



# ISSCA

INTERNATIONAL SOCIETY FOR STEM CELL APPLICATION

## APLICACIONES CLÍNICAS DE LOS EXOSOMAS



## LA NUEVA ERA DE LA MEDICINA REGENERATIVA

# TERAPIA CON EXOSOMAS DERIVADAS DE CÉLULAS MESENQUIMALES

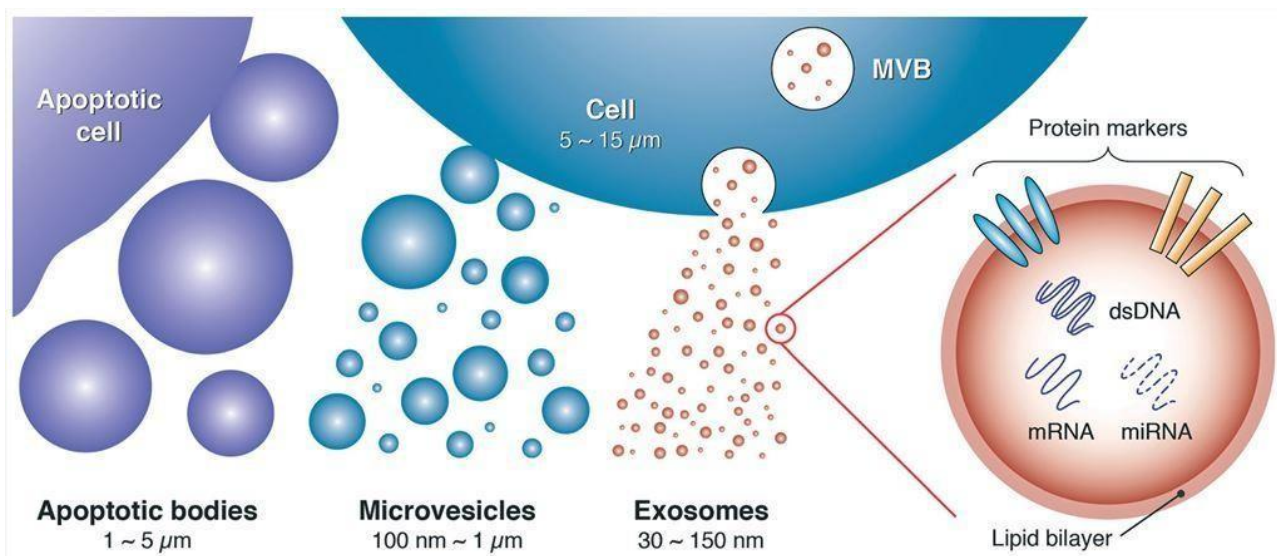
La medicina regenerativa basada en la terapia celular con el uso de las llamadas células mesenquimales (MSCs) y otras células estromales se ha convertido en un tema recurrente de investigación y ensayos clínicos en humanos a escala internacional durante los últimos años. Esta terapia presenta opciones terapéuticas que van desde el implante de todo el tejido como en el trasplante de médula ósea o la inyección de células autólogas aisladas o en mezclas, o de MSCs alogénicas derivadas de diversos tejidos como adiposo, sangre, huesos y cerebro. Se atribuyen los efectos de estas células a factores paracrinos emitidos por ellas con propiedades antiinflamatorias, de reprogramación inmunológica y de activación de vías regenerativas por diversos mecanismos debido a pequeñas moléculas, como factores de crecimiento, citocinas y quimiocinas, que son secretadas a muy bajas concentraciones en el entorno celular y que contribuyen al efecto terapéutico. Actualmente se reconoce que además de elementos solubles, estas células también liberan vesículas extracelulares (VEs) que abarcan un grupo de estructuras muy heterogéneas tanto por su tamaño y forma, como por su contenido y las funciones que desempeñan.

Generalmente se distinguen tres tipos principales de VEs según su diámetro y funciones: cuerpos apoptóticos (1-5  $\mu\text{m}$ ), microvesículas (MVs) (100 nm-1 $\mu\text{m}$ ) y los exosomas (30- 100 nm), estos con una actividad biológica similar a las células; se distinguen de las anteriores estructuras por su morfología y tamaño. Los exosomas son nanopartículas constituidas por microvesículas secretadas por las células con efecto en la matriz extracelular. En múltiples publicaciones se plantea que constituyen elementos claves en la comunicación intercelular y en la modulación de la inmunidad celular con efectos terapéuticos; esto ha sido un avance revolucionario para la medicina regenerativa al lograrse resultados alentadores sin la aplicación directa de las células que los generan.

## ***¿Qué son los exosomas?***

Los exosomas son secretados por los cuerpos multivesiculares (MVBs) de las células a través de la fusión de ellos con la membrana celular. Se caracterizan por contener una bicapa lipídica con un diámetro entre 40-120 nm, densidad en sacarosa entre 1,13-1,19 g/mL, y pueden sedimentar a alta velocidad de 100 000 G. Son muy diversos en la composición de su bicapa lipídica y en su contenido, lo que les confiere una alta selectividad de interacción con la célula diana y capacidad de modificación del metabolismo celular, gracias a las proteínas y los ácidos nucleicos que transportan, ya que son ricos en muchas moléculas bioactivas como lípidos, proteínas, mRNAs, RNA de transferencia (tRNA), RNA no codificado largo (lncRNAs), microRNAs (miRNAs) y DNA mitocondrial (mtDNA).

La mayoría de los exosomas poseen un grupo de proteínas evolutivamente conservadas como las tetraspaninas (CD81, CD63, y CD9), proteínas del shock térmico (HSP60, HSP70 y HSP90), ALIX y el gen 101 tumor-susceptible (TSG101), así como proteínas específicas y únicas según el tipo de tejido que refleja las células de su origen. Como resultado de su alta selectividad y su capacidad de llevar mensajes entre distintos tipos celulares, junto con su pequeño diámetro y su baja inmunogenicidad, se han convertido en objeto de estudio como agentes terapéuticos en enfermedades cardiovasculares, músculo-esqueléticas, broncopulmonares, dermatológicas, neurodegenerativas y oncológicas, entre otras. También actúan como posibles vectores endógenos para el transporte de medicamentos por su acción inmunomoduladora, y se valora su posible aplicación en terapia génica. Otro aspecto es que se detectan alteraciones en sus características en muchas enfermedades, como en el cáncer, lo que sugiere su importancia no es sólo terapéutica sino también diagnóstica.

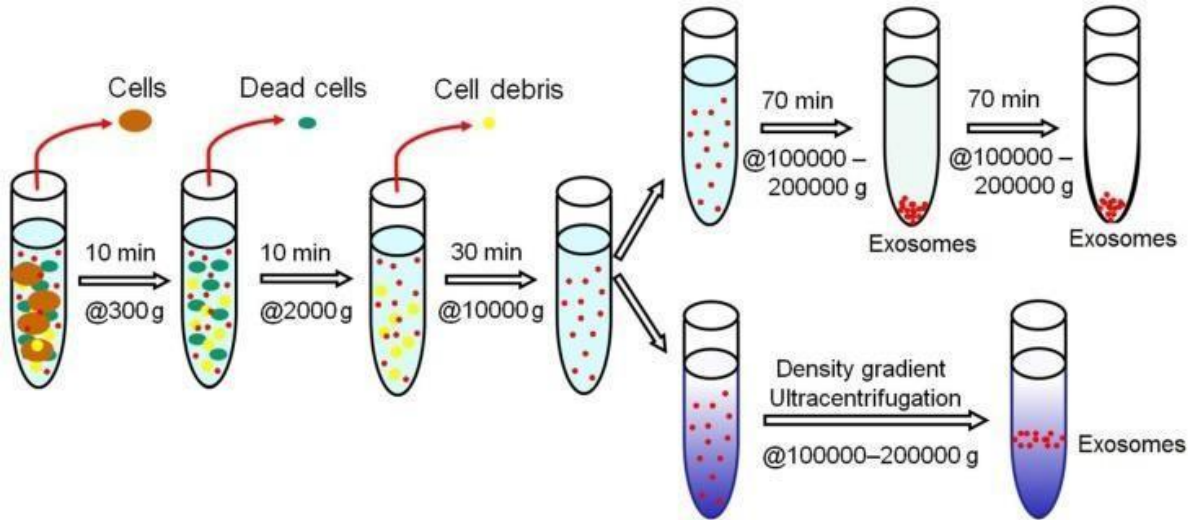


## ***Métodos para el aislamiento de exosomas***

- **Ultracentrifugación diferencial**

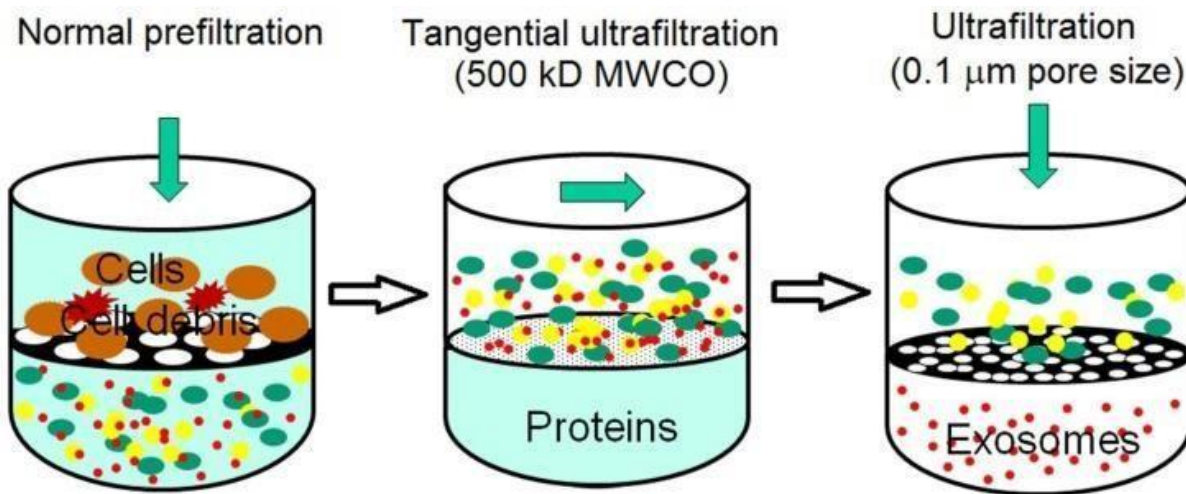
La ultracentrifugación diferencial se considera el método gold estándar de para el aislamiento de exosomas. Este método permite aislar exosomas y partículas de membrana en función de sus diferencias de densidad y tamaño de la fase fluida. Sin embargo, este enfoque tiene varios inconvenientes, como una gran cantidad de mano de obra, mucho tiempo, una gran cantidad de material de partida y un bajo rendimiento. Ahora, la ultracentrifugación a menudo se usa en combinación con gradientes de densidad de sacarosa para hacer flotar los exosomas de densidad relativamente baja lejos de otras vesículas y partículas. Y esta estrategia puede producir exosomas de alta calidad y pureza en 30 horas.





- **Aislamiento de exosomas basado en el tamaño**

Una de las técnicas populares de aislamiento de exosomas basadas en el tamaño es la ultrafiltración que puede aislar los exosomas en función de su peso molecular definido o tamaño, utilizando filtros de membrana. La ultrafiltración requiere menos tiempo que la ultracentrifugación y no requiere equipo especial. Otra técnica de separación basada en el tamaño que se aplica al aislamiento de exosomas es la HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), que requiere un equipo dedicado.



- **Precipitación de exosomas**

Los polímeros que excluyen el agua, como el polietilenglicol (PEG), pueden retener las moléculas de agua y forzar la salida de los componentes menos solubles de la solución. Por lo

tanto, las muestras se incuban con una solución de precipitación que contiene PEG, por lo que el precipitado que contiene exosomas se aísla mediante centrifugación a baja velocidad o filtración. Este método es fácil de usar y no requiere ningún equipo especializado. Captura de exosoma basada en afinidad.

Una gran cantidad de proteínas y receptores están presentes en la membrana de los exosomas, lo que brinda una excelente oportunidad para desarrollar técnicas altamente específicas para el aislamiento de exosomas aprovechando las interacciones de inmunoafinidad entre esas proteínas (antígenos) y sus anticuerpos, y las interacciones específicas entre los exosomas, receptores y ligandos. Ahora se han desarrollado técnicas de captura basadas en afinidad para el aislamiento de exosomas. Aislamiento de exosomas basado en microfluidos

El rápido desarrollo de la tecnología de microfabricación ha brindado una valiosa oportunidad para la preparación de exosomas basados en microfluidos, que pueden separar exosomas de manera rápida y eficaz y hacer uso de las características físicas y bioquímicas de los exosomas a microescala. A excepción de los enfoques comunes como el tamaño, la densidad y la inmunoafinidad, se pueden implementar mecanismos de clasificación innovadores como manipulaciones acústicas, electroforéticas y electromagnéticas. Con el uso de tales dispositivos, se esperan reducciones significativas en el volumen de la muestra, el consumo de reactivos y el tiempo de aislamiento.

## APLICACIONES CLÍNICAS Y ESTÉTICAS DE LOS EXOSOMAS

### Ortopedia

Aunque la OA (osteoartritis/artrosis) se considera una enfermedad crónica degenerativa, un trabajo reciente ha propuesto que los procesos inflamatorios de bajo grado son capaces de inducir los síntomas de la enfermedad y promover su progresión. Por lo tanto, la función inmunomoduladora de las MSC debe considerarse más a fondo. Las MSC pueden promover la regeneración de los componentes articulares a través de sus dos funciones secretoras de la siguiente manera:

**Factores antiinflamatorios.** Las MSC pueden regular a la baja las señales inflamatorias en el cartílago osteoartrotico mediante la secreción de interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, metaloproteinas de matriz (MMP)-1 y MMP-13.

**Factores tróficos.** Estas son moléculas que dan lugar a la proliferación celular, disminuyen la formación de tejido cicatricial y desencadenan la reparación del cartílago endógeno, como el factor de crecimiento epitelial (EGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF)-1, el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), factor de crecimiento transformante (TGF)- $\beta$  y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).

Aunque hay muchas pruebas de la capacidad de las MSC para curar el daño en las articulaciones y para tratar la OA, existen varios problemas con el enfoque del trasplante directo de células, como la escasa supervivencia de las células después de la inyección, la incapacidad de predecir mejoras duraderas en el comportamiento celular y las interacciones célula-célula, y los problemas para mantener un banco de almacenamiento adecuado de células para permitir el tratamiento listo para usar. La idoneidad de los donantes puede ser otro desafío importante, porque se descubrió que las MSC aisladas de donantes viejos o enfermos conducían a una disminución del rendimiento y la proliferación. Además, la inducción de la senescencia, la pérdida del potencial proliferativo y la reducción de la capacidad de diferenciación (particularmente más allá de 10 a 20 duplicaciones de la población) se han atribuido a la expansión celular *ex vivo* prolongada de las CMM antes del trasplante. Debido a su programación genética para sufrir calcificación después de la inducción condrogénica como parte del proceso normal de osificación endocondral, existen problemas para mantener el fenotipo del cartílago en las CMM diferenciadas y evitar que se expandan hacia el fenotipo osteogénico. Además, las MSC son sensibles a ciertos factores "responsables del medio ambiente" y experimentan modificaciones de comportamiento específicas en respuesta a rastros diminutos de sustancias desconocidas en el microambiente. Aunque esta capacidad de respuesta se utiliza con frecuencia en la medicina regenerativa, puede tener un impacto negativo en la

respuesta de las MSC en un entorno articular enfermo. Por ejemplo, los informes han demostrado que las MSC derivadas del tejido adiposo humano pueden cambiar a un secretoma proinflamatorio, cuando se tratan con factor de necrosis tumoral (TNF), y luego pueden desempeñar un papel en el aumento de la respuesta inflamatoria. Por lo tanto, los estudios actuales se han centrado en probar los productos secretores de las MSC, incluidos los exosomas derivados de MSC en modelos experimentales de daño articular y OA, en lugar de trasplantar las propias células.

Existen muchas similitudes entre los efectos biológicos de los exosomas derivados de células madre y las propias células madre intactas. Sin embargo, los exosomas derivados de células madre tienen ventajas (p. ej., dimensiones pequeñas, baja inmunogenicidad y eliminación de problemas de procedimiento relacionados con la inyección directa de células).

Zhu et al. llevó a cabo un estudio comparativo entre exosomas derivados de MSC de membrana sinovial (SMMSC-Exos) y exosomas derivados de MSC derivadas de células madre pluripotentes inducidas (iMSC-Exos) para tratar la OA. Estos investigadores demostraron que el diámetro tanto de SMMSC-Exos como de iMSC-Exos estaba entre 50 y 150 nm. Estos exosomas expresaron TSG101, CD9 y CD63. La inyección de SMMSC-Exos e iMSC-Exos en un modelo murino de OA redujo los síntomas de OA; sin embargo, se logró un mayor impacto terapéutico con iMSC-Exos en comparación con SMMSC-Exos. Tanto SMMSC-Exos como iMSC-Exos desencadenaron la proliferación y migración de condrocitos. En general, mostraron un mayor impacto terapéutico de iMSC-Exos en comparación con SMMSC-Exos. Dado que las iMSC autólogas se pueden obtener más fácilmente, pueden proporcionar un nuevo procedimiento de tratamiento para la OA.

Zhang et al. evaluó la contribución de los exosomas de MSC para regular la respuesta inflamatoria, el comportamiento nociceptivo, el cartílago condilar y la preservación del hueso

subcondral en un modelo de rata inmunocompetente con osteoartritis de la articulación temporomandibular (TMJ-OA). Estos investigadores demostraron que hubo una inhibición inicial del dolor y la degeneración con una disminución de la inflamación, acompañada de una fuerte proliferación y una mejora gradual en la expresión de la matriz y la arquitectura del hueso subcondral, lo que demostró una reparación y reconstrucción general de la articulación.

La degeneración del tejido del cartílago durante la progresión de la OA es causada por una inflamación crónica. Las MSC derivadas de tejido adiposo (AD-MSC) tienen el potencial de mitigar los procesos degenerativos e inflamatorios en la OA. Estas células también mostraron un efecto paracrino sobre los condrocitos. Tofiño-Vian et

al. han revelado que los exosomas aislados de AD-MSC humanas ejercían funciones condroprotectoras a través de múltiples mecanismos, como la reducción de la producción de mediadores inflamatorios (p. ej., TNF- $\alpha$ , IL-6, PGE2 y NO), la disminución de la liberación de la actividad de las MMP y la mejora de la producción de la citocina antiinflamatoria IL-10. Los autores concluyeron que las vesículas extracelulares de AD-MSC se pueden emplear para el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos en enfermedades articulares.

### ***Artículos de lectura complementaria***

Ruiz M, Cosenza S, Maumus M, Jorgensen C, Noël D. Aplicación terapéutica de células madre mesenquimales en la osteoartritis. Opinión de expertos Biol Ther. 2016; 16 (1):33–42. doi: 10.1517/14712598.2016.1093108. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Académico ]

Richards MM, Maxwell JS, Weng L, Angelos MG, Goltzarian J. Tratamiento intraarticular de la artrosis de rodilla: de antiinflamatorios a productos de medicina regenerativa. Phys Sportsmed. 2016; 44 (2):101–108. doi: 10.1080/00913847.2016.1168272. [ Artículo gratuito de PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]

Murphy MB, Moncivais K, Caplan AI. Células madre mesenquimales: terapias ambientalmente sensibles para la medicina regenerativa. Exp Mol Med. 2013; 45 (11): e54. doi: 10.1038/emm.2013.94. [ Artículo gratuito de PMC ] [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Scholar ]

Heldring N, Mäger I, Wood MJ, Le Blanc K, Andaloussi SE. Potencial terapéutico de las células estromales mesenquimales multipotentes y sus vesículas extracelulares. Hum Gene Ther. 2015; 26 (8):506–517. doi: 10.1089/hum.2015.072. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Académico ]

Siddappa R, Licht R, van Blitterswijk C, de Boer J. Variación de donantes y pérdida de multipotencia durante la expansión in vitro de células madre mesenquimales humanas para ingeniería de tejido óseo. J Orthop Res. 2007; 25 (8):1029–1041. doi: 10.1002/jor.20402. [ PubMed ] [ CrossRef ] [ Google Académico. ]

## Exosomas en medicina estética y anti-aging

En la búsqueda de tratamientos cada vez menos invasivos que nos ayuden a retrasar los procesos de envejecimiento potenciados por causas exógenas que contribuyen de manera importante acelerando y aumentando el daño celular, aparece en el arsenal terapéutico, el uso de los exosomas como una terapia antienvjecimiento y de rejuvenecimiento facial.

Moléculas bioactivas: (proteínas, citoquinas, factores de crecimiento...) Que son favorecedores de la comunicación intercelular, al no tener que unirse a receptores de ningún tipo, por endocitosis puede transitar “libremente” por las células y liberar sus más de 100 factores de crecimiento (EGF, IGF-1, SCF, FGF-6...).

miRNA: Es un RNA corto que evita que las células entren en senescencia y sus funciones son inhibitorias, se asocian con anti inflamación, antienvjecimiento, anti prurito.

Dentro de las propiedades antiinflamatorias, disminuyen los tiempos de recuperación después de procedimientos, disminuye eritema y riesgo de hiperpigmentación post inflamatoria

Indicaciones:

- Curación de heridas
- Antienvjecimiento
- Reepitelización cutánea
- Proliferación celular
- Elasticidad
- Regular función de barrera
- Antiinflamatorios
- Anti-apoptosis

## Exosomas y regeneración cutánea

Aumentan la síntesis de colágeno hasta 6 veces, así como un aumento del 300% de elastina (en ensayos in vitro).

Aumentan la curación de heridas 81% a los 19 días contra el 70.4% del control negativo del estudio. Por aumento de factor de crecimiento epidérmico.

## Exosomas y antiinflamación

La mayoría de las pieles están inflamadas ya sea por alguna condición o porque después de la mayoría de los procedimientos estéticos faciales la producen, la gran cantidad de citoquinas antiinflamatorias nos ayudan a disminuir riesgo de complicaciones melánicas en pieles tratadas o previamente inflamadas.



## Exosomas y barrera

Ayudan a disminuir la pérdida de líquidos transepidérmicos e inducen la síntesis de ceramidas que se refleja en un reforzamiento del manto hidrolipídico mejorando la humectación y reforzando al mismo tiempo la función de barrera.

## Exosomas y alopecia

Los tratamientos para combatir la pérdida de cabello difieren notablemente en efectividad, precio e invasividad. Las dos principales estrategias están centradas en la recuperación del folículo piloso, ya sea, a través de su estimulación hacia una fase

activa o a través del trasplante de unidades foliculares. Ambas aproximaciones tienen limitaciones por lo que se siguen buscando opciones.

Las células de las papilas dérmicas, situadas en la base del bulbo piloso, son esenciales para inducir la transición entre las fases de reposo, caída y crecimiento. Puesto que algunos estudios indican que los folículos pilosos no desaparecen del todo en las zonas donde no crece el pelo, se ha planteado que recuperar la población de estas células podría ser una estrategia para inducir la regeneración capilar. En esta línea, estudios previos habían mostrado que el tratamiento con esferas tridimensionales de células de las papilas dérmicas lleva a la restauración parcial de la capacidad para inducir nuevos folículos pilosos. Sin embargo, no se conocían los mecanismos implicados en la regeneración. El equipo de la Universidad del Estado de Carolina del Norte, dirigido por Ke Cheng, ha abordado esta cuestión.

En un primer paso, los investigadores utilizaron un modelo de ratón de regeneración del pelo en el que compararon la efectividad del minoxidil (fármaco vasodilatador utilizado para el tratamiento tópico de la alopecia androgénica) respecto a la de una terapia con células de las papilas dérmicas cultivadas en placas (en dos dimensiones) o como esferas tridimensionales. En 15 días, los ratones tratados con las esferas de células habían recuperado el 90% de cobertura de pelo en el área analizada, frente al tratamiento a los otros tratamientos que fueron más variables y requirieron más tiempo. “Las células 3D en un armazón de queratina funcionaron mejor, ya que los esferoides mimetizan el microambiente del pelo y el armazón de queratina actúa como ancla para mantenerlas en el sitio donde son necesarias”, destaca Cheng.

A partir de estudios con proteínas, el equipo determinó que la aceleración de la fase de crecimiento en los ratones tratados con esferoides de células de la papila dérmica iba acompañada de una activación de la señalización de  $\beta$ -catenina en la ruta de WNT.

Los investigadores observaron que el tratamiento con esferoides, consistente en una única inyección intradérmica, tenía efecto más allá del lugar de inyección, lo que sugería que utilizaba señales paracrinas para activar áreas no tratadas. El equipo analizó las moléculas y vesículas de comunicación (exosomas) liberados por las células y encontró que los exosomas de los crecimientos tridimensionales en esferas mostraban niveles elevados del micro-ARN miR-218-5p respecto a las células cultivadas en placa. Entonces se plantearon si la efectividad del

tratamiento con esferoides podría estar en los exosomas y más concretamente en el micro-ARN.

La hipótesis resultó acertada. Los investigadores observaron que el tratamiento con exosomas cargados de miR-218-5p promovía el crecimiento del pelo en el modelo animal. La inhibición de miR-218-5p, por el contrario, llevaba a una inhibición de la fase de crecimiento del folículo piloso.

Los investigadores también probaron a realizar el tratamiento con un compuesto que mimetiza el micro-ARN encapsulado en un polímero. En este caso también obtuvieron resultados positivos, aunque menos intensos que los de los exosomas, lo que interpretan como que debe haber otros micro-ARNs o componentes en los exosomas que intervengan en la activación del folículo piloso.

El estudio ofrece un camino hacia nuevas estrategias para inducir el crecimiento del cabello, basadas, no tanto en las células de las papilas dérmicas como en los mecanismos que utilizan: los exosomas o los micro-ARNs que éstos contienen. Los autores del trabajo señalan como ventajas frente a los procedimientos quirúrgicos que la administración de factores y exosomas es mucho menos invasiva. Además, señalan que el tratamiento con exosomas o micro-ARNs también podría ser ventajoso frente al minoxidil, fármaco vasodilatador que estimula la circulación sanguínea para que lleguen más nutrientes a los folículos pilosos pero no induce la activación de las células de la papila dérmica.

### **Artículos de lectura complementaria**

Hu S, et al. Dermal exosomes containing miR-218-5p promote hair regeneration by regulating  $\beta$ -catenin signaling. Science Advances. 2020. Doi: <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.aba1685>

[https://www.researchgate.net/publication/334006364\\_Extracellular\\_Vesicles\\_from\\_Activated\\_Dermal\\_Fibroblasts\\_Stimulate\\_Hair\\_Follicle\\_Growth\\_Through\\_Dermal\\_Papilla-Secreted\\_Norrin\\_Norrin\\_Activates\\_Hair\\_Follicular\\_Growth](https://www.researchgate.net/publication/334006364_Extracellular_Vesicles_from_Activated_Dermal_Fibroblasts_Stimulate_Hair_Follicle_Growth_Through_Dermal_Papilla-Secreted_Norrin_Norrin_Activates_Hair_Follicular_Growth)

## **Efecto Terapéutico de los Exosomas en el ACV Isquémico**

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

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

### **Artículos de lectura complementaria**

Papel potencial de los exosomas en el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico. Jiang L, Chen W, Ye J, Wang Y. *Biomoléculas*. 11 de enero de 2022; 12 (1): 115. doi: 10.3390/biom12010115.

- Papel de los exosomas como tratamiento y biomarcador potencial para el accidente cerebrovascular. Otero-Ortega L, Laso-García F, Gómez-de Frutos M, Fuentes B, Diekhorst L, Díez-Tejedor E, Gutiérrez-Fernández M. *Transl Carrera Res*. 2019 junio;10(3):241-249. doi: 10.1007/s12975-018-0654-7. Epub 2018 13 de agosto.
- El papel de los exosomas en el accidente cerebrovascular. Wang MM, Feng YS, Tan ZX, Xing Y, Dong F, Zhang F. *Mol Biol Rep*. 2020 agosto;47(8):6217-6228. doi: 10.1007/s11033-020-05569-2. Epub 2020 8 de junio.
- Oportunidades prometedoras para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas con exosomas derivados de células madre mesenquimales. Guy R, Offen D. *Biomoléculas*. 15 de septiembre de 2020; 10 (9): 1320. doi: 10.3390/biom10091320.
- Aplicación de células madre y exosomas en el tratamiento de la hemorragia intracerebral: una actualización.
- Zhou JF, Xiong Y, Kang X, Pan Z, Zhu Q, Goldbrunner R, Stavrinou L, Lin S, Hu W, Zheng F, Stavrinou P. *Stem Cell Res Ther*. 2022 28 de junio; 13(1): 281. doi:10.1186/s13287-022-02965-2.
- Papel de los exosomas en la patogénesis, diagnóstico y tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central. Fan Y, Chen Z, Zhang M. *J Transl Med*. 2022 27 de junio; 20 (1): 291. doi: 10.1186/s12967-022-03493-6.
- Exosomas derivados de células madre mesenquimales: nuevos efectos en el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico. Xiong Y, Song J, Huang X, Pan Z, Goldbrunner R, Stavrinou L, Lin S, Hu W, Zheng F, Stavrinou P. *Neurociencia frontal*. 2022 2 de mayo; 16:899887. doi: 10.3389/fnins.2022.899887. Colección electrónica 2022.
- Papel potencial de los exosomas en el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico. Jiang L, Chen W, Ye J, Wang Y. *Biomoléculas*. 11 de enero de 2022; 12 (1): 115. doi: 10.3390/biom12010115.

# PROTOCOLOS PARA USO LOCAL

## Exosomas Liofilizados para uso local traumatológico y control dolor



- Dilución con solución fisiológica 6cc .
- Aplicar 2 cc por zona a tratar
- L-PRP 3 cc cada 30 días por 4 meses.

Nota: Se sugiere suplementación con vitamina C, D y colágeno.

## Exosomas liofilizados para uso estético



- 1 vial contiene 5 billones de exosomas derivados de células madre mesenquimales.
- 1 vial diluyente contiene ácido hialurónico, proteínas, oligoelementos.
- Técnica de microinyecciones (dermapen), mesoterapia punto a punto o cánulas intradérmicas.



## Opciones terapéuticas

### Rejuvenecimiento

- Opción 1: Reconstituir el vial de exosomas 10 cc de solución salina y aplicar en forma de vectores en dermis profunda con cánula 27G. Utilizar el diluyente en forma de mesoterapia o dermapen.
- Opción 2: Reconstituir el vial de exosomas con el diluyente y colocar en dermis profunda con técnica punto en dermis profunda.
- Opción 3: Reconstituir el vial con PRP -P 5 cc y aplicar con mesoterapia. Utilizar el diluyente en la siguiente sesión.

### Alopecia

Reconstituir el vial de exosomas con solución fisiológica 5 cc colocar según técnica de mesoterapia en dermis profunda.

### Alopecia Androgénica

Reconstituir el vial de exosomas con solución fisiológica 4cc y adicionar 1 cc de dutasterida 0,5%

Cantidad de sesiones:

Según envejecimiento cutáneo y combinación con otras terapias como PRP y terapias celulares, bioestimuladores de colágeno: una, dos o tres sesiones.

Duración 1 año.

# PROTOCOLOS ENDOVENOSOS

## Exosomas Flow (Fluidos)



- Uso endovenoso o local.
- Viales con 30 billones de exosomas.
- Se transportan en frío.
- Se almacenan en freezer.
- Viabilidad congelados 12 meses

2 sesiones micronutrientes IV, administradas día por medio. Se sugiere asociar glutatión y 1 sesión de exosomas.

Evaluar necesidad de realizar primero implante de células madre y luego utilizar exosomas como coadyuvante.

## CONTENIDO DE LOS EXOSOMAS

Components	Molecular Weight	Concentration mg/L
<b>Amino Acids</b>	75	10
<b>L-Arginine</b>	174	200
<b>L-Asparagine</b>	132	50
<b>L-Aspartic Acid</b>	133	20
<b>L-Cystine 2HCl</b>	313	65
<b>L-Glutamic Acid</b>	147	20
<b>L- Glutamine</b>	146	300
<b>L-Histidine</b>	155	15
<b>L-Hydroxyproline</b>	131	20
<b>L-Isoleucine</b>	131	50
<b>L-Leucine</b>	131	50
<b>L-Lysine hydrochloride</b>	183	40
<b>L-Methionine</b>	149	15
<b>L-Phenylalanine</b>	165	15
<b>L-Proline</b>	115	20
<b>L-Serine</b>	105	30
<b>L-Threonine</b>	119	20
<b>L-Tryptophan</b>	204	5
<b>L-Tyrosine disodium salt dihydrate</b>	261	29
<b>L- Valine</b>	117	20

Vitamins		
Biotin	244	0.2
Choline chloride	140	3
D-Calcium pantothenate	477	0.25
Folic acid	441	1
Niacinamide	122	1
Para-Aminobenzoic acid	137	1
Pyridoxine hydrochloride	206	1
Riboflavin	376	0.2
Thiamine hydrochloride	337	1
Vitamin B12	1355	0.005
I-Inositol	180	35

Factors	Quantity
Collagen I, III	1.643 mg/ml
Hyaluronic Acid (HA)	1.85 ug/ml
Chondroitin Sulfate (CS)	1.58 ug/ml
Stem Cell Factor (SCF)	38.0 pg/ml
Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	1.8 ng/ml

Factor	pg/ml
GM-CSF	6.53
INF- $\gamma$	2.30
IL-2	8.20
IL-3	1.75
IL-4	9.48
IL-5	0.94
IL-6	633
IL-7	37.0
IL-8	11,278
IL-10	1.40
IL-18	7.70
MIP-1 $\alpha$	5.80
MIP-1 $\beta$	18.8
MCP-1	13,714
TNF- $\alpha$	6.53
TNF- $\beta$	8.90

## The Shield Vitanozas

Una caja conteniendo 7 viales para realizar 10 sueros aproximadamente

1. Complejo B | 50 ml
2. Cloruro de Magnesio | 50 ml
3. Oligoelementos | 50 ml
4. Acido alfa lipóico | 10 ml
5. Vial Multivitaminas | 50 ml
6. Acido ascórbico | 25 gr de 50ml
7. Glutation | 5 gr/25 ml multidosis

ENERGÉTICO		DEPORTIVO PERFORMNCE - QUEMADOR		PROINMUNO		INFLAMACIÓN - DOLOR	
Vitamina C	3ml	Vitamina C	3ml	Vitamina C	3ml	DMSO	8ml
Magnesio	5ml	Oligoelementos	10ml	Complejo B	5ml	Magnesio	5ml
Complejo B	5ml	Complejo B	2,5ml	Magnesio	2ml	Procaína	2ml
<b>Extras</b>		Amino	10ml	Oligoelementos	5ml	<b>Extras</b>	
Acido Alfa Lipoico	3ml	<b>Extras</b>		<b>Extras</b>		Vitamina C	3ml
Oligoelementos	10ml	Glutation	3ml	Glutation	3ml	Complejo B	5ml
Glutation	3ml	Magnesio	5ml			Oligoelementos	5ml
						Dexametasona	2ml
						Ketorolac 1AMP	-
DETOX							
EDTA	5ml						
Vitamina C	3ml						
Glutation	3ml						
Complejo B	2ml						