

CIECIERSKI-KOŻLAREK, Hubert, ŻUREK, Urszula, TOLWIŃSKI, Ignacy, KĘDZIERSKA, Zofia, SZWED, Weronika, ANTKOWIAK, Klaudia, DADAS, Klaudia, ŚWIERCZ, Aleksandra, MAŁACHOWSKA, Dominika and SHVED, Kateryna. The role of exosomes in ischemic stroke. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023;28(1):123-137. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.28.01.010> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/44828> <https://zenodo.org/record/8174045>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of 17.07.2023 No. 32318. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences). Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 17.07.2023 Lp. 32318. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przynależność dyscypliny naukowej: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu). © The Authors 2023; This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper. Received: 29.06.2023. Revised: 20.07.2023. Accepted: 20.07.2023. Published: 25.07.2023.

The role of exosomes in ischemic stroke

Hubert Ciecierski-Koźlarek

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie, ul. Żołnierska 18, 10-561 Olsztyn, Poland

ORCID: 0009-0009-4062-6888

e-mail: hubertciecierski@icloud.com

Urszula Żurek

Warszawski Szpital Południowy, ul. rtm. Witolda Pileckiego 99, 02-781 Warszawa, Poland

ORCID: 0009-0008-3482-5381

e-mail: ula.zurek@gmail.com

Ignacy Tolwiński

Warszawski Szpital Południowy, ul. rtm. Witolda Pileckiego 99, 02-781 Warszawa, Poland

ORCID: 0000-0003-1362-6734

e-mail: ignacyt233@gmail.com

Zofia Kędziarska

Warszawski Szpital Południowy, ul. rtm. Witolda Pileckiego 99, 02-781 Warszawa, Poland

ORCID: 0000-0002-4181-4719

e-mail: zo.kedziarska@gmail.com

Weronika Szwed

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie, ul. Żołnierska 18, 10-561 Olsztyn, Poland

ORCID: 0000-0001-9546-7970

e-mail: weronikaszwed1997@gmail.com

Klaudia Antkowiak

Szpital Średzki Serca Jezusowego z.o.o ul. Żwirki i Wigury 10, 63-000 Środa Wielkopolska, Poland

ORCID: 0009-0008-3421-2200

e-mail: klaudia.antkowiak2021@gmail.com

Klaudia Dadas

Warszawski Szpital Południowy, ul. rtm. Witolda Pileckiego 99, 02-781 Warszawa, Poland

ORCID: 0009-0007-3352-9807

e-mail: klaudia.w.2703@gmail.com

Aleksandra Świercz

Warszawski Szpital Południowy, ul. rtm. Witolda Pileckiego 99, 02-781 Warszawa, Poland

ORCID: 0009-0007-1535-1590

e-mail: aleksandra.swiercz1996@gmail.com

Dominika Małachowska

Warszawski Szpital Południowy, ul. rtm. Witolda Pileckiego 99, 02-781 Warszawa, Poland

ORCID: 0009-0008-6305-7959

e-mail: dominika1.malachowska@gmail.com

Kateryna Shved

Wielospecjalistyczny Szpital Miejski im. Józefa Strusia, ul. Szwajcarska 3, 61-285 Poznań, Poland

ORCID: 0009-0002-3773-7025

e-mail: katey.shved@gmail.com

Abstract

Introduction and purpose: Ischemic stroke is one of the leading causes of death and disability worldwide. There is an urgent need to develop new treatments and diagnosis. The aim of this review is to gather current knowledge on the potential use of exosomes in the diagnosis and treatment of ischemic stroke. This review was based on available data collected in the Pub Med database and Google Scholar web search engine, using the key words: „Exosomes”, „ischemic stroke”

Description of the state of knowledge: Currently, thanks to the development of knowledge about molecular processes, many studies are conducted on drugs that could limit neurodegenerative processes and support repair processes. Many of the drugs that could be used in treatment show poor penetration through the blood-brain barrier. In studies, exosomes show good penetration through the blood-brain barrier, limit neurodegenerative processes and show neuroregenerative effects. Exosomes are characterized by low immunogenicity and toxicity, and the proteins contained in them are involved in neurogenesis, anti-apoptotic processes and synaptic transmission. In addition, studies have shown exosomes inhibit autophagocytosis and reduce neuronal damage.

Summary: Studies performed on animal models have shown the effectiveness of exosomes in the diagnosis and treatment of ischemic stroke. Further studies are needed to determine the efficacy and safety profile of exosomes in humans.

Keywords: Exosomes; ischemic stroke; ischemia; microRNA; neurodegenerative processes; neurorestoration

Wprowadzenie

Choroby naczyniowe ośrodkowego układu nerwowego są jedną z najczęstszych przyczyn śmierci oraz niepełnosprawności na świecie, a ich liczba ciągle rośnie. W ostatnim czasie dokonał się postęp odnośnie wiedzy dotyczącej mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za procesy neurodegeneracyjne. Najczęściej występującą patologią wśród

chorób naczyniowych jest choroba niedokrwienna. Tromboliza dożylna oraz mechaniczna trombektomia zrewolucjonizowały leczenie udarów niedokrwiennych stając się jednymi z pierwszych metod, które wykazały wysoką skuteczność oraz stały się podstawowymi metodami stosowanymi na całym świecie [1]. Metody te posiadają jednak ograniczenia związane z czasem od wystąpienia objawów udaru a zgłoszeniem się pacjenta. Dodatkowo wiążą się z wieloma przeciwwskazaniami, które mogą wykluczyć pacjenta z leczenia. W obecnych czasach rozwój nauki umożliwił poszukiwania metod terapeutycznych na poziomie komórkowym, molekularnym. Niektóre schorzenia neurologiczne z sukcesem leczone są terapiami komórkowymi. Badania przeprowadzone z zastosowaniem komórek macierzystych w udarze niedokrwiennym przyniosły obiecujące rezultaty, lecz ich potencjalne zastosowanie u ludzi wydaje się być mocno ograniczone z powodu wielu problemów wiążących się z zastosowaniem takiego modelu leczenia. Podczas przeprowadzonych badań zaobserwowano, że wprowadzane komórki macierzyste oddziałują pozytywnie na otaczające je tkanki głównie na zasadzie wydzielania parakrynnego. Badacze wysunęli podejrzenie, że możliwy efekt terapeutyczny może zostać osiągnięty poprzez wyekstrahowanie związków wydzielanych drogą parakrynną, a tym samym pozwoli ominąć ograniczenia związane z terapią komórkami macierzystymi [2].

Obecnie dzięki rozwojowi wiedzy o procesach molekularnych, prowadzonych jest wiele badań nad lekami, które mogłyby ograniczać procesy neurodegeneracyjne oraz wspierać procesy naprawcze. Wiele z leków, które mogłyby znaleźć zastosowanie w leczeniu wykazuje słabą penetrację przez barierę krew-mózg [3]. Egzosomy w badaniach wykazują dobrą penetrację przez barierę krew-mózg, ograniczają procesy neurodegeneracyjne oraz wykazują działanie neuroregeneracyjne.

Celem tego przeglądu jest zebranie aktualnej wiedzy na temat potencjalnego zastosowania egzosomów w diagnostyce i leczeniu udaru niedokrwiennego.

Na potrzeby niniejszej pracy wykonano przegląd literatury obcojęzycznej z lat (2004-2022) dostępnej w bazie danych wyszukiwarce internetowej Pubmed oraz Google Scholar. Przeglądu dokonano z wykorzystaniem słów kluczowych takich jak słów „egzosomy”, „udar niedokrwienny” oraz „egzosomy w udarze niedokrwiennym”. Do przeglądu włączono artykuły opisujące najnowszą wiedzę odnośnie zastosowania egzosomów w leczeniu oraz diagnostyce udaru niedokrwiennego mózgu, w tym prace opisujące egzosomy zawierające

badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych i hodowlach komórkowych. Wykluczono artykuły zawierające nieaktualną wiedzę.

Opis stanu wiedzy

Egzosomy są zewnątrzkomórkowymi pęcherzykami o średnicy 30-150 nm, otoczonymi dwuwarstwową błoną lipidową. Obecne są w wielu płynach ustrojowych takich jak krew, mocz, płyn mózgowo-rdzeniowy czy ślina. Powstawanie egzosomów rozpoczyna się od endocytozy i tworzenia się wczesnych endosomów. Endosomy wędrują w głąb komórki, w trakcie dochodzi do powstawania w ich świetle wewnętrznych pęcherzyków, które stają się prekursorami egzosomów [4]. Błona egzosomów składa się z cholesterolu, sfingomieliny, markerów powierzchniowych komórek macierzystych m.in.; tetraspaniny (CD63, CD81, CD9), flotyliny 1, białka ALIX oraz białka kodowanego przez gen TSG101 (tumor susceptibility gene 101) [5]. Na zawartość egzosomów składają się biologicznie aktywne substancje biorące udział w komunikacji międzykomórkowej i wpływających na wiele procesów fizjologicznych w organizmie. W ich skład wchodzi; białka, lipidy, miRNA, mRNA oraz DNA).

Egzosomy biorą udział w prezentacji antygenów, reakcjach immunologicznych, komunikacji międzykomórkowej, regulacji proliferacji komórkowej, angiogenezie, różnicowaniu komórek. Białka zawarte w egzosomach takie jak BDNF- Zeb2/Axin2 biorą udział w neurogenezie, procesach antyapoptotycznych oraz transmisji synaptycznej [6].

Rola egzosomów w udarze niedokrwiennym

Egzosomy odgrywają szczególną rolę w ośrodkowym układzie nerwowym regulując procesy fizjologiczne oraz biorąc udział w odpowiedzi na procesy patologiczne. W ośrodkowym układzie nerwowym egzosomy wytwarzane są przez neurony, komórki mikrogleju, oligodendrocyty, astrocyty oraz komórki śródbłona naczyniowego. Egzosomy odgrywają rolę w utrzymaniu integralności bariery krew-mózg, w procesach antyoksydacyjnych oraz w utrzymaniu połączeń synaptycznych [7]. Egzosomy uwalniane podczas procesów patologicznych, mogą zarówno oddziaływać neuroprotektoryjne, neuroregeneracyjne jak

i odpowiadać za nasilenie procesów patologicznych poprzez wzrost stężenia cytokin prozapalnych, proliferacji astrogleju [8].

Egzosomy w diagnostyce udaru niedokrwiennego

Wiele badań naukowych wykazało przenikanie egzosomów przez barierę krew-mózg, egzosomy oraz ich zawartość mogą w przyszłości stać się markerami udaru niedokrwiennego mózgu oraz czynnikiem prognostycznym. W szczególności obiecujące wydają się być mikro-RNA. Stężenie poszczególnych mikro-RNA w osoczu takich jak; miR-134, miR-223, miR-9, miR-124 korelował ze stanem klinicznym pacjentów ocenianym w skali NIHSS oraz stężeniem IL-6 a także wysokoczułym CRP [9,10,11]. Ponadto stężenie miR-9 oraz miR-124 korelowało z rozległością obszaru objętego niedokrwieniem. Egzosomy mogą być również przydatne w diagnostyce przejściowego udaru niedokrwiennego, mikro-RNA takie jak miRNA-122-5p, miR-300-3p, miR-450b-5p wykazały w badaniach przedklinicznych swoją wartość diagnostyczną [12,13].

Egzosomy w leczeniu udaru niedokrwiennego

W warunkach fizjologicznych komórki układu nerwowego komunikują się ze sobą m.in. za pomocą uwalnianych egzosomów oraz ich zawartości.

Po wystąpieniu udaru niedokrwiennego dochodzi do aktywacji wielu procesów fizjologicznych m.in; angiogenezy, odpowiedzi immunologicznej, procesów apoptozy, powstawania nowych komórek nerwowych oraz oligodendrogleju. Egzosomy uwalniane są przez szereg różnych komórek w tym przez; neurony, oligodendroglej, komórki śródbłonna, nerwowe komórki macierzyste.

Badania wykazały korzystny wpływ terapii mezenchymalnymi komórkami macierzystymi na rokowanie pacjentów po udarze niedokrwiennym [14]. Jednym z istotnych procesów w tej terapii jest wydzielanie parakrynne egzosomów przez komórki macierzyste.

Egzosomy wykazują wiele cech, które pozwalają zastosować je w terapii w udarach niedokrwiennych - niska immunogenność, zdolność do przekraczania bariery krew-mózg oraz pozytywny wpływ na regenerację oraz odbudowę tkanki po udarze niedokrwiennym, wykazują również pozytywny wpływ na plastyczność mózgu [15,16].

Nieliczne jak do tej pory badania, które zostały przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały pozytywny wpływ po zastosowaniu egzosomów w udarze niedokrwiennym. Badanie wykonane na szczurach u których wywołano udar niedokrwienny poprzez okluzje

środkowej tętnicy mózgowej, a następnie podano egzosomy ekstrahowane z mózgow szczyrów poddanych wcześniej leczeniem mezenchymalnymi komórkami macierzystymi do tętnicy szyjnej wspólnej prawej. Szczury poddane leczeniu egzosomami wykazały mniejszą utratę masy ciała w porównaniu do grupy placebo leczonej buforowaną fosforanem solą fizjologiczną (PBS). Ponadto w wykonanych testach oceniających funkcje motoryczne szczury poddane leczeniu egzosomami uzyskały znacznie lepsze wyniki w zakresie powrotu funkcji motorycznych w porównaniu z grupą placebo. Badania wykazały również różnice w zakresie wielkości obszaru niedokrwienia po 7 dniach (w badaniu porównywano procentowo obszar objęty niedokrwieniem w porównaniu ze stroną przeciwległą, zdrową). W celu uwidocznienia tych zmian podano szczurom chlorek 2,3,5,-trifenylotetrazoliowy. Szczury otrzymujące leczenie pod postacią egzosomów wykazywały się znacznie mniejszym obszarem niedokrwieniowym. Pośmiertnie wykonano sekcje szczurzyc mózgow, barwiąc je w celu uwidocznienia białka DCX(doublecortin), markera migrujących komórek progenitorowych neuroblastów. W grupie szczurów leczonych egzosomami wykazano znacznie zwiększoną liczbę migrujących neuroblastów w okolicach komory bocznej oraz okolicy hipokampa, w półkuli objętej niedokrwieniem. Pozwala to przypuszczać, że terapia egzosomami wpływa pozytywnie na neurogenezę macierzystych komórek nerwowych w okolicy hipokampa oraz w okolicach podkomorowych, a następnie migracje tych komórek do strefy niedokrwienia. Podczas badania udowodniono również pozytywny wpływ egzosomów na angiogenezę w obszarze niedokrwienia. Oznaczenie białka ACTA2- alfa aktyny mięśni gładkich, wykazało zwiększoną ilość komórek biorących udział w angiogenezie u szczurów z grupy leczonej egzosomami.

W trakcie badania wykazano również, że szczury u których dokonano interwencji leczniczej, w porównaniu z grupą placebo wykazały znacznie mniejszy stopień rozwoju blizny glejowej. W porównywanych preparatach szczurów poddanych leczeniu wykazano mniejsze stężenie białka GFAP, które wytwarzane jest przez astroglej i jest jednym z wykładników reaktywnej astroglejozy, która ma miejsce w organizujących się obszarach dotkniętych niedokrwieniem. Wyniki wskazują, że terapia egzosomami wpływa pozytywnie na ograniczenie patologicznego procesu jakim jest astroglejoza. Badaniu poddano również stężenia cytokin prozapalnych, których wyższe stężenie stwierdzono w preparatach szczurów z grupy placebo. Zanotowano podwyższone stężenia czynnika martwicy nowotworów α (TNF α) oraz progranuliny. W przeciwieństwie do grupy placebo, szczury, którym zostały podane egzosomy wykazały niższe stężenie cytokin prozapalnych, a także wyższe stężenia cytokin

przeciwzapalnych takich jak IL-10 oraz białka TSG6, również wykazującego właściwości przeciwzapalne [17].

Badanie przeprowadzone przez wykazało, że egzosomy pochodzące z mezenchymalnych komórek macierzystych szpiku kostnego skutecznie zniosły immunosupresję występującą po udarze niedokrwiennym, pozytywnie wpłynęły na angiogenezę obszaru objętego niedokrwieniem a także poprawiły funkcje motoryczne 4 tygodnie po incydencie naczyniowym. Ponadto grupa badawcza wysunęła wnioski, że efekty terapeutyczne leczenia egzosomami wynikają między innymi z modulacji odpowiedzi układu immunologicznego co w przyszłości może umożliwić monitorowanie skuteczności zastosowanego leczenia poprzez badanie krwi obwodowej [18].

Egzosomy pozyskane z mezenchymalnych komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej miniaturowych świnek również wykazały swoją skuteczność kliniczną w leczeniu udaru niedokrwiennego u szczurów. Badanie to wykazało, że egzosomy oraz mezenchymalne komórki macierzyste pochodzące od ksenogenego dawcy również odznaczyły się skutecznością w leczeniu. Badacze ponadto nie zaobserwowali reakcji immunologicznych przeciwko egzosomom ksenogenego pochodzenia oraz zmian w narządach takich jak mózg, serce, płuca, wątroba oraz nerki. Zastosowane leczenie skutecznie zmniejszyło strefę niedokrwienia oraz poprawiło stan neurologiczny szczurów. Kolejnym wnioskiem wyciągniętym przez badaczy było to, że połączenie terapii egzosomami z terapią komórkami macierzystymi przyniosło najlepsze rezultaty w porównaniu do zastosowania tych metod osobno. W trakcie badania odnotowano również mniejsze stężenie wykładników stanu zapalnego- MMP-9, IL-1 β , TNF α , białka RANTES, PAI-1, NF- κ B u szczurów leczonych egzosomami lub komórkami macierzystymi w porównaniu do szczurów niepoddanych leczeniu. Wykładniki stresu oksydacyjnego- NOX1, NOX2 oraz utlenione białka również występowały w wyższym stężeniu u szczurów niepoddanych interwencji. U szczurów u których nie zastosowano leczenia stwierdzono bardziej nasilone procesy apoptozy oraz włóknienia. Ekspresja białek takich jak Smad1/5 oraz BMP2 zapobiegających włóknieniu, występowała w zwiększonym stężeniu u szczurów poddanych terapii egzosomami i komórkami macierzystymi [19].

Badacze zwrócili uwagę na problem jakim jest występowanie udaru niedokrwiennego u pacjentów z cukrzycą typu 2. Cukrzyca typu 2 zmienia metabolizm, wpływa negatywnie na

układ naczyniowy, nasila stan zapalny. Cukrzyca typu 2 u pacjentów z udarem niedokrwiennym wiąże się z gorszym rokowaniem- udary mogą być rozleglejsze, a leczenie pacjenta cięższe. U pacjentów z DM2 zaobserwowano również zmniejszone stężenie w surowicy mikro-RNA126(miR-126). W DM2 zaobserwowano, że obniżone stężenie miR-126 koreluje z rozwijaniem się mikro- i makroangiopatii. MiR-126 reguluje odpowiedź immunologiczną. Po urazach rdzenia kręgowego odpowiada za ograniczone wynaczynianie się leukocytów, stymuluje angiogenezę. Komórki śródbłonna oraz egzosomy pochodzące z tych komórek cechują się jednym z wyższych stężeń miR-126. Myszy, które poddane zostały leczeniu egzosomami z komórek śródbłonna w porównaniu z grupą otrzymującą PBS lub liposomy (liposome mimic treatment) wykazały znaczną poprawę w zakresie funkcji motorycznych, poznawczych. Odnotowano także zwiększenie gęstości aksonów, mieliny, naczyń, zwiększenie średnicy tętnic, oraz indukcje makrofagów M2 w niedokrwienną strefie granicznej. W badaniu porównano również działanie egzosomów pozbawionych miR-126 u myszy z DM2 oraz udarem niedokrwiennym. Odnotowano obniżenie stężenia miR-126 w surowicy oraz w mózgu, a także gorszą poprawę funkcjonalną wywołaną leczeniem egzosomami. Egzosomy pozbawione miR-126 nie wykazały znaczącego wpływu na parametry takie jak gęstość aksonów, mieliny, naczyń oraz średnicy tętnic. Nie odnotowano również znaczącego wpływu na polaryzację makrofagów M2 w niedokrwienną strefie granicznej. Przeprowadzone badania *in vitro* wykazały skuteczność leczenia egzosomami w zakresie wzrostu aksonów pierwotnych komórek nerwowych kory mózgowej, a także kapilar naczyniowych. Egzosomy pozbawione miR-126 osłabiły wzrost aksonów oraz tworzenie się kapilar naczyniowych wywołanych leczeniem egzosomami z miR-126. Badacze wysunęli wnioski, że terapia egzosomami wspiera procesy neuroregeneracji u myszy z DM2 po udarze niedokrwiennym, a miR-126 może odgrywać istotną rolę w tym procesie [20].

Ważnym zagadnieniem, które odgrywa rolę w udarze niedokrwiennym pozostaje proces autofagii. Autofagia jest mechanizmem, który umożliwia komórce degradację własnych składników cytoplazmatycznych w lizosomach. Autofagia to proces, który nie tylko zachodzi w warunkach fizjologicznych, ale także może przyczyniać się do zjawisk patologicznych [21]. Modele wykorzystujące niedokrwienie mózgu u gryzoni wykazały, że zwiększenie autofagii jako mechanizmu obronnego może chronić neurony przed apoptozą. Pojawiły się doniesienia, że autofagia występująca po udarze niedokrwiennym może również sprzyjać wystąpieniu ponownego udaru niedokrwiennego [22]. Autofagia w udarze niedokrwiennym może odgrywać podwójną rolę- rolę ochronną, w momencie gdy uszkodzone tkanki oraz białka są

niszczone wewnątrz komórki, lub nadmierną, gdy nasilone procesy autofagii prowadzą do śmierci komórki i nasilają uszkodzenia komórkowe. Badacze sprawdzili wpływ egzosomów pozyskanych z astrocytów na proces autofagii w przebiegu udaru niedokrwiennego u myszy. Wyniki badania wykazały, że egzosomy hamują autofagocytozę i łagodzą uszkodzenia neuronów w eksperymentalnym modelu udaru niedokrwiennego [23].

Znaczenie kliniczne w eksperymentalnych modelach wykazało również miR-133b. Badacze wywołali okluzję tętnicy środkowej mózgu u szczurów doprowadzając do udaru niedokrwiennego. Szczury poddane leczeniu mezenchymalnymi komórkami macierzystymi wykazywały znacznie zwiększone stężenie miR-133b po stronie objętej niedokrwieniem. W badaniu wykazano również wzrost stężenia miR-133b w mezenchymalnych komórkach macierzystych oraz ich egzosomach po ekspozycji w warunkach *in vitro* na ekstrakt z niedokrwionych tkanek. Zwiększone stężenie miR-133b występowało również w hodowlach neuronów i astrocytów do których podawano egzosomy pochodzące z macierzystych komórek mezenchymalnych. Wyeliminowanie miR-133b w macierzystych komórkach mezenchymalnych potwierdziło, że wzrost stężenia miR-133b w neuronach i astrocytach spowodowany był ich transferem z komórek macierzystych [24]. Udar niedokrwienny indukuje uwalnianie wielu cytokin prozapalnych, chemokin oraz białek adhezyjnych, które wpływają na integralność bariery krew-mózg. Proces ten powoduje wynaczywanie się leukocytów oraz nasilenie uszkodzeń powstałych w niedokrwieniu.

Zwiększone stężenie miR-21-3p występujące po udarze niedokrwiennym wpływa negatywnie na barierę krew-mózg, nasila proces apoptozy oraz stan zapalny poprzez modulację funkcji białka MAT2B. Egzosomy pozyskane z ludzkich komórek śródbłonna żyły pępowinowej skutecznie obniżyły stężenie miR-21-3p oraz ograniczyły apoptozę neuronów spowodowaną procesem hipoksji i reoksygenacji [25].

Egzosomy połączone z kurkumina pozytywnie wpłynęły na stan zapalny oraz apoptozę u szczurów z udarem niedokrwiennym [26].

Podsumowanie

Udar niedokrwienny to jedna z najczęstszych przyczyn śmierci oraz ciężkiej niepełnosprawności na całym świecie. Pomimo ciągłego rozwoju diagnostyki oraz metod leczenia, potrzeba opracowania nowych skuteczniejszych technik wciąż pozostaje priorytetem. Egzosomy wydzielane przez większość komórek w organizmie, pełnią kluczową rolę

w komunikacji międzykomórkowej. Cechy którymi się wyróżniają to niska onkogenność, immunogenność oraz toksyczność. Do wytworzenia egzosomów wystarczają niewielkie hodowle komórkowe. W wielu przypadkach terapia egzosomami może być skuteczniejsza niż terapia komórkowa, a dobra penetracja przez barierę krew-mózg odróżnia egzosomy od wielu leków. Zawartość egzosomów może być modyfikowana, co stwarza wiele potencjalnych możliwości co do zastosowania egzosomów w innych jednostkach chorobowych a także spersonalizowania leczenia. Duża część badaczy wykazała, że istotną komponentą egzosomów jest mikro-RNA. Przeprowadzając modele doświadczalne w których niektóre z egzosomów zawierały wyższe stężenia określonego mikro-RNA badacze zaobserwowali związane z nimi oddziaływanie na przebieg udaru niedokrwienego. Zbiór dowodów na skuteczność czy szkodliwość określonego mikro-RNA pozwoli w przyszłości dobrać odpowiednio zawartość egzosomów celem zapewnienia jak najskuteczniejszego leczenia. Egzosomy wywierają swój efekt terapeutyczny również poprzez zawartość różnych czynników wzrostu. Wysoka zawartość czynników takich jak czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF), neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF) wpływa pozytywnie na angiogenezę, zmniejszenie strefy niedokrwienia, neurogenezę. Egzosomy dzięki dobrej penetracji przez barierę krew-mózg w przyszłości mogą być łączone również z lekami, z których większość nie przenika przez barierę. Pozostającym problemem w ramach terapii egzosomami jest dystrybucja w organizmie. Egzosomy po podaniu dożylnym trafiają w dużej mierze do narządów układu siateczkowo-śródbłonkowego takich jak wątroba czy śledziona. [27] Kolejnym problemem pozostaje różnica w zawartości egzosomów-mikroRNA, białek, lipidów, która zależy ściśle od rodzaju komórek, warunków hodowli, ekstrakcji.

Wiele badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych dostarcza obiecujących rezultatów, które w przyszłości być może pozwolą opracować nowe skuteczne i mało inwazyjne metody leczenia jak i diagnostyki udaru niedokrwienego.

References:

- [1] Saini V, Guada L, Yavagal DR. Global Epidemiology of Stroke and Access to Acute Ischemic Stroke Interventions. *Neurology*. 2021 Nov 16;97(20 Suppl 2):S6-S16. doi: 10.1212/WNL.0000000000012781. PMID: 34785599.
- [2] Qiu G, Zheng G, Ge M, Wang J, Huang R, Shu Q, Xu J. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles affect disease outcomes via transfer of microRNAs. *Stem Cell Res Ther*. 2018 Nov 21;9(1):320. doi: 10.1186/s13287-018-1069-9. PMID: 30463593; PMCID: PMC6249826.
- [3] Lakhal S, Wood MJ. Exosome nanotechnology: an emerging paradigm shift in drug delivery: exploitation of exosome nanovesicles for systemic in vivo delivery of RNAi heralds new horizons for drug delivery across biological barriers. *Bioessays*. 2011 Oct;33(10):737-41. doi: 10.1002/bies.201100076. PMID: 21932222.
- [4] Zhang Y, Liu Y, Liu H, Tang WH. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell Biosci*. 2019 Feb 15;9:19. doi: 10.1186/s13578-019-0282-2. PMID: 30815248; PMCID: PMC6377728.
- [5] Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes. *Annu Rev Biochem*. 2019 Jun 20;88:487-514. doi: 10.1146/annurev-biochem-013118-111902. PMID: 31220978.
- [6] Wei R, Zhang L, Hu W, Shang X, He Y, Zhang W. Zeb2/Axin2-Enriched BMSC-Derived Exosomes Promote Post-Stroke Functional Recovery by Enhancing Neurogenesis and Neural Plasticity. *J Mol Neurosci*. 2022 Jan;72(1):69-81. doi: 10.1007/s12031-021-01887-7. Epub 2021 Aug 16. PMID: 34401997.
- [7] Budnik V, Ruiz-Cañada C, Wendler F. Extracellular vesicles round off communication in the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2016 Mar;17(3):160-72. doi: 10.1038/nrn.2015.29. PMID: 26891626; PMCID: PMC4989863.

- [8] Perez-Gonzalez R, Gauthier SA, Kumar A, Levy E. The exosome secretory pathway transports amyloid precursor protein carboxyl-terminal fragments from the cell into the brain extracellular space. *J Biol Chem.* 2012 Dec 14;287(51):43108-15. doi: 10.1074/jbc.M112.404467. Epub 2012 Nov 5. PMID: 23129776; PMCID: PMC3522305.
- [9] Ji Q, Ji Y, Peng J, Zhou X, Chen X, Zhao H, Xu T, Chen L, Xu Y. Increased Brain-Specific MiR-9 and MiR-124 in the Serum Exosomes of Acute Ischemic Stroke Patients. *PLoS One.* 2016 Sep 23;11(9):e0163645. doi: 10.1371/journal.pone.0163645. PMID: 27661079; PMCID: PMC5035015.
- [10] Zhou J, Chen L, Chen B, Huang S, Zeng C, Wu H, Chen C, Long F. Increased serum exosomal miR-134 expression in the acute ischemic stroke patients. *BMC Neurol.* 2018 Dec 4;18(1):198. doi: 10.1186/s12883-018-1196-z. PMID: 30514242; PMCID: PMC6278025.
- [11] Chen Y, Song Y, Huang J, Qu M, Zhang Y, Geng J, Zhang Z, Liu J, Yang GY. Increased Circulating Exosomal miRNA-223 Is Associated with Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol.* 2017 Feb 27;8:57. doi: 10.3389/fneur.2017.00057. PMID: 28289400; PMCID: PMC5326773.
- [12] Luo X, Wang W, Li D, Xu C, Liao B, Li F, Zhou X, Qin W, Liu J. Plasma Exosomal miR-450b-5p as a Possible Biomarker and Therapeutic Target for Transient Ischaemic Attacks in Rats. *J Mol Neurosci.* 2019 Dec;69(4):516-526. doi: 10.1007/s12031-019-01341-9. Epub 2019 Jul 31. PMID: 31368061.
- [13] Li DB, Liu JL, Wang W, Luo XM, Zhou X, Li JP, Cao XL, Long XH, Chen JG, Qin C. Plasma Exosomal miRNA-122-5p and miR-300-3p as Potential Markers for Transient Ischaemic Attack in Rats. *Front Aging Neurosci.* 2018 Feb 6;10:24. doi: 10.3389/fnagi.2018.00024. PMID: 29467645; PMCID: PMC5808157.
- [14] Zhang GL, Zhu ZH, Wang YZ. Neural stem cell transplantation therapy for brain ischemic stroke: Review and perspectives. *World J Stem Cells.* 2019 Oct 26;11(10):817-830. doi: 10.4252/wjsc.v11.i10.817. PMID: 31692854; PMCID: PMC6828598.

- [15] Chen H, Wang L, Zeng X, Schwarz H, Nanda HS, Peng X, Zhou Y. Exosomes, a New Star for Targeted Delivery. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Oct 8;9:751079. doi: 10.3389/fcell.2021.751079. PMID: 34692704; PMCID: PMC8531489..
- [16] Jiang L, Chen W, Ye J, Wang Y. Potential Role of Exosomes in Ischemic Stroke Treatment. *Biomolecules.* 2022 Jan 11;12(1):115. doi: 10.3390/biom12010115. PMID: 35053263; PMCID: PMC8773818.
- [17] Lee JY, Kim E, Choi SM, Kim DW, Kim KP, Lee I, Kim HS. Microvesicles from brain-extract-treated mesenchymal stem cells improve neurological functions in a rat model of ischemic stroke. *Sci Rep.* 2016 Sep 9;6:33038. doi: 10.1038/srep33038. PMID: 27609711; PMCID: PMC5016792.
- [18] Doeppner TR, Herz J, Görgens A, Schlechter J, Ludwig AK, Radtke S, de Miroschedji K, Horn PA, Giebel B, Hermann DM. Extracellular Vesicles Improve Post-Stroke Neuroregeneration and Prevent Postischemic Immunosuppression. *Stem Cells Transl Med.* 2015 Oct;4(10):1131-43. doi: 10.5966/sctm.2015-0078. Epub 2015 Sep 3. PMID: 26339036; PMCID: PMC4572905.
- [19] Chen KH, Chen CH, Wallace CG, Yuen CM, Kao GS, Chen YL, Shao PL, Chen YL, Chai HT, Lin KC, Liu CF, Chang HW, Lee MS, Yip HK. Intravenous administration of xenogenic adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSC) and ADMSC-derived exosomes markedly reduced brain infarct volume and preserved neurological function in rat after acute ischemic stroke. *Oncotarget.* 2016 Nov 15;7(46):74537-74556. doi: 10.18632/oncotarget.12902. PMID: 27793019; PMCID: PMC5342685.
- [20] Venkat P, Cui C, Chopp M, Zacharek A, Wang F, Landschoot-Ward J, Shen Y, Chen J. MiR-126 Mediates Brain Endothelial Cell Exosome Treatment-Induced Neurorestorative Effects After Stroke in Type 2 Diabetes Mellitus Mice. *Stroke.* 2019 Oct;50(10):2865-2874. doi: 10.1161/STROKEAHA.119.025371. Epub 2019 Aug 9. PMID: 31394992; PMCID: PMC6756941.

[21] Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science*. 2004 Nov 5;306(5698):990-5. doi: 10.1126/science.1099993. PMID: 15528435; PMCID: PMC1705980.

[22] Yu B, Ruan M, Liang T, Huang SW, Liu SJ, Cheng HB, Shen XC. Tetramethylpyrazine phosphate and borneol combination therapy synergistically attenuated ischemia-reperfusion injury of the hypothalamus and striatum via regulation of apoptosis and autophagy in a rat model. *Am J Transl Res*. 2017 Nov 15;9(11):4807-4820. PMID: 29218081; PMCID: PMC5714767.

[23] Pei X, Li Y, Zhu L, Zhou Z. Astrocyte-derived exosomes suppress autophagy and ameliorate neuronal damage in experimental ischemic stroke. *Exp Cell Res*. 2019 Sep 15;382(2):111474. doi: 10.1016/j.yexcr.2019.06.019. Epub 2019 Jun 21. PMID: 31229506.

[24] Xin H, Li Y, Buller B, Katakowski M, Zhang Y, Wang X, Shang X, Zhang ZG, Chopp M. Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth. *Stem Cells*. 2012 Jul;30(7):1556-64. doi: 10.1002/stem.1129. PMID: 22605481; PMCID: PMC3495063.

[25] Jiang Y, Xie H, Tu W, Fang H, Ji C, Yan T, Huang H, Yu C, Hu Q, Gao Z, Lv S. Exosomes secreted by HUVECs attenuate hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis in neural cells by suppressing miR-21-3p. *Am J Transl Res*. 2018 Nov 15;10(11):3529-3541. PMID: 30662605; PMCID: PMC6291702.

[26] Tian T, Zhang HX, He CP, Fan S, Zhu YL, Qi C, Huang NP, Xiao ZD, Lu ZH, Tannous BA, Gao J. Surface functionalized exosomes as targeted drug delivery vehicles for cerebral ischemia therapy. *Biomaterials*. 2018 Jan;150:137-149. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.012. Epub 2017 Oct 4. PMID: 29040874.

[27] Lai CP, Mardini O, Ericsson M, Prabhakar S, Maguire C, Chen JW, Tannous BA, Breakefield XO. Dynamic biodistribution of extracellular vesicles in vivo using a multimodal imaging reporter. *ACS Nano*. 2014 Jan 28;8(1):483-494. doi: 10.1021/nn404945r. Epub 2014 Jan 9. PMID: 24383518; PMCID: PMC3934350.