, la terapia exosómica tiene un potencial prometedor para el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico, con los exosomas derivados de la microglía M2 mostrando eficacia en la reducción del daño cerebral y la promoción de la supervivencia neuronal. La regulación precisa de miRNAs como miR-424-5p y miR-124 es crucial para maximizar los beneficios terapéuticos y minimizar los efectos adversos [137, 146].

En el estado de hipoxia los exosomas provenientes de células endoteliales cerebrales tiene un papel importante en la protección de las neuronas, y promueven el crecimiento axonal, por medio de la promoción del crecimiento celular, migración y detención de la apoptosis de las células nerviosas [147]. Un estudio *in vitro* “Los exosomas derivados de células endoteliales cerebrales inducen neuro plasticidad en ratas con lesión por isquemia / reperusión”. En este estudio *in vitro*, se comparó el efecto de exosomas derivados de células endoteliales cerebrales isquémicas (isCEC-exos) y no isquémicas (nCEC-exos) en el crecimiento axonal de neuronas corticales. Los isCEC-exos demostraron una eficacia superior en comparación con los nCEC-exos para promover el crecimiento axonal. Se utilizó un sistema de cultivo celular multi compartimental y análisis ultraestructurales para confirmar la internalización de los exosomas en los axones. El análisis de miARN y proteínas reveló que los isCEC-exos facilitan la recuperación axonal, mediado por cambios en micro ARN y proteínas relacionadas con la inhibición del crecimiento [147].

En estudios *in vivo* como “El miR-424-5p transportado por exósmosis desde la microglía pre acondicionada isquémica media la lesión de las células endoteliales cerebrales a través de la regulación negativa de la vía FGF2/STAT3”. Este estudio *in vivo* evaluó el impacto de los exosomas derivados de células endoteliales cerebrales (EC-Exo) en la recuperación post-ictus en un modelo de oclusión/reperusión de la arteria cerebral media (MCAO/R). Los resultados mostraron que los EC-Exo redujeron la tasa de falla de pie, mejoraron la marcha y enriquecieron las vías relacionadas con la transmisión sináptica y la plasticidad sináptica. El microARN-126-3p, presente en los exosomas, jugó un rol crucial en la protección neuronal y el crecimiento de neuritas. Estos efectos se reflejaron en mejoras en la función motora y la plasticidad sináptica [146]. En otro estudio *in vivo* “Mecanismo de reparación de la lesión cerebral isquémica por exosomas derivados de células progenitoras endoteliales”. Estudio *in vivo* examinó los efectos de los exosomas derivados de células progenitoras endoteliales (EPC) en un modelo de isquemia cerebral. Los resultados indicaron una reducción significativa en el tamaño del infarto cerebral, mejoras en la puntuación de déficits neurológicos y una disminución en la apoptosis celular. Además, se observó un aumento en la expresión de proteínas asociadas con la angiogénesis, como CD31 y VEGF. Los exosomas se inyectaron intraventricular mente, y los análisis confirmaron la eficacia de los exosomas en la promoción de la angiogénesis y la reducción de la apoptosis, mejorando la recuperación funcional [148].

Los estudios sobre células somáticas han sido fundamentales para comprender los mecanismos de reparación tisular y regeneración en el contexto del accidente cerebrovascular (ACV), ofreciendo valiosa información sobre las respuestas celulares ante el daño isquémico [60]. Sin embargo, a medida que se ha avanzado en la investigación, se ha reconocido que las células somáticas tienen limitaciones en su capacidad de regeneración a largo plazo y en su potencial para influir en el microambiente post-ACV [149]. En este sentido, las células madre mesenquimales (CMM) han emergido como una alternativa prometedora, no solo por su capacidad para diferenciarse en varios tipos celulares, sino también por su potente acción paracrina y su habilidad para secretar exosomas cargados con moléculas terapéuticas [11]. Estas características han impulsado una creciente atención hacia el potencial de las MSC en el tratamiento del ACV, abriendo nuevas vías de investigación que buscan maximizar los beneficios terapéuticos de estos enfoques celulares avanzados [13]. Un estudio sobre la recuperación funcional tras un accidente cerebrovascular, los exosomas

modificados por bioingeniería enriquecidos con el grupo miR-17-92 derivados de células estromales mesenquimales (CMM) demostraron tener un impacto significativo [149, 150].

En comparación con el grupo control que recibió liposomas, las ratas tratadas con estos exosomas presentaron una reducción considerable en el corriente umbral para la micro estimulación intracortical, lo que mejoró los movimientos de las extremidades. Además, se observó un aumento en la densidad de neuritas, mielina, y brotes axonales, tanto en el área límite isquémica como en la médula espinal desnervada. Esta mejora funcional parece estar relacionada con la activación de la vía PI3K/Akt/mTOR, mediada por la regulación negativa de PTEN, lo que favorece la remodelación axonal y la mielinización [151].

En línea con estos hallazgos se realizó un intento por demostrar que los exosomas de células estromales mesenquimales (MSC) median la transferencia de micro ARN 133b (miR-133b) para promover la recuperación neurológica tras un accidente cerebrovascular, se emplearon tecnologías de knockin y knockdown para ajustar los niveles de miR-133b en las MSC y sus exosomas [152]. Las ratas sometidas a oclusión de la arteria cerebral media (MCAo) y tratadas con diferentes variantes de CMM mostraron resultados interesantes. Las que recibieron MSC sin modificación ya mejoraron la recuperación funcional y la plasticidad axonal, pero estas mejoras fueron aún más notables con el tratamiento de MSC miR-133b (+) [152, 153]. En contraste, los beneficios disminuyeron con el tratamiento de CMM miR-133b (-). Además, el nivel de miR-133b en los exosomas del líquido cefalorraquídeo reflejó estos cambios, sugiriendo que los exosomas liberados por las CMM transfieren efectivamente miR-133b a astrocitos y neuronas, modulando la expresión de genes clave y favoreciendo la remodelación neuronal [154]. Recientes estudios como el de aplicación de vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales en el tratamiento del ictus: estudio de bio distribución y micro ARN y el que habla sobre los exosomas de células progenitoras endoteliales modificadas con miRNA-126 alivian la lesión cerebral y promueven la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular comparan el uso de vesículas extracelulares y exosomas en modelos animales para tratar el ictus isquémico. En el primer estudio, las vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales no solo demostraron estimular la neurogénesis y la angiogénesis, sino que además ofrecieron una ventaja sobre las MSC al evitar su acumulación en órganos como los pulmones y el hígado [155]. Además, se identificaron los micro ARN miR-184 y miR-210 como factores clave en la promoción de estos procesos regenerativos [156]. En cambio, en el segundo estudio, los exosomas derivados de células progenitoras endoteliales (EPC-EX), modificados con miR-126, mostraron un efecto más potente que los exosomas no modificados al reducir el tamaño del infarto, aumentar la microvasculatura y mejorar la recuperación neurológica [157]. Aquí, el enriquecimiento con miR-126 favoreció la angiogénesis y la neurogénesis, acompañado por una regulación positiva de VEGFR2 y una reducción de la caspasa-3, indicando un efecto protector contra el daño cerebral [158]. Aunque ambos estudios destacan el papel terapéutico de estas vesículas y exosomas, el primero se centra más en la bio distribución y los mi ARN clave para la regeneración, mientras que el segundo profundiza en los beneficios del miR-126 en la recuperación funcional, especialmente en modelos diabéticos [158].

Por otro lado, un estudio reciente ha demostrado que los exosomas aislados de NSC (NSCs-Ex) tienen una notable eficacia en la inhibición de la apoptosis neuronal y en la promoción

de la proliferación de células SH-SY5Y, tanto en condiciones normales como en escenarios de privación de oxígeno y glucosa (OGD). Los estudios realizados in vivo respaldan estos hallazgos, evidenciando que los NSCs-Ex no solo reducen de manera significativa el área de infarto en modelos de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO), sino que también suprimen la apoptosis en las neuronas [159]. Un descubrimiento clave de esta investigación es el miR-150-3p, identificado como el micro ARN más abundantemente expresado en los exosomas en comparación con las NSC originales [155]. El uso de un imitador de miR-150-3p ha demostrado efectos neuro protectores, mientras que su inhibidor exacerbó la lesión neuronal, tanto in vitro como in vivo. Además, se identificó a CASP2 como un objetivo de miR-150-3p, lo que sugiere que los NSCs-Ex facilitan la neuro protección mediante la transferencia de este micro ARN, dirigiéndose a CASP2 y, en consecuencia, inhibiendo la apoptosis neuronal tras una lesión cerebral [160]. Estos hallazgos destacan el potencial terapéutico de los exosomas derivados de NSC en el tratamiento de lesiones cerebrales, abriendo nuevas vías para la investigación en terapias regenerativas. Se determinó en un hallazgo reciente que la expresión de miR-124 mediante PCR en tiempo real tenía un impacto en el área de infarto en un modelo de ratones con oclusión de la arteria cerebral media (MCAO). Además, se investigó la influencia de miR-124 en la apoptosis y la muerte neuronal inducida por privación de oxígeno y glucosa (OGD) mediante técnicas de inmunofluorescencia. El análisis de las proteínas relacionadas con la apoptosis se llevó a cabo a través de Western blot [161].

Los resultados revelaron que los niveles de miR-124 aumentaron significativamente en la penumbra isquémica en comparación con las áreas no isquémicas de los ratones con MCAO. Asimismo, el tejido cerebral de ratas espontáneamente hipertensas propensas a accidentes cerebrovasculares (SHR-SP) mostró una expresión más alta de miR-124 en comparación con ratas espontáneamente hipertensas (SHR) [162]. Este patrón se observó también in vitro, donde el tratamiento con OGD incrementó notablemente los niveles de miR-124 en neuronas primarias. En el contexto in vivo, la sobreexpresión de miR-124 condujo a una disminución significativa en el área de infarto, mientras que su supresión resultó en un aumento significativo [163]. En condiciones in vitro, la ganancia o pérdida de función de miR-124 se tradujo en una reducción o aumento de la apoptosis y la muerte neuronal inducida por OGD, correlacionándose con variaciones en las proteínas anti apoptóticas Bcl-2 y Bcl-xl. Estos hallazgos sugieren que miR-124 desempeña un papel crucial en la regulación de la apoptosis neuronal y puede ser un objetivo potencial para estrategias terapéuticas en el tratamiento de lesiones cerebrales [164]. Recientemente, se ha comenzado a explorar la aplicación clínica de los exosomas derivados de células madre mesenquimales (CMM) en humanos, lo que podría cambiar la percepción sobre su viabilidad terapéutica. Un ensayo clínico piloto aleatorizado evaluó la seguridad de la inyección intraparenquimatosa de exosomas de placenta alogénica en pacientes sometidos a craneotomía descompresiva debido a un infarto maligno de la arteria cerebral media (mMCAI) [89]. Este tipo de infarto es una causa significativa de alta mortalidad y discapacidad en adultos. Se incluyeron cinco pacientes con una edad promedio de 62 años, y se realizó un seguimiento de 3 meses. A pesar de que los pacientes presentaban un índice de puntuación NIHSS medio de $17,6 \pm 5,02$, no se reportaron efectos adversos graves, como hematomas o edema en el lugar de la inyección [89]. La inyección se llevó a cabo con un volumen de 2 ml de exosomas a una concentración de 356 $\mu\text{g/ml}$, inyectándose a 2 cm de profundidad en la zona de penumbra isquémica del lóbulo frontal. Las células madre mesenquimales se cultivaron a partir de placenta fresca, y los exosomas se

almacenaron a -20 °C antes de su uso [89]. El estudio, aprobado por el comité de ética de la Universidad de Ciencias Médicas Shahid Beheshti en Irán, se centró en la seguridad más que en la efectividad, aunque se observaron algunas mejoras funcionales en la escala de Rankin modificada en cuatro de los cinco pacientes tres meses después del accidente cerebrovascular [89]. Estos hallazgos sugieren que la inyección de MSC-Exo puede ser segura para el tratamiento de accidentes cerebrovasculares isquémicos agudos [9]. Este estudio es un paso importante en la investigación clínica sobre el uso de exosomas, respaldando su potencial terapéutico en humanos, un área que previamente carecía de evidencia clínica sólida. A medida que se continúe investigando, estos exosomas podrían convertirse en un tratamiento de apoyo y preventivo en pacientes que sufren de lesiones isquémicas.

TABLA III.
APLICACIÓN DE LA TERAPIA A PARTIR DE LAS CÉLULAS SOMÁTICAS

Tipo de estudio	Fuente de exosomas	Efecto terapéutico	Método de evaluación	Ref.
In vitro	Astrocitos	Mostro efecto neuro protector, atenuación de la muerte neuronal y la apoptosis.	Se realizó CCK-8 para estimar la viabilidad celular y Secuenciación de microARN (miARN) de alto rendimiento.	[139]
		Los exosomas GJA1-20 k fueron absorbidos por la neurona y regularon negativamente la tasa de apoptosis y aumentaron la función mitocondrial para promover la recuperación neuronal.	Los resultados se evaluaron mediante tinción con TTC y secciones de tejido dañado del modelo de TCE de rata.	[140]
In vivo	Astrocitos	Inhibió la apoptosis, mejoro el daño neuronal mediante la regulación de la autofagia.	Para evaluar la apoptosis de las neuronas, se observó el marcado y la captación de exosomas por las neuronas mediante microscopía láser confocal, la vitalidad y la apoptosis de las células HT-22 mediante el ensayo Cell Counting Kit-8 (CCK-8) y la tinción Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL). Para investigar el efecto de AS-Exo en la autofagia de las neuronas OGD, se analizó mediante Western blot.	[141]
In vitro	Microglía	Agravación del daño celular. Los exosomas derivados de la microglía activada por privación de oxígeno y glucosa (OGD) empeoraron la viabilidad celular e integridad de las células endoteliales microvasculares cerebrales (BMEC), lo que condujo a una mayor pérdida de formación	Evaluación de Sobreexpresión e inhibición de miR-424-5p para determinar su impacto en la viabilidad celular y la permeabilidad. Ensayo de actividad dual de luciferasa para confirmar que miR-424-5p regula la vía de señalización FGF2/STAT3, identificando cómo miR-424-5p interactúa con esta vía en las células endoteliales. Técnica RIP (RNA Immunoprecipitation) para verificar la interacción entre miR-424-5p y las proteínas objetivo, como STAT3, proporcionando evidencia mecanicista del impacto de miR-424-5p en la vía de señalización.	[146]
		Reducción de la apoptosis neuronal, disminución del volumen del infarto cerebral	Para la evaluación del volumen de infarto se realizó tiñendo las secciones cerebrales con solución de violeta de cresilo y calculando la proporción de tinción en los hemisferios ipsilateral y contralateral utilizando ImageJ. Las evaluaciones neurológicas utilizaron la escala de gravedad neurológica modificada (mNSS), que es una escala compuesta de pruebas motoras, reflejas y de equilibrio.	[137]
In vivo	Microglía M2			
In vitro	Células endoteliales	Facilita el crecimiento axonal.	Evaluación de crecimiento axonal, análisis ultraestructural con microcopia, evaluación mecánica y bloqueo del transporte axonal.	[165]
In vivo	Células endoteliales	Regulación de la plasticidad sináptica. Aumento de la longitud de las dendritas, protección a las células PC12 de la apoptosis, aumento del	Evaluación de la función motora con tasa de falla de pie y análisis de la marcha. La evaluación de la secuencia de genes utilizando el análisis de GO (Gene Ontology) y KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) para	[147]

	crecimiento de las neuronas, promoción de la recuperación motora funcional en el modelo MCAO/R.	determinar el enriquecimiento en términos biológicos relacionados con la plasticidad sináptica, la regulación de la transmisión sináptica y el ciclo de vesículas sinápticas, también se realizó Análisis de microARN. Evaluación estructural consistió en medición de sinapsina-I y longitud de dendritas.	
	Frena la apoptosis y promueve la angiogénesis.	Los métodos de evaluación para el área de infarto fue medida por tinción TTC, La Puntuaciones neurológicas (evaluación conductual), apoptosis (medida por tinción TUNEL), examen patológico (tinción H&E), Angiogénesis (expresión de CD31 y VEGF mediante inmunofluorescencia y RT-qPCR). señalización molecular (niveles de Wnt3a, GSK-3 β y p-GSK-3 β mediante western blot).	[148]

TABLA IV.
APLICACIÓN DE LA TERAPIA EXOSOMICA A PARTIR DE EXOSOMAS DE CÉLULAS MADRE

Tipo de estudio	Fuente de exosomas	Efecto terapéutico	Método de evaluación	Ref.
In vitro	CMM	Promueve la angiogénesis	Análisis de proliferación y migración celular mediante ensayos MTT y de rasgado, respectivamente, evaluación de formación de tubos en ECs para medir su capacidad de angiogénesis, análisis de expresión de proteínas relevantes mediante Western blotting y PCR en tiempo real para cuantificar la expresión de miR-126 y genes relacionados.	[71]
In vivo	CMM	Aumento la extensión axonal y la mielinización axonal.	Pruebas de remoción de adhesivos y puntuación de severidad neurológica modificada (mNSS), Estimulación cortical intracortical (ICMS) para medir el umbral de movimiento en extremidades, trazado corticoespinal: Inyección de BDA para visualizar fibras axonales en el cerebro y médula espinal y tinción de Luxol Fast Blue para mielina y anticuerpos para GAP-43 en tejido cerebral.	[151]
		Remodelación neuronal	Pruebas conductuales para medir mejoras en la capacidad motora, y la plasticidad axonal y remodelación de neuritas en la zona límite isquémica para observar cambios en la estructura neuronal. Se cuantificó el nivel de miR-133b en los exosomas del líquido cefalorraquídeo para determinar la transferencia del microARN. Además, se utilizó proteína fluorescente para rastrear la liberación y transferencia de exosomas a astrocitos y neuronas. Finalmente, se analizó la expresión de genes diana específicos para miR-133b para evaluar el impacto de la transferencia de miR-133b en la regulación genética post-ACV.	[149]
		Neurogénesis, angiogénesis	Se utilizaron varios métodos de evaluación: la biodistribución de las vesículas extracelulares (MSC-EV) se analizó mediante marcaje fluorescente y mediciones en el hemisferio infartado, el pulmón y el hígado. Se evaluó la eficacia terapéutica observando mejoras conductuales en ratas tratadas con MSC-EV en comparación con un grupo control. Además, se examinaron los efectos de MSC-EV en la neurogénesis y la angiogénesis, y se identificaron los microARN esenciales (miARN-184 y miARN-210).	[166]
		Neurogénesis, angiogénesis, anti apoptosis.	Se midió el volumen del infarto, el flujo sanguíneo cerebral, la densidad microvascular cerebral y se realizaron análisis de neurogénesis y angiogénesis mediante técnicas como la inmunofluorescencia y el TUNEL. También se evaluaron los déficits neurológicos mediante pruebas de conducta como la prueba de esquina y de retirada adhesiva.	[120]
In vivo e in vitro	CMM	Protección de la barrera hematoencefálica, antiinflamatorio y anti apoptosis.	Permeabilidad de la barrera hematoencefálica con el tinte Evans Blue, apoptosis mediante ensayo TUNEL, área de infarto con coloración TTC, expresión de proteínas por Western blotting, expresión de miR-21-3p con RT2-PCR, producción de citocinas mediante ELISA, inmunofluorescencia para marcadores específicos, interacción miR-21-3p/MAT2B con ensayo de doble luciferasa, modelo de hipoxia/reoxigenación in vitro , y citometría de flujo para apoptosis celular.	[121]

	Mostro efecto de anti apoptosis	In vivo: se empleó el modelo de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO) en ratas para evaluar la reducción del daño cerebral. In vitro: se realizaron co-culturas de neuronas con ASCs o ASC-EVs, y se emplearon ensayos de viabilidad neuronal y apoptosis, además de análisis de expresión génica y proteica mediante RT-qPCR y Western blot para evaluar el impacto de miRNA-22-3p y sus efectos sobre KDM6B y el eje BMP2/BMF.	[74]
In vitro e In vivo	Células madre neuronales	Suprimió la apoptosis neuronal, reducción del área de infarto del modelo de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO). Reducción del volumen de infarto, efecto antiinflamatorio, Regulación de Factores Neurotróficos, que son esenciales para la supervivencia y la recuperación de las neuronas.	[75] [106]
		Análisis de la apoptosis con el kit de tinción, ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH) para indicar el daño celular. Tinción con TTC para evaluación del volumen del infarto en cerebros de ratas. Aislamiento de ARN, PCR cuantitativa para medir la expresión de genes proinflamatorios, detección de Proteínas con Análisis de proteínas en células y tejidos cerebrales mediante Western blot.	

2.2.4 Exosomas modificados por bioingeniería

Los exosomas son vesículas ampliamente estudiadas, los hay nativos que son vesículas naturales secretadas por las células que contienen diversas moléculas bioactivas [23]. Aquí podemos encontrar proteínas, lípidos y ARN, los mismos facilitan la señalización celular y la respuesta a los factores de estrés, incluidas las enfermedades isquémicas [88], [89].

Las células terapéuticas se derivan de varias fuentes, incluidas las células madre pluripotentes (PSC), las células madre neurales (NSC), las células madre mesenquimales (MSC), las células madre de la sangre del cordón umbilical (UCBSC) y las células madre derivadas de tejido adiposo (ADSC).[90], [91], [92].

De los diversos tipos de células que existe las células madres encabezan los estudios realizados en la actualidad, esto debido a su capacidad para diferenciarse en células sanas, gracias a su efecto paracrino en la célula huésped [93]. Los exosomas nativos median la secreción de desechos celulares al líquido extracelular y lo transmiten entre las células cerebrales productoras y objetivo/receptoras [93]. En un estudio se realizó un modelo de isquemia inducida por glutamato, y los exosomas derivados de músculo liso aórtico humano protegieron los tejidos cerebrales activando la liberación de citocinas y factores de crecimiento, principalmente mediante la activación de la vía fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/Akt se obtuvo un efecto neuro protector sobre la lesión por isquemia hipóxica en ratones recién nacidos, y este resultado se debió en parte a una disminución en la apoptosis neuronal y la neuro inflamación[94]. La integración de exosomas con biomateriales ha sido explorada para mejorar su estabilidad y biodisponibilidad en el tratamiento de stroke[95].

Exosomas encapsulados en hidrogeles o polímeros biocompatibles pueden ser liberados de manera controlada en las áreas afectadas por la isquemia cerebral, proporcionando un suministro sostenido de factores neuro protectores como el BDNF factor neurotrófico derivado del cerebro o microARNs antiinflamatorios [34]. Estos sistemas híbridos mejoran la

capacidad de los exosomas para promover la neurogénesis y reducir el daño post-isquémico, maximizando el tiempo durante el cual los exosomas pueden actuar en el cerebro afectado [96]. El uso de nanopartículas dentro de los exosomas ha permitido desarrollar terapias dirigidas altamente efectivas para el stroke [97], [98]. Los exosomas cargados con nanopartículas de oro o plata, por ejemplo, han sido modificados para mejorar la visualización por imagenología (como la resonancia magnética) y aumentar la entrega de terapias fototérmicas o fotodinámicas en el tejido cerebral afectado. Además, las nanopartículas pueden potenciar la capacidad de los exosomas para atravesar la barrera hematoencefálica, facilitando la entrega de moléculas terapéuticas directamente a las neuronas lesionadas [97], [98]. En modelos experimentales de accidente cerebrovascular, se han utilizado nanopartículas magnéticas incorporadas en exosomas para dirigir terapias regenerativas mediante un campo magnético externo. Esto ha permitido una localización precisa de los exosomas en las áreas dañadas del cerebro, facilitando la regeneración tisular y la reducción de la inflamación cerebral. [99]

Los exosomas modificados, por otro lado, están diseñados para mejorar su eficacia terapéutica, estas modificaciones incluyen el uso de química click, la combinación con biomateriales y nanopartículas, con el objetivo de mejorar su estabilidad, biodisponibilidad y especificidad en el tratamiento de diversas enfermedades, incluidas las del sistema nervioso central, el cáncer y las enfermedades inflamatorias [100]. Por ejemplo, los exosomas se pueden adaptar para mejorar su capacidad de selección, como los diseñados para administrar específicamente agentes antiapoptosis a la microglía M2, modulando así las respuestas inflamatorias y promoviendo la supervivencia neuronal [101]. Además, se ha demostrado que los exosomas derivados de células madre pluripotentes portan miARN específicos que inhiben proteínas perjudiciales como Asic1, lo que destaca aún más su potencial de neuroprotección durante los eventos isquémicos [102]. Actualmente existen técnicas como el click Chemistry que es ampliamente utilizada para modificar la superficie de los exosomas debido a su alta eficiencia y especificidad. Este enfoque permite la conjugación de moléculas bioactivas (como anticuerpos, péptidos o fluoróforos) a la membrana del exosoma sin alterar sus propiedades biofísicas ni su capacidad de comunicación intercelular [95], [103]. En terapias antitumorales, por ejemplo, los exosomas modificados con ligandos específicos mediante química click pueden dirigirse selectivamente a las células cancerosas, mejorando la entrega de fármacos quimioterapéuticos o moléculas de ARN de interferencia (siRNA) [95], [103]. Los investigadores se están centrando en la bioingeniería de los exosomas para aumentar la concentración en los sitios objetivo, el tiempo de circulación y la vida media en el cuerpo. Se deben cumplir al menos dos condiciones al diseñar exosomas para apuntar al cerebro: (I) BioEng-Exo no debe interactuar con las barreras fisiológicas, lo que podría limitar su difusión, excepto la membrana plasmática de la célula objetivo, y (II) se deben diseñar exosomas para apuntar preferentemente a tipos de células relevantes para la patogénesis de la enfermedad [111]. Es de nuestro interés la glicoproteína (RVG) se utiliza para diseñar exosomas específicamente para enfermedades del SNC [105].

La bioingeniería directa de exosomas se realiza después de aislar y limpiar los exosomas del líquido ordinario de una célula [106]. En los estudios realizados sobre Bio-Eng Exo destacan

el de exosomas dorados quien con nanopartículas de oro mediante la incubación de GNP con exosomas y recolección de exosomas, lograron demostrar las capacidades de migración y localización de los exosomas en el cerebro [105], [106]. En general, tanto los exosomas nativos como los modificados representan una plataforma versátil para terapias innovadoras para el ictus, aunque persisten los desafíos en cuanto a las técnicas de estandarización y aislamiento [89].

CAPÍTULO III

3.0 Marco Metodológico

3.1 Tipo y diseño de la investigación

En función con el objetivo de la investigación de analizar la terapia exosómica una estrategia terapéutica en isquemias cerebrales, se procede a realizar una búsqueda en bases de datos científicas especializadas como PubMed y Google Scholar, utilizando las siguientes palabras clave: exosome, ischemic stroke, therapy, donde se identificaron 16,337 resultados relacionados. Posteriormente se aplicaron los siguientes criterios de inclusión como estudios in vivo e in vitro, accidente cerebrovascular isquémico, isquemia cerebral o hipoxia cerebral, tratamientos con exosomas derivados de células madre y neuronales, métodos de aislamiento de exosomas y que hayan sido publicados entre el 2019 y 2024. Los criterios de exclusión aplicados fueron: estudios en humanos, modelos hemorrágicos cerebrales, estudios presentados en forma de reseña, resúmenes de congresos, cartas y resúmenes, textos completos no en inglés y estudios que investigan el efecto de las vesículas extracelulares en si conjunto o tipos de vesículas extracelulares que no sean los exosomas. Una vez aplicado los criterios de inclusión y exclusión los resultados se redujeron a 628, para la selección de los estudios que se tomaron en cuenta se revisaron los abstract, la rigurosidad de los estudios y que el diseño del estudio aportara al objeto de esta investigación, dando como resultado final la selección de 200 referencias para el estudio.

CAPÍTULO IV

4.0 Análisis e interpretación de los resultados

La terapia exosómica se presenta como una estrategia terapéutica innovadora y prometedora para abordar la isquemia cerebral, una de las principales causas de muerte y discapacidad a nivel mundial [107]. A medida que la investigación avanza, se hace evidente que los exosomas, derivados de diversas fuentes celulares, poseen un potencial significativo para reparar y regenerar el tejido cerebral dañado. Estas pequeñas vesículas extracelulares son capaces de transportar una variedad de moléculas bioactivas, incluyendo proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, que pueden desencadenar procesos de señalización cruciales para la neuro protección y la recuperación funcional [108], [109]. Las terapias actuales aprobadas por la FDA para el tratamiento del accidente cerebrovascular (ACV), destacando la trombosis y la trombectomía como los enfoques más utilizados. [110] Estas intervenciones son fundamentales en la atención aguda del ACV isquémico, ya que buscan restaurar el flujo sanguíneo al cerebro y minimizar el daño neuronal. Sin embargo, a pesar de su eficacia, estas

terapias tienen limitaciones, como el tiempo crítico para su aplicación y la posibilidad de complicaciones asociadas. [111], [112]

Explorar nuevas estrategias terapéuticas, como la terapia exosómica, podrían complementar o mejorar los resultados de los tratamientos actuales. Las técnicas más comunes para el aislamiento de exosomas, señalando que la ultracentrifugación es la más utilizada por excelencia. Esta técnica, aunque efectiva, presenta desventajas, como la necesidad de equipos especializados y el tiempo requerido para el proceso [113] La estandarización de los métodos de aislamiento es crucial para garantizar la pureza y la calidad de los exosomas, lo que a su vez influye en su eficacia terapéutica. La optimización de estos procesos es fundamental para maximizar los beneficios de los exosomas en aplicaciones clínicas [74].

El papel de los exosomas en el sistema nervioso central (SNC) se ha destacado como crucial tanto en condiciones fisiológicas como patológicas [18]. En situaciones normales, los exosomas facilitan la comunicación intercelular y la homeostasis cerebral, siendo mediadores de procesos como la plasticidad sináptica y la reparación celular[1] No obstante, en condiciones patológicas como el accidente cerebrovascular (ACV) o enfermedades neurodegenerativas, la liberación de exosomas se ve alterada, lo que contribuye a la disrupción de la comunicación intercelular y al agravamiento del daño neuronal [115]. La investigación emergente sugiere que los exosomas podrían tener un doble papel: por un lado, como biomarcadores clave de la progresión de enfermedades, detectables en fluidos periféricos, y por otro, como vehículos potenciales para terapias dirigidas, gracias a su capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica (BHE)[18]. En el contexto del ACV, los exosomas liberados por células cerebrales dañadas pueden actuar sobre distintos procesos de reparación, como la angiogénesis y la neurogénesis, contribuyendo a la restauración funcional del cerebro [116], [117]. Estos hallazgos resaltan la promesa de los exosomas como herramientas tanto diagnósticas como terapéuticas, lo que podría abrir nuevas vías para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y accidentes cerebrovasculares [118].

A pesar de los resultados alentadores obtenidos hasta ahora, la investigación en este campo aún se encuentra en sus etapas iniciales. Uno de los principales desafíos es la estandarización de los métodos de aislamiento y caracterización de los exosomas. La similitud en las propiedades físicas de los exosomas y otros tipos de vesículas extracelulares, como las micro vesículas, complica la homogenización de las metodologías de aislamiento, lo que puede afectar la pureza y el rendimiento de los exosomas obtenidos. [74]. [119] La optimización de estos procesos es fundamental para garantizar la eficacia terapéutica de los exosomas en aplicaciones clínicas. Además, la evaluación preclínica en modelos animales más variados es esencial para traducir los hallazgos de laboratorio a la práctica clínica [120]. La investigación futura debe centrarse en la optimización de las vías de administración de exosomas, ya que la biodisponibilidad y la distribución en el sitio de lesión son factores críticos que influyen en su efectividad. La canulación de la vena femoral, por ejemplo, se ha identificado como una vía de acceso menos compleja que la inyección en la carótida, lo que podría facilitar la distribución de los exosomas a través del sistema circulatorio [113] Los estudios *in vitro* e *in vivo*, emerge claramente el papel crucial de los exosomas como vehículos terapéuticos en la protección y recuperación neuronal tras un accidente cerebrovascular isquémico [121]. Los diferentes estudios revisados destacan que los exosomas derivados de diversas fuentes celulares (astrocitos, microglía, células endoteliales y células madre mesenquimales) no solo

transportan microARN con potencial neuro protector, sino que también regulan mecanismos celulares críticos como la apoptosis, la autofagia, la inflamación y la plasticidad sináptica [38].

Un tema recurrente es la capacidad de los exosomas para actuar en diferentes contextos patológicos, modulando rutas moleculares clave [47]. Por ejemplo, los exosomas de astrocitos pre acondicionados con privación de oxígeno y glucosa, que contienen miR-92b-3p, muestran un claro efecto protector sobre las neuronas expuestas a la isquemia, mientras que los exosomas con GJA1-20 k favorecen la recuperación mitocondrial y neuronal tras una lesión cerebral traumática. Este patrón de acción refleja la importancia de los exosomas en facilitar la recuperación funcional, ya sea mediante la inhibición de la apoptosis o la promoción de la viabilidad celular [51].

La contribución de los exosomas de microglía M2, que actúan a través de miR-124, también subraya el potencial terapéutico de estas vesículas en la reducción del daño isquémico, modulando tanto la inflamación como la apoptosis neuronal [48]. Asimismo, el miR-424-5p en los exosomas derivados de microglía activada por OGD representa una regulación crítica en la respuesta neurovascular, con su inhibición reduciendo significativamente el daño endotelial. Este hallazgo refuerza el valor de los exosomas en la reparación neurovascular y la neuro protección [38]. Los exosomas derivados de células endoteliales y progenitoras endoteliales juegan un papel igualmente destacado, al promover tanto la neuro plasticidad como la angiogénesis. La evidencia presentada muestra que el enriquecimiento con miR-126-3p o la modificación bioingenieril de los exosomas potencia su capacidad para reducir el tamaño del infarto cerebral, mejorar la vasculatura cerebral y acelerar la recuperación funcional. Estos avances sugieren que la manipulación precisa de los microARN en los exosomas puede ser clave para optimizar los efectos terapéuticos en el contexto de un accidente cerebrovascular [65].

Finalmente, los estudios que involucran células madre mesenquimales (MSC) ofrecen una perspectiva particularmente prometedora. Los exosomas enriquecidos con el grupo miR-17-92 o miR-133b demuestran un impacto significativo en la remodelación axonal, la mielinización y la recuperación motora, superando incluso a los tratamientos convencionales como los liposomas. Esto sugiere que los exosomas derivados de MSC podrían ofrecer una solución superior en términos de bio distribución y seguridad, evitando los riesgos asociados con la acumulación de células madre en órganos como los pulmones o el hígado [56]. La aplicación clínica de exosomas derivados de células madre mesenquimales (CMM) en humanos ha mostrado resultados prometedores, especialmente en estudios piloto sobre su seguridad en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico.[72] Un ensayo clínico reciente evaluó la inyección intraparenquimatosa de exosomas en pacientes con infarto maligno de la arteria cerebral media, observando mejoras funcionales sin efectos adversos graves. Este estudio respalda el potencial terapéutico de los exosomas en la recuperación post-ACV [72].

En conjunto, estos hallazgos subrayan el potencial de los exosomas en la medicina regenerativa, destacando la necesidad de avanzar hacia estudios clínicos más amplios que evalúen la seguridad y eficacia en humanos. Las futuras investigaciones deberán centrarse en la optimización de técnicas de bioingeniería para mejorar la selectividad y la eficiencia de los exosomas, así como en la caracterización de las interacciones específicas entre los microARN y las rutas moleculares implicadas en la recuperación post-ictus. A medida que se desarrollen técnicas de bioingeniería para mejorar la estabilidad y la capacidad de focalización de los exosomas, es probable que se superen muchas de las limitaciones actuales, como la baja concentración en el sitio de lesión y la rápida eliminación de los exosomas del organismo.

Esto podría abrir nuevas oportunidades para el uso de exosomas en el tratamiento de otras condiciones neurológicas, además de la isquemia cerebral.[122] Aunque la terapia exosómica para el tratamiento de la isquemia cerebral está en una fase de desarrollo, los resultados preliminares son prometedores. Con una mejor comprensión de los mecanismos de acción y la optimización de las técnicas de aislamiento y administración, los exosomas podrían convertirse en una herramienta terapéutica clave en la lucha contra el accidente cerebrovascular, ofreciendo nuevas esperanzas para la recuperación neurológica de los pacientes

CONCLUSIONES

Según la investigación realizada, la terapia con exosomas como estrategia para tratar el accidente cerebro vascular isquémico presenta un enfoque prometedor, en un campo en el que las opciones actuales son limitadas, pero aún enfrenta desafíos significativos para su implementación clínica efectiva. Los exosomas, en especial los derivados de células madre mesenquimales, han demostrado potencial para reducir la inflamación, reparar el daño neural y promover la regeneración tisular en estudios preclínicos y clínicos iniciales. Un ensayo clínicopiloto reciente han mostrado resultados alentadores en términos de seguridad, con algunas mejoras funcionales observadas en pacientes. Esto sugiere que los exosomas podrían convertirse en una herramienta terapéutica clave para abordar el daño neurológico causado por el ACV.

A pesar del optimismo generado por los resultados iniciales, la implementación clínica de la terapia exosómica aún enfrenta varios retos. Entre ellos se encuentran la necesidad de una mayor comprensión de los mecanismos moleculares implicados, la estandarización de los métodos de aislamiento y caracterización de los exosomas, y la optimización de las vías de administración, ya que métodos invasivos como la inyección intracerebral podrían no ser viables a gran escala en un entorno clínico. Además, las oportunidades de investigación se centran en labioingeniería de exosomas para mejorar su especificidad y eficacia, así como en la exploración de combinaciones con otras terapias emergentes para potenciar los resultados. El avance hacia estudios más amplios y ensayos clínicos robustos será esencial para confirmar su eficacia y establecer protocolos terapéuticos estándar. Con el tiempo y la superación de estos desafíos, la terapia exosómica podría revolucionar el tratamiento del ACV, ofreciendo nuevas esperanzas para la recuperación de los pacientes afectados por esta condición devastadora.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] E. J. Benjamin *et al.*, "Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association," *Circulation*, vol. 139, no. 10, pp. e56-e528, 2019/3// 2019, doi: 10.1161/CIR.0000000000000659.
- [2] C. J. Cunningham, R. Wong, J. Barrington, S. Tamburrano, E. Pinteaux, and S. M. Allan, "Systemic conditioned medium treatment from interleukin-1 primed mesenchymal stem cells promotes recovery after stroke," *Stem cell research & therapy*, vol. 11, no. 1, 2020/1// 2020, doi: 10.1186/S13287-020-1560-Y.
- [3] F. Herpich and F. Rincon, "Management of Acute Ischemic Stroke," *Critical care medicine*, vol. 48, no. 11, pp. 1654-1663, 2020/11// 2020, doi: 10.1097/CCM.0000000000004597.
- [4] A. I. Qureshi *et al.*, "Acute Ischemic Stroke and COVID-19: An Analysis of 27 676 Patients," *Stroke*, vol. 52, no. 3, pp. 905-912, 2021/3// 2021, doi: 10.1161/STROKEAHA.120.031786.
- [5] K. B. Kovács, V. Bencs, L. Hudák, L. Oláh, and L. Csiba, "Hemorrhagic Transformation of Ischemic Strokes," *International journal of molecular sciences*, vol. 24, no. 18, 2023/9// 2023, doi: 10.3390/IJMS241814067.
- [6] A. Sarraj *et al.*, "Trial of Endovascular Thrombectomy for Large Ischemic Strokes," *New England Journal of Medicine*, vol. 388, no. 14, pp. 1259-1271, 2023/4// 2023, doi: 10.1056/NEJMOA2214403/SUPPL_FILE/NEJMOA2214403_DATA-SHARING.PDF.
- [7] Q. Ouyang *et al.*, "Meta-Analysis of the Safety and Efficacy of Stem Cell Therapies for Ischemic Stroke in Preclinical and Clinical Studies," *Stem cells and development*, vol. 28, no. 8, pp. 497-514, 2019/4// 2019, doi: 10.1089/SCD.2018.0218.
- [8] L. Otero-Ortega *et al.*, "Role of Exosomes as a Treatment and Potential Biomarker for Stroke," *Translational stroke research*, vol. 10, no. 3, pp. 241-249, 2019/6// 2019, doi: 10.1007/S12975-018-0654-7.
- [9] Z. G. Zhang, B. Buller, and M. Chopp, "Exosomes - beyond stem cells for restorative therapy in stroke and neurological injury," *Nature reviews. Neurology*, vol. 15, no. 4, pp. 193-203, 2019/4// 2019, doi: 10.1038/S41582-018-0126-4.
- [10] L. Jiang, W. Chen, J. Ye, and Y. Wang, "Potential Role of Exosomes in Ischemic Stroke Treatment," *Biomolecules*, vol. 12, no. 1, 2022/1// 2022, doi: 10.3390/BIOM12010115.
- [11] P. Abnave and E. Ghigo, "Role of the immune system in regeneration and its dynamic interplay with adult stem cells," *Seminars in cell & developmental biology*, vol. 87, pp. 160-168, 2019/3// 2019, doi: 10.1016/J.SEMCDB.2018.04.002.
- [12] L. Dehghani *et al.*, "Stem Cell-Derived Exosomes as Treatment for Stroke: a Systematic Review," in *Stem Cell Reviews and Reports* vol. 17, ed: Springer, 2021, pp. 428-438.
- [13] M. M. Wang, Y. S. Feng, Z. X. Tan, Y. Xing, F. Dong, and F. Zhang, "The role of exosomes in stroke," *Molecular biology reports*, vol. 47, no. 8, pp. 6217-6228, 2020/8// 2020, doi: 10.1007/S11033-020-05569-2.
- [14] H. MN *et al.*, "Potential Use of Exosomes as Diagnostic Biomarkers and in Targeted Drug Delivery: Progress in Clinical and Preclinical Applications - PubMed," *ACS biomaterials science & engineering*, vol. 7, no. 6, 06/14/2021, doi: 10.1021/acsbiomaterials.1c00217.
- [15] H. Khan, J. J. Pan, Y. Li, Z. Zhang, and G. Y. Yang, "Native and Bioengineered Exosomes for Ischemic Stroke Therapy," in *Frontiers in Cell and Developmental Biology* vol. 9, ed: Frontiers MediaS.A., 2021.
- [16] Y. Xiong, A. K. Wakhloo, and M. Fisher, "Advances in Acute Ischemic Stroke Therapy," *Circulation research*, vol. 130, no. 8, pp. 1230-1251, 2022/4// 2022, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319948.
- [17] E. H. Lo, "A new penumbra: transitioning from injury into repair after stroke," *Nature Medicine* 2008 14:5, vol. 14, no. 5, pp. 497-500, 2008/5// 2008, doi: 10.1038/nm1735.
- [18] P. Deb, S. Sharma, and K. M. Hassan, "Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis," *Pathophysiology*, vol. 17, no. 3, pp. 197-218, 2010/6// 2010, doi: 10.1016/J.PATHOPHYS.2009.12.001.
- [19] F. Z. Caprio and F. A. Sorond, "Cerebrovascular Disease: Primary and Secondary Stroke Prevention," *Medical Clinics of North America*, vol. 103, no. 2, pp. 295-308, 2019/3// 2019, doi: 10.1016/j.mcna.2018.10.001.
- [20] G. A. Donnan, M. Fisher, M. Macleod, and S. M. Davis, "Stroke," *The Lancet*, vol. 371, no. 9624, pp. 1612-1623, 2008/5// 2008, doi: 10.1016/S0140-6736(08)60694-7.

- [21] T. Kalogeris, C. P. Baines, M. Krenz, and R. J. Korthuis, "Ischemia/reperfusion," *Comprehensive Physiology*, vol. 7, no. 1, pp. 113-170, 2017/1// 2017, doi: 10.1002/cphy.c160006.
- [22] C. C. Chen *et al.*, "Elucidation of Exosome Migration Across the Blood–Brain Barrier Model In Vitro," *Cellular and Molecular Bioengineering*, vol. 9, no. 4, pp. 509-529, 2016/12// 2016, doi: 10.1007/s12195-016-0458-3.
- [23] A. Sharobeam and B. Yan, "Advanced imaging in acute ischemic stroke: an updated guide to the hub-and-spoke hospitals," *Current Opinion in Neurology*, vol. 35, no. 1, pp. 24-30, 2022/2// 2022, doi: 10.1097/WCO.0000000000001020.
- [24] R. Nair, A. N. Wagner, and B. H. Buck, "Advances in the management of acute ischemic stroke," *Current Opinion in Neurology*, vol. 36, no. 2, pp. 147-154, 2023/4// 2023, doi: 10.1097/WCO.0000000000001136.
- [25] O. Adeoye, R. Hornung, P. Khatri, and D. Kleindorfer, "Recombinant tissue-type plasminogen activator use for ischemic stroke in the United States: a doubling of treatment rates over the course of 5 years," *Stroke*, vol. 42, no. 7, pp. 1952-1955, 2011/7// 2011, doi: 10.1161/STROKEAHA.110.612358.
- [26] K. Psychogios and G. Tsivgoulis, "Intravenous thrombolysis for acute ischemic stroke: why not?," *Current Opinion in Neurology*, vol. 35, no. 1, pp. 10-17, 2022/2// 2022, doi: 10.1097/WCO.0000000000001004.
- [27] A. Goncalves *et al.*, "Thrombolytic tPA-induced hemorrhagic transformation of ischemic stroke is mediated by PKC β phosphorylation of occludin," *Blood*, vol. 140, no. 4, pp. 388-400, 2022/7// 2022, doi: 10.1182/BLOOD.2021014958.
- [28] F. Shehjar *et al.*, "Stroke: Molecular mechanisms and therapies: Update on recent developments," *Neurochemistry international*, vol. 162, 2023/1// 2023, doi: 10.1016/J.NEUINT.2022.105458.
- [29] D. T. Lackland *et al.*, "Factors influencing the decline in stroke mortality a statement from the american heart association/american stroke association," *Stroke*, vol. 45, no. 1, pp. 315-353, 2014/1// 2014, doi: 10.1161/01.STR.0000437068.30550.CF/SUPPL_FILE/LACKLAND_315.PDF.
- [30] M. Nemat *et al.*, "Plant-derived extracellular vesicles: a novel nanomedicine approach with advantages and challenges," *Cell communication and signaling : CCS*, vol. 20, no. 1, 2022/12// 2022, doi: 10.1186/S12964-022-00889-1.
- [31] C. Xie *et al.*, "Efficacy and safety of human-derived neural stem cell in patients with ischaemic stroke: study protocol for a randomised controlled trial," *BMJ open*, vol. 12, no. 11, 2022/11// 2022, doi: 10.1136/BMJOPEN-2021-055108.
- [32] Y. Cai *et al.*, "Stroke treatment: Is exosome therapy superior to stem cell therapy?," *Biochimie*, vol. 179, pp. 190-204, 2020/12// 2020, doi: 10.1016/J.BIOCHI.2020.09.025.
- [33] G. Ozdemir *et al.*, "Endovascular treatment for anterior cerebral artery occlusions," *Interventional neuroradiology : journal of peritherapeutic neuroradiology, surgical procedures and related neurosciences*, 2023, doi: 10.1177/15910199231162669.
- [34] M. Goyal *et al.*, "Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomised trials," *Lancet (London, England)*, vol. 387, no. 10029, pp. 1723-1731, 2016/4// 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(16)00163-X.
- [35] G. Maraziti, M. G. Mosconi, and M. Paciaroni, "Comparative study of venous thromboembolic prophylaxis strategies in hemorrhagic stroke: A systematic review and network meta-analysis," *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*, 2024, doi: 10.1177/17474930241248542.
- [36] J. L. Saver *et al.*, "Stent-Retriever Thrombectomy after Intravenous t-PA vs. t-PA Alone in Stroke," *New England Journal of Medicine*, vol. 372, no. 24, pp. 2285-2295, 2015/6// 2015, doi: 10.1056/NEJMOA1415061/SUPPL_FILE/NEJMOA1415061_DISCLOSURES.PDF.
- [37] T. J. Atchley, D. Estevez-Ordonez, N. M. B. Laskay, B. E. Tabibian, and M. R. Harrigan, "Endovascular thrombectomy for the treatment of large ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis of randomized control trials," *medRxiv*, pp. 2023.02.27.23286534-2023.02.27.23286534, 2023/3// 2023, doi: 10.1101/2023.02.27.23286534.
- [38] M. Li, E. Zeringer, T. Barta, J. Schageman, A. Cheng, and A. V. Vlassov, "Analysis of the RNA content of the exosomes derived from blood serum and urine and its potential as biomarkers," *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, vol. 369, no. 1652, 2014, doi: 10.1098/RSTB.2013.0502.

- [39] K. Sidhom, P. O. Obi, and A. Saleem, "A Review of Exosomal Isolation Methods: Is Size Exclusion Chromatography the Best Option?," *International journal of molecular sciences*, vol. 21, no. 18, pp. 1-19, 2020/9// 2020, doi: 10.3390/IJMS21186466.
- [40] H. Valadi, K. Ekström, A. Bossios, M. Sjöstrand, J. J. Lee, and J. O. Lötval, "Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells," *Nature Cell Biology* 2007 9:6, vol. 9, no. 6, pp. 654-659, 2007/5// 2007, doi: 10.1038/ncb1596.
- [41] A. H. Stam *et al.*, "Retinal vasculopathy with cerebral leukoencephalopathy and systemic manifestations," *Brain*, vol. 139, no. 11, pp. 2909-2922, 2016/11// 2016, doi: 10.1093/brain/aww217.
- [42] A. Bersano *et al.*, "Heritable and non-heritable uncommon causes of stroke," in *Journal of Neurology* vol. 268, ed: Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2021, pp. 2780-2807.
- [43] L. Zhang and D. Yu, "Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity," *Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer*, vol. 1871, no. 2, pp. 455-468, 2019/4// 2019, doi: 10.1016/J.BBCAN.2019.04.004.
- [44] J. P. Santavanond, S. F. Rutter, G. K. Atkin-Smith, and I. K. H. Poon, "Apoptotic Bodies: Mechanism of Formation, Isolation and Functional Relevance," *Sub-cellular biochemistry*, vol. 97, pp. 61-88, 2021, doi: 10.1007/978-3-030-67171-6_4.
- [45] P. Fu, J. Zhang, H. Li, M. Mak, W. Xu, and Z. Tao, "Extracellular vesicles as delivery systems at nano-/micro-scale," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 179, 2021/12// 2021, doi: 10.1016/J.ADDR.2021.113910.
- [46] R. Vergallo and F. Crea, "Atherosclerotic Plaque Healing," *New England Journal of Medicine*, vol. 383, no. 9, pp. 846-857, 2020/8// 2020, doi: 10.1056/nejmra2000317.
- [47] F. Azizi, S. Askari, P. Javadpour, M. Hadjighassem, and R. Ghasemi, "Potential role of exosome in post-stroke reorganization and/or neurodegeneration," *EXCLI journal*, vol. 19, pp. 1590-1606, 2020, doi: 10.17179/EXCLI2020-3025.
- [48] L. M. Doyle and M. Z. Wang, "Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis," *Cells*, vol. 8, no. 7, 2019/7// 2019, doi: 10.3390/CELLS8070727.
- [49] Y. Zhang, Y. Liu, H. Liu, and W. H. Tang, "Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential," *Cell & Bioscience* 2019 9:1, vol. 9, no. 1, pp. 1-18, 2019/2// 2019, doi: 10.1186/S13578-019-0282-2.
- [50] C. Théry *et al.*, "Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 7, no. 1, 2018/1// 2018, doi: 10.1080/20013078.2018.1535750.
- [51] C. P. K. Lai and X. O. Breakefield, "Role of exosomes/microvesicles in the nervous system and use in emerging therapies," *Frontiers in physiology*, vol. 3, 2012, doi: 10.3389/FPHYS.2012.00228.
- [52] C. M. Ermine, A. Bivard, M. W. Parsons, and B. Jean-Claude, "The ischemic penumbra: From concept to reality," in *International Journal of Stroke* vol. 16, ed: SAGE Publications Inc., 2021, pp. 497-509.
- [53] Y. Xie *et al.*, "The role of exosomal noncoding RNAs in cancer," *Molecular cancer*, vol. 18, no. 1, 2019/3// 2019, doi: 10.1186/S12943-019-0984-4.
- [54] S. Kourembanas, "Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy," *Annual review of physiology*, vol. 77, pp. 13-27, 2015/2// 2015, doi: 10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-021014-071641.
- [55] N. Zhang *et al.*, "Role of Exosomes in Brain Diseases," *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 15, pp. 743353-743353, 2021/9// 2021, doi: 10.3389/FNCEL.2021.743353.
- [56] C. Théry, S. Amigorena, G. Raposo, and A. Clayton, "Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids," *Current protocols in cell biology*, vol. Chapter 3, no. 1, 2006/3// 2006, doi: 10.1002/0471143030.CB0322S30.
- [57] S. Yang *et al.*, "Detection of mutant KRAS and TP53 DNA in circulating exosomes from healthy individuals and patients with pancreatic cancer," *Cancer biology & therapy*, vol. 18, no. 3, pp. 158-165, 2017/3// 2017, doi: 10.1080/15384047.2017.1281499.
- [58] R. Shah, T. Patel, and J. E. Freedman, "Circulating Extracellular Vesicles in Human Disease," *The New England journal of medicine*, vol. 379, no. 22, pp. 2180-2181, 2018/11// 2018, doi: 10.1056/NEJMc1813170.

- [59] T. Skotland, K. Sandvig, and A. Llorente, "Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward," *Progress in lipid research*, vol. 66, pp. 30-41, 2017/4// 2017, doi: 10.1016/J.PLIPRES.2017.03.001.
- [60] U. Müller, "Exosome-mediated protection of auditory hair cells from ototoxic insults," *The Journal of clinical investigation*, vol. 130, no. 5, pp. 2206-2208, 2020/5// 2020, doi: 10.1172/JCI135710.
- [61] D. M. Pegtel and S. J. Gould, "Exosomes," *Annual review of biochemistry*, vol. 88, pp. 487-514, 2019/6// 2019, doi: 10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-013118-111902.
- [62] C. Théry, L. Zitvogel, and S. Amigorena, "Exosomes: composition, biogenesis and function," *Nature reviews. Immunology*, vol. 2, no. 8, pp. 569-579, 2002, doi: 10.1038/NRI855.
- [63] H. M. Lee *et al.*, "A membranous form of ICAM-1 on exosomes efficiently blocks leukocyte adhesion to activated endothelial cells," *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 397, no. 2, pp. 251-256, 2010/6// 2010, doi: 10.1016/J.BBRC.2010.05.094.
- [64] Z. Y. Soe, E. J. Park, and M. Shimaoka, "Integrin Regulation in Immunological and Cancerous Cells and Exosomes," *International journal of molecular sciences*, vol. 22, no. 4, pp. 1-22, 2021/2// 2021, doi: 10.3390/IJMS22042193.
- [65] J. J. Lai *et al.*, "Exosome Processing and Characterization Approaches for Research and Technology Development," *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, vol. 9, no. 15, 2022/5// 2022, doi: 10.1002/ADVS.202103222.
- [66] H. Vincent-Schneider *et al.*, "Exosomes bearing HLA-DR1 molecules need dendritic cells to efficiently stimulate specific T cells," *International immunology*, vol. 14, no. 7, pp. 713-722, 2002, doi: 10.1093/INTIMM/DXF048.
- [67] J. S. Testa, G. S. Apcher, J. D. Comber, and L. C. Eisenlohr, "Exosome-driven antigen transfer for MHC class II presentation facilitated by the receptor binding activity of influenza hemagglutinin," *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, vol. 185, no. 11, pp. 6608-6616, 2010/12// 2010, doi: 10.4049/JIMMUNOL.1001768.
- [68] R. Kalluri and V. S. LeBleu, "The biology , function , and biomedical applications of exosomes," *Science (New York, N.Y.)*, vol. 367, no. 6478, 2020/2// 2020, doi: 10.1126/SCIENCE.AAU6977.
- [69] D. K. Jeppesen *et al.*, "Reassessment of Exosome Composition," *Cell*, vol. 177, no. 2, pp. 428-445.e18, 2019/4// 2019, doi: 10.1016/J.CELL.2019.02.029.
- [70] S. Wang *et al.*, "Recent advances in single extracellular vesicle detection methods," *Biosensors & bioelectronics*, vol. 154, 2020/4// 2020, doi: 10.1016/J.BIOS.2020.112056.
- [71] Q. Pan *et al.*, "Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Hypoxia/Reoxygenation-Injured ECs via Transferring MicroRNA-126," *Stem cells international*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/2831756.
- [72] A. Gowen, F. Shahjin, S. Chand, K. E. Odegaard, and S. V. Yelamanchili, "Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles: Challenges in Clinical Applications," *Frontiers in cell and developmental biology*, vol. 8, 2020/3// 2020, doi: 10.3389/FCELL.2020.00149.
- [73] V. Go *et al.*, "Extracellular vesicles from mesenchymal stem cells reduce microglial-mediated neuroinflammation after cortical injury in aged Rhesus monkeys," *GeroScience*, vol. 42, no. 1, pp. 1-17, 2020/2// 2020, doi: 10.1007/S11357-019-00115-W.
- [74] Y. Zhang, J. Liu, M. Su, X. Wang, and C. Xie, "Exosomal microRNA-22-3p alleviates cerebral ischemic injury by modulating KDM6B/BMP2/BMF axis," *Stem cell research & therapy*, vol. 12, no. 1, 2021/12// 2021, doi: 10.1186/S13287-020-02091-X.
- [75] H. Luo *et al.*, "miR-150-3p enhances neuroprotective effects of neural stem cell exosomes after hypoxic-ischemic brain injury by targeting CASP2," *Neuroscience Letters*, vol. 779, pp. 136635-136635, 2022/5// 2022, doi: 10.1016/J.NEULET.2022.136635.
- [76] R. J. Lobb *et al.*, "Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 4, no. 1, 2015, doi: 10.3402/JEV.V4.27031.
- [77] A. K. Ludwig *et al.*, "Precipitation with polyethylene glycol followed by washing and pelleting by ultracentrifugation enriches extracellular vesicles from tissue culture supernatants in small and large scales," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 7, no. 1, 2018/1// 2018, doi: 10.1080/20013078.2018.1528109.
- [78] L. Zhu *et al.*, "Isolation and characterization of exosomes for cancer research," *Journal of hematology & oncology*, vol. 13, no. 1, 2020/12// 2020, doi: 10.1186/S13045-020-00987-Y.
- [79] M. A. Livshits *et al.*, "Isolation of exosomes by differential centrifugation: Theoretical analysis of a commonly used protocol," *Scientific reports*, vol. 5, 2015/11// 2015, doi: 10.1038/SREP17319.

- [80] K. Ravi, M. J. Paidas, A. Saad, and A. R. Jayakumar, "Astrocytes in rare neurological conditions: Morphological and functional considerations," *The Journal of comparative neurology*, vol. 529, no. 10, pp. 2676-2705, 2021/7// 2021, doi: 10.1002/CNE.25118.
- [81] J. Chen *et al.*, "Review on Strategies and Technologies for Exosome Isolation and Purification," *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, vol. 9, 2022/1// 2022, doi: 10.3389/FBIOE.2021.811971.
- [82] R. Xu, D. W. Greening, H. J. Zhu, N. Takahashi, and R. J. Simpson, "Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application," *The Journal of clinical investigation*, vol. 126, no. 4, pp. 1152-1162, 2016/4// 2016, doi: 10.1172/JCI81129.
- [83] S. Z. Shirejini and F. Inci, "The Yin and Yang of exosome isolation methods: conventional practice, microfluidics, and commercial kits," *Biotechnology advances*, vol. 54, 2022/1// 2022, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2021.107814.
- [84] C. Coughlan *et al.*, "Exosome Isolation by Ultracentrifugation and Precipitation and Techniques for Downstream Analyses," *Current protocols in cell biology*, vol. 88, no. 1, 2020/9// 2020, doi: 10.1002/CPCB.110.
- [85] Y. Tian, C. Cheng, Y. Wei, F. Yang, and G. Li, "The Role of Exosomes in Inflammatory Diseases and Tumor-Related Inflammation," *Cells*, vol. 11, no. 6, 2022/3// 2022, doi: 10.3390/CELLS11061005.
- [86] E. M. Veziroglu and G. I. Mias, "Characterizing Extracellular Vesicles and Their Diverse RNA Contents," *Frontiers in genetics*, vol. 11, 2020/7// 2020, doi: 10.3389/FGENE.2020.00700.
- [87] G. K. Patel *et al.*, "Comparative analysis of exosome isolation methods using culture supernatant for optimum yield, purity and downstream applications," *Scientific reports*, vol. 9, no. 1, 2019/12// 2019, doi: 10.1038/S41598-019-41800-2.
- [88] J. Wang, S. Chen, W. Zhang, Y. Chen, and J. C. Bihl, "Exosomes from miRNA-126-modified endothelial progenitor cells alleviate brain injury and promote functional recovery after stroke," *CNS neuroscience & therapeutics*, vol. 26, no. 12, pp. 1255-1265, 2020/12// 2020, doi: 10.1111/CNS.13455.
- [89] L. Dehghani *et al.*, "Safety of intraparenchymal injection of allogenic placenta mesenchymal stem cells derived exosome in patients undergoing decompressive craniectomy following malignant middle cerebral artery infarct, a pilot randomized clinical trial," *International Journal of Preventive Medicine*, vol. 13, no. 1, pp. 7-7, 2022, doi: 10.4103/IJPVM.IJPVM_441_21.
- [90] M. Macías *et al.*, "Comparison of six commercial serum exosome isolation methods suitable for clinical laboratories. Effect in cytokine analysis," *Clinical chemistry and laboratory medicine*, vol. 57, no. 10, pp. 1539-1545, 2019, doi: 10.1515/CCLM-2018-1297.
- [91] T. Tian *et al.*, "Targeted delivery of neural progenitor cell-derived extracellular vesicles for anti-inflammation after cerebral ischemia," *Theranostics*, vol. 11, no. 13, pp. 6507-6521, 2021, doi: 10.7150/THNO.56367.
- [92] S. Ayala-Mar, J. Donoso-Quezada, R. C. Gallo-Villanueva, V. H. Perez-Gonzalez, and J. González-Valdez, "Recent advances and challenges in the recovery and purification of cellular exosomes," *Electrophoresis*, vol. 40, no. 23-24, pp. 3036-3049, 2019/12// 2019, doi: 10.1002/ELPS.201800526.
- [93] Y. Tian *et al.*, "Quality and efficiency assessment of six extracellular vesicle isolation methods by nano-flow cytometry," *Journal of Extracellular Vesicles*, vol. 9, no. 1, 2020/1// 2020, doi: 10.1080/20013078.2019.1697028.
- [94] Z. G. Zhang and M. Chopp, "Exosomes in stroke pathogenesis and therapy," *The Journal of clinical investigation*, vol. 126, no. 4, pp. 1190-1197, 2016/4// 2016, doi: 10.1172/JCI81133.
- [95] K. Kuroki *et al.*, "Effects of transient focal cerebral ischemia in mice deficient in puma," *Neuroscience letters*, vol. 451, no. 3, pp. 237-240, 2009/2// 2009, doi: 10.1016/J.NEULET.2009.01.019.
- [96] W. Liu, X. Bai, A. Zhang, J. Huang, S. Xu, and J. Zhang, "Role of Exosomes in Central Nervous System Diseases," *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 12, pp. 240-240, 2019/10// 2019, doi: 10.3389/FNMOL.2019.00240.
- [97] I. Prada and J. Meldolesi, "Binding and Fusion of Extracellular Vesicles to the Plasma Membrane of Their Cell Targets," *International journal of molecular sciences*, vol. 17, no. 8, 2016/8// 2016, doi: 10.3390/IJMS17081296.
- [98] M. Colombo, G. Raposo, and C. Théry, "Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles," *Annual review of cell and developmental biology*, vol. 30, pp. 255-289, 2014, doi: 10.1146/ANNUREV-CELLBIO-101512-122326.

- [99] M. Yáñez-Mó *et al.*, "Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 4, no. 2015, pp. 1-60, 2015, doi: 10.3402/JEV.V4.27066.
- [100] E. Emmanouilidou *et al.*, "Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival," *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 30, no. 20, pp. 6838-6851, 2010/5// 2010, doi: 10.1523/JNEUROSCI.5699-09.2010.
- [101] K. Yuyama and Y. Igarashi, "Exosomes as Carriers of Alzheimer's Amyloid- β ," *Frontiers in neuroscience*, vol. 11, no. APR, 2017/4// 2017, doi: 10.3389/FNINS.2017.00229.
- [102] C. J. Nowinski *et al.*, "Applying the Bradford Hill Criteria for Causation to Repetitive Head Impacts and Chronic Traumatic Encephalopathy," *Frontiers in neurology*, vol. 13, 2022/7// 2022, doi: 10.3389/FNEUR.2022.938163.
- [103] Y. Wang *et al.*, "Guanidinoacetic Acid Regulates Myogenic Differentiation and Muscle Growth Through miR-133a-3p and miR-1a-3p Co-mediated Akt/mTOR/S6K Signaling Pathway," *International journal of molecular sciences*, vol. 19, no. 9, 2018/9// 2018, doi: 10.3390/IJMS19092837.
- [104] S. Dabrowska, A. Andrzejewska, B. Lukomska, and M. Janowski, "Neuroinflammation as a target for treatment of stroke using mesenchymal stem cells and extracellular vesicles," *Journal of neuroinflammation*, vol. 16, no. 1, 2019/9// 2019, doi: 10.1186/S12974-019-1571-8.
- [105] A. Shuaib *et al.*, "NXY-059 for the treatment of acute ischemic stroke," *The New England journal of medicine*, vol. 357, no. 6, pp. 562-571, 2007/8// 2007, doi: 10.1056/NEJMOA070240.
- [106] E. J. Yoon, Y. Choi, T. M. Kim, E. K. Choi, Y. B. Kim, and D. Park, "The Neuroprotective Effects of Exosomes Derived from TSG101-Overexpressing Human Neural Stem Cells in a Stroke Model," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 17, 2022/9// 2022, doi: 10.3390/IJMS23179532/S1.
- [107] H. Mirzaei *et al.*, "MicroRNA: Relevance to stroke diagnosis, prognosis, and therapy," *Journal of cellular physiology*, vol. 233, no. 2, pp. 856-865, 2018/2// 2018, doi: 10.1002/JCP.25787.
- [108] J. Kamtchum-Tatuene and G. C. Jickling, "Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management," *Neuromolecular medicine*, vol. 21, no. 4, pp. 344-368, 2019/12// 2019, doi: 10.1007/S12017-019-08530-0.
- [109] M. Ullah, "The future of bioorthogonal-chemistry for targeting of exosomes in precision medicine," *Oncotarget*, vol. 13, no. 1, pp. 1303-1304, 2022, doi: 10.18632/ONCOTARGET.28323.
- [110] Y. Cui, C. Liu, L. Huang, J. Chen, and N. Xu, "Protective effects of intravitreal administration of mesenchymal stem cell-derived exosomes in an experimental model of optic nerve injury," *Experimental cell research*, vol. 407, no. 1, 2021/10// 2021, doi: 10.1016/J.YEXCR.2021.112792.
- [111] C. F. Moore, V. Sabino, G. F. Koob, and P. Cottone, "Neuroscience of Compulsive Eating Behavior," *Frontiers in neuroscience*, vol. 11, no. AUG, 2017/8// 2017, doi: 10.3389/FNINS.2017.00469.
- [112] L. Cervenakova *et al.*, "Are prions transported by plasma exosomes?," *Transfusion and Apheresis Science*, vol. 55, no. 1, pp. 70-83, 2016/8// 2016, doi: 10.1016/J.TRANS.2016.07.013.
- [113] R. Bonafede *et al.*, "Exosome derived from murine adipose-derived stromal cells: Neuroprotective effect on in vitro model of amyotrophic lateral sclerosis," *Experimental Cell Research*, vol. 340, no. 1, pp. 150-158, 2016/1// 2016, doi: 10.1016/J.YEXCR.2015.12.009.
- [114] A. Armulik, G. Genové, and C. Betsholtz, "Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises," *Developmental cell*, vol. 21, no. 2, pp. 193-215, 2011/8// 2011, doi: 10.1016/J.DEVCEL.2011.07.001.
- [115] E. Acar, C. Schenker, Y. Levin-Schwartz, V. D. Calhoun, and T. Adali, "Unraveling Diagnostic Biomarkers of Schizophrenia Through Structure-Revealing Fusion of Multi-Modal Neuroimaging Data," *Frontiers in neuroscience*, vol. 13, no. MAY, 2019, doi: 10.3389/FNINS.2019.00416.
- [116] D. Athauda *et al.*, "Utility of Neuronal-Derived Exosomes to Examine Molecular Mechanisms That Affect Motor Function in Patients with Parkinson Disease: A Secondary Analysis of the Exenatide-PD Trial," *JAMA Neurology*, vol. 76, no. 4, pp. 420-429, 2019/4// 2019, doi: 10.1001/JAMANEUROL.2018.4304.
- [117] L. Wen *et al.*, "Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells inhibit neuroinflammation after traumatic brain injury," *Neural Regeneration Research*, vol. 17, no. 12, pp. 2717-2724, 2022/12// 2022, doi: 10.4103/1673-5374.339489.

- [118] W. Yin *et al.*, "Exosomes: the next-generation therapeutic platform for ischemic stroke," *Neural regeneration research*, vol. 20, no. 5, pp. 1221-1235, 2025/5// 2025, doi: 10.4103/NRR.NRR-D-23-02051.
- [119] Y. Zhou *et al.*, "Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells protect the injured spinal cord by inhibiting pericyte pyroptosis," *Neural Regeneration Research*, vol. 17, no. 1, pp. 194-202, 2022/1// 2022, doi: 10.4103/1673-5374.314323.
- [120] J. Wang, S. Chen, W. Zhang, Y. Chen, and J. C. Bihl, "Exosomes from miRNA - 126 - modified endothelial progenitor cells alleviate brain injury and promote functional recovery after stroke," *CNS Neuroscience & Therapeutics*, vol. 26, no. 12, pp. 1255-1255, 2020/12// 2020, doi: 10.1111/CNS.13455.
- [121] C. Li, K. Fei, F. Tian, C. Gao, and Y. Song, "Adipose-derived mesenchymal stem cells attenuate ischemic brain injuries in rats by modulating miR-21-3p/MAT2B signaling transduction," *Croatian medical journal*, vol. 60, no. 5, pp. 439-448, 2019, doi: 10.3325/CMJ.2019.60.439.
- [122] E. C. Lee *et al.*, "Utility of Exosomes in Ischemic and Hemorrhagic Stroke Diagnosis and Treatment," *International journal of molecular sciences*, vol. 23, no. 15, 2022/8// 2022, doi: 10.3390/IJMS23158367.
- [123] Y. Ueno, K. Hira, N. Miyamoto, C. Kijima, T. Inaba, and N. Hattori, "Pleiotropic Effects of Exosomes as a Therapy for Stroke Recovery," *International journal of molecular sciences*, vol. 21, no. 18, pp. 1-16, 2020/9// 2020, doi: 10.3390/IJMS21186894.
- [124] L. Zhang *et al.*, "Exosomes Mediate Hippocampal and Cortical Neuronal Injury Induced by Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury through Activating Pyroptosis in Rats," *Oxidative medicine and cellular longevity*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/3753485.
- [125] Y. Zhao, Y. Gan, G. Xu, K. Hua, and D. Liu, "Exosomes from MSCs overexpressing microRNA-223-3p attenuate cerebral ischemia through inhibiting microglial M1 polarization mediated inflammation," *Life sciences*, vol. 260, 2020/11// 2020, doi: 10.1016/J.LFS.2020.118403.
- [126] D. Zheng *et al.*, "The Role of Exosomes and Exosomal MicroRNA in Cardiovascular Disease," *Frontiers in cell and developmental biology*, vol. 8, 2021/1// 2021, doi: 10.3389/FCELL.2020.616161.
- [127] C. Yang, M. Zhang, J. Sung, L. Wang, Y. Jung, and D. Merlin, "Autologous Exosome Transfer: A New Personalised Treatment Concept to Prevent Colitis in a Murine Model," *Journal of Crohn's & colitis*, vol. 14, no. 6, pp. 841-855, 2020/6// 2020, doi: 10.1093/ECCO-JCC/JJZ184.
- [128] F. Xie, Y. Huang, Y. Zhan, and L. Bao, "Exosomes as drug delivery system in gastrointestinal cancer," *Frontiers in oncology*, vol. 12, 2023/1// 2023, doi: 10.3389/FONC.2022.1101823.
- [129] U. Szwedowicz, Z. Łapińska, A. Gajewska-Naryniecka, and A. Choromańska, "Exosomes and Other Extracellular Vesicles with High Therapeutic Potential: Their Applications in Oncology, Neurology, and Dermatology," *Molecules (Basel, Switzerland)*, vol. 27, no. 4, 2022/2// 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27041303.
- [130] V. Thongboonkerd, "Roles for Exosome in Various Kidney Diseases and Disorders," *Frontiers in pharmacology*, vol. 10, 2020, doi: 10.3389/FPHAR.2019.01655.
- [131] Y. Ding, Q. Luo, H. Que, N. Wang, P. Gong, and J. Gu, "Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes: A Promising Therapeutic Agent for the Treatment of Liver Diseases," *International journal of molecular sciences*, vol. 23, no. 18, 2022/9// 2022, doi: 10.3390/IJMS231810972.
- [132] Y. Zhang, Y. Liu, H. Liu, and W. H. Tang, "Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential," *Cell & bioscience*, vol. 9, no. 1, 2019/2// 2019, doi: 10.1186/S13578-019-0282-2.
- [133] Y. Wang *et al.*, "Exosomes derived from microglia overexpressing miR-124-3p alleviate neuronal endoplasmic reticulum stress damage after repetitive mild traumatic brain injury," *Neural Regeneration Research*, vol. 19, no. 9, pp. 2010-2018, 2024/9// 2024, doi: 10.4103/1673-5374.391189.
- [134] D. A. Dumbrava *et al.*, "Mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles promote neurological recovery and brain remodeling after distal middle cerebral artery occlusion in aged rats," *GeroScience*, vol. 44, no. 1, pp. 293-310, 2022/2// 2022, doi: 10.1007/S11357-021-00483-2.
- [135] C. Cheng *et al.*, "MSCs-derived exosomes attenuate ischemia-reperfusion brain injury and inhibit microglia apoptosis might via exosomal miR-26a-5p mediated suppression of CDK6," *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, vol. 27, no. 1, 2021/12// 2021, doi: 10.1186/S10020-021-00324-0.
- [136] X. Zhou, Z. Li, W. Sun, G. Yang, C. Xing, and L. Yuan, "Delivery Efficacy Differences of Intravenous and Intraperitoneal Injection of Exosomes: Perspectives from Tracking Dye Labeled and MiRNA Encapsulated Exosomes," *Current drug delivery*, vol. 17, no. 3, pp. 186-194, 2020/1// 2020, doi: 10.2174/1567201817666200122163251.

- [137] Y. Song *et al.*, "M2 microglia-derived exosomes protect the mouse brain from ischemia-reperfusion injury via exosomal miR-124," *Theranostics*, vol. 9, no. 10, pp. 2910-2923, 2019, doi: 10.7150/THNO.30879.
- [138] J. Wang, J. Wang, X. Li, and K. Shu, "Cell-Derived Exosomes as Therapeutic Strategies and Exosome-Derived microRNAs as Biomarkers for Traumatic Brain Injury," *Journal of clinical medicine*, vol. 11, no. 11, 2022/6// 2022, doi: 10.3390/JCM11113223.
- [139] L. Xu *et al.*, "Exosome-shuttled miR-92b-3p from ischemic preconditioned astrocytes protects neurons against oxygen and glucose deprivation," *Brain research*, vol. 1717, pp. 66-73, 2019/8// 2019, doi: 10.1016/J.BRAINRES.2019.04.009.
- [140] W. Chen *et al.*, "Astrocytes-derived exosomes induce neuronal recovery after traumatic brain injury via delivering gap junction alpha 1-20 k," *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, vol. 14, no. 3, pp. 412-423, 2020/3// 2020, doi: 10.1002/TERM.3002.
- [141] X. Pei, Y. Li, L. Zhu, and Z. Zhou, "Astrocyte-derived exosomes suppress autophagy and ameliorate neuronal damage in experimental ischemic stroke," *Experimental cell research*, vol. 382, no. 2, 2019/9// 2019, doi: 10.1016/J.YEXCR.2019.06.019.
- [142] S. M. Davidson, J. A. Riquelme, Y. Zheng, J. M. Vicencio, S. Lavandero, and D. M. Yellon, "Endothelial cells release cardioprotective exosomes that may contribute to ischaemic preconditioning," *Scientific reports*, vol. 8, no. 1, 2018/12// 2018, doi: 10.1038/S41598-018-34357-Z.
- [143] J. W. Lee *et al.*, "The Role of Microglia in the Development of Neurodegenerative Diseases," *Biomedicines*, vol. 9, no. 10, 2021/10// 2021, doi: 10.3390/BIOMEDICINES9101449.
- [144] Q. Li and B. A. Barres, "Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease," *Nature reviews. Immunology*, vol. 18, no. 4, pp. 225-242, 2018/4// 2018, doi: 10.1038/NRI.2017.125.
- [145] M. Zhang *et al.*, "The cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide pathway contributes to microglia-mediated neuroinflammation following cerebral ischemia," *Brain, behavior, and immunity*, vol. 66, pp. 332-346, 2017/11// 2017, doi: 10.1016/J.BBI.2017.07.156.
- [146] L. Xie, H. Zhao, Y. Wang, and Z. Chen, "Exosomal shuttled miR-424-5p from ischemic preconditioned microglia mediates cerebral endothelial cell injury through negatively regulation of FGF2/STAT3 pathway," *Experimental neurology*, vol. 333, 2020/11// 2020, doi: 10.1016/J.EXPNEUROL.2020.113411.
- [147] B. Gao *et al.*, "Brain Endothelial Cell-Derived Exosomes Induce Neuroplasticity in Rats with Ischemia/Reperfusion Injury," *ACS chemical neuroscience*, vol. 11, no. 15, pp. 2201-2213, 2020/8// 2020, doi: 10.1021/ACSCHEMNEURO.0C00089.
- [148] R. Huang, T. Cheng, and X. Lai, "Mechanism of ischemic brain injury repair by endothelial progenitor cell-derived exosomes," *Molecular Medicine Reports*, vol. 26 2, no. 2, 2022/6// 2022, doi: 10.3892/MMR.2022.12785.
- [149] H. Xin *et al.*, "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*, vol. 31, no. 12, pp. 2737-2746, 2013/12// 2013, doi: 10.1002/stem.1409.
- [150] H. Xin *et al.*, "MicroRNA cluster miR-17-92 Cluster in Exosomes Enhance Neuroplasticity and Functional Recovery After Stroke in Rats," *Stroke*, vol. 48, no. 3, pp. 747-753, 2017/3// 2017, doi: 10.1161/STROKEAHA.116.015204.
- [151] H. Xin *et al.*, "MiR-17-92 enriched exosomes derived from multipotent mesenchymal stromal cells enhance axon-myelin remodeling and motor electrophysiological recovery after stroke," *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, vol. 41, no. 5, pp. 1131-1144, 2021/5// 2021, doi: 10.1177/0271678X20950489.
- [152] J. Chen *et al.*, "Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats," *Stroke*, vol. 32, no. 4, pp. 1005-1011, 2001, doi: 10.1161/01.STR.32.4.1005.
- [153] J. Chen *et al.*, "Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats," *Circulation research*, vol. 92, no. 6, pp. 692-699, 2003/4// 2003, doi: 10.1161/01.RES.0000063425.51108.8D.
- [154] Y. Li *et al.*, "Gliosis and brain remodeling after treatment of stroke in rats with marrow stromal cells," *Glia*, vol. 49, no. 3, pp. 407-417, 2005/2// 2005, doi: 10.1002/GLIA.20126.
- [155] O. Y. Bang, E. H. Kim, J. M. Cha, and G. J. Moon, "Adult Stem Cell Therapy for Stroke: Challenges and Progress," *Journal of stroke*, vol. 18, no. 3, pp. 256-266, 2016/9// 2016, doi: 10.5853/JOS.2016.01263.

- [156] S. M. O. Peeters Weem, M. Teraa, G. J. De Borst, M. C. Verhaar, and F. L. Moll, "Bone Marrow derived Cell Therapy in Critical Limb Ischemia: A Meta-analysis of Randomized Placebo Controlled Trials," *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, vol. 50, no. 6, pp. 775-783, 2015/12// 2015, doi: 10.1016/J.EJVS.2015.08.018.
- [157] M. Nakano *et al.*, "Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve diabetes-induced cognitive impairment by exosome transfer into damaged neurons and astrocytes," *Scientific reports*, vol. 6, 2016/4// 2016, doi: 10.1038/SREP24805.
- [158] K. Wu *et al.*, "The effects of microvesicles on endothelial progenitor cells are compromised in type 2 diabetic patients via downregulation of the miR-126/VEGFR2 pathway," *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, vol. 310, no. 10, pp. E828-E837, 2016/5// 2016, doi: 10.1152/AJPENDO.00056.2016.
- [159] Q. Pan *et al.*, "miR-132-3p priming enhances the effects of mesenchymal stromal cell-derived exosomes on ameliorating brain ischemic injury," *Stem cell research & therapy*, vol. 11, no. 1, 2020/6// 2020, doi: 10.1186/S13287-020-01761-0.
- [160] T. Kong *et al.*, "Immunomodulatory effect of CD200-positive human placenta-derived stem cells in the early phase of stroke," *Experimental & Molecular Medicine 2018 50:1*, vol. 50, no. 1, pp. e425-e425, 2018/1// 2018, doi: 10.1038/emm.2017.233.
- [161] Y. Sun *et al.*, "MicroRNA-124 Protects Neurons Against Apoptosis in Cerebral Ischemic Stroke," *CNS Neuroscience & Therapeutics*, vol. 19, no. 10, pp. 813-819, 2013/10// 2013, doi: 10.1111/CNS.12142.
- [162] L. C. Cheng, E. Pastrana, M. Tavazoie, and F. Doetsch, "miR-124 regulates adult neurogenesis in the subventricular zone stem cell niche," *Nature neuroscience*, vol. 12, no. 4, pp. 399-408, 2009/4// 2009, doi: 10.1038/NN.2294.
- [163] M. R. Fabian and N. Sonenberg, "The mechanics of miRNA-mediated gene silencing: a look under the hood of miRISC," *Nature structural & molecular biology*, vol. 19, no. 6, pp. 586-593, 2012/6// 2012, doi: 10.1038/NSMB.2296.
- [164] O. F. Laterza *et al.*, "Plasma MicroRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury," *Clinical chemistry*, vol. 55, no. 11, pp. 1977-1983, 2009/11// 2009, doi: 10.1373/CLINCHEM.2009.131797.
- [165] Y. Zhang *et al.*, "Ischemic Cerebral Endothelial Cell-Derived Exosomes Promote Axonal Growth," *Stroke*, vol. 51, no. 12, pp. 3701-3712, 2020/12// 2020, doi: 10.1161/STROKEAHA.120.031728.
- [166] G. J. Moon *et al.*, "Application of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles for Stroke: Biodistribution and MicroRNA Study," *Translational stroke research*, vol. 10, no. 5, pp. 509-521,

ANEXOS

Terapia exosómica como estrategia terapéutica en isquemia cerebral

Exosomal therapy as a therapeutic strategy in cerebral ischemia

Gianella Giono Levy
Escuela de Ingeniería Biomédica
Universitas Latina de Panamá
Ciudad de Panamá, Panamá
gibielle21@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0001-3523-6860>

Génesis Nazareth Tuñón Ramos
Escuela de Ingeniería Biomédica
Universidad Latina de Panamá
Ciudad de Panamá, Panamá
genesis_naza@hotmail.es
<https://orcid.org/0009-0001-5742-8900>

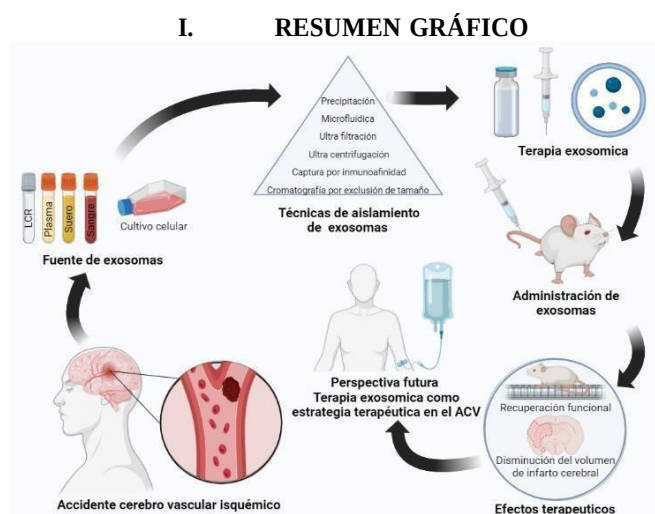
Resumen - La isquemia cerebral, es una condición con altos índices de mortalidad y discapacidad a nivel mundial. Se caracteriza por la reducción del flujo sanguíneo al cerebro, conduce a la muerte neuronal y a un deterioro neurológico significativo. Las terapias actuales para esta patología son limitadas, en su capacidad de promover la recuperación del tejido cerebral dañado. La terapia exosómica emerge como una estrategia prometedora, los exosomas son vesículas que transportan elementos biológicos y median la comunicación celular. Demuestran efectos positivos en la recuperación post ictus, reduciendo la inflamación, protegiendo las neuronas de la apoptosis y promoviendo la regeneración del tejido nervioso. Adicionalmente los efectos terapéuticos de los tratamientos basados en exosomas en procesos de remodelación después del accidente cerebro vascular. Revisamos el estado actual de los estudios *in vivo* e *in vitro*, proveniente de células neuronales y células madre mesenquimales. Así como también, el potencial de los exosomas de bio ingeniería para mejorar ciertas características de los exosomas nativos que impiden el éxito de las aplicaciones clínicas. Finalmente destacamos el potencial de la terapia exosómica como estrategia para la recuperación después de un accidente cerebrovascular isquémico.

Palabras clave: exosomas, terapia, isquemia, tratamiento.

Abstract - Cerebral ischemia is a condition with high mortality and disability rates worldwide. It is characterized by reduced blood flow to the brain, leading to neuronal death and significant neurological impairment. Current therapies for this pathology are limited in their ability to promote the recovery of damaged brain tissue. Exosomal therapy emerges as a promising strategy. Exosomes are vesicles that transport biological elements and mediate cellular communication. They demonstrate positive effects in post-stroke recovery, reducing inflammation, protecting neurons from apoptosis and promoting the regeneration of nervous tissue. In this document, a review of the current knowledge of exosomes, the relationship between exosomes and stroke, and the therapeutic effects of exosome-based treatments on remodeling processes after stroke were carried out. We also review the current state

of *in vivo* and *in vitro* studies from neuronal cells. As well as the potential of bioengineered exosomes to improve certain characteristics of native exosomes that impede the success of clinical applications. Finally, we highlight the potential of exosomal therapy as a strategy for recovery after ischemic stroke.

Keywords - exosomes, therapy, ischemia, treatment.



II. INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas de muerte y discapacidad neurológica en adultos a nivel mundial, es el accidente cerebrovascular (ACV) [1]. Estadísticamente, 6,7 millones de personas cada año mueren debido a un ACV, de las cuales el 87% de las muertes, se relacionan con un ACV isquémico [2]. Cada día los avances médicos y tecnológicos, han llevado a que la esperanza de vida siga aumentando mundialmente; los adultos mayores de 65 años poseen más posibilidades de padecer los ACV debido a que llevar una vida sedentaria y una mala alimentación (alta en azúcar y grasas saturadas), son factores que aumentan el riesgo de padecer esta patología [3]. El ACV se caracteriza por la interrupción repentina de flujo sanguíneo al cerebro, lo que provoca la pérdida de función cerebral en la región afectada [4]. Actualmente, estudios preclínicos se ha desarrollado estrategias potenciales para el

tratamiento del ACV isquémico. La principal estrategia paliativa de abordaje para el ACV isquémico, es la trombectomía endovascular, que se define como un procedimiento médico mínimamente invasivo, que consiste en la extracción del coágulo que obstruye la arteria afectada. Actualmente, el único tratamiento terapéutico aprobado por la FDA para tratar la patología, es el activador tisular del plasminógeno (tPA) [3, 5]. Ambos enfoques tienen una ventana de tratamiento estrecha después del inicio del evento, presentando como una posibilidad de aplicación en el paciente, de carácter reducida, ya que a menudo ocurre retraso en el reconocimiento de los síntomas del ACV. Aunque el flujo sanguíneo cerebral en el área afectada por el bloqueo, sea renovado en el momento crítico, no recupera las células cerebrales dañadas, resultado en una discapacidad permanente en personas que sufren un accidente cerebro vascular [6].

Por lo que, existe una necesidad en el desarrollo de nuevas terapias avanzadas en los pacientes con ACV isquémico que permitan promover la recuperación funcional. Diversos estudios han confirmado que la terapia celular es una alternativa innovadora en el tratamiento y la recuperación funcional, después de un ACV isquémico [7]. Las células madre tienen una gran capacidad antiinflamatoria e inmunomoduladora para promover la regeneración tisular. Sin embargo, esta terapia tiene por principal desventaja en su aplicación, el rechazo inmunológico, asociado a la complejidad de la diferenciación celular *in situ* [8, 9], la invasividad del trasplante terapéutico, y el alto potencial de que ocurran procesos de infección, contaminación y dolor durante el proceso quirúrgico [10].

Evidencias indican que la terapia de células madre, promueve la reparación cerebral a través de diversas señales paracrinas y factores tróficos. Las células madre utilizan diversos mecanismos tróficos, mediados principalmente por exosomas, que implican una compleja interacción de señalización celular y la transferencia de biomoléculas hacia otras células aledañas, facilitando la transferencia de proteínas y material genético como ARN mensajero (ARNm), microARN (miARN) y otros ARN no codificantes, permitiendo la modulación de las condiciones fisiológicas y patológicas [11, 12]. Los exosomas son pequeñas vesículas de membrana de 30 a 100 nm, provenientes de los cuerpos multi vesiculares, que son liberadas por la mayoría de las células del cuerpo, incluyendo las células madre [13].

Los exosomas presentan características únicas que les permiten tener ventajas comparativas por sobre la terapia celular convencional, como: baja toxicidad [10], biocompatibilidad [14], capacidad de modificación [15]. Los exosomas tienen capacidad de focalización y una baja inmunogenicidad [16]. Además, tienen la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, la cual impide el paso

de la mayoría de los tratamientos farmacológicos, lo que hace difícil el desarrollo de terapias en las lesiones del sistema nervioso central [10]. Por ello, la terapia exosómica se presenta como un nuevo enfoque prometedor para el tratamiento de diversos problemas del sistema nervioso.

III. METODOLOGÍA

En función con el objetivo de la investigación de analizar la terapia exosómica una estrategia terapéutica en isquemias cerebrales, se procede a realizar una búsqueda en bases de datos científicas especializadas como PubMed y Google Scholar, utilizando las siguientes palabras clave: exosome, ischemic stroke, therapy, donde se identificaron 628 resultados relacionados. Posteriormente se aplicaron los siguientes criterios de inclusión como estudios *in vivo* e *in vitro*, accidente cerebrovascular isquémico, isquemia cerebral o hipoxia cerebral, tratamientos con exosomas derivados de células madre y neuronales, métodos de aislamiento de exosomas y que hayan sido publicados entre el 2019 y 2024.

Los criterios de exclusión aplicados fueron: estudios en humanos, modelos hemorrágicos cerebrales, estudios presentados en forma de reseña, resúmenes de congresos, cartas y resúmenes, textos completos no en inglés y estudios que investigan el efecto de las vesículas extracelulares en si conjunto o tipos de vesículas extracelulares que no sean los exosomas.

Una vez aplicado los criterios de inclusión y exclusión los resultados se redujeron a 319, para la selección de los estudios que se tomaron en cuenta se revisaron los abstract, la rigurosidad de los estudios y que el diseño del estudio aportara al objeto de esta investigación, dando como resultado final la selección de 180 referencias para el estudio. En función con el objetivo de la investigación de analizar la terapia exosómica una estrategia terapéutica en isquemias cerebrales, se procede a realizar una búsqueda en bases de datos científicas especializadas como PubMed y Google Scholar, utilizando las siguientes palabras clave: exosome, ischemic stroke, therapy, donde se identificaron 628 resultados relacionados. Posteriormente se aplicaron los siguientes criterios de inclusión como estudios *in vivo* e *in vitro*, accidente cerebrovascular isquémico, isquemia cerebral o hipoxia cerebral, tratamientos con exosomas derivados de células madre y neuronales, métodos de aislamiento de exosomas y que hayan sido publicados en la última década.

Los criterios de exclusión aplicados fueron: estudios en humanos, modelos hemorrágicos cerebrales, estudios presentados en forma de reseña, resúmenes de congresos, cartas y resúmenes, textos completos no en inglés y estudios que investigan el efecto de las vesículas extracelulares en si conjunto o tipos de vesículas extracelulares que no sean los exosomas. Una vez aplicado los criterios de inclusión y exclusión los resultados se redujeron a 319, para la selección de los estudios que se tomaron en cuenta se revisaron los abstract, la rigurosidad de los estudios y que el diseño del estudio aportara al objeto de esta investigación, dando como resultado final la selección de 180 referencias para el estudio.

IV. ANTECEDENTES

A. Accidente cerebro vascular

El accidente cerebro vascular es de las primeras causas de muerte y discapacidad a nivel mundial[1]. El ACV involucra la obstrucción o ruptura de un vaso sanguíneo cerebral (Ver fig. 1), lo que conlleva que las células cerebrales mueran debido a la carencia de oxígeno por necrosis en las áreas de isquemia más severa y apoptosis en las zonas más periféricas lo que inicia una cascada de eventos tisulares que conllevan a una pérdida de la función neurológica de la zona afectada[17, 18].

El ambiente hipóxico induce un metabolismo anaeróbico en la zona del tejido cerebral afectada[19], el cual tiene la capacidad de destruir o alterar el equilibrio ácido base cerebral[17]. Este daño se vería reflejado en lo que sería la zona de isquemia o penumbra isquémica, esta es la región crítica del cerebro que está en riesgo de infarto pero que aún no está dañada de forma irreversible. Esta zona se caracteriza por una reducción del flujo sanguíneo suficiente para mantener la función celular, lo que la distingue del núcleo isquémico, que ya es tejido muerto[20]. La penumbra cambia de una remodelación tisular que es marcada por el daño a una remodelación que es marcada por la reparación[21].

Existen dos categorías principales de ACV, isquémico y hemorrágico[22]. El ACV isquémico representa la mayoría de los casos de ACV, Según datos de la organización mundial de la salud (OMS), se estima que cada año ocurren más de 12 millones de nuevos casos de ACV, de los cuales alrededor del 85 % son isquémicos, el mismo es causado por la obstrucción de una arteria cerebral debido a un trombo o émbolo[23, 24]. Esta obstrucción interrumpe el flujo sanguíneo y consecuentemente, el suministro de nutrientes y oxígeno en las células cerebrales, lo que conduce a la isquemia (Ver Fig. 1A). En un ACV isquémico, la obstrucción de una arteria cerebral provoca isquemia en las áreas del cerebro irrigadas por esa arteria. Debido a la isquemia, las células nerviosas no reciben suficiente oxígeno, lo que causa hipoxia y muerte celular si no se restablece el flujo sanguíneo a tiempo. La gravedad del daño cerebral y el deterioro neurológico dependen principalmente de la localización y la extensión de la isquemia. La interrupción del flujo sanguíneo afecta distintas áreas del cerebro, y cada región controla funciones específicas[25]. Por ejemplo, un ACV en la arteria cerebral media que es el más común puede causar hemiplejía contralateral y afasia, mientras que un infarto en la arteria cerebral posterior afecta la visión y la memoria. Si la isquemia es focal y pequeña, los déficits suelen ser más localizados y menos severos, lo que permite una recuperación más rápida si se interviene a tiempo. Sin embargo, un infarto masivo que compromete grandes vasos, como la arteria carótida interna, puede llevar a discapacidades severas o incluso la muerte[26]. Por ello, es imperativo restaurar el flujo sanguíneo y los nutrientes / oxígeno, de forma rápida,

para promover la minimización de la muerte neuronal y la mejora funcional cerebral[26].

El ACV hemorrágico, ocurre cuando se produce la ruptura de un vaso sanguíneo en el cerebro, lo que da lugar a la extravasación de sangre en el parénquima cerebral o en el espacio subaracnoideo. Esta hemorragia aumenta la presión intracraneal y puede resultar en daño tisular significativo debido a la compresión del tejido cerebral, asociado a la disminución del flujo sanguíneo local Ver fig. 2A[27]. Aunque menos frecuente que el isquémico, representa el 15% de los casos a nivel mundial, pero está asociado con una mayor mortalidad, alcanzando entre el 30-50% en los primeros 30 días. Se clasifica en hemorragia intracerebral (HIC), que constituye el 10-12% de los ACV y tiene una mortalidad del 35-50%, y hemorragia subaracnoidea (HSA), responsable del 3-5% de los ACV con una mortalidad del 25-50%[5, 28]. En un ACV hemorrágico, el sangrado dentro del cerebro o en el espacio subaracnoideo provoca compresión del tejido cerebral, destrucción de neuronas por necrosis, edema cerebral y un aumento de la presión intracraneal[26]. A diferencia del ACV isquémico, donde la falta de oxígeno causa daño progresivo, el ACV hemorrágico produce un daño inmediato y catastrófico en el tejido cerebral circundante. La acumulación de sangre en la región afectada, desencadena una serie de eventos patológicos, incluyendo: edema cerebral, aumento de la presión intracraneal y deterioro neurológico rápido[2, 29]. En esta revisión se le dará un enfoque hacia el ACV isquémico ya que la alteración de la fosforilación oxidativa mitocondrial durante el ACV isquémico, causada por isquemia e hipoxia en el tejido cerebral, da como resultado un metabolismo energético alterado y una producción reducida de ATP[28]. Además, la ruptura de la barrera hematoencefálica durante el accidente cerebrovascular isquémico puede provocar edema cerebral y deformación hemorrágica, una de las capacidades que poseen los exosomas y que los convierten en una mejor estrategia terapéutica en el tratamiento de ACV es su capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica[6].

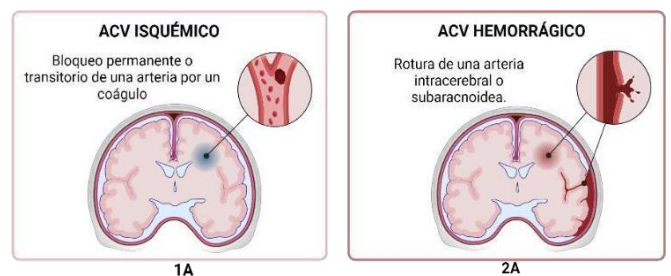


Figura 1 Tipos de accidente cerebrovascular. A la izquierda, el ACV isquémico muestra una arteria cerebral obstruida por un coágulo, lo que interrumpe el flujo sanguíneo y provoca falta de oxígeno en el tejido cerebral. A la derecha, el ACV hemorrágico ilustra la ruptura de un vaso sanguíneo, causando el derrame de sangre en el cerebro, lo que comprime el tejido cerebral y aumenta la presión intracraneal.

B. Terapias convencionales en el tratamiento del accidente cerebro vascular.

El principal objetivo en el manejo de las intervenciones quirúrgicas en ACV isquémico es el área de la penumbra isquémica esta es un área crítica que rodea el núcleo del infarto en la patología del ictus, que se caracteriza por un tejido cerebral gravemente hipoperfundido, pero potencialmente recuperable[30]. Comprender la dinámica de esta región es esencial para desarrollar estrategias terapéuticas eficaces[30]. La penumbra contiene células que, aunque no están muertas, presentan un metabolismo oxidativo alterado, lo que provoca una disfunción del mismo[31]. Los estudios proteómicos revelan cambios significativos en la expresión de las proteínas, como el aumento de los niveles de p53, lo que está relacionado con la apoptosis y la regulación del ciclo celular[13]. El homeostasis iónica, favorece la inflamación celular excesiva liberando citocinas y quimiocinas que a su vez genera una excitotoxicidad por glutamato, la activación excesiva de los receptores de glutamato conduce a la sobreestimulación de las neuronas, lo que provoca posibles daños secundarios que pueden influir en los resultados neurológicos posteriores a un accidente cerebrovascular[10, 32]. Ver Fig 2. Un alto porcentaje de los ACV isquémicos están dado por la oclusión de la arteria cerebral media, que ocasiona una disminución del flujo sanguíneo cerebral, cuyas consecuencias dependerán del grado de oxigenación de la zona afectada[9]. En la actualidad, la mayoría de las terapias actuales están enfocadas en la disolución y remoción de coágulos para restaurar la perfusión cerebral y por ello, hay diversos estudios preclínicos que están centrados en encontrar fármacos capaces de contrarrestar la presencia del trombo oclusivo, como tratamiento terapéutico en los ACV isquémicos agudos[22]. A fecha de hoy, un solo fármaco ha sido aprobado por la FDA y que corresponde al activador tisular del plasminógeno (tPA) Chiesi Farmaceutici presentó una patente para una formulación estable de tPA que incluye ácido tranexámico y sacarosa[10]. La aplicación terapéutica del procedimiento de trombólisis debe administrarse de forma muy rápida y pronta, dentro de las 4,5 horas posteriores al inicio del evento, lo cual dificulta su utilización en muchos pacientes afectados con la patología. Destacan como drogas trombolíticas: alteplasa, tenecteplasa, que tiene una vida media más prolongada y una mayor especificidad para la fibrina que la alteplasa, lo que permite la administración de un solo bolo[1]. Actuando específicamente en el proceso de fibrinólisis, mediante la conversión de plasminógeno en plasmina, una enzima que degrada la fibrina, la principal proteína estructural del coágulo cerebral[17].

La trombectomía corresponde a un procedimiento endovascular que tiene como objetivo la extracción mecánica de los coágulos sanguíneos que obstruyen las arterias

cerebrales, restaurando así la perfusión tisular y limitando el daño isquémico agudo[18]. Este tratamiento isquémico se realiza, principalmente, en pacientes con oclusiones en los grandes vasos, como la arteria cerebral media (MCA), en que el procedimiento de trombólisis intravenosa es insuficiente y/o contraindicación médica [8]. Este procedimiento, requiere la inserción de un catéter a través de una arteria periférica, típicamente la arteria femoral, que se guía hasta el sitio de la oclusión en el cerebro mediante imagenología fluoroscópica[17, 19], para aspirar y remover el trombo isquémico mediante dispositivos específicos, como stent retrievers o catéteres de aspiración[20]. La eficacia del procedimiento es altamente dependiente del momento de la aplicación; se recomienda se realice dentro de las primeras seis horas tras los síntomas del ACV[21, 23].

La trombólisis y la trombectomía son pilares fundamentales en el tratamiento del ACV isquémico agudo, teniendo por enfoque principal tanto la disolución, como la remoción del coágulo cerebral[24]. Sin embargo, los recientes avances en investigación aplicada presentan a nuevas posibles terapias avanzadas que ofrecen una nueva perspectiva para complementar y mejorar a los tratamientos tradicionales.

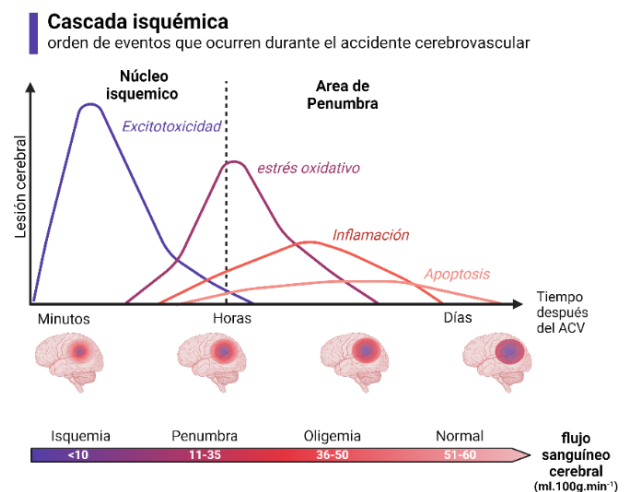


Figura 2. El gráfico de cascada isquémica representa la secuencia de eventos que ocurren en el cerebro durante un accidente cerebrovascular isquémico.

Excitotoxicidad: la activación excesiva de los receptores de glutamato conduce a la sobreestimulación de las neuronas, lo que provoca daño celular y muerte.

Estrés oxidativo: el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) puede dañar las membranas celulares, las proteínas y el ADN.

Respuesta inflamatoria: liberación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, que atraen células inmunes al área afectada.

C. Terapias exosómicas, como posible tratamiento de la isquemia cerebral.

C.1 Exosomas: conceptos generales.

Las células en la mayoría de los organismos eucariotas, incluyendo microorganismos hasta mamíferos, liberan

diferentes tipos vesículas extracelulares (EV) que son transportados a través de los diversos fluidos extracelulares como (plasma sanguíneo, líquido linfático, líquido cefalorra-
extracelular (tejido cerebral, cardiaco, adiposo, tumorales)[51-54].
Diversos estudios evidencian que los exosomas están

TABLA I. TERAPIAS ACTUALES APROBADAS POR LA FDA EXISTENTES PARA EL TRATAMIENTO DE ACV.			
Parámetro	Trombólisis	Trombectomía	Referencias
Tipo de terapia	Terapia farmacológica	Terapia endovascular	[41], [42]
Mecanismo de acción	Activación del plasminógeno en plasmina, que degrada la fibrina en el coágulo.	Extracción mecánica del coágulo mediante un dispositivo especializado.	[34], [40], [48], [49], [50], [51]
Indicación	ACV isquémico agudo dentro de las primeras 3-4.5 horas desde el inicio de los síntomas.	ACV isquémico con oclusión de grandes vasos, dentro de las primeras 6-24 horas.	[33], [52]
Ventaja	Administración rápida y no invasiva.	Alta eficacia en la recanalización de arterias principales con mejores resultados en pacientes con grandes oclusiones.	[9], [53], [54]
Desventaja	Riesgo de hemorragia intracraneal y limitado a una ventana terapéutica corta.	Requiere infraestructura y personal especializado; riesgo de complicaciones vasculares	[55], [56], [57]
Estudios clínicos	Estudios como el NINDS y ECASS III han demostrado la eficacia de tPA en mejorar los resultados neurológicos.	Estudios como el MR CLEAN y el DAWN han demostrado la superioridad de la trombectomía en grandes oclusiones arteriales	[58], [59], [60]
Estado de aprobación	Aprobado por la FDA y la EMA para ACV isquémico en 1996 y 2003, respectivamente	Aprobado por la FDA y la EMA como tratamiento complementario en casos seleccionados de ACV isquémico	[58], [61], [62]

quídeo, líquido intersticial.) para comunicarse con las células vecinas. Además, también pueden viajar a largas distancias a través del flujo de estos fluidos, alcanzando órganos y tejidos distantes, lo que les permite influir en procesos biológicos lejanos, como ocurre en la diseminación tumoral y la metástasis[41-43]. Las EV son una estructura membranosa cerrada, delimitada por una bicapa lipídica[15]. Existen distintos tipos de VE que se diferencian por su tamaño, origen, función y composición, donde se destacan principalmente: los cuerpos apoptóticos[44], las micro vesículas[45] y los exosomas[13, 46, 47]. Los exosomas son un tipo de EV de 60 a 120 nm (en promedio) [48, 49], que desempeñan papeles importantes en procesos como mediadoras de la comunicación intracelular, respuesta inmunitaria, la progresión tumoral y los trastornos neurodegenerativos[6, 50]. Los exosomas se pueden encontrar en diversos fluidos corporales (sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, saliva, lagrimas, leche materna, líquido sinovial, líquido amniótico), en los sobrenadantes de los cultivos celulares (células madre, neuronas, células tumorales y células inmunitarias) y en los tejidos se localizan principalmente en los espacios extracelulares entre las células, incluidos los espacios ocupados por la matriz

enriquecidos en moléculas biológicamente activas, como micro ARN[10], ARN mensajero[55] y ARN no codificantes[56]; ADN bicatenario[57, 58], ADN mitocondrial[56, 59]; algunos lípidos, como: esfingomielina, colesterol y ceramidas [60, 61] y distintos tipos de proteínas, como: tetraspaninas CD9, CD63, CD81, CD82[61, 62], proteínas de choque térmico (HSP70, HSP90)[60], moléculas de adhesión (integrinas, selectinas, sindecanos)[60, 63, 64] y proteínas del esqueleto celular (actina, tubulina, vimentina)[65], receptores de presentación de antígenos (MHCII, MHCI)[66, 67], receptores inmunitarios como CD86 [61, 62] y diversas enzimas (caspasas, lipasa, Rab27A y Rab11)[68, 69]. Investigaciones indican que los exosomas desarrollan un papel importante en la comunicación intracelular, cuando son captados por la célula receptora, estas decodifican la carga de los exosomas provocando efectos que pueden recuperar o ayudar a la lesión tisular. Porejemplo, los exosomas derivados de células madre, han mostrado un gran potencial para recuperar lesiones tisulares[70]. Estas pequeñas vesículas pueden promover la regeneración celular al activar rutas de señalización implicadas en la proliferación, diferenciación, y supervivencia celular, además de reducir procesos dañinos como la apoptosis (muerte celular programada) y la

inflamación crónica [71-73]. Su rol como moduladores de la respuesta inmune también es crucial para crear un entorno propicio para la reparación tisular, regulando la actividad de células inmunes y limitando la inflamación excesiva que podría dañar el tejido. Así, los exosomas no solo facilitan la recuperación fenotípica de las células dañadas, sino que también promueven la homeostasis y función en tejidos afectados por lesiones, como los del corazón, el cerebro o los tejidos músculo-esqueléticos[74, 75].

Los exosomas se aislados a partir de fluidos biológicos, sobrenadante de cultivos celulares y tejidos disgregados a través de la utilización métodos de aislamiento tales como: Ultracentrifugación[76], precipitación con polímeros[65], cromatografía por exclusión[76, 77] y kits de aislamiento comerciales[78] (TABLA II); no existe un método universal para el aislamiento de exosomas debido a que la estandarización del procedimiento involucra factores, tales como: origen de la muestra[79], heterogeneidad de muestra[15], contaminación[80], condiciones de centrifugación[81], objetivo del estudio[82]. Por ello, la escalabilidad del aislamiento de exosomas es un tema por resolver en el ámbito biomédico[78, 81]. Actualmente aparte de los métodos tradicionales también existen los kits comerciales, como el kit total exosome isolation (thermoFisher Scientific), ExoQuick (system Biosciences, Palo alto, California, EUA) que utilizan el método de precipitación polimérica [83]. El aislamiento de exosomas es un proceso delicado que requiere ser optimización, para garantizar, el rendimiento y la calidad de los exosomas aislados[84]. El rendimiento se refiere a la concentración o número total de exosomas, que se obtienen de la muestra tras el proceso de aislamiento[85], la calidad de aislamiento se refiere a la pureza de los exosomas aislados, es decir, cuántos de los elementos recuperados en la muestra aislada son exosomas y no otros contaminantes, como proteínas solubles, micro vesículas y restos celulares[80]. Existe una relación importante entre el método de aislamiento y el tipo de muestra de la que se extraen (fluidos biológicos o sobrenadantes de cultivos celulares)[83]. Los fluidos biológicos suelen ser muy complejos, ya que contienen exosomas, proteínas y otras vesículas extracelulares. Además, su concentración de exosomas puede ser más baja, necesitando así métodos que generen alta pureza. Como la cromatografía de exclusión por tamaño y ultracentrifugación[86]. Por otro lado, el sobrenadante de cultivos celulares (células madre, tumorales, inmunitarias, etc.) es menos complejo, suele contener una mayor concentración de exosomas, permitiendo flexibilidad en la elección del método, concediendo el uso de métodos más simples como kits de precipitación o filtración[87].

En el estudio in vivo de ratas Wistar macho adultas, se utilizaron exosomas de células estromales mesenquimales

multipotentes para promover la recuperación de ratones que fueron obtenidos por el método de centrifugación, donde inicialmente las muestras se centrifugaron a una velocidad de $3000\times g$ durante 30 minutos para eliminar células muertas y cuerpos apoptóticos. Después, el líquido resultante se guardó en un congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para futuras extracciones de exosomas. El proceso de aislamiento de exosomas se realizó a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, siguiendo varios pasos de centrifugación: primero a $10,000\times g$ durante 30 minutos, y luego a $100,000\times g$ por 2 horas[88]. Por otro lado, para un estudio piloto in humanos, se utilizaron exosomas de células madre mesenquimales que obtuvieron por medio de la técnica de centrifugación. Luego de recolectar el sobrenadante y se centrifugó secuencialmente a 200, 2000 y $10,000\times g$ para la eliminación de células y restos celulares, eliminar vesículas más grandes, los medios acondicionados se pasaron a través de un filtro de 0,22 mm, luego se centrifugaron a $110,000\times g$ durante 2 horas. El pellet se lavó dos veces y se suspendió en PBS nuevamente centrifugado a $110,000\times g$ durante 2 horas[89]. La empresa System biosciences, utiliza para el aislamiento de sus exosomas utiliza del kit ExoQuick aislados por el método de precipitación polimérica[90]. Este método implica el uso de un polímero que interactúa con los exosomas presentes en la muestra y los agrupa, lo que permite su precipitación al centrifugar la mezcla a baja velocidad. El proceso es más rápido que métodos tradicionales como la ultracentrifugación. pero la pureza de los exosomas en comparación a la ultracentrifugación es menor[49, 90].

La Ultracentrifugación es actualmente el método número uno para aislar exosomas para aplicaciones preclínicas y clínicas[79]. Este método implica aclarar el sobrenadante celular a baja velocidad de centrifugación, seguido se le aplica ultracentrifugación a alta velocidad[78]. Sin embargo esta técnica no distingue bien entre exosomas y otras partículas de tamaño y densidad similares, lo que ocasiona presencia de impurezas, como proteínas agregadas, viriones, orgánulos subcelulares o exosomas dañados, comprometiendo la función biológica de los exosomas[79]. Otra variable considerable es que el proceso completo toma más de 4 horas, limitando su reproducibilidad. También se utiliza el método de ultracentrifugación de gradiente de densidad, para mejorar la impureza, pero este requiere mucho más tiempo de centrifugación (>16 horas), lo que dificulta su viabilidad para aplicaciones clínicas a gran escala[81, 84]. Otras técnicas existentes y los kits comerciales, presentan pureza y rendimiento de exosomas aislados diferentes, dificultando su aplicación para procesamiento masivo[78]. Existen varios protocolos de purificar exosomas, se utilizan técnicas de caracterización, como el análisis de marcadores específicos de exosomas (CD63, CD9, CD81) por Western Blot, el tamaño y concentración mediante Nanoparticle Tracking Analysis (NTA), o la visualización directa mediante microscopía electrónica[91]. Actualmente se dificulta

TABLA II.
TÉCNICAS MÁS COMUNES PARA EL AISLAMIENTO DE EXOSOMAS, VENTAJAS Y DESVENTAJAS.

Método	Muestra	Tiempo (min)	Pureza	Ventajas	Desventajas	Ref.
Ultra centrifugación	Orina	14-600	Media - alta	Estándar de preferencia, adecuado para muestras de gran volumen, bajo costo.	Operación lenta y engorrosa, puede llegar a dañar los exosomas.	[76]
Ultrafiltración	Orina	130	Media	Bajo costo, no utiliza equipo especial ni reactivos.	Perdida de exosomas, obstrucción del filtrador de membrana.	[76, 77]
Precipitación	Plasma	30-120	Baja	Método sencillo apto para muestras voluminosas.	Contaminantes potenciales (agregados o residuos polímeros)	[65]
Captura por inmunofinidad	CCM	240	Alta	Alta especialización para subtipos de exosomas	Costoso, depende del anticuerpo.	[87]
Cromatografía por exclusión de tamaño	CCM	15	Media-Alta	Versátil para distintos tipos de muestras, conserva la integridad de las vesículas	Instrumentos costos, procedimiento costo.	[76, 77]
Microfluidica	CMM	60	Alta	Proceso rápido.	Requiere instrumentos especializados	[93]

comprar la pureza de los exosomas aislados, gracias a la falta de métodos estandarizados para determinar la pureza de los exosomas. Existe la necesidad de desarrollar métodos estandarizados para aislar exosomas con técnicas de purificación rápidas, rentables y reproducibles para las futuras aplicaciones clínicas de exosomas[92].

C.2 Exosomas en el SNC, relevancia fisiológica.

Los exosomas son liberados por los diferentes tipos de células del SNC tales como: neuronas y células gliales (p.e astrocitos, oligodendrocitos y microglía) facilitando la transferencia de proteínas, ARN y otras biomoléculas como ADN, MicroARN en diversos procesos fisiológicos, como: la plasticidad sináptica y la homeostasis cerebral, A su vez en el desarrollo embrionario del SNC ya que los exosomas influyen en la diferenciación y el crecimiento de estas células durante el desarrollo cerebral[94]. Los exosomas derivados de astrocitos son importantes reguladores de la actividad

sináptica en el sistema nervioso central. Transportan diversos factores neurotróficos que promueven la supervivencia, el crecimiento y la plasticidad neuronal. Además del BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor), algunos otros factores clave transportados por estos exosomas incluyen, NGF (Nerve Growth Factor) que estimula el crecimiento y la supervivencia de neuronas, especialmente en el desarrollo temprano y en procesos regenerativo, Así como el GDNF (Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor) quienpromueve la supervivencia de diversas clases de neuronas, incluidas las dopaminérgicas, y es relevante en modelos de enfermedades neurodegenerativas. Y también el NT-3 (Neurotrophin-3) que es importante para la diferenciación y supervivencia neuronal, especialmente en el desarrollo de las neuronas sensoriales y motoras[95]. mediante este mecanismo, las células cerebrales pueden responder a

cambios en el microambiente manteniendo una función cerebral adecuada[96].

Además de los astrocitos, las microglías y las neuronas también liberan exosomas que desempeñan funciones cruciales en el sistema nervioso central, especialmente en respuesta a lesiones cerebrales[97]. En el contexto de lesiones cerebrales, los exosomas micro gliales se encargan de modular la inflamación al transportar factores como el TNF- α o IL-1, influyen en la respuesta inflamatoria inicial tras una lesión, lo que puede ser beneficioso o perjudicial dependiendo de la regulación, igual que facilitan la neuro protección cuando transportan factores antiinflamatorios y antioxidantes que ayudan a controlar el daño secundario en eltejido cerebral, promoviendo la regeneración, al estimular la reparación contribuyen a la limpieza de desechos celulares y a la resolución de la inflamación, lo cual es clave en la recuperación post lesión[98]. Las neuronas de diferentes tipos en el sistema nervioso central liberan exosomas, y cada tipo puede tener funciones específicas según su localización

y papel en la red neuronal. Por ejemplo, exosomas derivados de las neuronas corticales piramidales transportan proteínas sinápticas, como el receptor AMPA, que modulan la plasticidad sináptica, crucial para el aprendizaje y la memoria[99, 100]. Los exosomas pueden, por lo tanto, estar involucrados en la propagación de proteínas patológicas en enfermedades neurodegenerativas[101]. Por otro lado, los exosomas de neuronas gabaérgicas contienen transportadores y receptores relacionados con el neurotransmisor GABA, influyendo en la regulación de la excitabilidad neuronal, importante en condiciones como la epilepsia[100, 101].

Condiciones patológicas cerebrales, como: los ACV, presentan una disrupción en la cantidad y composición de los exosomas liberados[102]. Las neuronas sufren estrés y muerte celular en áreas afectadas por el ACV. Su liberación

de exosomas disminuye drásticamente, lo que puede representar una represión total en áreas gravemente dañadas, aunque en áreas circundantes la liberación puede aumentar, pero los astrocitos en un cerebro sano juegan un papel protector, pero durante el ACV liberan exosomas que contienen proteínas de estrés celular y señales inflamatorias[102]. Parecido al mecanismo de acción de las microglías activadas tras el daño, liberan más exosomas cargados de citoquinas inflamatorias y factores de estrés oxidativo y el oligodendrocito al sufrir daños en su capacidad de formar mielina, también pueden alterar la liberación de exosomas que contienen proteínas involucradas en la reparación de la mielina[50]. En áreas donde las neuronas y otras células están gravemente afectadas, la liberación de exosomas puede verse significativamente reducida o incluso inhibida. Esto puede deberse a la falta de energía celular y la disfunción de los mecanismos de tráfico vesicular[103].

El análisis de cerebros post mortem de pacientes que sufrieron un ACV ha revelado alteraciones en los perfiles de exosomas, especialmente en la cantidad de micro ARN proinflamatorios y proteínas de estrés. En estudios de tejidos afectados por isquemia, se observaron cambios específicos en la liberación de exosomas en áreas dañadas y no dañadas del cerebro[50, 104, 105]. Este desbalance no solo altera la comunicación intercelular, sino que también puede exacerbar el daño neuronal promoviendo procesos proinflamatorios que conllevan a muerte celular cerebral[106]. Por ello, los exosomas están siendo estudiados tanto como biomarcadores, ya que pueden detectarse en la sangre periférica o en el líquido cefalorraquídeo (LCR) tras pasar a través de la barrera hematoencefálica (BHE), lo que potencia su acción como biomarcadores [93]. En la sangre periférica, los exosomas liberados por las células del sistema nervioso central pueden cruzar la BHE y ser detectados, lo que facilita su análisis para identificar microARN y proteínas específicas del ACV. Exosomas cargados con microARNs proinflamatorios como miR-21 han sido encontrados en niveles elevados en pacientes con ACV, y su análisis en sangre puede correlacionarse con la gravedad y la evolución del daño cerebral. Este mecanismo permite un diagnóstico temprano y seguimiento del ACV sin procedimientos invasivos [94]. Por otro lado, en el líquido cefalorraquídeo (LCR), los exosomas liberados directamente desde las células neuronales y gliales tras un ACV contienen proteínas y ARN que reflejan de manera más directa los cambios en el cerebro. Estos exosomas pueden transportar proteínas de estrés celular, como HSP70 y HSP90, así como citoquinas inflamatorias como IL-6 y TNF- α , que son marcadores claves del daño cerebral y la inflamación post-ictus [94]. Los estudios han mostrado que el número y la composición de los exosomas en el LCR aumentan significativamente en las primeras horas tras el evento isquémico, ayudando a evaluar el pronóstico y la extensión de la lesión [95]. Durante un ictus, la liberación

de exosomas por las células dañadas se ve alterada, lo que lleva a un aumento de vesículas con perfiles de ARN específicos (por ejemplo, microARNs proinflamatorios como miR-21) y proteínas relacionadas con el estrés celular, como las proteínas de choque térmico HSP70 y HSP90, y la inflamación (por ejemplo, TNF- α , IL-6) [94]. Estos cambios en la liberación y contenido de exosomas reflejan el estado patológico del cerebro y son útiles no solo como biomarcadores de la progresión del ACV, sino también para predecir la respuesta inflamatoria y el daño tisular a largo plazo[94, 107].

Actualmente, uno de los principales problemas en el tratamiento del ACV es identificar biomarcadores efectivos para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes. Algunos de los biomarcadores más comúnmente estudiados en el ACV, como proteínas pro inflamatorias por ejemplo, IL-6 y TNF- α y factores de crecimiento como el factor de crecimiento endotelial vascular, VEGF, presentan ciertas desventajas[108]. Estos biomarcadores, aunque valiosos, tienen una baja abundancia en circulación y una pobre heterogeneidad, lo que limita su utilidad clínica. Además, estos marcadores suelen ser detectados mediante análisis invasivos, como la extracción de sangre o el análisis del líquido cefalorraquídeo, lo cual no siempre es práctico en la fase aguda del ACV. Estudios recientes han mostrado que, aunque estas moléculas proporcionan información sobre el estado inflamatorio o vascular del paciente, la variabilidad entre pacientes y su limitada estabilidad en fluidos corporales reduce su efectividad como biomarcadores diagnósticos robustos [93].

Un estudio de 2020 destacó que los niveles de IL-6 aumentan en las primeras horas tras un ACV, pero varían significativamente entre los pacientes dependiendo de la extensión del daño. Otro estudio encontró que los niveles de VEGF están relacionados con la reparación vascular post-ictus, pero su cuantificación no siempre refleja el pronóstico de manera consistente[109, 110]. Esta falta de fiabilidad y homogeneidad en los biomarcadores tradicionales ha llevado a explorar nuevas alternativas, como los exosomas, que ofrecen una mayor precisión al reflejar el microambiente del cerebro durante y después de un ACV, además de ser detectables en la sangre y el LCR[8, 94]. Datos emergentes sugieren que los exosomas cerebrales juegan un papel de reparación tisular y la neuro protección[108, 111]. Después de una lesión cerebral, como un accidente cerebrovascular (ACV) isquémico, la barrera hematoencefálica (BHE) se rompe debido al aumento de la presión intracraneal y otros factores relacionados con el daño tisular. La isquemia cerebral implica la interrupción del flujo sanguíneo, lo que priva a las neuronas y células gliales de oxígeno y glucosa, desencadenando una rápida disfunción celular y despolarización de las membranas neuronales [99]. En

respuesta a la falta de energía, las neuronas liberan grandes cantidades de glutamato, un neurotransmisor excitatorio, que activa los receptores NMDA, provocando una sobrecarga de

calcio en las células, lo que lleva a la excitotoxicidad y muerte celular. La isquemia también causa la liberación de

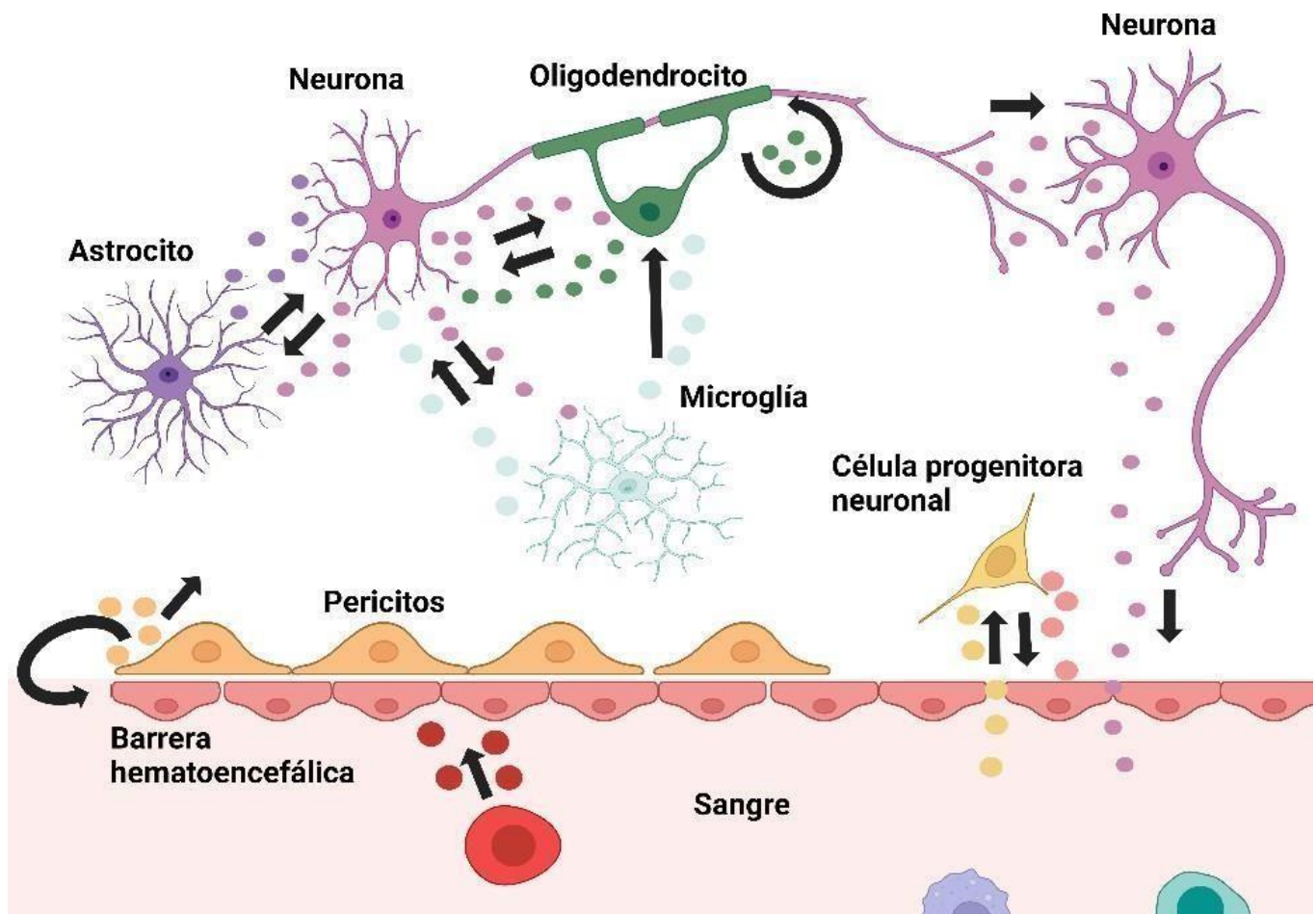


Figura 2. Interacciones celulares en el microentorno cerebral tras un accidente cerebrovascular. La imagen ilustra la participación de diferentes tipos de células del sistema nervioso central, incluyendo neuronas, astrocitos, oligodendrocitos, microglía y pericitos. Estos componentes colaboran en la reparación y regeneración del tejido cerebral después de un ACV. Los pericitos, situados en la barrera hematoencefálica, liberan exosomas que facilitan la angiogénesis y la neurogénesis, promoviendo la diferenciación y migración de células madre neurales, así como la comunicación entre las células. Esta interacción es fundamental para restaurar la funcionalidad neuronal y la integridad de la BHE después de la lesión. [28].

metaloproteinasas de matriz (MMPs) que degradan las uniones estrechas entre las células endoteliales de la BHE, aumentando su permeabilidad y permitiendo la filtración de líquidos, proteínas plasmáticas y células inmunitarias hacia el tejido cerebral [100]. Esta ruptura de la BHE expone al cerebro a componentes del sistema inmunológico, como leucocitos y citoquinas proinflamatorias, generando una respuesta inflamatoria local que agrava el daño neuronal. Al mismo tiempo, el aumento de la permeabilidad facilita la entrada de líquidos, contribuyendo al edema cerebral (hinchazón) y al incremento de la presión intracraneal. Además, la disfunción de la BHE afecta la eliminación de desechos del cerebro, resultando en la acumulación de metabolitos tóxicos en el espacio extracelular, lo que exacerba el estrés celular y la inflamación. En conjunto, estos mecanismos no solo comprometen la función cerebral, sino que también aumentan el riesgo de muerte celular masiva y

deterioro neurológico a largo plazo, complicando el tratamiento y la recuperación tras un ACV[96, 112, 113]. Después del ACV, las células endoteliales cerebrales secretan

exosomas que estimulan a las células progenitoras neuronales para diferenciarse en oligodendrocitos para participar en la mielinización[112, 113]. Como también, los pericitos y células endoteliales comienzan a promover la angiogénesis y restablecer la barrera hematoencefálica (BHE)[114]. Los pericitos son capaces de liberar exosomas que actúan como promotores de la angiogénesis y la neurogénesis, facilitando la diferenciación de neuronas y células gliales, así como procesos de migración y proliferación[115]. Se ha demostrado que los exosomas derivados de los pericitos facilitan la diferenciación de neuronas progenitoras en neuronas maduras, además de estimular la proliferación y migración de células madre neurales, contribuyendo a la regeneración del tejido cerebral. Estos exosomas contienen

diversas moléculas señalizadoras, como factores neurotróficos, micro ARNs y proteínas que regulan estos procesos, sugiriendo que los pericitos no solo participan en la formación de nuevos vasos sanguíneos, sino que también juegan un papel importante en la reparación y regeneración neuronal tras una lesión. Estudios previos han destacado el papel de los pericitos en la neurogénesis y la angiogénesis, mostrando cómo los exosomas en este contexto facilitan la comunicación célula-célula y modulan el microentorno cerebral [8, 116]. También, las células progenitoras neuronales secretan exosomas que son capaces de promover procesos de inmunidad periférica al ser capaces de atravesar la BHE[117, 118]. Los exosomas cerebrales son promotores de efectos neuro protectores a largo plazo después de un ACV debido que regulan la respuesta inmune periférica promueven la angiogénesis y estimulan la remodelación dendrítica axonal[119].

C.3 Terapia exosómica en el ACV.

La terapia exosómica se ha enfocado principalmente en el tratamiento del acv isquémico en lugar del acv hemorrágico debido a varias razones relacionadas con la naturaleza de ambas condiciones y los mecanismos de los exosomas[10]. El acv isquémico provoca la muerte de las células cerebrales por falta de oxígeno y nutrientes. La terapia exosómica busca restaurar la función celular mediante la promoción de la regeneración, reducción de la inflamación y activación de procesos como la neurogénesis, angiogénesis y la reparación de tejidos[120, 121]. Los exosomas son particularmente eficaces en este contexto, donde el daño está vinculado a la falta de oxígeno (hipoxia) y donde la recuperación de la circulación sanguínea y la regeneración neuronal son esenciales[17, 18]. En contraste, el acv hemorrágico involucra la ruptura de un vaso sanguíneo en el cerebro, lo que causa la acumulación de sangre y presión, y potencialmente daño cerebral extenso por compresión y toxicidad de la sangre derramada. Aquí, la prioridad médica es detener la hemorragia y controlar la presión intracraneal, lo cual es más agudo y crítico que los procesos de regeneración celular[2]. Aunque los exosomas tienen propiedades antiinflamatorias, regenerativas y neuro protectoras, no pueden resolver directamente la hemorragia activa ni controlar la presión intracraneal de manera inmediata, lo que hace que su aplicación inicial en esta condición sea menos relevante[122, 123].

Los exosomas tienen la capacidad de entregar moléculas activas de gran potencial terapéutico[54]; como también, atravesar la barrera hematoencefálica lo que permite la comunicación entre el sistema periférico y el sistema nervioso central (SNC)[124].

Los exosomas son secretados por todos los tipos celulares en el cuerpo, incluyendo las células madre[125]. Destacando, los exosomas de células madre mesenquimales (CMM), que

tienen gran capacidad regenerativa, inmunomodulador y su potencial terapéutico en diferentes enfermedades humanas. La aplicación terapéutica de los exosomas se ha observado en diversas aplicaciones[68], tales como: En enfermedades cardíacas, los exosomas derivados de células madre mesenquimales (MSC) pueden promover la reparación del tejido cardíaco tras un infarto al inducir la regeneración miocárdica y reducir la inflamación[126]. En el intestino, los exosomas han sido utilizados para tratar colitis y enfermedades inflamatorias intestinales, mejorando la función de la barrera intestinal y modulando la respuesta inmune[127, 128]. En aplicaciones cutáneas, los exosomas contribuyen a la regeneración de la piel, acelerando la cicatrización de heridas y promoviendo la reparación de tejidos dañados[129]. También se investigan en enfermedades hepáticas y renales, donde pueden reducir la fibrosis y mejorar la función celular[130, 131]. Estas aplicaciones destacan la versatilidad de los exosomas como herramienta terapéutica en diferentes sistemas del cuerpo.

La capacidad terapéutica de los exosomas varía dependiendo del origen celular, ya que los exosomas llevan componentes específicos que evidencian el tipo de célula de la que proviene y también determina su potencial en diferentes aplicaciones clínicas[132]. Por ello, la utilización de exosomas cerebrales se presenta como una opción atractiva en posibles terapias para lesiones cerebrales. En esta revisión nos enfocaremos en la terapia basada en exosomas provenientes de células cerebrales [85, 91, 124, 133] y de células madre[12, 131, 134, 135]. Un enfoque clave en la terapia con exosomas es su capacidad para promover la regeneración tisular y reducir la inflamación, lo que ha sido de particular interés en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y el accidente cerebrovascular[109]. En este contexto, la selección de la vía de administración es crucial para garantizar que los exosomas puede influir directamente en factores como eficiencia, concentración en el sitio objetivo y velocidad de acción[136].

Existen distintas vías de administración de exosomas, estas se dividen en dos grupos, sistemática y local, la administración sistemática contempla: (A) Intranasal, (B) Inyección intraarterial a través de la arteria carótida común,

(C) inyección intravenosa a través de la vena de la cola, (D) Inyección intravenosa a través de la vena femoral o la vena yugular interna y (E) administración intraperitoneal. La administración local incluye: (F) inyección en el ventrículo cerebral o también conocida como intracerebral [30] (ver fig. 3). La vía de administración más destacada para las aplicaciones terapia exosómica en modelos animales (roedor) de accidente cerebro vascular isquémico es la inyección intravenosa a través de la cola de la vena.[137] Ya que es no invasiva, facilita su aplicación y ofrece la capacidad de distribuir sistemáticamente, por medio del torrente sanguíneo, los exosomas por todo el cuerpo[136].

El sistema cerebral central según estudios genera exosomas que son capaces de promover la angiogénesis, disminuir la inflamación, detienen la apoptosis celular, ayudando así a tatar las lesiones generadas por el ACV isquémico, como se

puede observar en la tabla IV, donde se mencionan estudios tanto in vivo, como in vitro, de fuentes de exosomas provenientes de células somáticas[15, 59, 60].

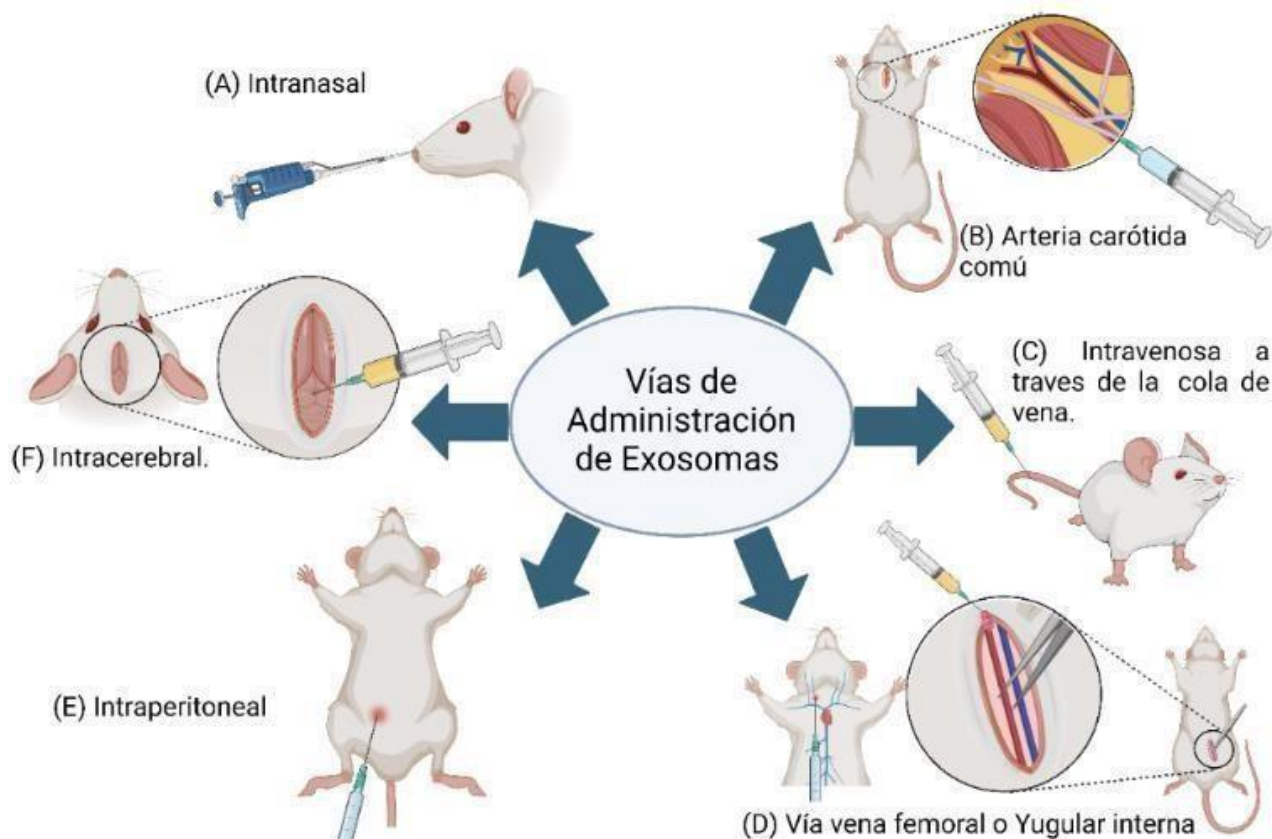


Figura 3. Vías de administración de exosomas: A- vía de administración intranasal, B- vía de administración por medio de la arteria carótida, C- administración por medio de la cola de la vena, D- Inyección intravenosa a través de la vena femoral o la vena yugular interna, E- administración intraperitoneal, F- inyección en el ventrículo cerebral o también conocida como intracerebral.

Los exosomas derivados de células cerebrales, como las neuronas o las células gliales, también han mostrado potencial en la mitigación de la apoptosis y en la protección de las células neuronales afectadas, (ver tabla IV). Las neuronas, astrocitos y microglía y células endoteliales, secretan exosomas neuronales que intervienen en la respuesta a lesiones, facilitando la comunicación entre células del sistema nervioso central (SNC)[138].

Los astrocitos, las células gliales más grandes del sistema nervioso central, cumplen funciones cruciales como el soporte estructural de las neuronas, la regulación de la inflamación, el mantenimiento de la barrera hematoencefálica, y la modulación de la actividad sináptica[80]. El estudio in vitro denominado “Efecto neuro protector del pre acondicionamiento isquémico mediado por exosomas derivados de astrocitos y el papel del miR-92b-3p en la isquemia cerebral”. Este estudio in vitro investiga cómo los exosomas derivados de astrocitos pre acondicionados con privación de oxígeno y glucosa (OGD) protegen a las neuronas en un modelo de isquemia cerebral. Los resultados muestran que estos exosomas son

absorbidos por las neuronas y atenúan la muerte neuronal y las apoptosis inducidas por la OGD. Un hallazgo relevante es el micro ARN miR-92b-3p, que se encuentra en niveles aumentados en estos exosomas y ejerce efectos neuro protectores cuando se sobre expresa en las neuronas. Se realizaron estudios de secuenciación de micro ARN, análisis de apoptosis neuronal y estudios de absorción de exosomas para medir los efectos protectores de los exosomas. Comparando diferentes tipos celulares (astrocitos, neuronas y microglía), los exosomas de astrocitos pre acondicionados mostraron ser los más efectivos en reducir la apoptosis y proteger frente a la isquemia in vitro[139].

Por otro lado, otro estudio in vitro: “Los exosomas derivados de astrocitos inducen la recuperación neuronal después de una lesión cerebral traumática mediante la administración de enlaces de hendidura alfa 1-20 k”. Este estudio, tanto in vitro como in vivo, explora el papel de los exosomas derivados de astrocitos que contienen la proteína GJA1-20 k en la recuperación neuronal tras una lesión cerebral traumática (LCT). Los exosomas redujeron la apoptosis neuronal y mejoran la función mitocondrial,

promoviendo la recuperación de neuronas dañadas. Los exosomas se administraron a través de un modelo de cultivo celular in vitro y se transfirieron a un modelo de rata con lesión hidráulica por trauma cerebral. Se emplearon técnicas como inmunofluorescencia, análisis de apoptosis (TUNEL), Western blot para detectar proteínas, y tinciones histológicas (TTC y Nissl) se utilizaron para analizar los efectos. Los resultados sugieren que los exosomas que contienen GJA1-20 k son efectivos para reducir la apoptosis neuronal y mejorar la función mitocondrial, favoreciendo la recuperación neuronal tras una LCT. El estudio sugiere que los exosomas derivados de astrocitos, especialmente aquellos que contienen GJA1-20 k, funcionan eficazmente para reducir la apoptosis neuronal y mejorar la función mitocondrial, promoviendo así la recuperación neuronal después de una lesión cerebral[140].

El estudio in vivo “Efecto de los exosomas derivados de astrocitos (AS-Exo) en la regulación de la apoptosis y la autofagia neuronal en modelos de accidente cerebrovascular isquémico.” Investiga el uso de exosomas derivados de astrocitos (AS-Exo) para tratar la isquemia cerebral en ratones. Los exosomas fueron administrados intravenosamente tras inducir isquemia focal mediante la oclusión de la arteria cerebral media. Los resultados mostraron que los AS-Exo mejoraron la viabilidad neuronal, inhibieron la apoptosis inducida por la privación de oxígeno y glucosa (OGD), y redujeron los niveles de mediadores inflamatorios como TNF- α , IL-6 e IL-1 β . El estudio también reveló que los AS-Exo regulan positivamente la autofagia, lo que contribuyó a disminuir la degeneración neuronal en estudios tanto in vitro como in vivo. Los métodos utilizados incluyeron tinción inmunofluorescente para la identificación de astrocitos y la captación de exosomas por neuronas mediante microscopía láser confocal. Se analizaron la viabilidad celular y la apoptosis mediante los ensayos CCK-8 y TUNEL, y se evaluaron proteínas relacionadas con apoptosis (caspasa-3, Bax) y autofagia (Beclin-1, LC3-I, LC3-II, P62) usando Western blot. Además, se midieron los niveles de citoquinas proinflamatorias con ensayos ELISA[141].

En el caso de los exosomas secretados por la microglía, pueden tener roles neuro protectores como neurodegenerativos, dependiendo del contexto patológico[142, 143]. La microglía, como células inmunitarias exclusivas del sistema nervioso central (SNC), juega un papel crucial en diversos procesos fisiológicos cerebrales[144]. Cuando ocurre un accidente cerebrovascular isquémico, la microglía se activa y puede polarizarse en dos fenotipos diferentes: el fenotipo M1o el fenotipo M2[145]. El estudio in vitro titulado "El miR-424-5p transportado por exosomas desde la microglía pre acondicionada isquémica media la lesión de las células

endoteliales cerebrales a través de la regulación negativa de la vía FGF2/STAT3" explora cómo el micro ARN miR-424-5p, transportado en exosomas derivados de microglía activada por privación de oxígeno y glucosa (OGD), afecta a las células endoteliales cerebrales (BMEC) en un modelo de isquemia. Los exosomas de microglía activada por OGD exacerbaban el daño y la permeabilidad de las BMEC, lo que contribuye a la disfunción de la unidad neurovascular. La inhibición de miR-424-5p en los exosomas redujo significativamente este daño, mejorando la integridad celular y disminuyendo la permeabilidad. Por el contrario, la sobreexpresión de miR-424-5p empeoró la lesión y aumentó la permeabilidad de las BMEC. Para verificar estos efectos, se utilizaron ensayos in vitro de privación de oxígeno y glucosa (OGD) en BMEC, junto con análisis de mi ARN en exosomas, y ensayos de ganancia y pérdida de función para miR-424-5p. Los resultados también fueron validados en un modelo in vivo de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO), donde la inhibición de miR-424-5p redujo la disfunción neurológica y el daño endotelial. El estudio sugiere que la inhibición de miR-424-5p en exosomas de microglía tiene un efecto protector, disminuyendo el daño en las células endoteliales y mejorando la permeabilidad en condiciones de isquemia. En contraste, su sobreexpresión exagera el daño celular, subrayando el papel crítico de miR-424-5p en la regulación de la vía FGF2/STAT3 en la lesión isquémica[145].

El estudio in vivo titulado "Los exosomas derivados de la microglía M2 protegen al cerebro del ratón de la lesión por isquemia-reperfusión a través del miR-124 exosomal" investiga el papel de los exosomas derivados de microglía M2 en la protección del cerebro tras una lesión isquémica. Los resultados mostraron que estos exosomas tienen un fuerte efecto neuro protector, reduciendo la apoptosis neuronal y disminuyendo el volumen del infarto cerebral en un modelo de isquemia cerebral en ratones. Además, los ratones tratados con los exosomas demostraron mejoras significativas en sus déficits conductuales tres días después del ataque isquémico. Sin embargo, cuando se inhibió el miR-124 en los exosomas, los efectos protectores disminuyeron considerablemente. La combinación de exosomas M2 con el inhibidor de USP14 restauró completamente los efectos neuro protectores. Los exosomas fueron administrados por vía intravenosa en el cerebro de los ratones inmediatamente después de inducir la isquemia mediante la oclusión de la arteria cerebral media. Los efectos se midieron a través de la evaluación del volumen del infarto, puntuaciones neurológicas y análisis de apoptosis neuronal. También se realizaron estudios mecanicistas para analizar los niveles de expresión de ARN y proteínas en neuronas y tejidos cerebrales. El estudio concluye que los exosomas derivados de la microglía M2, a través de la acción del miR-124, funcionan eficazmente para reducir el daño cerebral isquémico y promover la

supervivencia neuronal, destacando su potencial terapéutico tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*[137]. En resumen, la terapia exosómica tiene un potencial prometedor para el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico, con los exosomas derivados de la microglía M2 mostrando eficacia en la reducción del daño cerebral y la promoción de la supervivencia neuronal. La regulación precisa de miRNAs como miR-424-5p y miR-124 es crucial para maximizar los beneficios terapéuticos y minimizar los efectos adversos[137, 146].

En el estado de hipoxia los exosomas provenientes de células endoteliales cerebrales tiene un papel importante en la protección de las neuronas, y promueven en crecimiento axonal, por medio de la promoción del crecimiento celular, migración y detenimiento de la apoptosis de las células nerviosas[147]. Un estudio *in vitro* “Los exosomas derivados de células endoteliales cerebrales inducen neuro plasticidad en ratas con lesión por isquemia / reperusión”. En este estudio *in vitro*, se comparó el efecto de exosomas derivados de células endoteliales cerebrales isquémicas (isCEC-exos) y no isquémicas (nCEC-exos) en el crecimiento axonal de neuronas corticales. Los isCEC-exos demostraron una eficacia superior en comparación con los nCEC-exos para promover el crecimiento axonal. Se utilizó un sistema de cultivo celular multi compartimental y análisis ultraestructurales para confirmar la internalización de los exosomas en los axones. El análisis de miARN y proteínas reveló que los isCEC-exos facilitan la recuperación axonal, mediado por cambios en micro ARN y proteínas relacionadas con la inhibición del crecimiento[147].

En estudios *in vivo* como “El miR-424-5p transportado por exósmosis desde la microglía pre acondicionada isquémica media la lesión de las células endoteliales cerebrales a través de la regulación negativa de la vía FGF2/STAT3”. Este estudio *in vivo* evaluó el impacto de los exosomas derivados de células endoteliales cerebrales (EC-Exo) en la recuperación post-ictus en un modelo de oclusión/reperusión de la arteria cerebral media (MCAO/R). Los resultados mostraron que los EC-Exo redujeron la tasa de falla de pie, mejoraron la marcha y enriquecieron las vías relacionadas con la transmisión sináptica y la plasticidad sináptica. El microARN-126-3p, presente en los exosomas, jugó un rol crucial en la protección neuronal y el crecimiento de neuritas. Estos efectos se reflejaron en mejoras en la función motora y la plasticidad sináptica[146]. En otro estudio *in vivo* “Mecanismo de reparación de la lesión cerebral isquémica por exosomas derivados de células progenitoras endoteliales”. Estudio *in vivo* examinó los efectos de los exosomas derivados de células progenitoras endoteliales (EPC) en un modelo de isquemia cerebral. Los resultados indicaron una reducción significativa en el tamaño del

infarto cerebral, mejoras en la puntuación de déficits neurológicos y una disminución en la apoptosis celular. Además, se observó un aumento en la expresión de proteínas asociadas con la angiogénesis, como CD31 y VEGF. Los exosomas se inyectaron intraventricular mente, y los análisis confirmaron la eficacia de los exosomas en la promoción de la angiogénesis y la reducción de la apoptosis, mejorando la recuperación funcional[148].

Los estudios sobre células somáticas han sido fundamentales para comprender los mecanismos de reparación tisular y regeneración en el contexto del accidente cerebrovascular (ACV), ofreciendo valiosa información sobre las respuestas celulares ante el daño isquémico[60]. Sin embargo, a medida que se ha avanzado en la investigación, se ha reconocido que las células somáticas tienen limitaciones en su capacidad de regeneración a largo plazo y en su potencial para influir en el microambiente post-ACV[149]. En este sentido, las células madre mesenquimales (CMM) han emergido como una alternativa prometedora, no solo por su capacidad para diferenciarse en varios tipos celulares, sino también por su potente acción paracrina y su habilidad para secretar exosomas cargados con moléculas terapéuticas[11]. Estas características han impulsado una creciente atención hacia el potencial de las MSC en el tratamiento del ACV, abriendo nuevas vías de investigación que buscan maximizar los beneficios terapéuticos de estos enfoques celulares avanzados[13]. Un estudio sobre la recuperación funcional tras un accidente cerebrovascular, los exosomas modificados por bioingeniería enriquecidos con el grupo miR-17-92 derivados de células estromales mesenquimales (CMM) demostraron tener un impacto significativo[149, 150].

En comparación con el grupo control que recibió liposomas, las ratas tratadas con estos exosomas presentaron una reducción considerable en el corriente umbral para la micro estimulación intracortical, lo que mejoró los movimientos de las extremidades. Además, se observó un aumento en la densidad de neuritas, mielina, y brotes axonales, tanto en el área límite isquémica como en la médula espinal desnervada. Esta mejora funcional parece estar relacionada con la activación de la vía PI3K/Akt/mTOR, mediada por la regulación negativa de PTEN, lo que favorece la remodelación axonal y la mielinización[151].

En línea con estos hallazgos se realizó un intento por demostrar que los exosomas de células estromales mesenquimales (MSC) median la transferencia de micro ARN 133b (miR-133b) para promover la recuperación neurológica tras un accidente cerebrovascular, se emplearon tecnologías de knockin y knockdown para ajustar los niveles de miR-133b en las MSC y sus exosomas[152]. Las ratas sometidas a oclusión de la arteria

cerebral media (MCAo) y tratadas con diferentes variantes de CMM mostraron resultados interesantes. Las que recibieron MSC sin modificación ya mejoraron la recuperación funcional y la plasticidad axonal, pero estas mejoras fueron aún más notables con el tratamiento de MSC miR-133b (+)[152, 153]. En contraste, los beneficios disminuyeron con el tratamiento de CMM miR-133b (-). Además, el nivel de miR-133b en los exosomas del líquido cefalorraquídeo reflejó estos cambios, sugiriendo que los exosomas liberados por las CMM transfieren efectivamente miR-133b a astrocitos y neuronas, modulando la expresión de genes clave y favoreciendo la remodelación neuronal[154].

Recientes estudios como el de aplicación de vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales en el tratamiento del ictus: estudio de bio distribución y micro ARN y el que habla sobre los exosomas de células progenitoras endoteliales modificadas con miRNA-126 alivian la lesión cerebral y promueven la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular comparan el uso de vesículas extracelulares y exosomas en modelos animales para tratar el ictus isquémico. En el primer estudio, las vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales no solo demostraron estimular la neurogénesis y la angiogénesis, sino que además ofrecieron una ventaja sobre las MSC al evitar su acumulación en órganos como los pulmones y el hígado[155]. Además, se identificaron los micro ARN miR-184 y miR-210 como factores clave en la promoción de estos procesos regenerativos[156]. En cambio, en el segundo estudio, los exosomas derivados de células progenitoras endoteliales (EPC-EX), modificados con miR-126, mostraron un efecto más potente que los exosomas no modificados al reducir el tamaño del infarto, aumentar la microvasculatura y mejorar la recuperación neurológica[157]. Aquí, el enriquecimiento con miR-126 favoreció la angiogénesis y la neurogénesis, acompañado por una regulación positiva de VEGFR2 y una reducción de la caspasa-3, indicando un efecto protector contra el daño cerebral[158]. Aunque ambos estudios destacan el papel terapéutico de estas vesículas y exosomas, el primero se centra más en la bio distribución y los mi ARN clave para la regeneración, mientras que el segundo profundiza en los beneficios del miR-126 en la recuperación funcional, especialmente en modelos diabéticos[158].

Por otro lado, un estudio reciente ha demostrado que los exosomas aislados de NSC (NSCs-Ex) tienen una notable eficacia en la inhibición de la apoptosis neuronal y en la promoción de la proliferación de células SH-SY5Y, tanto en condiciones normales como en escenarios de privación de oxígeno y glucosa (OGD). Los estudios realizados in vivo respaldan estos hallazgos, evidenciando que los

NSCs-Ex no solo reducen de manera significativa el área de infarto en modelos de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO), sino que también suprimen la apoptosis en las neuronas[159]. Un descubrimiento clave de esta investigación es el miR-150-3p, identificado como el micro ARN más abundantemente expresado en los exosomas en comparación con las NSC originales[155]. El uso de un imitador de miR-150-3p ha demostrado efectos neuro protectores, mientras que su inhibidor exacerbó la lesión neuronal, tanto in vitro como in vivo. Además, se identificó a CASP2 como un objetivo de miR-150-3p, lo que sugiere que los NSCs-Ex facilitan la neuro protección mediante la transferencia de este micro ARN, dirigiéndose a CASP2 y, en consecuencia, inhibiendo la apoptosis neuronal tras una lesión cerebral[160]. Estos hallazgos destacan el potencial terapéutico de los exosomas derivados de NSC en el tratamiento de lesiones cerebrales, abriendo nuevas vías para la investigación en terapias regenerativas. Se determinó en un hallazgo reciente que la expresión de miR-124 mediante PCR en tiempo real tenía un impacto en el área de infarto en un modelo de ratones con oclusión de la arteria cerebral media (MCAO). Además, se investigó la influencia de miR-124 en la apoptosis y la muerte neuronal inducida por privación de oxígeno y glucosa (OGD) mediante técnicas de inmunofluorescencia. El análisis de las proteínas relacionadas con la apoptosis se llevó a cabo a través de Western blot[161].

Los resultados revelaron que los niveles de miR-124 aumentaron significativamente en la penumbra isquémica en comparación con las áreas no isquémicas de los ratones con MCAO. Asimismo, el tejido cerebral de ratas espontáneamente hipertensas propensas a accidentes cerebrovasculares (SHR-SP) mostró una expresión más alta de miR-124 en comparación con ratas espontáneamente hipertensas (SHR)[162]. Este patrón se observó también in vitro, donde el tratamiento con OGD incrementó notablemente los niveles de miR-124 en neuronas primarias. En el contexto in vivo, la sobreexpresión de miR-124 condujo a una disminución significativa en el área de infarto, mientras que su supresión resultó en un aumento significativo[163]. En condiciones in vitro, la ganancia o pérdida de función de miR-124 se tradujo en una reducción o aumento de la apoptosis y la muerte neuronal inducida por OGD, correlacionándose con variaciones en las proteínas anti apoptóticas Bcl-2 y Bcl-xl. Estos hallazgos sugieren que miR-124 desempeña un papel crucial en la regulación de la apoptosis neuronal y puede ser un objetivo potencial para estrategias terapéuticas en el tratamiento de lesiones cerebrales[164].

Recientemente, se ha comenzado a explorar la aplicación clínica de los exosomas derivados de células madre mesenquimales (CMM) en humanos, lo que podría cambiar

la percepción sobre su viabilidad terapéutica. Un ensayo clínico piloto aleatorizado evaluó la seguridad de la inyección intraparenquimatosa de exosomas de placenta alogénica en pacientes sometidos a craneotomía descompresiva debido a un infarto maligno de la arteria cerebral media (mMCAI)[89]. Este tipo de infarto es una causa significativa de alta mortalidad y discapacidad en adultos. Se incluyeron cinco pacientes con una edad promedio de 62 años, y se realizó un seguimiento de 3 meses. A pesar de que los pacientes presentaban un índice de puntuación NIHSS medio de $17,6 \pm 5,02$, no se reportaron efectos adversos graves, como hematomas o edema en el lugar de la inyección [89]. La inyección se llevó a cabo con un volumen de 2 ml de exosomas a una concentración de 356 $\mu\text{g/ml}$, inyectándose a 2 cm de profundidad en la zona de penumbra isquémica del lóbulo frontal. Las células madre mesenquimales se cultivaron a partir de placenta fresca, y los exosomas se almacenaron a -20°C antes de su uso[89]. El estudio, aprobado por el comité de ética de la Universidad de Ciencias Médicas Shahid Beheshti en Irán, se centró en la seguridad más que en la efectividad, aunque se observaron algunas mejoras funcionales en la escala de Rankin modificada en cuatro de los cinco pacientes tres meses después del accidente cerebrovascular[89]. Estos hallazgos sugieren que la inyección de MSC-Exo puede ser segura para el tratamiento de accidentes cerebrovasculares isquémicos agudos[9]. Este estudio es un paso importante en la investigación clínica sobre el uso de exosomas, respaldando su potencial terapéutico en humanos, un área que previamente carecía de evidencia clínica sólida. A medida que se continúe investigando, estos exosomas podrían convertirse en un tratamiento de apoyo y preventivo en pacientes que sufren de lesiones isquémicas.

D. Exosomas modificados por bioingeniería

Los exosomas son vesículas ampliamente estudiadas, los hay nativos que son vesículas naturales secretadas por las células que contienen diversas moléculas bioactivas [23]. Aquí podemos encontrar proteínas, lípidos y ARN, los mismos facilitan la señalización celular y la respuesta a los factores de estrés, incluidas las enfermedades isquémicas[88], [89].

Las células terapéuticas se derivan de varias fuentes, incluidas las células madre pluripotentes (PSC), las células madre neurales (NSC), las células madre mesenquimales (MSC), las células madre de la sangre del cordón umbilical (UCBSC) y las células madre derivadas de tejido adiposo (ADSC).[90], [91], [92].

De los diversos tipos de células que existe las células madres encabezan los estudios realizados en la actualidad, esto debido a su capacidad para diferenciarse en células sanas, gracias a su efecto paracrino en la célula huésped

[93]. Los exosomas nativos median la secreción de desechos celulares al líquido extracelular y lo transmiten entre las células cerebrales productoras y objetivo/receptoras [93]. En un estudio se realizó un modelo de isquemia inducida por glutamato, y los exosomas derivados de músculo liso aórtico humano protegieron los tejidos cerebrales activando la liberación de citocinas y factores de crecimiento, principalmente mediante la activación de la vía fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/Akt se obtuvo un efecto neuro protector sobre la lesión por isquemia hipóxica en ratones recién nacidos, y este resultado se debió en parte a una disminución en la apoptosis neuronal y la neuro inflamación[94]

La integración de exosomas con biomateriales ha sido explorada para mejorar su estabilidad y biodisponibilidad en el tratamiento de stroke[95].

Exosomas encapsulados en hidrogeles o polímeros biocompatibles pueden ser liberados de manera controlada en las áreas afectadas por la isquemia cerebral, proporcionando un suministro sostenido de factores neuroprotectores como el BDNF factor neurotrófico derivado del cerebro o microARNs antiinflamatorios[34]. Estos sistemas híbridos mejoran la capacidad de los exosomas para promover la neurogénesis y reducir el daño post-isquémico, maximizando el tiempo durante el cual los exosomas pueden actuar en el cerebro afectado[96]. El uso de nanopartículas dentro de los exosomas ha permitido desarrollar terapias dirigidas altamente efectivas para el stroke[97], [98]. Los exosomas cargados con nanopartículas de oro o plata, por ejemplo, han sido modificados para mejorar la visualización por imagenología (como la resonancia magnética) y aumentar la entrega de terapias fototérmicas o fotodinámicas en el tejido cerebral afectado. Además, las nanopartículas pueden potenciar la capacidad de los exosomas para atravesar la barrera hematoencefálica, facilitando la entrega de moléculas terapéuticas directamente a las neuronas lesionadas[97], [98].

En modelos experimentales de accidente cerebrovascular, se han utilizado nanopartículas magnéticas incorporadas en exosomas para dirigir terapias regenerativas mediante un campo magnético externo. Esto ha permitido una localización precisa de los exosomas en las áreas dañadas del cerebro, facilitando la regeneración tisular y la reducción de la inflamación cerebral.[99]

Los exosomas modificados, por otro lado, están diseñados para mejorar su eficacia terapéutica, estas modificaciones incluyen el uso de química click, la combinación con biomateriales y nanopartículas, con el objetivo de mejorar su estabilidad, biodisponibilidad y especificidad en el tratamiento de diversas enfermedades, incluidas las del sistema nervioso central, el cáncer y las enfermedades inflamatorias[100]. Por ejemplo, los exosomas se pueden

TABLA III.
APLICACIÓN DE LA TERAPIA A PARTIR DE LAS CÉLULAS SOMÁTICAS

Tipo de estudio	Fuente de exosomas	Efecto terapéutico	Método de evaluación	Ref.
In vitro	Astrocitos	Mostro efecto neuro protector, atenuación de la muerte neuronal y la apoptosis.	Se realizó CCK-8 para estimar la viabilidad celular y Secuenciación de microARN (miARN) de alto rendimiento.	[139]
		Los exosomas GJA1-20 k fueron absorbidos por la neurona y regularon negativamente la tasa de apoptosis y aumentaron la función mitocondrial para promover la recuperación neuronal.	Los resultados se evaluaron mediante tinción con TTC y secciones de tejido dañado del modelo de TCE de rata.	[140]
In vivo	Astrocitos	Inhibió la apoptosis, mejoro el daño neuronal mediante la regulación de la autofagia.	Para evaluar la apoptosis de las neuronas, se observó el marcado y la captación de exosomas por las neuronas mediante microscopía láser confocal, la vitalidad y la apoptosis de las células HT-22 mediante el ensayo Cell Counting Kit-8 (CCK-8) y la tinción Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL). Para investigar el efecto de AS-Exo en la autofagia de las neuronas OGD, se analizó mediante Western blot.	[141]
In vitro	Microglía	Agravación del daño celular, Los exosomas derivados de la microglía activada por privación de oxígeno y glucosa (OGD) empeoraron la viabilidad celular e integridad de las células endoteliales microvasculares cerebrales (BMEC), lo que condujo a una mayor pérdida de formación	Evaluación de Sobreexpresión e inhibición de miR-424-5p para determinar su impacto en la viabilidad celular y la permeabilidad. Ensayo de actividad dual de luciferasa para confirmar que miR-424-5p regula la vía de señalización FGF2/STAT3, identificando cómo miR-424-5p interactúa con esta vía en las células endoteliales. Técnica RIP (RNA Immunoprecipitation) para verificar la interacción entre miR-424-5p y las proteínas objetivo, como STAT3, proporcionando evidencia mecanicista del impacto de miR-424-5p en la vía de señalización.	[146]
		Reducción de la apoptosis neuronal, disminución del volumen del infarto cerebral	Para la evaluación del volumen de infarto se realizó tiñendo las secciones cerebrales con solución de violeta de cresilo y calculando la proporción de tinción en los hemisferios ipsilateral y contralateral utilizando ImageJ. Las evaluaciones neurológicas utilizaron la escala de gravedad neurológica modificada (mNSS), que es una escala compuesta de pruebas motoras, reflejas y de equilibrio.	[137]
In vivo	Microglía M2			
In vitro	Células endoteliales	Facilita el crecimiento axonal.	Evaluación de crecimiento axonal, análisis ultraestructural con microscopía, evaluación mecánica y bloqueo del transporte axonal.	[165]
In vivo	Células endoteliales	Regulación de la plasticidad sináptica. Aumento de la longitud de las dendritas, protección a las células PC12 de la apoptosis, aumento del crecimiento de las neuronas, promoción de la recuperación motora funcional en el modelo MCAO/R.	Evaluación de la función motora con tasa de falla de pie y análisis de la marcha. La evaluación de la secuencia de genes utilizando el análisis de GO (Gene Ontology) y KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) para determinar el enriquecimiento en términos biológicos relacionados con la plasticidad sináptica, la regulación de la transmisión sináptica y el ciclo de vesículas sinápticas, también se realizó Análisis de microARN. Evaluación estructural consistió en medición de sinapsina-I y longitud de dendritas.	[147]
		Frena la apoptosis y promueve la angiogénesis.	Los métodos de evaluación para el área de infarto fue medida por tinción TTC , La Puntuaciones neurológicas (evaluación conductual), apoptosis (medida por tinción TUNEL), examen patológico (tinción H&E), Angiogénesis (expresión de CD31 y VEGF mediante inmunofluorescencia y RT-qPCR). señalización molecular (niveles de Wnt3a, GSK-3β y p-GSK-3β mediante western blot).	[148]

TABLA IV.
APLICACIÓN DE LA TERAPIA EXOSOMICA A PARTIR DE EXOSOMAS DE CÉLULAS MADRE

Tipo de estudio	Fuente de exosomas	Efecto terapéutico	Método de evaluación	Ref.
In vitro	CMM	Promueve la angiogénesis	Análisis de proliferación y migración celular mediante ensayos MTT y de rasgado, respectivamente, evaluación de formación de tubos en ECs para medir su capacidad de angiogénesis, análisis de expresión de proteínas relevantes mediante Western blotting y PCR en tiempo real para cuantificar la expresión de miR-126 y genes relacionados.	[71]

In vivo	CMM	Aumento la extensión axonal y la mielinización axonal.	Pruebas de remoción de adhesivos y puntuación de severidad neurológica modificada (mNSS), Estimulación cortical intracortical (ICMS) para medir el umbral de movimiento en extremidades, trazado corticoespinal: Inyección de BDA para visualizar fibras axonales en el cerebro y médula espinal y tinción de Luxol Fast Blue para mielina y anticuerpos para GAP-43 en tejido cerebral.	[151]
		Remodelación neuronal	Pruebas conductuales para medir mejoras en la capacidad motora, y la plasticidad axonal y remodelación de neuritas en la zona límite isquémica para observar cambios en la estructura neuronal. Se cuantificó el nivel de miR-133b en los exosomas del líquido cefalorraquídeo para determinar la transferencia del microARN. Además, se utilizó proteína fluorescente para rastrear la liberación y transferencia de exosomas a astrocitos y neuronas. Finalmente, se analizó la expresión de genes diana específicos para miR-133b para evaluar el impacto de la transferencia de miR-133b en la regulación genética post-ACV.	[149]
		Neurogénesis, angiogénesis	Se utilizaron varios métodos de evaluación: la biodistribución de las vesículas extracelulares (MSC-EV) se analizó mediante marcaje fluorescente y mediciones en el hemisferio infartado, el pulmón y el hígado. Se evaluó la eficacia terapéutica observando mejoras conductuales en ratas tratadas con MSC-EV en comparación con un grupo control. Además, se examinaron los efectos de MSC-EV en la neurogénesis y la angiogénesis, y se identificaron los microARN esenciales (miARN-184 y miARN-210).	[166]
		Neurogénesis, angiogénesis, apoptosis. anti	Se midió el volumen del infarto, el flujo sanguíneo cerebral, la densidad microvascular cerebral y se realizaron análisis de neurogénesis y angiogénesis mediante técnicas como la inmunofluorescencia y el TUNEL. También se evaluaron los déficits neurológicos mediante pruebas de conducta como la prueba de esquina y de retirada adhesiva.	[120]
In vivo e in vitro	CMM	Protección de la barrera hematoencefálica, efecto antiinflamatorio y anti apoptosis.	Permeabilidad de la barrera hematoencefálica con el tinte Evans Blue, apoptosis mediante ensayo TUNEL, área de infarto con coloración TTC, expresión de proteínas por Western blotting, expresión de miR-21-3p con RT2-PCR, producción de citocinas mediante ELISA, inmunofluorescencia para marcadores específicos, interacción miR-21-3p/MAT2B con ensayo de doble luciferasa, modelo de hipoxia/reoxigenación in vitro, y citometría de flujo para apoptosis celular.	[121]
		Mostro efecto de anti apoptosis	In vivo: se empleó el modelo de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO) en ratas para evaluar la reducción del daño cerebral. In vitro: se realizaron co-culturas de neuronas con ASCs o ASC-EVs, y se emplearon ensayos de viabilidad neuronal y apoptosis, además de análisis de expresión génica y proteica mediante RT-qPCR y Western blot para evaluar el impacto de miRNA-22-3p y sus efectos sobre KDM6B y el eje BMP2/BMF.	[74]
In vitro e In vivo	Células madre neuronales	Suprimió la apoptosis neuronal, reducción del área de infarto del modelo de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO).	In vitro: Análisis de apoptosis, con kit de tinción Annexin V-FITC Y PI, también, se recolectaron y procesaron para análisis con un citómetro de flujo y el software FlowJo. PCR, análisis de Expresión Genética, análisis de microarrays, detención dual del gen reportero. In vivo: observación del volumen de infarto con Tinción TTC, HE y Nissl para evaluar cambios patológicos y la morfología celular en cortes cerebrales. Y Tinción TUNEL para cuantificar la apoptosis en el tejido cerebral.	[75]
		Reducción del volumen de infarto, efecto antiinflamatorio, Regulación de Factores Neurotróficos, que son esenciales para la supervivencia y la recuperación de las neuronas.	Análisis de la apoptosis con el kit de tinción, ensayo de lactato deshidrogenasa (LDH) para indicar el daño celular. Tinción con TTC para evaluación del volumen del infarto en cerebros de ratas. Aislamiento de ARN, PCR cuantitativa para medir la expresión de genes proinflamatorios, detección de Proteínas con Análisis de proteínas en células y tejidos cerebrales mediante Western blot.	[106]

adaptar para mejorar su capacidad de selección, como los diseñados para administrar específicamente agentes antiapoptosis a la microglía M2, modulando así las respuestas inflamatorias y promoviendo la supervivencia neurona[101]. Además, se ha demostrado que los exosomas derivados de células madre pluripotentes portan mi ARN específicos que inhiben proteínas perjudiciales como Asic1, lo que destaca aún más su potencial de neuro protección durante los eventos isquémico[102]. Actualmente existen técnicas como el click Chemistry que es ampliamente utilizada para modificar la superficie de los exosomas debido a su alta eficiencia y especificidad. Este enfoque permite la conjugación de moléculas bioactivas (como anticuerpos, péptidos o fluoróforos) a la membrana del exosoma sin alterar sus propiedades biofísicas ni su capacidad de comunicación intercelular[95], [103]. En terapias antitumorales, por ejemplo, los exosomas modificados con ligandos específicos mediante química click pueden dirigirse selectivamente a las células cancerosas, mejorando la entrega de fármacos

quimioterapéuticos o moléculas de ARN de interferencia (siRNA)[95], [103] . Los investigadores se están centrando en la bioingeniería de los exosomas para aumentar la concentración en los sitios objetivo, el tiempo de circulación y la vida media en el cuerpo. Se deben cumplir al menos dos condiciones al diseñar exosomas para apuntar al cerebro: (I) BioEng-Exo no debe interactuar con las barreras fisiológicas, lo que podría limitar su difusión, excepto la membrana plasmática de la célula objetivo, y (II) se deben diseñar exosomas para apuntar preferentemente a tipos de células relevantes para la patogénesis de la enfermedad[111].Es de nuestro interés la glicoproteína (RVG) se utiliza para diseñar exosomas específicamente para enfermedades del SNC[105].

La bioingeniería directa de exosomas se realiza después de aislar y limpiar los exosomas del líquido ordinario de una célula[106]. En los estudios realizados sobre Bio-Eng Exo destacan el de exosomas dorados quien con nanopartículas de oro mediante la incubación de GNP con exosomas y recolección de exosomas, lograron demostrar las

capacidades de migración y localización de los exosomas en el cerebro[105], [106]. En general, tanto los exosomas nativos como los modificados representan una plataforma versátil para terapias innovadoras para el ictus, aunque persisten los desafíos en cuanto a las técnicas de estandarización y aislamiento[89].

IV. DISCUSIÓN

La terapia exosómica se presenta como una estrategia terapéutica innovadora y prometedora para abordar la isquemia cerebral, una de las principales causas de muerte y discapacidad a nivel mundial [107]. A medida que la investigación avanza, se hace evidente que los exosomas, derivados de diversas fuentes celulares, poseen un potencial significativo para reparar y regenerar el tejido cerebral dañado. Estas pequeñas vesículas extracelulares son capaces de transportar una variedad de moléculas bioactivas, incluyendo proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, que pueden desencadenar procesos de señalización cruciales para la neuro protección y la recuperación funcional [108], [109]. Las terapias actuales aprobadas por la FDA para el tratamiento del accidente cerebrovascular (ACV), destacando la trombosis y la trombectomía como los enfoques más utilizados. [110] Estas intervenciones son fundamentales en la atención aguda del ACV isquémico, ya que buscan restaurar el flujo sanguíneo al cerebro y minimizar el daño neuronal. Sin embargo, a pesar de su eficacia, estas terapias tienen limitaciones, como el tiempo crítico para su aplicación y la posibilidad de complicaciones asociadas. [111], [112]

Explorar nuevas estrategias terapéuticas, como la terapia exosómica, podrían complementar o mejorar los resultados de los tratamientos actuales. Las técnicas más comunes para el aislamiento de exosomas, señalando que la ultracentrifugación es la más utilizada por excelencia. Esta técnica, aunque efectiva, presenta desventajas, como la necesidad de equipos especializados y el tiempo requerido para el proceso [113] La estandarización de los métodos de aislamiento es crucial para garantizar la pureza y la calidad de los exosomas, lo que a su vez influye en su eficacia terapéutica. La optimización de estos procesos es fundamental para maximizar los beneficios de los exosomas en aplicaciones clínicas [74].

El papel de los exosomas en el sistema nervioso central (SNC) se ha destacado como crucial tanto en condiciones fisiológicas como patológicas[18]. En situaciones normales, los exosomas facilitan la comunicación intercelular y la homeostasis cerebral, siendo mediadores de procesos como la plasticidad sináptica y la reparación celular[1] No obstante, en condiciones patológicas como el accidente cerebrovascular (ACV) o enfermedades neurodegenerativas, la liberación de exosomas se ve alterada, lo que contribuye a la disrupción de la

comunicación intercelular y al agravamiento del daño neuronal [115]. La investigación emergente sugiere que los exosomas podrían tener un doble papel: por un lado, como biomarcadores clave de la progresión de enfermedades, detectables en fluidos periféricos, y por otro, como vehículos potenciales para terapias dirigidas, gracias a su capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica (BHE)[18]. En el contexto del ACV, los exosomas liberados por células cerebrales dañadas pueden actuar sobre distintos procesos de reparación, como la angiogénesis y la neurogénesis, contribuyendo a la restauración funcional del cerebro[116], [117]. Estos hallazgos resaltan la promesa de los exosomas como herramientas tanto diagnósticas como terapéuticas, lo que podría abrir nuevas vías para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y accidentes cerebrovasculares[118].

A pesar de los resultados alentadores obtenidos hasta ahora, la investigación en este campo aún se encuentra en sus etapas iniciales. Uno de los principales desafíos es la estandarización de los métodos de aislamiento y caracterización de los exosomas. La similitud en las propiedades físicas de los exosomas y otros tipos de vesículas extracelulares, como las micro vesículas, complica la homogenización de las metodologías de aislamiento, lo que puede afectar la pureza y el rendimiento de los exosomas obtenidos. [74]. [119] La optimización de estos procesos es fundamental para garantizar la eficacia terapéutica de los exosomas en aplicaciones clínicas. Además, la evaluación preclínica en modelos animales más variados es esencial para traducir los hallazgos de laboratorio a la práctica clínica[120]. La investigación futura debe centrarse en la optimización de las vías de administración de exosomas, ya que la biodisponibilidad y la distribución en el sitio de lesión son factores críticos que influyen en su efectividad. La canulación de la vena femoral, por ejemplo, se ha identificado como una vía de acceso menos compleja que la inyección en la carótida, lo que podría facilitar la distribución de los exosomas a través del sistema circulatorio[113] Los estudios in vitro e in vivo, emerge claramente el papel crucial de los exosomas como vehículos terapéuticos en la protección y recuperación neuronal tras un accidente cerebrovascular isquémico [121]. Los diferentes estudios revisados destacan que los exosomas derivados de diversas fuentes celulares (astrocitos, microglía, células endoteliales y células madre mesenquimales) no solo transportan microARN con potencial neuro protector, sino que también regulan mecanismos celulares críticos como la apoptosis, la autofagia, la inflamación y la plasticidad sináptica [38].

Un tema recurrente es la capacidad de los exosomas para actuar en diferentes contextos patológicos, modulando rutas

moleculares clave [47]. Por ejemplo, los exosomas de astrocitos pre acondicionados con privación de oxígeno y glucosa, que contienen miR-92b-3p, muestran un claro efecto protector sobre las neuronas expuestas a la isquemia, mientras que los exosomas con GJA1-20 k favorecen la recuperación mitocondrial y neuronal tras una lesión cerebral traumática. Este patrón de acción refleja la importancia de los exosomas en facilitar la recuperación funcional, ya sea mediante la inhibición de la apoptosis o la promoción de la viabilidad celular[51].

La contribución de los exosomas de microglía M2, que actúan a través de miR-124, también subraya el potencial terapéutico de estas vesículas en la reducción del daño isquémico, modulando tanto la inflamación como la apoptosis neuronal [48]. Asimismo, el miR-424-5p en los exosomas derivados de microglía activada por OGD representa una regulación crítica en la respuesta neurovascular, con su inhibición reduciendo significativamente el daño endotelial. Este hallazgo refuerza el valor de los exosomas en la reparación neurovascular y la neuro protección [38]. Los exosomas derivados de células endoteliales y progenitoras endoteliales juegan un papel igualmente destacado, al promover tanto la neuro plasticidad como la angiogénesis. La evidencia presentada muestra que el enriquecimiento con miR-126-3p o la modificación bioingenieril de los exosomas potencia su capacidad para reducir el tamaño del infarto cerebral, mejorar la vasculatura cerebral y acelerar la recuperación funcional. Estos avances sugieren que la manipulación precisa de los microARN en los exosomas puede ser clave para optimizar los efectos terapéuticos en el contexto de un accidente cerebrovascular [65].

Finalmente, los estudios que involucran células madre mesenquimales (MSC) ofrecen una perspectiva particularmente prometedora. Los exosomas enriquecidos con el grupo miR-17-92 o miR-133b demuestran un impacto significativo en la remodelación axonal, la mielinización y la recuperación motora, superando incluso a los tratamientos convencionales como los liposomas. Esto sugiere que los exosomas derivados de MSC podrían ofrecer una solución superior en términos de bio distribución y seguridad, evitando los riesgos asociados con la acumulación de células madre en órganos como los pulmones o el hígado[56]. La aplicación clínica de exosomas derivados de células madre mesenquimales (CMM) en humanos ha mostrado resultados prometedores, especialmente en estudios piloto sobre su seguridad en pacientes con accidente cerebrovascular isquémico.[72] Un ensayo clínico reciente evaluó la inyección intraparenquimatosa de exosomas en pacientes con infarto maligno de la arteria cerebral media, observando mejoras funcionales sin efectos adversos graves. Este estudio

respalda el potencial terapéutico de los exosomas en la recuperación post-ACV[72].

En conjunto, estos hallazgos subrayan el potencial de los exosomas en la medicina regenerativa, destacando la necesidad de avanzar hacia estudios clínicos más amplios que evalúen la seguridad y eficacia en humanos. Las futuras investigaciones deberán centrarse en la optimización de técnicas de bioingeniería para mejorar la selectividad y la eficiencia de los exosomas, así como en la caracterización de las interacciones específicas entre los microARN y las rutas moleculares implicadas en la recuperación post-ictus. A medida que se desarrollen técnicas de bioingeniería para mejorar la estabilidad y la capacidad de focalización de los exosomas, es probable que se superen muchas de las limitaciones actuales, como la baja concentración en el sitio de lesión y la rápida eliminación de los exosomas del organismo. Esto podría abrir nuevas oportunidades para el uso de exosomas en el tratamiento de otras condiciones neurológicas, además de la isquemia cerebral.[122] Aunque la terapia exosómica para el tratamiento de la isquemia cerebral está en una fase de desarrollo, los resultados preliminares son prometedores. Con una mejor comprensión de los mecanismos de acción y la optimización de las técnicas de aislamiento y administración, los exosomas podrían convertirse en una herramienta terapéutica clave en la lucha contra el accidente cerebrovascular, ofreciendo nuevas esperanzas para la recuperación neurológica de los pacientes.

IV. CONCLUSIÓN

Según la investigación realizada, la terapia con exosomas como estrategia para tratar el accidente cerebro vascular isquémico presenta un enfoque prometedor, en un campo en el que las opciones actuales son limitadas, pero aún enfrenta desafíos significativos para su implementación clínica efectiva. Los exosomas, en especial los derivados de células madre mesenquimales, han demostrado potencial para reducir la inflamación, reparar el daño neural y promover la regeneración tisular en estudios preclínicos y clínicos iniciales. Un ensayo clínico piloto reciente han mostrado resultados alentadores en términos de seguridad, con algunas mejoras funcionales observadas en pacientes. Esto sugiere que los exosomas podrían convertirse en una herramienta terapéutica clave para abordar el daño neurológico causado por el ACV.

A pesar del optimismo generado por los resultados iniciales, la implementación clínica de la terapia exosómica aún enfrenta varios retos. Entre ellos se encuentran la necesidad de una mayor comprensión de los mecanismos moleculares implicados, la estandarización de los métodos de aislamiento y caracterización de los exosomas, y la optimización de las vías de administración, ya que métodos

invasivos como la inyección intracerebral podrían no ser viables a gran escala en un entorno clínico. Además, las oportunidades de investigación se centran en la bioingeniería de exosomas para mejorar su especificidad y eficacia, así como en la exploración de combinaciones con otras terapias emergentes para potenciar los resultados. El avance hacia estudios más amplios y ensayos clínicos robustos será esencial para confirmar su eficacia y establecer protocolos terapéuticos estándar. Con el tiempo y la superación de estos desafíos, la terapia exosómica podría revolucionar el tratamiento del ACV, ofreciendo nuevas esperanzas para la recuperación de los pacientes afectados por esta condición devastadora.

REFERENCIAS

- [1] E. J. Benjamin *et al.*, "Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association," *Circulation*, vol. 139, no. 10, pp. e56-e528, 2019/3// 2019, doi: 10.1161/CIR.0000000000000659.
- [2] C. J. Cunningham, R. Wong, J. Barrington, S. Tamburrano, E. Pinteaux, and S. M. Allan, "Systemic conditioned medium treatment from interleukin-1 primed mesenchymal stem cells promotes recovery after stroke," *Stem cell research & therapy*, vol. 11, no. 1, 2020/1// 2020, doi: 10.1186/S13287-020-1560-Y.
- [3] F. Herpich and F. Rincon, "Management of Acute Ischemic Stroke," *Critical care medicine*, vol. 48, no. 11, pp. 1654-1663, 2020/11// 2020, doi: 10.1097/CCM.0000000000004597.
- [4] A. I. Qureshi *et al.*, "Acute Ischemic Stroke and COVID-19: An Analysis of 27 676 Patients," *Stroke*, vol. 52, no. 3, pp. 905-912, 2021/3// 2021, doi: 10.1161/STROKEAHA.120.031786.
- [5] K. B. Kovács, V. Bencs, L. Hudák, L. Oláh, and L. Csiba, "Hemorrhagic Transformation of Ischemic Strokes," *International journal of molecular sciences*, vol. 24, no. 18, 2023/9// 2023, doi: 10.3390/IJMS241814067.
- [6] A. Sarraj *et al.*, "Trial of Endovascular Thrombectomy for Large Ischemic Strokes," *New England Journal of Medicine*, vol. 388, no. 14, pp. 1259-1271, 2023/4// 2023, doi: 10.1056/NEJMOA2214403/SUPPL_FILE/NEJMOA2214403_DATA-SHARING.PDF.
- [7] Q. Ouyang *et al.*, "Meta-Analysis of the Safety and Efficacy of Stem Cell Therapies for Ischemic Stroke in Preclinical and Clinical Studies," *Stem cells and development*, vol. 28, no. 8, pp. 497-514, 2019/4// 2019, doi: 10.1089/SCD.2018.0218.
- [8] L. Otero-Ortega *et al.*, "Role of Exosomes as a Treatment and Potential Biomarker for Stroke," *Translational stroke research*, vol. 10, no. 3, pp. 241-249, 2019/6// 2019, doi: 10.1007/S12975-018-0654-7.
- [9] Z. G. Zhang, B. Buller, and M. Chopp, "Exosomes - beyond stem cells for restorative therapy in stroke and neurological injury," *Nature reviews. Neurology*, vol. 15, no. 4, pp. 193-203, 2019/4// 2019, doi: 10.1038/S41582-018-0126-4.
- [10] L. Jiang, W. Chen, J. Ye, and Y. Wang, "Potential Role of Exosomes in Ischemic Stroke Treatment," *Biomolecules*, vol. 12, no. 1, 2022/1// 2022, doi: 10.3390/BIOM12010115.
- [11] P. Abnave and E. Ghigo, "Role of the immune system in regeneration and its dynamic interplay with adult stem cells," *Seminars in cell & developmental biology*, vol. 87, pp. 160-168, 2019/3// 2019, doi: 10.1016/J.SEMCDB.2018.04.002.
- [12] L. Dehghani *et al.*, "Stem Cell-Derived Exosomes as Treatment for Stroke: a Systematic Review," in *Stem Cell Reviews and Reports* vol. 17, ed: Springer, 2021, pp. 428-438.
- [13] M. M. Wang, Y. S. Feng, Z. X. Tan, Y. Xing, F. Dong, and F. Zhang, "The role of exosomes in stroke," *Molecular biology reports*, vol. 47, no. 8, pp. 6217-6228, 2020/8// 2020, doi: 10.1007/S11033-020-05569-2.
- [14] H. MN *et al.*, "Potential Use of Exosomes as Diagnostic Biomarkers and in Targeted Drug Delivery: Progress in Clinical and Preclinical Applications - PubMed," *ACS biomaterials science & engineering*, vol. 7, no. 6, 06/14/2021, doi: 10.1021/acsbmaterials.1c00217.
- [15] H. Khan, J. J. Pan, Y. Li, Z. Zhang, and G. Y. Yang, "Native and Bioengineered Exosomes for Ischemic Stroke Therapy," in *Frontiers in Cell and Developmental Biology* vol. 9, ed: Frontiers Media S.A., 2021.
- [16] Y. Xiong, A. K. Wakhloo, and M. Fisher, "Advances in Acute Ischemic Stroke Therapy," *Circulation research*, vol. 130, no. 8, pp. 1230-1251, 2022/4// 2022, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319948.
- [17] E. H. Lo, "A new penumbra: transitioning from injury into repair after stroke," *Nature Medicine* 2008 14:5, vol. 14, no. 5, pp. 497-500, 2008/5// 2008, doi: 10.1038/nm1735.
- [18] P. Deb, S. Sharma, and K. M. Hassan, "Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis," *Pathophysiology*, vol. 17, no. 3, pp. 197-218, 2010/6// 2010, doi: 10.1016/J.PATHOPHYS.2009.12.001.
- [19] F. Z. Caprio and F. A. Sorond, "Cerebrovascular Disease: Primary and Secondary Stroke Prevention," *Medical Clinics of North America*, vol. 103, no. 2, pp. 295-308, 2019/3// 2019, doi: 10.1016/j.mcna.2018.10.001.
- [20] G. A. Donnan, M. Fisher, M. Macleod, and S. M. Davis, "Stroke," *The Lancet*, vol. 371, no. 9624, pp. 1612-1623, 2008/5// 2008, doi: 10.1016/S0140-6736(08)60694-7.
- [21] T. Kalogeris, C. P. Baines, M. Krenz, and R. J. Korthuis, "Ischemia/reperfusion," *Comprehensive Physiology*, vol. 7, no. 1, pp. 113-170, 2017/1// 2017, doi: 10.1002/cphy.c160006.

- [22] C. C. Chen *et al.*, "Elucidation of Exosome Migration Across the Blood-Brain Barrier Model In Vitro," *Cellular and Molecular Bioengineering*, vol. 9, no. 4, pp. 509-529, 2016/12// 2016, doi: 10.1007/s12195-016-0458-3.
- [23] A. Sharobeam and B. Yan, "Advanced imaging in acute ischemic stroke: an updated guide to the hub-and-spoke hospitals," *Current Opinion in Neurology*, vol. 35, no. 1, pp. 24-30, 2022/2// 2022, doi: 10.1097/WCO.0000000000001020.
- [24] R. Nair, A. N. Wagner, and B. H. Buck, "Advances in the management of acute ischemic stroke," *Current Opinion in Neurology*, vol. 36, no. 2, pp. 147-154, 2023/4// 2023, doi: 10.1097/WCO.0000000000001136.
- [25] O. Adeoye, R. Hornung, P. Khatri, and D. Kleindorfer, "Recombinant tissue-type plasminogen activator use for ischemic stroke in the United States: a doubling of treatment rates over the course of 5 years," *Stroke*, vol. 42, no. 7, pp. 1952-1955, 2011/7// 2011, doi: 10.1161/STROKEAHA.110.612358.
- [26] K. Psychogios and G. Tsivgoulis, "Intravenous thrombolysis for acute ischemic stroke: why not?," *Current Opinion in Neurology*, vol. 35, no. 1, pp. 10-17, 2022/2// 2022, doi: 10.1097/WCO.0000000000001004.
- [27] A. Goncalves *et al.*, "Thrombolytic tPA-induced hemorrhagic transformation of ischemic stroke is mediated by PKC β phosphorylation of occludin," *Blood*, vol. 140, no. 4, pp. 388-400, 2022/7// 2022, doi: 10.1182/BLOOD.2021014958.
- [28] F. Shehjar *et al.*, "Stroke: Molecular mechanisms and therapies: Update on recent developments," *Neurochemistry international*, vol. 162, 2023/1// 2023, doi: 10.1016/J.NEUINT.2022.105458.
- [29] D. T. Lackland *et al.*, "Factors influencing the decline in stroke mortality a statement from the american heart association/american stroke association," *Stroke*, vol. 45, no. 1, pp. 315-353, 2014/1// 2014, doi: 10.1161/01.STR.0000437068.30550.CF/SUPPL_FILE/LACKLAND_315.PDF.
- [30] M. Nemati *et al.*, "Plant-derived extracellular vesicles: a novel nanomedicine approach with advantages and challenges," *Cell communication and signaling : CCS*, vol. 20, no. 1, 2022/12// 2022, doi: 10.1186/S12964-022-00889-1.
- [31] C. Xie *et al.*, "Efficacy and safety of human-derived neural stem cell in patients with ischaemic stroke: study protocol for a randomised controlled trial," *BMJ open*, vol. 12, no. 11, 2022/11// 2022, doi: 10.1136/BMJOPEN-2021-055108.
- [32] Y. Cai *et al.*, "Stroke treatment: Is exosome therapy superior to stem cell therapy?," *Biochimie*, vol. 179, pp. 190-204, 2020/12// 2020, doi: 10.1016/J.BIOCHI.2020.09.025.
- [33] G. Ozdemir *et al.*, "Endovascular treatment for anterior cerebral artery occlusions," *Interventional neuroradiology : journal of peritherapeutic neuroradiology, surgical procedures and related neurosciences*, 2023, doi: 10.1177/15910199231162669.
- [34] M. Goyal *et al.*, "Endovascular thrombectomy after large-vessel ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from five randomised trials," *Lancet (London, England)*, vol. 387, no. 10029, pp. 1723-1731, 2016/4// 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(16)00163-X.
- [35] G. Maraziti, M. G. Mosconi, and M. Paciaroni, "Comparative study of venous thromboembolic prophylaxis strategies in hemorrhagic stroke: A systematic review and network meta-analysis," *International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society*, 2024, doi: 10.1177/17474930241248542.
- [36] J. L. Saver *et al.*, "Stent-Retriever Thrombectomy after Intravenous t-PA vs. t-PA Alone in Stroke," *New England Journal of Medicine*, vol. 372, no. 24, pp. 2285-2295, 2015/6// 2015, doi: 10.1056/NEJMOA1415061/SUPPL_FILE/NEJM OA1415061_DISCLOSURES.PDF.
- [37] T. J. Atchley, D. Estevez-Ordonez, N. M. B. Laskay, B. E. Tabibian, and M. R. Harrigan, "Endovascular thrombectomy for the treatment of large ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis of randomized control trials," *medRxiv*, pp. 2023.02.27.23286534-2023.02.27.23286534, 2023/3// 2023, doi: 10.1101/2023.02.27.23286534.
- [38] M. Li, E. Zeringer, T. Barta, J. Schageman, A. Cheng, and A. V. Vlassov, "Analysis of the RNA content of the exosomes derived from blood serum and urine and its potential as biomarkers," *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, vol. 369, no. 1652, 2014, doi: 10.1098/RSTB.2013.0502.
- [39] K. Sidhom, P. O. Obi, and A. Saleem, "A Review of Exosomal Isolation Methods: Is Size Exclusion Chromatography the Best Option?," *International journal of molecular sciences*, vol. 21, no. 18, pp. 1-19, 2020/9// 2020, doi: 10.3390/IJMS21186466.
- [40] H. Valadi, K. Ekström, A. Bossios, M. Sjöstrand, J. J. Lee, and J. O. Lötvall, "Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells," *Nature Cell Biology* 2007 9:6, vol. 9, no. 6, pp. 654-659, 2007/5// 2007, doi: 10.1038/ncb1596.
- [41] A. H. Stam *et al.*, "Retinal vasculopathy with cerebral leukoencephalopathy and systemic manifestations," *Brain*, vol. 139, no. 11, pp. 2909-2922, 2016/11// 2016, doi: 10.1093/brain/aww217.
- [42] A. Bersano *et al.*, "Heritable and non-heritable uncommon causes of stroke," in *Journal of Neurology* vol. 268, ed: Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 2021, pp. 2780-2807.
- [43] L. Zhang and D. Yu, "Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity," *Biochimica et biophysica acta. Reviews on*

- cancer*, vol. 1871, no. 2, pp. 455-468, 2019/4// 2019, doi: 10.1016/J.BBCCAN.2019.04.004.
- [44] J. P. Santavanond, S. F. Rutter, G. K. Atkin-Smith, and I. K. H. Poon, "Apoptotic Bodies: Mechanism of Formation, Isolation and Functional Relevance," *Sub-cellular biochemistry*, vol. 97, pp. 61-88, 2021, doi: 10.1007/978-3-030-67171-6_4.
- [45] P. Fu, J. Zhang, H. Li, M. Mak, W. Xu, and Z. Tao, "Extracellular vesicles as delivery systems at nano-/micro-scale," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 179, 2021/12// 2021, doi: 10.1016/J.ADDR.2021.113910.
- [46] R. Vergallo and F. Crea, "Atherosclerotic Plaque Healing," *New England Journal of Medicine*, vol. 383, no. 9, pp. 846-857, 2020/8// 2020, doi: 10.1056/nejmra2000317.
- [47] F. Azizi, S. Askari, P. Javadpour, M. Hadjighassem, and R. Ghasemi, "Potential role of exosome in post-stroke reorganization and/or neurodegeneration," *EXCLI journal*, vol. 19, pp. 1590-1606, 2020, doi: 10.17179/EXCLI2020-3025.
- [48] L. M. Doyle and M. Z. Wang, "Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis," *Cells*, vol. 8, no. 7, 2019/7// 2019, doi: 10.3390/CELLS8070727.
- [49] Y. Zhang, Y. Liu, H. Liu, and W. H. Tang, "Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential," *Cell & Bioscience* 2019 9:1, vol. 9, no. 1, pp. 1-18, 2019/2// 2019, doi: 10.1186/S13578-019-0282-2.
- [50] C. Théry *et al.*, "Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 7, no. 1, 2018/1// 2018, doi: 10.1080/20013078.2018.1535750.
- [51] C. P. K. Lai and X. O. Breakefield, "Role of exosomes/microvesicles in the nervous system and use in emerging therapies," *Frontiers in physiology*, vol. 3, 2012, doi: 10.3389/FPHYS.2012.00228.
- [52] C. M. Ermine, A. Bivard, M. W. Parsons, and B. Jean-Claude, "The ischemic penumbra: From concept to reality," in *International Journal of Stroke* vol. 16, ed: SAGE Publications Inc., 2021, pp. 497-509.
- [53] Y. Xie *et al.*, "The role of exosomal noncoding RNAs in cancer," *Molecular cancer*, vol. 18, no. 1, 2019/3// 2019, doi: 10.1186/S12943-019-0984-4.
- [54] S. Kourembanas, "Exosomes: vehicles of intercellular signaling, biomarkers, and vectors of cell therapy," *Annual review of physiology*, vol. 77, pp. 13-27, 2015/2// 2015, doi: 10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-021014-071641.
- [55] N. Zhang *et al.*, "Role of Exosomes in Brain Diseases," *Frontiers in Cellular Neuroscience*, vol. 15, pp. 743353-743353, 2021/9// 2021, doi: 10.3389/FNCEL.2021.743353.
- [56] C. Théry, S. Amigorena, G. Raposo, and A. Clayton, "Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids," *Current protocols in cell biology*, vol. Chapter 3, no. 1, 2006/3// 2006, doi: 10.1002/0471143030.CB0322S30.
- [57] S. Yang *et al.*, "Detection of mutant KRAS and TP53 DNA in circulating exosomes from healthy individuals and patients with pancreatic cancer," *Cancer biology & therapy*, vol. 18, no. 3, pp. 158-165, 2017/3// 2017, doi: 10.1080/15384047.2017.1281499.
- [58] R. Shah, T. Patel, and J. E. Freedman, "Circulating Extracellular Vesicles in Human Disease," *The New England journal of medicine*, vol. 379, no. 22, pp. 2180-2181, 2018/11// 2018, doi: 10.1056/NEJMc1813170.
- [59] T. Skotland, K. Sandvig, and A. Llorente, "Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward," *Progress in lipid research*, vol. 66, pp. 30-41, 2017/4// 2017, doi: 10.1016/J.PLIPRES.2017.03.001.
- [60] U. Müller, "Exosome-mediated protection of auditory hair cells from ototoxic insults," *The Journal of clinical investigation*, vol. 130, no. 5, pp. 2206-2208, 2020/5// 2020, doi: 10.1172/JCI135710.
- [61] D. M. Pegtel and S. J. Gould, "Exosomes," *Annual review of biochemistry*, vol. 88, pp. 487-514, 2019/6// 2019, doi: 10.1146/ANNUREV-BIOCHEM-013118-111902.
- [62] C. Théry, L. Zitvogel, and S. Amigorena, "Exosomes: composition, biogenesis and function," *Nature reviews. Immunology*, vol. 2, no. 8, pp. 569-579, 2002, doi: 10.1038/NRI855.
- [63] H. M. Lee *et al.*, "A membranous form of ICAM-1 on exosomes efficiently blocks leukocyte adhesion to activated endothelial cells," *Biochemical and biophysical research communications*, vol. 397, no. 2, pp. 251-256, 2010/6// 2010, doi: 10.1016/J.BBRC.2010.05.094.
- [64] Z. Y. Soe, E. J. Park, and M. Shimaoka, "Integrin Regulation in Immunological and Cancerous Cells and Exosomes," *International journal of molecular sciences*, vol. 22, no. 4, pp. 1-22, 2021/2// 2021, doi: 10.3390/IJMS22042193.
- [65] J. J. Lai *et al.*, "Exosome Processing and Characterization Approaches for Research and Technology Development," *Advanced science (Weinheim, Baden-Wuerttemberg, Germany)*, vol. 9, no. 15, 2022/5// 2022, doi: 10.1002/ADVS.202103222.
- [66] H. Vincent-Schneider *et al.*, "Exosomes bearing HLA-DR1 molecules need dendritic cells to efficiently stimulate specific T cells," *International immunology*, vol. 14, no. 7, pp. 713-722, 2002, doi: 10.1093/INTIMM/DXF048.
- [67] J. S. Testa, G. S. Apcher, J. D. Comber, and L. C. Eisenlohr, "Exosome-driven antigen transfer for

- MHC class II presentation facilitated by the receptor binding activity of influenza hemagglutinin," *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, vol. 185, no. 11, pp. 6608-6616, 2010/12// 2010, doi: 10.4049/JIMMUNOL.1001768.
- [68] R. Kalluri and V. S. LeBleu, "The biology , function , and biomedical applications of exosomes," *Science (New York, N.Y.)*, vol. 367, no. 6478, 2020/2// 2020, doi: 10.1126/SCIENCE.AAU6977.
- [69] D. K. Jeppesen *et al.*, "Reassessment of Exosome Composition," *Cell*, vol. 177, no. 2, pp. 428-445.e18, 2019/4// 2019, doi: 10.1016/J.CELL.2019.02.029.
- [70] S. Wang *et al.*, "Recent advances in single extracellular vesicle detection methods," *Biosensors & bioelectronics*, vol. 154, 2020/4// 2020, doi: 10.1016/J.BIOS.2020.112056.
- [71] Q. Pan *et al.*, "Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Hypoxia/Reoxygenation-Injured ECs via Transferring MicroRNA-126," *Stem cells international*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/2831756.
- [72] A. Gowen, F. Shahjin, S. Chand, K. E. Odegaard, and S. V. Yelamanchili, "Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles: Challenges in Clinical Applications," *Frontiers in cell and developmental biology*, vol. 8, 2020/3// 2020, doi: 10.3389/FCELL.2020.00149.
- [73] V. Go *et al.*, "Extracellular vesicles from mesenchymal stem cells reduce microglial-mediated neuroinflammation after cortical injury in aged Rhesus monkeys," *GeroScience*, vol. 42, no. 1, pp. 1-17, 2020/2// 2020, doi: 10.1007/S11357-019-00115-W.
- [74] Y. Zhang, J. Liu, M. Su, X. Wang, and C. Xie, "Exosomal microRNA-22-3p alleviates cerebral ischemic injury by modulating KDM6B/BMP2/BMF axis," *Stem cell research & therapy*, vol. 12, no. 1, 2021/12// 2021, doi: 10.1186/S13287-020-02091-X.
- [75] H. Luo *et al.*, "miR-150-3p enhances neuroprotective effects of neural stem cell exosomes after hypoxic-ischemic brain injury by targeting CASP2," *Neuroscience Letters*, vol. 779, pp. 136635-136635, 2022/5// 2022, doi: 10.1016/J.NEULET.2022.136635.
- [76] R. J. Lobb *et al.*, "Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 4, no. 1, 2015, doi: 10.3402/JEV.V4.27031.
- [77] A. K. Ludwig *et al.*, "Precipitation with polyethylene glycol followed by washing and pelleting by ultracentrifugation enriches extracellular vesicles from tissue culture supernatants in small and large scales," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 7, no. 1, 2018/1// 2018, doi: 10.1080/20013078.2018.1528109.
- [78] L. Zhu *et al.*, "Isolation and characterization of exosomes for cancer research," *Journal of hematology & oncology*, vol. 13, no. 1, 2020/12// 2020, doi: 10.1186/S13045-020-00987-Y.
- [79] M. A. Livshits *et al.*, "Isolation of exosomes by differential centrifugation: Theoretical analysis of a commonly used protocol," *Scientific reports*, vol. 5, 2015/11// 2015, doi: 10.1038/SREP17319.
- [80] K. Ravi, M. J. Paidas, A. Saad, and A. R. Jayakumar, "Astrocytes in rare neurological conditions: Morphological and functional considerations," *The Journal of comparative neurology*, vol. 529, no. 10, pp. 2676-2705, 2021/7// 2021, doi: 10.1002/CNE.25118.
- [81] J. Chen *et al.*, "Review on Strategies and Technologies for Exosome Isolation and Purification," *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, vol. 9, 2022/1// 2022, doi: 10.3389/FBIOE.2021.811971.
- [82] R. Xu, D. W. Greening, H. J. Zhu, N. Takahashi, and R. J. Simpson, "Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application," *The Journal of clinical investigation*, vol. 126, no. 4, pp. 1152-1162, 2016/4// 2016, doi: 10.1172/JCI81129.
- [83] S. Z. Shirejini and F. Inci, "The Yin and Yang of exosome isolation methods: conventional practice, microfluidics, and commercial kits," *Biotechnology advances*, vol. 54, 2022/1// 2022, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2021.107814.
- [84] C. Coughlan *et al.*, "Exosome Isolation by Ultracentrifugation and Precipitation and Techniques for Downstream Analyses," *Current protocols in cell biology*, vol. 88, no. 1, 2020/9// 2020, doi: 10.1002/CPCB.110.
- [85] Y. Tian, C. Cheng, Y. Wei, F. Yang, and G. Li, "The Role of Exosomes in Inflammatory Diseases and Tumor-Related Inflammation," *Cells*, vol. 11, no. 6, 2022/3// 2022, doi: 10.3390/CELLS11061005.
- [86] E. M. Veziroglu and G. I. Mias, "Characterizing Extracellular Vesicles and Their Diverse RNA Contents," *Frontiers in genetics*, vol. 11, 2020/7// 2020, doi: 10.3389/FGENE.2020.00700.
- [87] G. K. Patel *et al.*, "Comparative analysis of exosome isolation methods using culture supernatant for optimum yield, purity and downstream applications," *Scientific reports*, vol. 9, no. 1, 2019/12// 2019, doi: 10.1038/S41598-019-41800-2.
- [88] J. Wang, S. Chen, W. Zhang, Y. Chen, and J. C. Bihl, "Exosomes from miRNA-126-modified endothelial progenitor cells alleviate brain injury and promote functional recovery after stroke," *CNS neuroscience & therapeutics*, vol. 26, no. 12, pp. 1255-1265, 2020/12// 2020, doi: 10.1111/CNS.13455.
- [89] L. Dehghani *et al.*, "Safety of intraparenchymal injection of allogenic placenta mesenchymal stem cells derived exosome in patients undergoing decompressive craniectomy following malignant middle cerebral artery infarct, a pilot randomized clinical trial," *International Journal of Preventive*

- Medicine*, vol. 13, no. 1, pp. 7-7, 2022, doi: 10.4103/IJPVM.IJPVM_441_21.
- [90] M. Macías *et al.*, "Comparison of six commercial serum exosome isolation methods suitable for clinical laboratories. Effect in cytokine analysis," *Clinical chemistry and laboratory medicine*, vol. 57, no. 10, pp. 1539-1545, 2019, doi: 10.1515/CCLM-2018-1297.
- [91] T. Tian *et al.*, "Targeted delivery of neural progenitor cell-derived extracellular vesicles for anti-inflammation after cerebral ischemia," *Theranostics*, vol. 11, no. 13, pp. 6507-6521, 2021, doi: 10.7150/THNO.56367.
- [92] S. Ayala-Mar, J. Donoso-Quezada, R. C. Gallo-Villanueva, V. H. Perez-Gonzalez, and J. González-Valdez, "Recent advances and challenges in the recovery and purification of cellular exosomes," *Electrophoresis*, vol. 40, no. 23-24, pp. 3036-3049, 2019/12// 2019, doi: 10.1002/ELPS.201800526.
- [93] Y. Tian *et al.*, "Quality and efficiency assessment of six extracellular vesicle isolation methods by nano-flow cytometry," *Journal of Extracellular Vesicles*, vol. 9, no. 1, 2020/1// 2020, doi: 10.1080/20013078.2019.1697028.
- [94] Z. G. Zhang and M. Chopp, "Exosomes in stroke pathogenesis and therapy," *The Journal of clinical investigation*, vol. 126, no. 4, pp. 1190-1197, 2016/4// 2016, doi: 10.1172/JCI81133.
- [95] K. Kuroki *et al.*, "Effects of transient focal cerebral ischemia in mice deficient in puma," *Neuroscience letters*, vol. 451, no. 3, pp. 237-240, 2009/2// 2009, doi: 10.1016/J.NEULET.2009.01.019.
- [96] W. Liu, X. Bai, A. Zhang, J. Huang, S. Xu, and J. Zhang, "Role of Exosomes in Central Nervous System Diseases," *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 12, pp. 240-240, 2019/10// 2019, doi: 10.3389/FNMOL.2019.00240.
- [97] I. Prada and J. Meldolesi, "Binding and Fusion of Extracellular Vesicles to the Plasma Membrane of Their Cell Targets," *International journal of molecular sciences*, vol. 17, no. 8, 2016/8// 2016, doi: 10.3390/IJMS17081296.
- [98] M. Colombo, G. Raposo, and C. Théry, "Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles," *Annual review of cell and developmental biology*, vol. 30, pp. 255-289, 2014, doi: 10.1146/ANNUREV-CELLBIO-101512-122326.
- [99] M. Yáñez-Mó *et al.*, "Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions," *Journal of extracellular vesicles*, vol. 4, no. 2015, pp. 1-60, 2015, doi: 10.3402/JEV.V4.27066.
- [100] E. Emmanouilidou *et al.*, "Cell-produced alpha-synuclein is secreted in a calcium-dependent manner by exosomes and impacts neuronal survival," *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, vol. 30, no. 20, pp. 6838-6851, 2010/5// 2010, doi: 10.1523/JNEUROSCI.5699-09.2010.
- [101] K. Yuyama and Y. Igarashi, "Exosomes as Carriers of Alzheimer's Amyloid- β ," *Frontiers in neuroscience*, vol. 11, no. APR, 2017/4// 2017, doi: 10.3389/FNINS.2017.00229.
- [102] C. J. Nowinski *et al.*, "Applying the Bradford Hill Criteria for Causation to Repetitive Head Impacts and Chronic Traumatic Encephalopathy," *Frontiers in neurology*, vol. 13, 2022/7// 2022, doi: 10.3389/FNEUR.2022.938163.
- [103] Y. Wang *et al.*, "Guanidinoacetic Acid Regulates Myogenic Differentiation and Muscle Growth Through miR-133a-3p and miR-1a-3p Co-mediated Akt/mTOR/S6K Signaling Pathway," *International journal of molecular sciences*, vol. 19, no. 9, 2018/9// 2018, doi: 10.3390/IJMS19092837.
- [104] S. Dabrowska, A. Andrzejewska, B. Lukomska, and M. Janowski, "Neuroinflammation as a target for treatment of stroke using mesenchymal stem cells and extracellular vesicles," *Journal of neuroinflammation*, vol. 16, no. 1, 2019/9// 2019, doi: 10.1186/S12974-019-1571-8.
- [105] A. Shuaib *et al.*, "NXY-059 for the treatment of acute ischemic stroke," *The New England journal of medicine*, vol. 357, no. 6, pp. 562-571, 2007/8// 2007, doi: 10.1056/NEJMOA070240.
- [106] E. J. Yoon, Y. Choi, T. M. Kim, E. K. Choi, Y. B. Kim, and D. Park, "The Neuroprotective Effects of Exosomes Derived from TSG101-Overexpressing Human Neural Stem Cells in a Stroke Model," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 17, 2022/9// 2022, doi: 10.3390/IJMS23179532/S1.
- [107] H. Mirzaei *et al.*, "MicroRNA: Relevance to stroke diagnosis, prognosis, and therapy," *Journal of cellular physiology*, vol. 233, no. 2, pp. 856-865, 2018/2// 2018, doi: 10.1002/JCP.25787.
- [108] J. Kamtchum-Tatuene and G. C. Jickling, "Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management," *Neuromolecular medicine*, vol. 21, no. 4, pp. 344-368, 2019/12// 2019, doi: 10.1007/S12017-019-08530-0.
- [109] M. Ullah, "The future of bioorthogonal-chemistry for targeting of exosomes in precision medicine," *Oncotarget*, vol. 13, no. 1, pp. 1303-1304, 2022, doi: 10.18632/ONCOTARGET.28323.
- [110] Y. Cui, C. Liu, L. Huang, J. Chen, and N. Xu, "Protective effects of intravitreal administration of mesenchymal stem cell-derived exosomes in an experimental model of optic nerve injury," *Experimental cell research*, vol. 407, no. 1, 2021/10// 2021, doi: 10.1016/J.YEXCR.2021.112792.
- [111] C. F. Moore, V. Sabino, G. F. Koob, and P. Cottone, "Neuroscience of Compulsive Eating Behavior," *Frontiers in neuroscience*, vol. 11, no. AUG, 2017/8// 2017, doi: 10.3389/FNINS.2017.00469.
- [112] L. Cervenakova *et al.*, "Are prions transported by plasma exosomes?," *Transfusion and Apheresis*

- Science*, vol. 55, no. 1, pp. 70-83, 2016/8// 2016, doi: 10.1016/J.TRANSCI.2016.07.013.
- [113] R. Bonafede *et al.*, "Exosome derived from murine adipose-derived stromal cells: Neuroprotective effect on in vitro model of amyotrophic lateral sclerosis," *Experimental Cell Research*, vol. 340, no. 1, pp. 150-158, 2016/1// 2016, doi: 10.1016/J.YEXCR.2015.12.009.
- [114] A. Armulik, G. Genové, and C. Betsholtz, "Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises," *Developmental cell*, vol. 21, no. 2, pp. 193-215, 2011/8// 2011, doi: 10.1016/J.DEVCEL.2011.07.001.
- [115] E. Acar, C. Schenker, Y. Levin-Schwartz, V. D. Calhoun, and T. Adali, "Unraveling Diagnostic Biomarkers of Schizophrenia Through Structure-Revealing Fusion of Multi-Modal Neuroimaging Data," *Frontiers in neuroscience*, vol. 13, no. MAY, 2019, doi: 10.3389/FNINS.2019.00416.
- [116] D. Athauda *et al.*, "Utility of Neuronal-Derived Exosomes to Examine Molecular Mechanisms That Affect Motor Function in Patients with Parkinson Disease: A Secondary Analysis of the Exenatide-PD Trial," *JAMA Neurology*, vol. 76, no. 4, pp. 420-429, 2019/4// 2019, doi: 10.1001/JAMANEUROL.2018.4304.
- [117] L. Wen *et al.*, "Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells inhibit neuroinflammation after traumatic brain injury," *Neural Regeneration Research*, vol. 17, no. 12, pp. 2717-2724, 2022/12// 2022, doi: 10.4103/1673-5374.339489.
- [118] W. Yin *et al.*, "Exosomes: the next-generation therapeutic platform for ischemic stroke," *Neural regeneration research*, vol. 20, no. 5, pp. 1221-1235, 2025/5// 2025, doi: 10.4103/NRR.NRR-D-23-02051.
- [119] Y. Zhou *et al.*, "Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells protect the injured spinal cord by inhibiting pericyte pyroptosis," *Neural Regeneration Research*, vol. 17, no. 1, pp. 194-202, 2022/1// 2022, doi: 10.4103/1673-5374.314323.
- [120] J. Wang, S. Chen, W. Zhang, Y. Chen, and J. C. Bihl, "Exosomes from miRNA - 126 - modified endothelial progenitor cells alleviate brain injury and promote functional recovery after stroke," *CNS Neuroscience & Therapeutics*, vol. 26, no. 12, pp. 1255-1255, 2020/12// 2020, doi: 10.1111/CNS.13455.
- [121] C. Li, K. Fei, F. Tian, C. Gao, and Y. Song, "Adipose-derived mesenchymal stem cells attenuate ischemic brain injuries in rats by modulating miR-21-3p/MAT2B signaling transduction," *Croatian medical journal*, vol. 60, no. 5, pp. 439-448, 2019, doi: 10.3325/CMJ.2019.60.439.
- [122] E. C. Lee *et al.*, "Utility of Exosomes in Ischemic and Hemorrhagic Stroke Diagnosis and Treatment," *International journal of molecular sciences*, vol. 23, no. 15, 2022/8// 2022, doi: 10.3390/IJMS23158367.
- [123] Y. Ueno, K. Hira, N. Miyamoto, C. Kijima, T. Inaba, and N. Hattori, "Pleiotropic Effects of Exosomes as a Therapy for Stroke Recovery," *International journal of molecular sciences*, vol. 21, no. 18, pp. 1-16, 2020/9// 2020, doi: 10.3390/IJMS21186894.
- [124] L. Zhang *et al.*, "Exosomes Mediate Hippocampal and Cortical Neuronal Injury Induced by Hepatic Ischemia-Reperfusion Injury through Activating Pyroptosis in Rats," *Oxidative medicine and cellular longevity*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/3753485.
- [125] Y. Zhao, Y. Gan, G. Xu, K. Hua, and D. Liu, "Exosomes from MSCs overexpressing microRNA-223-3p attenuate cerebral ischemia through inhibiting microglial M1 polarization mediated inflammation," *Life sciences*, vol. 260, 2020/11// 2020, doi: 10.1016/J.LFS.2020.118403.
- [126] D. Zheng *et al.*, "The Role of Exosomes and Exosomal MicroRNA in Cardiovascular Disease," *Frontiers in cell and developmental biology*, vol. 8, 2021/1// 2021, doi: 10.3389/FCELL.2020.616161.
- [127] C. Yang, M. Zhang, J. Sung, L. Wang, Y. Jung, and D. Merlin, "Autologous Exosome Transfer: A New Personalised Treatment Concept to Prevent Colitis in a Murine Model," *Journal of Crohn's & colitis*, vol. 14, no. 6, pp. 841-855, 2020/6// 2020, doi: 10.1093/ECCO-JCC/JJZ184.
- [128] F. Xie, Y. Huang, Y. Zhan, and L. Bao, "Exosomes as drug delivery system in gastrointestinal cancer," *Frontiers in oncology*, vol. 12, 2023/1// 2023, doi: 10.3389/FONC.2022.1101823.
- [129] U. Szwedowicz, Z. Łapińska, A. Gajewska-Naryniecka, and A. Choromańska, "Exosomes and Other Extracellular Vesicles with High Therapeutic Potential: Their Applications in Oncology, Neurology, and Dermatology," *Molecules (Basel, Switzerland)*, vol. 27, no. 4, 2022/2// 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27041303.
- [130] V. Thongboonkerd, "Roles for Exosome in Various Kidney Diseases and Disorders," *Frontiers in pharmacology*, vol. 10, 2020, doi: 10.3389/FPHAR.2019.01655.
- [131] Y. Ding, Q. Luo, H. Que, N. Wang, P. Gong, and J. Gu, "Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes: A Promising Therapeutic Agent for the Treatment of Liver Diseases," *International journal of molecular sciences*, vol. 23, no. 18, 2022/9// 2022, doi: 10.3390/IJMS231810972.
- [132] Y. Zhang, Y. Liu, H. Liu, and W. H. Tang, "Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential," *Cell & bioscience*, vol. 9, no. 1, 2019/2// 2019, doi: 10.1186/S13578-019-0282-2.
- [133] Y. Wang *et al.*, "Exosomes derived from microglia overexpressing miR-124-3p alleviate neuronal endoplasmic reticulum stress damage

- after repetitive mild traumatic brain injury," *Neural Regeneration Research*, vol. 19, no. 9, pp. 2010-2018, 2024/9// 2024, doi: 10.4103/1673-5374.391189.
- [134] D. A. Dumbrava *et al.*, "Mesenchymal stromal cell-derived small extracellular vesicles promote neurological recovery and brain remodeling after distal middle cerebral artery occlusion in aged rats," *GeroScience*, vol. 44, no. 1, pp. 293-310, 2022/2// 2022, doi: 10.1007/S11357-021-00483-2.
- [135] C. Cheng *et al.*, "MSCs-derived exosomes attenuate ischemia-reperfusion brain injury and inhibit microglia apoptosis might via exosomal miR-26a-5p mediated suppression of CDK6," *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, vol. 27, no. 1, 2021/12// 2021, doi: 10.1186/S10020-021-00324-0.
- [136] X. Zhou, Z. Li, W. Sun, G. Yang, C. Xing, and L. Yuan, "Delivery Efficacy Differences of Intravenous and Intraperitoneal Injection of Exosomes: Perspectives from Tracking Dye Labeled and MiRNA Encapsulated Exosomes," *Current drug delivery*, vol. 17, no. 3, pp. 186-194, 2020/1// 2020, doi: 10.2174/1567201817666200122163251.
- [137] Y. Song *et al.*, "M2 microglia-derived exosomes protect the mouse brain from ischemia-reperfusion injury via exosomal miR-124," *Theranostics*, vol. 9, no. 10, pp. 2910-2923, 2019, doi: 10.7150/THNO.30879.
- [138] J. Wang, J. Wang, X. Li, and K. Shu, "Cell-Derived Exosomes as Therapeutic Strategies and Exosome-Derived microRNAs as Biomarkers for Traumatic Brain Injury," *Journal of clinical medicine*, vol. 11, no. 11, 2022/6// 2022, doi: 10.3390/JCM11113223.
- [139] L. Xu *et al.*, "Exosome-shuttled miR-92b-3p from ischemic preconditioned astrocytes protects neurons against oxygen and glucose deprivation," *Brain research*, vol. 1717, pp. 66-73, 2019/8// 2019, doi: 10.1016/J.BRAINRES.2019.04.009.
- [140] W. Chen *et al.*, "Astrocytes-derived exosomes induce neuronal recovery after traumatic brain injury via delivering gap junction alpha 1-20 k," *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, vol. 14, no. 3, pp. 412-423, 2020/3// 2020, doi: 10.1002/TERM.3002.
- [141] X. Pei, Y. Li, L. Zhu, and Z. Zhou, "Astrocyte-derived exosomes suppress autophagy and ameliorate neuronal damage in experimental ischemic stroke," *Experimental cell research*, vol. 382, no. 2, 2019/9// 2019, doi: 10.1016/J.YEXCR.2019.06.019.
- [142] S. M. Davidson, J. A. Riquelme, Y. Zheng, J. M. Vicencio, S. Lavandero, and D. M. Yellon, "Endothelial cells release cardioprotective exosomes that may contribute to ischaemic preconditioning," *Scientific reports*, vol. 8, no. 1, 2018/12// 2018, doi: 10.1038/S41598-018-34357-Z.
- [143] J. W. Lee *et al.*, "The Role of Microglia in the Development of Neurodegenerative Diseases," *Biomedicines*, vol. 9, no. 10, 2021/10// 2021, doi: 10.3390/BIMEDICINES9101449.
- [144] Q. Li and B. A. Barres, "Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease," *Nature reviews. Immunology*, vol. 18, no. 4, pp. 225-242, 2018/4// 2018, doi: 10.1038/NRI.2017.125.
- [145] M. Zhang *et al.*, "The cystathionine β -synthase/hydrogen sulfide pathway contributes to microglia-mediated neuroinflammation following cerebral ischemia," *Brain, behavior, and immunity*, vol. 66, pp. 332-346, 2017/11// 2017, doi: 10.1016/J.BBI.2017.07.156.
- [146] L. Xie, H. Zhao, Y. Wang, and Z. Chen, "Exosomal shuttled miR-424-5p from ischemic preconditioned microglia mediates cerebral endothelial cell injury through negatively regulation of FGF2/STAT3 pathway," *Experimental neurology*, vol. 333, 2020/11//2020, doi: 10.1016/J.EXPNEUROL.2020.113411.
- [147] B. Gao *et al.*, "Brain Endothelial Cell-Derived Exosomes Induce Neuroplasticity in Rats with Ischemia/Reperfusion Injury," *ACS chemical neuroscience*, vol. 11, no. 15, pp. 2201-2213, 2020/8// 2020, doi: 10.1021/ACSCHEMNEURO.0C00089.
- [148] R. Huang, T. Cheng, and X. Lai, "Mechanism of ischemic brain injury repair by endothelial progenitor cell-derived exosomes," *Molecular Medicine Reports*, vol. 26 2, no. 2, 2022/6// 2022, doi: 10.3892/MMR.2022.12785.
- [149] H. Xin *et al.*, "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*, vol. 31, no. 12, pp. 2737-2746, 2013/12// 2013, doi: 10.1002/stem.1409.
- [150] H. Xin *et al.*, "MicroRNA cluster miR-17-92 Cluster in Exosomes Enhance Neuroplasticity and Functional Recovery After Stroke in Rats," *Stroke*, vol. 48, no. 3, pp. 747-753, 2017/3// 2017, doi: 10.1161/STROKEAHA.116.015204.
- [151] H. Xin *et al.*, "MiR-17-92 enriched exosomes derived from multipotent mesenchymal stromal cells enhance axon-myelin remodeling and motor electrophysiological recovery after stroke," *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, vol. 41, no. 5, pp. 1131-1144, 2021/5// 2021, doi: 10.1177/0271678X20950489.
- [152] J. Chen *et al.*, "Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats," *Stroke*, vol. 32, no. 4, pp. 1005-1011, 2001, doi: 10.1161/01.STR.32.4.1005.
- [153] J. Chen *et al.*, "Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces

- angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats," *Circulation research*, vol. 92, no. 6, pp. 692-699, 2003/4// 2003, doi: 10.1161/01.RES.0000063425.51108.8D.
- [154] Y. Li *et al.*, "Gliosis and brain remodeling after treatment of stroke in rats with marrow stromal cells," *Glia*, vol. 49, no. 3, pp. 407-417, 2005/2// 2005, doi: 10.1002/GLIA.20126.
- [155] O. Y. Bang, E. H. Kim, J. M. Cha, and G. J. Moon, "Adult Stem Cell Therapy for Stroke: Challenges and Progress," *Journal of stroke*, vol. 18, no. 3, pp. 256-266, 2016/9// 2016, doi: 10.5853/JOS.2016.01263.
- [156] S. M. O. Peeters Weem, M. Teraa, G. J. De Borst, M. C. Verhaar, and F. L. Moll, "Bone Marrow derived Cell Therapy in Critical Limb Ischemia: A Meta-analysis of Randomized Placebo Controlled Trials," *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*, vol. 50, no. 6, pp. 775-783, 2015/12// 2015, doi: 10.1016/J.EJVS.2015.08.018.
- [157] M. Nakano *et al.*, "Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve diabetes-induced cognitive impairment by exosome transfer into damaged neurons and astrocytes," *Scientific reports*, vol. 6, 2016/4// 2016, doi: 10.1038/SREP24805.
- [158] K. Wu *et al.*, "The effects of microvesicles on endothelial progenitor cells are compromised in type 2 diabetic patients via downregulation of the miR-126/VEGFR2 pathway," *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, vol. 310, no. 10, pp. E828-E837, 2016/5// 2016, doi: 10.1152/AJPENDO.00056.2016.
- [159] Q. Pan *et al.*, "miR-132-3p priming enhances the effects of mesenchymal stromal cell-derived exosomes on ameliorating brain ischemic injury," *Stem cell research & therapy*, vol. 11, no. 1, 2020/6// 2020, doi: 10.1186/S13287-020-01761-0.
- [160] T. Kong *et al.*, "Immunomodulatory effect of CD200-positive human placenta-derived stem cells in the early phase of stroke," *Experimental & Molecular Medicine 2018 50:1*, vol. 50, no. 1, pp. e425-e425, 2018/1// 2018, doi: 10.1038/emm.2017.233.
- [161] Y. Sun *et al.*, "MicroRNA-124 Protects Neurons Against Apoptosis in Cerebral Ischemic Stroke," *CNS Neuroscience & Therapeutics*, vol. 19, no. 10, pp. 813-819, 2013/10// 2013, doi: 10.1111/CNS.12142.
- [162] L. C. Cheng, E. Pastrana, M. Tavazoie, and F. Doetsch, "miR-124 regulates adult neurogenesis in the subventricular zone stem cell niche," *Nature neuroscience*, vol. 12, no. 4, pp. 399-408, 2009/4// 2009, doi: 10.1038/NN.2294.
- [163] M. R. Fabian and N. Sonenberg, "The mechanics of miRNA-mediated gene silencing: a look under the hood of miRISC," *Nature structural & molecular biology*, vol. 19, no. 6, pp. 586-593, 2012/6// 2012, doi: 10.1038/NSMB.2296.
- [164] O. F. Laterza *et al.*, "Plasma MicroRNAs as sensitive and specific biomarkers of tissue injury," *Clinical chemistry*, vol. 55, no. 11, pp. 1977-1983, 2009/11// 2009, doi: 10.1373/CLINCHEM.2009.131797.
- [165] Y. Zhang *et al.*, "Ischemic Cerebral Endothelial Cell-Derived Exosomes Promote Axonal Growth," *Stroke*, vol. 51, no. 12, pp. 3701-3712, 2020/12// 2020, doi: 10.1161/STROKEAHA.120.031728.
- [166] G. J. Moon *et al.*, "Application of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles for Stroke: Biodistribution and MicroRNA Study," *Translational stroke research*, vol. 10, no. 5, pp. 509-521, 2019/10// 2019, doi: 10.1007/S12975-018-0668-1.

Título:

Terapia exosomica como estrategia terapéutica en isquemia cerebral

Autor:

Génesis Nazareth Tuñón Ramos

Resumen:

La isquemia cerebral, es una condición con altos índices de mortalidad y discapacidad a nivel mundial. Se caracteriza por la reducción del flujo sanguíneo al cerebro, conduce a la muerte neuronal y a un deterioro neurológico significativo. Las terapias actuales para esta patología son limitadas, en su capacidad de promover la recuperación del tejido cerebral dañado. La terapia exosomica emerge como una estrategia prometedora, los exosomas son vesículas que transportan elementos biológicos y median la comunicación celular. Demuestran efectos positivos en la recuperación post ictus, reduciendo la inflamación, protegiendo las neuronas de la apoptosis y promoviendo la regeneración del tejido nervioso. Adicionalmente los efectos terapéuticos de los tratamientos basados en exosomas en procesos de remodelación después del accidente cerebro vascular. Revisamos el estado actual de los estudios *in vivo* e *in vitro*, proveniente de células neuronales y células madre mesenquimales. Así como también, el potencial de los exosomas de bioingeniería para mejorar ciertas características de los exosomas nativos que impiden el éxito de las aplicaciones clínicas. Finalmente destacamos el potencial de la terapia exosómica como estrategia para la recuperación después de un accidente cerebrovascular isquémico.

Palabras clave:

Exosomas, terapia, isquemia, tratamiento.



Panamá, 21 de noviembre de 2024 _

Señores:

UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ

E. S. D.

Estimados Señores:

La (El) suscrita(o) notifica haber revisado por solicitud del estudiante Génesis Nazareth Tuñón Ramos con cédula de identidad personal número 2-742-551, el proyecto final de graduación titulado **“TERAPIA EXOSÓMICA COMO ESTRATEGIA TERAPEÚTICA EN EL ACCIDENTE CEREBROVASCULAR ISQUÉMICO”** y a su vez doy fe que el documento cumple satisfactoriamente con todos los requisitos formales de ortografía y de redacción exigidos por el idioma español,

Atentamente,

Firma del profesor de español

 **REPÚBLICA DE PANAMÁ**
DOCUMENTO DE IDENTIDAD 180675



**Omaira Maria
Concepcion Miranda**
NOMBRE USUAL:

FECHA DE NACIMIENTO: **18-jun-1975**
LUGAR DE NACIMIENTO: **CHIRIQUÍ**
SEXO: **F** TIPO DE SANGRE:
EXPEDIDA: **06-abr-2024** EXPIRA: **13-sep-2038**



4-285-601

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
LA FACULTAD DE
Ciencias de la Educación

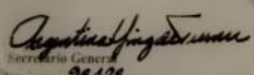
EN VIRTUD DE LA POTESTAD QUE LE CONFIEREN LA LEY Y EL ESTATUTO UNIVERSITARIO,
HACE CONSTAR QUE

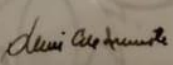
Omaira M. Concepción M.

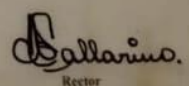
HA TERMINADO LOS ESTUDIOS Y CUMPLIDO CON LOS REQUISITOS
QUE LE HACEN ACREEDOR AL TÍTULO DE

**Profesora de Educación Media
con Especialización en España**

Y EN CONSECUENCIA, SE LE CONCEDE TAL GRADO CON TODOS LOS DERECHOS,
HONORES Y PRIVILEGIOS RESPECTIVOS, EN TESTIMONIO DE LO CUAL SE LE EXPIDE
ESTE DIPLOMA EN LA CIUDAD DE PANAMÁ, A LOS *veintiocho*
DÍAS DEL MES DE *agosto* DEL AÑO DOS MIL *dos*.


Secretario General
Identificación personal **4-285-601**


Decano


Rector



**AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE
DOCUMENTOS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL
DIGITAL RID**
(Tesis, Proyectos de Investigación, Proyectos de Maestría,
Doctorados y Pasantías)



Fecha de Entrega a la Biblioteca:

Día	Mes	Año
22	11	2024

1. Datos personales

Cédula	Apellidos	Nombres	Teléfono	Correo Electrónico
2-742-551	Tuñón Ramos	Génesis Nazareth	6623-0056	genesis_naza@hotmail.es

2. Identificación del Trabajo de Grado

Carrera	Lic. Ingeniería Biomédica e Instrumentación		
Facultad	Ingeniería		
Título del Trabajo de Grado	Terapia exosómica como estrategia terapéutica en isquemia cerebral		
Modalidad de Trabajo de Grado	Tesis ☒	Proyectos de Investigación ☐	
	Proyectos de Maestría ☐	Doctorados ☐	Pasantías ☐
Palabras Claves de la Investigación (3 - 7):	Exosomas, terapia, isquemia, tratamiento		
Director o Asesor Trabajo de Grado	Dr. Diego Reginensi		
Calificación del Trabajo:	92.93		

NOTA: Este documento después de leído y concluido en su totalidad, se deberá descargar para las respectivas firmas luego se debe escanear y adjuntar al Repositorio Institucional Digital RID, junto con el trabajo aprobado y anexos respectivos.

**AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE
DOCUMENTOS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL
DIGITAL RID**
(Tesis, Proyectos de Investigación, Proyectos de Maestría,
Doctorados y Pasantías)



3. Autorización de publicación de versión electrónica del trabajo (Tesis, Proyectos de Investigación, Proyectos de Maestría, Doctorados y Pasantías)

EL AUTOR DECLARA

El autor afirma que es el creador de la obra y por lo tanto posee los derechos de publicación. También asegura ser el autor original del trabajo, lo cual significa que no ha utilizado fuentes sin darles el crédito debido. Finalmente, declara que su título académico es legítimo y fue obtenido de manera apropiada.

AL FIRMAR ESTE DOCUMENTO, AUTORIZO

Reconocimiento – NoComercial - Compartirigual (by - nc- sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Para publicar mi trabajo de investigación, con fines docentes y de investigación, en el formato *.pdf, permitiendo la consulta, descarga y libre acceso a usuarios, y de ser necesario la reproducción en cualquier formato.

Para constancia se firma el presente documento en CIUDAD DE PANAMÁ, a los 21 días del mes de noviembre de 2024.

La autorización debe estar respaldada por las firmas de todos los autores del documento (Tesis, Proyectos de Investigación, Proyectos de Maestría, Doctorados y Pasantías).

**Autorizo la publicación en el Repositorio Institucional
Digital de mi trabajo en *.pdf**

SÍ

☐

NO



Firma Autor 1

Ginesis N. Tuñón R.

Cédula: 2-742-551

Firma Autor 2

Cédula:

Firma Autor 3

Cédula:

Firma Autor 4

Cédula:



Universidad
LATINA de Panamá
SUMMUM DESIDERIUM SAPIENTIA

SEDE CENTRAL

FORMULARIO DE ENTREGA DE PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN

Nota: Llenar este formulario a máquina de escribir. Entregar este formulario junto con el Proyecto Final de Graduación y los Paz y Salvo

Por este medio, notifico que el Proyecto

Titulado "Terapia exosomica como estrategia terapéutica en isquemia cerebral"

Correspondiente al estudiante **GÉNESIS NAZARETH TUÑÓN RAMOS**

De la carrera Ingeniería biomédica e instrumentación

Doy fe que he revisado y autorizado la entrega del Proyecto Final de Graduación (Documento Final), a Secretaría Académica, por reunir los requisitos y acatamientos exigidos por la Universidad Latina de Panamá y sugiere se le asigne la fecha para su defensa oral (sustentación).

Autorización del Director del Proyecto Final de Graduación:

Nombre del Profesor Director: Diego Reginensi

Firma de Autorización

Teléfono: 6071-9938

Autorización del Profesor responsable del Curso Proyecto Final de Graduación:

Nombre del Profesor: Alfredo Lescher

Firma de Autorización

Teléfono

En caso de revisión de un Profesor de Español

Notifico que doy fe que el documento cumple satisfactoriamente con todos los requisitos formales de ortografía y de redacción exigidos por el idioma español.

Nombre del Profesor de español: Omaira María Concepción Miranda

Autorización

Firma del Estudiante

Génesis N. Tuñón R.

Fecha de Entrega: 21/11/2024

Recibido por _____ Fecha _____