

# **La administración de fármacos por medio de vesículas extracelulares**

---

**Trabajo de fin de grado**

**Grado en Farmacia**

**Curso 2020-2021**

**Autora: Ana Gabriela Estévez Alonso**

**Tutor: Ricardo Reyes Rodríguez**

**Co-tutora: Natalia Domínguez Reyes**

# Índice

Resumen	3
Abstract	3
1. Introducción	4
1.1 Reseña histórica de las vesículas extracelulares	4
1.2 ¿Qué son las vesículas extracelulares?	5
1.3 Objetivos	6
2. Tipos de vesículas extracelulares	6
3. Biogénesis, liberación y fusión o internalización de las vesículas extracelulares	7
4. Funciones de las vesículas extracelulares	10
5. Las vesículas extracelulares y la administración de fármacos	
5.1 Métodos de aislamiento de las vesículas extracelulares	10
5.2 Encapsulación de fármacos	11
5.3 Modificación del tropismo de las vesículas extracelulares	12
5.4 Farmacocinética	12
6. El uso de las vesículas extracelulares para la administración de fármacos en el cáncer. El caso del glioblastoma	13
7. Ventajas e inconvenientes del uso de las vesículas extracelulares para la administración de fármacos	15
8. Conclusiones	16
9. Bibliografía	17

## **Resumen**

Las vesículas extracelulares (VE) son estructuras membranosas secretadas por las células que permiten la comunicación intercelular, ya que actúan como vehículo de transferencia de proteínas, lípidos y ARN. Se han descrito varios tipos de VE: los exosomas, las microvesículas y los cuerpos apoptóticos. El conocimiento de los procesos de biogénesis, liberación e internalización en la célula diana es esencial para poder desarrollar aplicaciones clínicas. Las VE muestran tropismo celular, esto las convierte en un sistema de administración de fármacos prometedor. Se pueden utilizar diversos métodos de encapsulación de fármacos en las VE, la pre-encapsulación (antes del aislamiento de las VE) y la post-encapsulación (después del aislamiento de las VE). El interés de las VE ha crecido en los últimos años por su papel y posible aplicación en diferentes enfermedades, entre ellas, el cáncer. El cáncer es una enfermedad de elevada incidencia y mortalidad lo que constituye un serio problema de salud, por lo que es imprescindible buscar alternativas diagnósticas y terapéuticas. Se están desarrollando diferentes estrategias que utilizan VE para vehicular fármacos para el tratamiento del cáncer. En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica sobre la administración de fármacos por medio de las VE, centrándonos en el cáncer, y más concretamente en el glioblastoma.

## **Abstract**

The extracellular vesicles (EV) are membranous structures released by cells that allow the intercellular communication, acting as a vehicle that transport proteins, lipids, and RNA. Understanding the processes of biogenesis, release and internalization in the target cell is essential to be able to develop clinical applications. The EV show cell tropism, making them a promising system for drug administration. Several methods can be used for drugs loading, pre-loading (before EV isolation) and post-loading (after EV isolation). The interest in EV has grown in recent years due to their role and possible applications in different diseases, including cancer. Cancer is a disease with a high incidence and mortality, which constitutes a serious health problem, therefore it is essential to find diagnostic and therapeutic alternatives. Several strategies using EV as vehicles for drugs are being developed for treating cancer. In this work, a bibliographic

review has been made about drugs administration by EVs, focusing on cancer, specifically in the glioblastoma.

## **1. Introducción**

La comunicación celular consiste en la transmisión de una señal de una célula emisora a una célula receptora y es esencial en los organismos pluricelulares. Los tipos de comunicación celular pueden clasificarse dependiendo de la proximidad entre la célula emisora y la receptora. La comunicación yuxtacrina, ocurre por contacto directo con otras células, en la comunicación autocrina la célula receptora y emisora de señales es la misma, en la paracrina las células se comunican a corta distancia y por último, la comunicación endocrina permite transmitir la información a largas distancias por medio del torrente sanguíneo (Lodish et al., 2000).

En la última década, se ha descrito un mecanismo de comunicación celular mediado por vesículas extracelulares (VE). Éstas constituyen un importante modo de comunicación ya que permiten la transferencia entre células de proteínas, lípidos, ARN y otras moléculas (Brücher & Jamall, 2014).

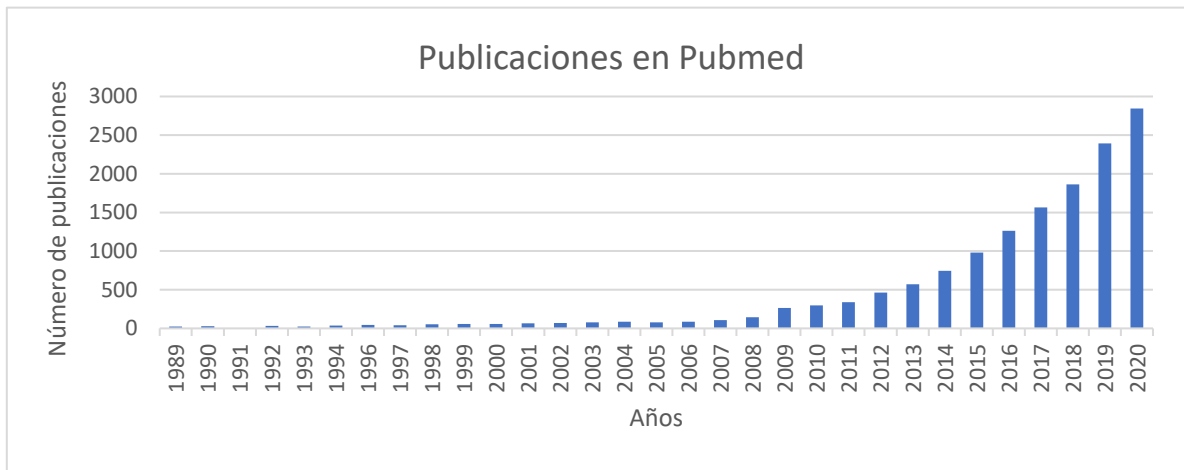
### **1.1 Reseña histórica de las vesículas extracelulares**

En 1946 Chargaff, observó que los precipitados de plasma libre de plaquetas obtenidos tras una centrifugación a alta velocidad tenían actividad procoagulante (Chargaff & West, 1946). Sin embargo, 20 años más tarde se observó en imágenes de microscopía electrónica que el plasma depletado de células aún conservaba estructuras electrónicamente densas que denominaron “polvo de plaquetas” y que tenían la misma actividad procoagulante previamente descrita por Chargaff (Yáñez-Mó et al., 2015).

La primera vez que estas vesículas pudieron observarse fue gracias al desarrollo de la ultracentrifugación y el microscopio electrónico. Aunque fueron reconocidas por numerosos grupos de investigadores, no fue hasta 1971 que se utilizó por primera vez el término “vesículas extracelulares” (Bonucci, 1970).

En 1990, en un ensayo clínico se descubrió que las células del sistema inmunológico eran capaces de transferir proteínas transmembrana por medio de las VE, también se describió la capacidad de las VE de presentar antígenos y activar linfocitos T a través de

moléculas del sistema HLA, presentes en la superficie de éstas (Raposo et al., 1996). Años más tarde se descubrió que el contenido de microARN presente en las VE podía ser captado por células diana (Valadi et al., 2007). Desde entonces, las publicaciones sobre las funciones y aplicaciones de las VE se han incrementado de manera exponencial en los últimos años (**Figura 1**).



**Figura 1.** Evolución del número de artículos publicados en Pubmed cada año con las palabras clave “Extracellular vesicle” hasta el 31 de diciembre del 2020.

## 1.2 ¿Qué son las vesículas extracelulares?

Las vesículas extracelulares (VE), son estructuras evolutivamente conservadas, y se denominan así por ser un conjunto heterogéneo de estructuras membranosas que son liberadas al exterior celular. Son estructuras esféricas rodeadas por una bicapa lipídica cuyo lumen acuoso contiene diversas moléculas como proteínas y ácidos nucleicos. Las VE son secretadas de manera controlada por las células. Además, sirven de vehículo para llevar a cabo la transferencia de proteínas de membrana y citosólicas, lípidos y ARN. Las VE pueden recorrer largas distancias en el torrente sanguíneo, linfa u otros fluidos, y permiten la comunicación intercelular sin necesidad de contacto directo (Raposo & Stoorvogel, 2013). Estas características las convierten en perfectas candidatas como vehículo de fármacos.

### **1.3 Objetivos**

El interés por el papel de las vesículas extracelulares ha crecido en los últimos años. Las investigaciones recientes se centran en conocer su biología y su aplicabilidad tanto para el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico como para el tratamiento de enfermedades. Por ello, en este trabajo se han planteado los siguientes objetivos:

El objetivo general es realizar un estudio bibliográfico sobre el uso de las vesículas extracelulares para la administración de fármacos, en concreto para el tratamiento del cáncer. Para ello se han abordado los siguientes objetivos específicos:

- 1) Describir los tipos de VE, su biogénesis, su liberación, su internalización y sus funciones.
- 2) Describir cómo las VE pueden ser utilizadas para administrar fármacos.
- 3) Describir el estado actual de desarrollo del uso de las VE para la administración de fármacos en el tratamiento del glioblastoma, un tipo de cáncer cerebral.

## **2. Tipos de vesículas extracelulares**

La clasificación de las VE se basa en distintas características, como su tamaño, densidad, biogénesis y composición. Dentro de las VE se encuentran los exosomas, los ectosomas, también denominados microvesículas o micropartículas y los cuerpos apoptóticos.

- Los exosomas son vesículas que se forman a partir de la membrana del endosoma temprano, durante el proceso de maduración a endosomas multivesiculares (MVE) o tardíos. Forman parte de la vía endocítica y se liberan al medio extracelular cuando los MVE se fusionan con la membrana plasmática. Tienen un tamaño entre 40 nm y 150 nm (Raposo & Stoorvogel, 2013).
- Los ectosomas, microvesículas (MV) o micropartículas (MP) se originan directamente en la membrana plasmática por evaginación de ésta, al recibir un estímulo externo o interno y son liberadas al medio extracelular. Tienen un tamaño entre 100 nm y 1000 nm (Raposo & Stoorvogel, 2013)

- Los cuerpos apoptóticos son restos celulares producidos a partir de células en proceso de apoptosis. Presentan una gran variabilidad en cuanto a forma y tamaño, llegando a alcanzar hasta 5  $\mu\text{m}$  (Kerr et al., 1972).

En esta revisión bibliográfica nos centramos en los exosomas y las microvesículas ya que los cuerpos apoptóticos son las VE menos estudiadas.

### **3. Biogénesis, liberación y fusión o internalización de las vesículas extracelulares**

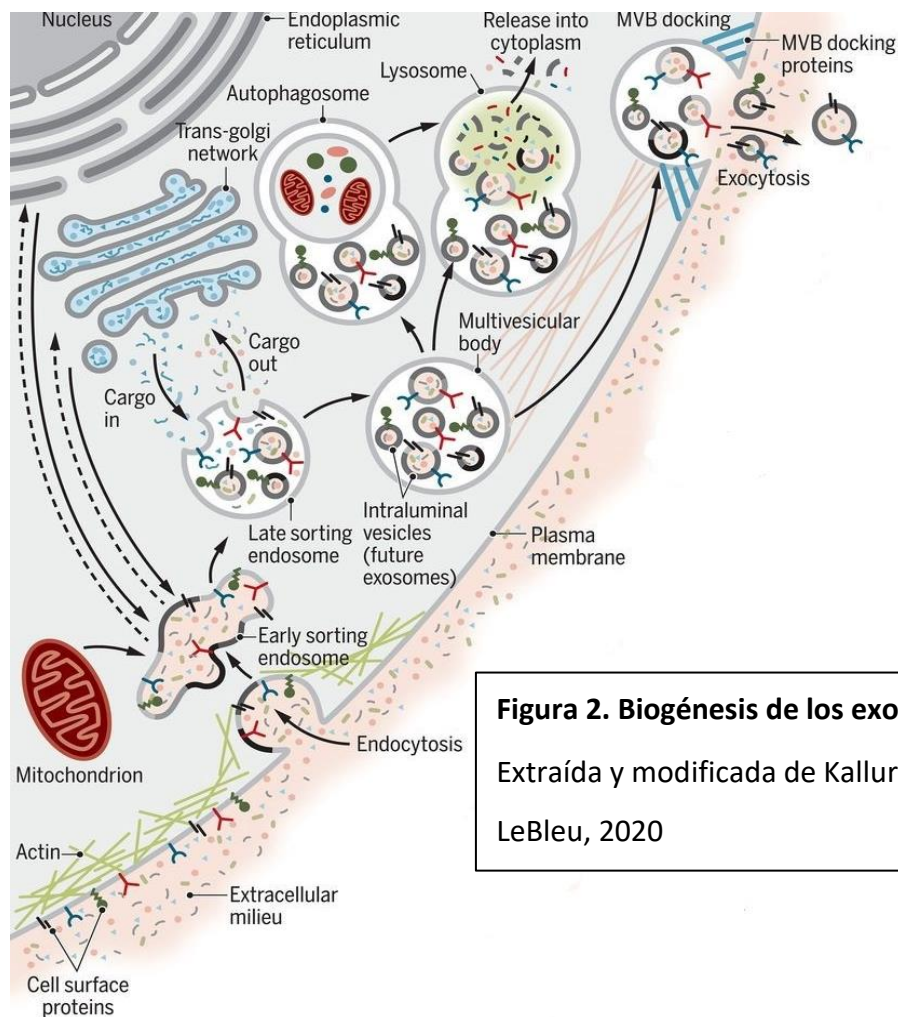
Para la formación de los exosomas, las proteínas de la superficie celular forman una estructura en forma de copa, que da lugar a una primera invaginación de la membrana plasmática. Este proceso conduce a la formación de una vesícula endocítica que puede fusionarse con otras para formar de *novo* un endosoma temprano (ESE) o en algunos casos permite la fusión de éstas con un ESE ya existente (Kalluri & LeBleu, 2020).

Los ESE, posteriormente sufren un proceso de maduración para transformarse en endosomas multivesiculares (MVE) o tardíos, que implica entre otros cambios, la formación de vesículas a partir de invaginaciones en su membrana. La formación de estas vesículas intraluminales (ILVs) permite la selección e internalización de proteínas presentes en la membrana del ESE y de contenido citosólico (Kalluri & LeBleu, 2020).

Los MVE pueden fusionarse con autofagosomas y pueden sufrir degradación al fusionarse con los lisosomas, o bien, pueden fusionarse con la membrana plasmática liberando las ILVs al exterior. Esas ILVs es lo que conocemos como exosomas (Kalluri & LeBleu, 2020).

Dependiendo del volumen de invaginación, el proceso puede dar lugar a ILVs de diferentes tamaños y contenido. Las proteínas implicadas en la formación de los exosomas son las Rab GTPasas y las proteínas ESCRT (“endosomal sorting complexes required for transport”, complejos de clasificación endosomal requeridos para el transporte), que actúan de manera secuencial. También existen otras proteínas involucradas en la biogénesis de las ILVs, que además se usan como marcadores de VE, como son las proteínas transmembrana CD9 y CD81 (Abels & Breakefield, 2016) (**Figura 2**).

Para que se formen las microvesículas (MV) es necesario que ocurra un reordenamiento molecular de la membrana plasmática, incluyendo cambios en sus componentes lipídicos y proteicos (Van Niel et al., 2018). Se originan como consecuencia de la evaginación de la membrana plasmática hacia el exterior celular y la posterior fisión de la MV de la membrana plasmática. Esto se debe al resultado de la interacción dinámica entre los fosfolípidos de la membrana y elementos contráctiles del citoesqueleto (actina y miosina). Se ha demostrado además la implicación del colesterol y las proteínas SNARE en la formación de las MV (Sedgwick & D'Souza-Schorey, 2018).



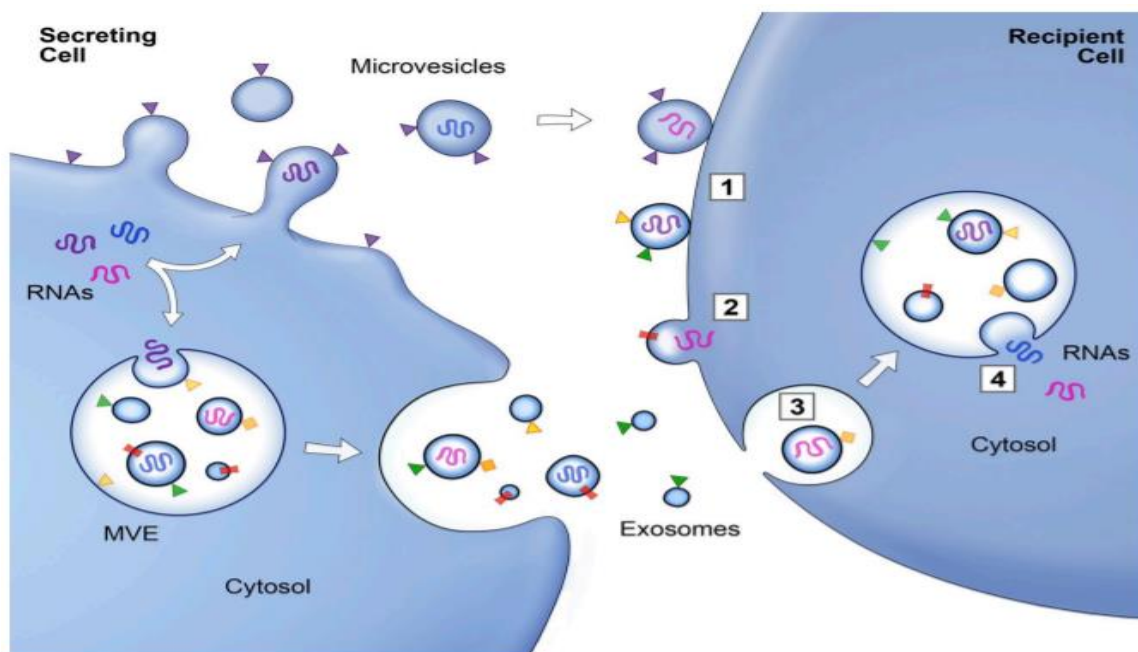
**Figura 2. Biogénesis de los exosomas.**  
 Extraída y modificada de Kalluri & LeBleu, 2020

Para que tenga lugar la interacción de las VE con las células diana es necesario que se lleven a cabo una serie de procesos. Entre ellos, el acoplamiento de las VE con la membrana plasmática de las células receptoras, la señalización y la activación en la superficie celular, que lleva finalmente a la internalización o la fusión de la vesícula con la célula diana. Es importante destacar que la composición de las VE puede influir en su unión a las células receptoras. Estos procesos requieren de proteínas del citoesqueleto



(actina, miosina y quinesinas) e interruptores moleculares como GTPasas monoméricas (Raposo & Stoorvogel, 2013). Para que se lleven a cabo estas interacciones es necesaria la acción de lípidos, proteínas y componentes de la matriz extracelular. Entre las proteínas destacan las integrinas, las tetraspaninas y los proteoglicanos (Van Niel et al., 2018).

Finalmente, las VE pueden fusionarse con la membrana plasmática con la consecuente liberación de su contenido al citosol de la célula diana o puede producirse la internalización de estas por medio de endocitosis (Raposo & Stoorvogel, 2013) (figura 3)



**Figura 3. Esquema de la transferencia de proteínas, lípidos y ARN por VE.** Las proteínas, lípidos y el ARN se incorporan selectivamente a las ILVs en los MVE, que se fusionan posteriormente con la membrana plasmática liberando los exosomas. Las vesículas pueden fusionarse directamente con la membrana plasmática (2) o ser internalizadas por endocitosis (3). Las vesículas endocitadas pueden fusionarse con la membrana de un compartimento intracelular (4). Ambas vías dan como resultado la transferencia de proteínas, lípidos y ARN a la membrana plasmática o al citosol de la célula diana. Extraída de Raposo & Stoorvogel, 2013.

#### **4. Funciones de las vesículas extracelulares**

La función principal de las VE es la comunicación celular, pero además están involucradas en muchas otras funciones fisiológicas. La biogénesis de las VE y su regulación podrían tener implicación en la eliminación de proteínas mal plegadas, ejerciendo funciones desintoxicantes y neuroprotectoras. La disfunción de estos procesos podría estar relacionada con enfermedades neurodegenerativas (Kalluri & LeBleu, 2020). Además, las VE derivadas de células dendríticas pueden activar células T al transferirles su carga, participando en la presentación de antígenos (Théry et al., 2002). También se ha visto su implicación en la reparación de tejidos (Yáñez-Mó et al., 2015).

#### **5. Las vesículas extracelulares y la administración de fármacos**

Además de todas las funciones anteriormente descritas, las VE son herramientas prometedoras para la administración de fármacos.

##### **5.1 Métodos de aislamiento de las vesículas extracelulares**

Los métodos de aislamiento más utilizados son la centrifugación diferencial, la centrifugación en gradiente de densidad, la cromatografía de exclusión molecular, la precipitación mediante polímeros comerciales y la inmunocaptura magnética (Bobrie et al., 2012).

En cualquiera de los métodos anteriores se realizan centrifugaciones seriadas a velocidades crecientes. En líneas generales, se empieza con una centrifugación a baja velocidad que permite eliminar fragmentos celulares y núcleos, posteriormente una centrifugación a velocidad media que precipita las microvesículas y, por último, una ultracentrifugación a alta velocidad para la obtención de exosomas o de vesículas de pequeño tamaño (Bobrie et al., 2012).

La centrifugación diferencial es uno de los métodos más comunes usados para aislar VE de fluidos biológicos, ya que es capaz de discriminar por tamaño distintas poblaciones de VE. Sin embargo, sus inconvenientes son el tiempo de ejecución, la necesidad de utilizar la ultracentrifugación y la mayor cantidad de precipitado contaminante, lo que

lleva a un rendimiento bajo. Aun así, sigue siendo la técnica de más utilidad cuando se manejan grandes volúmenes como es el caso del suero (Coumans et al., 2017).

Para caracterizar las VE se utilizan métodos como la visualización por microscopía electrónica, la dispersión de luz dinámica, el análisis de seguimiento de nanopartículas o la citometría de flujo (Szatanek et al., 2017).

## **5.2 Encapsulación de fármacos**

Las VE son portadoras naturales de numerosas moléculas endógenas que transfieren a las células diana, por lo que su uso representa una estrategia prometedora para la administración de fármacos (Tang et al., 2012). Para ello es necesario cargar las VE con el fármaco deseado. Las VE pueden incorporar tanto productos biológicos, como ácidos nucleicos (ARNm, miARN, ARNt o ARNs), proteínas o lípidos, como compuestos sintéticos (Walker et al., 2019).

Las VE pueden cargarse de dos maneras diferentes ya sea mediante pre-encapsulación o post-encapsulación.

La pre-encapsulación del fármaco consiste en encapsularlo durante la producción de las VE. Este proceso lleva mucho tiempo, sin embargo, proporciona una manera sencilla y continua de producir VE que contienen fármacos. Esta técnica permite conservar la integridad de la membrana, pero es difícil controlar la cantidad de fármaco encapsulado y por tanto la eficiencia de encapsulación (Walker et al., 2019).

La post-encapsulación, por el contrario, consiste en aislar las VE y posteriormente encapsular el fármaco deseado. Existen varios métodos que permiten encapsular fármacos, todos tienen un objetivo común, que el fármaco atraviese la membrana de las VE. Estos métodos se dividen en dos: los físicos, que producen la ruptura mecánica de las membranas mediante electroporación, sonicación o ciclos de congelación y descongelación; y los químicos, mediante la utilización de saponinas o agentes de transfección (Walker et al., 2019).

### **5.3 Modificación del tropismo de las vesículas extracelulares**

El tropismo de las VE se puede modificar añadiendo o funcionalizando proteínas presentes en su membrana. En la membrana de las VE hay proteínas que pueden fusionarse con ligandos específicos para la unión a receptores en las células diana. En un estudio, se transfectaron células dendríticas productoras de VE, con plásmidos que codificaban una proteína de fusión constituida por la proteína LAMP2 (proteína lisosomal presente en la membrana de las VE) y el péptido RVG (glicoproteína del virus de la rabia, específico del sistema nervioso). Después del aislamiento, las VE se cargaron con siARN para el silenciamiento del gen BACE1 (implicado en la enfermedad de Alzheimer), mediante electroporación, y se administraron en ratones por vía intravenosa. Se demostró que las VE funcionalizadas con el péptido RVG causaban el silenciamiento del gen BACE1 en el tejido nervioso, mientras que las que carecían del péptido RVG no provocaron ese efecto (Alvarez et al., 2011).

En conclusión, la incorporación en las VE de ligandos dirigidos ha mostrado resultados prometedores para la administración de agentes terapéuticos en células y órganos específicos (Yang et al., 2017).

Además de agregar ligandos a la superficie de las VE, puede mejorarse la funcionalidad de éstas añadiendo péptidos que sean sensibles a las características físico-químicas del medio. Se ha estudiado la administración de fármacos por medio de VE utilizando grupos funcionales sensibles al pH. En un estudio se añadió a las VE la 3-dimetilaminopropilamina, este compuesto, sensible al pH, hacía que las VE liberaran el fármaco en medios con pH ácido como el microambiente tumoral y los compartimentos endosomales (Walker et al., 2019).

### **5.4 Farmacocinética.**

Las VE son reconocidas por el sistema inmunológico desencadenando el mismo mecanismo de defensa que en el caso de las infecciones por virus y bacterias. Esto puede deberse tanto a las propias características físico-químicas de las VE, como a las alteraciones que se producen durante el aislamiento de las mismas o las modificaciones superficiales realizadas en el laboratorio (Walker et al., 2019).

Aunque son eliminadas de forma rápida por el organismo, esto va a depender del tipo de VE, de las células productoras de VE y de la vía de administración, lo que puede dar lugar a distintos patrones de biodistribución (Wiklander et al.,2015). Por ejemplo, la administración de VE aisladas de la leche y marcadas con fluorescencia, a ratones, por vía intravenosa y por vía oral mostró diferentes patrones de biodistribución, observando que los ratones a los que se administró las VE por vía intravenosa tenían tres veces más acumulación en el hígado que aquellos a los que se administró por vía oral (Munagala et al., 2016).

## **6. El uso de las VE para la administración de fármacos en el cáncer. El caso del glioblastoma.**

El cáncer ocupa el sexto lugar como causa de muerte en el mundo. Según la Organización mundial de la salud (OMS), el cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolada de las células que puede invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos en un proceso denominado metástasis.

Durante el crecimiento tumoral, las VE pueden transferir biomoléculas como proteínas y ácidos nucleicos que promueven el crecimiento y la progresión del tumor. Aunque la quimioterapia y la radioterapia son los tratamientos de elección, su citotoxicidad es inespecífica, así como los efectos secundarios sistémicos que provocan. Para evitar estos efectos, se han desarrollado alternativas terapéuticas, así como una gran cantidad de formas de administración de fármacos.

Las VE pueden ser una forma de administración de fármacos para distintos tipos de cáncer, entre ellos el glioblastoma (Yang et al., 2017). El glioblastoma o glioblastoma multiforme (GBM) es el tumor cerebral maligno primario más común y agresivo. Aunque se desarrolla principalmente en el cerebro, también puede aparecer en el tronco del encéfalo, el cerebelo y la médula espinal. Se suele presentar a partir de los 64 años, pero puede tener lugar a cualquier edad (Davis, 2016).

Pueden clasificarse como primarios o secundarios. La mayoría son de origen primario y presentan un peor pronóstico. Los síntomas suelen ser aumento de la presión intracraneal, incluyendo mareos, déficits neurológicos focales y progresivos, y convulsiones.

La terapia de primera línea consiste en radioterapia y quimioterapia basada en temozolamida. En este tipo de cáncer la barrera hematoencefálica (BHE) juega un papel fundamental, ya que, aunque constituye un sistema de protección, bloquea la penetración del 98% de los fármacos. Es por ello por lo que las VE podrían ser una opción prometedora para la administración de fármacos en el tratamiento de este tipo de tumores (Davis, 2016).

Un estudio demostró que en las VE se podían encapsular fármacos que eran capaces de cruzar la BHE utilizando como modelo el pez cebra. Para ello se aislaron VE de cultivos celulares de células endoteliales cerebrales BEND-3. Se encapsularon los fármacos paclitaxel y doxorubicina mediante electroporación, y se inyectaron las VE en embriones de peces cebra con cáncer cerebral. Se observó que los exosomas BEND-3 con fármacos redujeron el tamaño del tumor que se había inducido en los peces, en comparación con los tratamientos con el vehículo (tampón fosfato salino) y con el fármaco libre (Yang et al., 2015).

En otro estudio se encapsuló metotrexato (MTX) en VE y se añadió en la membrana vesicular un péptido de fusión que incluía fragmentos de las proteínas ApoA-I y ApoB (constituyentes de la lipoproteína de baja densidad, LDL) y el péptido proapoptótico KLA (Lys-Leu-Ala). Esto permitía la unión selectiva al receptor LDL, sobreexpresado en el glioblastoma, y la inducción de la apoptosis en las células cancerosas. Se observó que los ratones con glioblastoma a los que se les administró por vía intravenosa las VE funcionalizadas con los péptidos y cargadas con MTX, mostraron un periodo de supervivencia más largo (Ye et al., 2018).

El gen miR-146b es un gen que se localiza en el cromosoma 10 y suprime el fenotipo del glioma. Se demostró que las VE de células madre mesenquimales (MSC) que expresaban miR-146b inhibían el crecimiento del glioma. Se administraron intratumoralmente VE que contenían el miR-146b a ratas con glioma. Este tratamiento redujo significativamente el crecimiento del tumor (Katakowski et al., 2013).

En otro estudio, se generó un modelo de glioblastoma en forma de xenoinjerto subcutáneo en ratones. Las VE se cargaron con una proteína de fusión formada por la citosina desaminasa (CD) y la uracil fosforibosiltransferasa (UPRT). Las VE se inyectaron

intratumoralmente y se administró el fármaco 5-fluorocitosina (5-FC) por vía intraperitoneal. La proteína de fusión CD-UPRT convierte el fármaco 5-FC en 5-fluorodeoxiuridina monofosfato (5-dUMP), el cual inhibe irreversiblemente la timidina sintetasa, bloqueando la replicación del ADN y provocando la apoptosis celular. (Erkan et al., 2017).

Estos estudios abren una nueva estrategia terapéutica en la que las VE podrían ser utilizadas para vehicular fármacos para tratar el glioblastoma.

## **7. Ventajas e inconvenientes del uso de las vesículas extracelulares para la administración de fármacos**

### **Ventajas**

- El tropismo celular que presentan las VE las convierte en una potencial estrategia para la administración de fármacos, ya que pueden estar dirigidas específicamente a un órgano o tejido (Walker et al., 2019).
- Las VE pueden ser poco inmunogénicas cuando se usan de forma autóloga. Varios ensayos clínicos, en los que se utilizan las VE para inmunoterapia, han demostrado la seguridad de la administración de VE en humanos (Vader et al., 2016).
- La encapsulación de fármacos parece proteger a los fármacos de la degradación en la circulación sanguínea (Vader et al., 2016).
- Los VE utilizan mecanismos endógenos para la captación, el tráfico intracelular y la transferencia de su contenido a las células receptoras (Vader et al., 2016).
- La administración de fármacos en VE ha demostrado ser segura en ensayos clínicos (Lu et al., 2017).

### **Inconvenientes**

- No existen protocolos de producción nivel industrial para la obtención de VE (Lu et al., 2017).
- Faltan métodos de aislamiento adecuados, ya que las técnicas convencionales presentan rendimientos limitados y baja pureza (Walker et al., 2019).

- Se requieren mejores métodos para modificar su biodistribución *in vivo*, que es un factor importante para ejercer el efecto terapéutico deseado (Lu et al., 2017).
- La eficacia de encapsulación necesita mejorarse y optimizarse de cara a controlar la cantidad de fármaco encapsulado y por extensión la dosis (Lu et al., 2017).

## **8. Conclusiones**

1. Las VE constituyen un importante modo de comunicación intercelular, ya que permiten la transferencia de proteínas, lípidos y ácidos nucleídos entre células.
2. Existen tres tipos de VE; los exosomas, las microvesículas y los cuerpos apoptóticos.
3. Las VE son candidatas prometedoras como vehículos para la administración de fármacos para distintas enfermedades, entre ellas el cáncer.
4. La pre-encapsulación y la post-encapsulación son las dos estrategias para cargar las VE con el fármaco deseado.
5. La funcionalización de las VE ha dado resultados prometedores para la administración específica de fármacos.
6. Varios estudios en animales de experimentación han mostrado resultados satisfactorios del uso de VE para administrar fármacos para el glioblastoma, sentando las bases de una posible nueva estrategia terapéutica para este tipo de tumores.



## 9. Bibliografía

- Abels, E. R., & Breakefield, X. O. (2016). Introduction to Extracellular Vesicles: Biogenesis, RNA Cargo Selection, Content, Release, and Uptake. In *Cellular and Molecular Neurobiology* (Vol. 36, Issue 3, pp. 301–312). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s10571-016-0366-z>
- Alvarez, Seow, Yin, Betts, Lakhal, & Wood. (2011). Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nature Biotechnology*, 29(4), 341–345. <https://doi.org/10.1038/NBT.1807>
- Bobrie, A., Colombo, M., Krumeich, S., Raposo, G., & Théry, C. (2012). Diverse subpopulations of vesicles secreted by different intracellular mechanisms are present in exosome preparations obtained by differential ultracentrifugation. [Http://Dx.Doi.Org/10.3402/Jev.V1i0.18397](http://Dx.Doi.Org/10.3402/Jev.V1i0.18397), 1(1). <https://doi.org/10.3402/JEV.V1I0.18397>
- Bonucci, E. (1970). Fine structure and histochemistry of “calcifying globules” in epiphyseal cartilage. *Zeitschrift Für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, 103(2), 192–217. <https://doi.org/10.1007/BF00337312>
- Brücher, B. L. D. M., & Jamall, I. S. (2014). Cell-cell communication in the tumor microenvironment, carcinogenesis, and anticancer treatment. In *Cellular Physiology and Biochemistry* (Vol. 34, Issue 2, pp. 213–243). Cell Physiol Biochem Press. <https://doi.org/10.1159/000362978>
- Chargaff, E., & West, R. (1946). The biological significance of the thromboplastic protein of blood. *The Journal of Biological Chemistry*, 166(1), 189–197. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)34997-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)34997-9)
- Coumans, F. A. W., Brisson, A. R., Buzas, E. I., Dignat-George, F., Drees, E. E. E., El-Andaloussi, S., Emanuelli, C., Gasecka, A., Hendrix, A., Hill, A. F., Lacroix, R., Lee, Y., Van Leeuwen, T. G., Mackman, N., Mäger, I., Nolan, J. P., Van Der Pol, E., Pegtel, D. M., Sahoo, S., ... Nieuwland, R. (2017). Methodological guidelines to study extracellular vesicles. In *Circulation Research* (Vol. 120, Issue 10, pp. 1632–1648). Lippincott Williams and Wilkins.

<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309417>

Davis, M. E. (2016a). Glioblastoma: Overview of disease and treatment. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, 20(5), 1–8. <https://doi.org/10.1188/16.CJON.S1.2-8>

Erkan, E., Senfter, Madlener, Ströbel, Saydam, & Saydam. (2017). Extracellular vesicle-mediated suicide mRNA/protein delivery inhibits glioblastoma tumor growth in vivo. *Cancer Gene Therapy*, 24(1), 38–44. <https://doi.org/10.1038/CGT.2016.78>

Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. In *Science* (Vol. 367, Issue 6478). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>

Katakowski, M., Buller, B., Zheng, X., Lu, Y., Rogers, T., Oyinkan sola, Chopp, Osobamiro, Wayne, ShuFeng, & JiangMichael. (n.d.). *Exosomes from marrow stromal cells expressing miR-146b inhibit glioma growth | Elsevier Enhanced Reader*. Retrieved July 27, 2021, from <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0304383513001316?token=EA184664FAD190BB3FE83D38B85731DE80966403DB44C3BD92AE710C2A9F1ECB02764AEO5D94865144A1B84795EA1F97&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210727163854>

Kerr, J. F. R., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. *British Journal of Cancer* 1972 26:4, 26(4), 239–257. <https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33>

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). *Overview of Extracellular Signaling*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21517/>

Lu, M., Xing, H., Yang, Z., Sun, Y., Yang, T., Zhao, X., Cai, C., Wang, D., & Ding, P. (2017). Recent advances on extracellular vesicles in therapeutic delivery: Challenges, solutions, and opportunities. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 119, 381–395. <https://doi.org/10.1016/J.EJPB.2017.07.010>

- Munagala, R., Aqil, F., & Jeyabalan, J. (2016). Bovine milk-derived exosomes for drug delivery. *Cancer Letters*, 371(1), 48–61.  
<https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2015.10.020>
- Raposo, G., Nijman, H. W., Stoorvogel, W., Liejendekker, R., Harding, C. V, Melief, C. J., & Geuze, H. J. (1996). B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *Journal of Experimental Medicine*, 183(3), 1161–1172.  
<https://doi.org/10.1084/JEM.183.3.1161>
- Raposo, & Stoorvogel. (2013). Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. In *Journal of Cell Biology* (Vol. 200, Issue 4, pp. 373–383). J Cell Biol.  
<https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>
- Sedgwick, A. E., & D'Souza-Schorey, C. (2018). The biology of extracellular microvesicles. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 19(5), 319.  
<https://doi.org/10.1111/TRA.12558>
- Szatanek, R., Baj-Krzyworzeka, M., Zimoch, J., Lekka, M., Siedlar, M., & Baran, J. (2017). The methods of choice for extracellular vesicles (EVs) characterization. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 18, Issue 6). MDPI AG.  
<https://doi.org/10.3390/ijms18061153>
- Tang, K., Zhang, Y., Zhang, H., Xu, P., Liu, J., Ma, J., Lv, M., Li, D., Katirai, F., Shen, G.-X., Zhang, G., Feng, Z.-H., Ye, D., & Huang, B. (2012). Delivery of chemotherapeutic drugs in tumour cell-derived microparticles. *Nature Communications* 2012 3:1, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms2282>
- Théry, C., Duban, L., Segura, E., Véron, P., Lantz, O., & Amigorena, S. (2002). Indirect activation of naïve CD4<sup>+</sup> T cells by dendritic cell-derived exosomes. *Nature Immunology*, 3(12), 1156–1162. <https://doi.org/10.1038/NI854>
- Vader, P., Mol, E. A., Pasterkamp, G., & Schiffelers, R. M. (2016). Extracellular vesicles for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 106, 148–156.  
<https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2016.02.006>
- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J. J., & Lötval, J. O. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of

- genetic exchange between cells. *Nature Cell Biology*, 9(6), 654–659.  
<https://doi.org/10.1038/ncb1596>
- Van Niel, G., D'Angelo, G., & Raposo, G. (2018). Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 19, Issue 4, pp. 213–228). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
- Walker, S., Busatto, S., Pham, A., Tian, M., Suh, A., Carson, K., Quintero, A., Lafrence, M., Malik, H., Santana, M. X., & Wolfram, J. (2019). Extracellular vesicle-based drug delivery systems for cancer treatment. *Theranostics*, 9(26), 8001–8017.  
<https://doi.org/10.7150/THNO.37097>
- Wiklander, O. P., Nordin, J. Z., Gustafsson, Y., Corso, G., Mä ger, I., Vader, P., Lee, Y., Sork, H., Seow, Y., Heldring, N., Alvarez-Erviti, L., Edvard Smith, C., Le Blanc, K., Macchiarini, P., Jungebluth, P., A Wood, M. J., & Andaloussi, S. EL. (2015). Extracellular vesicle in vivo biodistribution is determined by cell source, route of administration and targeting. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.26316>
- Yáñez-Mó, M., Siljander, P. R. M., Andreu, Z., Zavec, A. B., Borràs, F. E., Buzas, E. I., Buzas, K., Casal, E., Cappello, F., Carvalho, J., Colás, E., Cordeiro-Da Silva, A., Fais, S., Falcon-Perez, J. M., Ghobrial, I. M., Giebel, B., Gimona, M., Graner, M., Gursel, I., ... De Wever, O. (2015). Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. In *Journal of Extracellular Vesicles* (Vol. 4, Issue 2015, pp. 1–60). Co-Action Publishing. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>
- Yang, T., Fogarty, B., LaForge, B., Aziz, S., Pham, T., Lai, L., & Bai, S. (2017). Delivery of Small Interfering RNA to Inhibit Vascular Endothelial Growth Factor in Zebrafish Using Natural Brain Endothelia Cell-Secreted Exosome Nanovesicles for the Treatment of Brain Cancer. *AAPS Journal*, 19(2), 475–486.  
<https://doi.org/10.1208/S12248-016-0015-Y>
- Yang, T., Martin, P., Fogarty, B., Brown, A., Schurman, K., Phipps, R., Yin, V. P., Lockman, P., & Bai, S. (2015). Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in Danio Rerio. *Pharmaceutical Research*, 32(6), 2003–2014. <https://doi.org/10.1007/S11095-014-1593-Y>

Ye, Z., Zhang, T., He, W., Jin, H., Liu, C., Yang, Z., & Ren, J. (2018). Methotrexate-Loaded Extracellular Vesicles Functionalized with Therapeutic and Targeted Peptides for the Treatment of Glioblastoma Multiforme. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *10*(15), 12341–12350. <https://doi.org/10.1021/ACSAMI.7B18135>