

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2022.6.29>

Характеристика экзосом и их потенциал для использования в диагностике и иммунотерапии онкологических заболеваний

Ю.В. Савич, Я.И. Исайкина, М.А. Новикова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, д. Боровляны, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2022. – Том 21, №6. – С. 29-37.

Characteristic of exosomes and their potential for the use in the diagnosing and immunotherapy of oncological diseases

Y.V. Savich, Ya.I. Isaikina, M.A. Novikova

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology & Immunology, Borovlyany, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2022;21(6):29-37.

Резюме.

Межклеточные взаимосвязи лежат в основе физиологических и патологических биохимических процессов в организме, и исследование внеклеточных везикул, в частности экзосом, позволило расшифровать механизм обмена информацией между клетками. Функциональные свойства экзосом в настоящее время активно изучаются, что открывает широкие перспективы по их использованию в клинической практике. Многочисленные исследования доказали пригодность экзосом к адресной доставке лекарственных средств, что может быть использовано в таргетной терапии, а воспроизводимость генетического материала материнской клетки открывает возможности для разработки новых подходов к диагностике онкологических заболеваний и контролю за их лечением. Доклинические и клинические исследования экзосом, выделенных из иммунных клеток, подтверждают их иммуномодуляторный потенциал и перспективность применения в противоопухолевой иммунотерапии.

Ключевые слова: экзосомы (Exo), терапевтическое применение, онкология, опухолевые экзосомы, иммунотерапия, таргетная терапия.

Abstract.

Intercellular relationships are the basis of the physiological and pathological biochemical processes in the organism, and recent advances in exosome (Exo) research helped to reveal the mechanism of intercellular exchange of information. Furthermore, the functional properties of extracellular vesicles are being actively investigated nowadays, this opens up great perspectives for their using in clinical practice. Numerous investigations demonstrated the applicability of exosomes for targeted drug delivery. Exosomes play an important role in cancer and they contain the genetic material not only of normal cells of the organism, but also of tumor cells. Therefore, the analysis of exosomes from peripheral blood may be more efficient and specific for the non-invasive diagnosing of cancer. Moreover, exosomes from immune cells possess the immunomodulating activity and can be used in antitumor immunotherapy.

Keywords: exosomes (Exo), therapeutic use, oncology, tumor's exosomes, immunotherapy, targeted therapy.

Введение

Началом изучения внеклеточных везикул можно считать 40 годы XX века, когда Chargaff E. и West R., исследуя зависимость свёртывае-

мости плазмы крови от скорости центрифугирования, доказали, что тромбоцитами выделяется фактор свёртывания крови тромбопластин [1]. Спустя 20 лет, в 1960-х годах, Вульф при помощи электронной микроскопии впервые показал,

что плазма крови содержит мельчайшие частицы, которые можно выделить ультрацентрифугированием. Эти частицы были богаты фосфолипидами и обладали коагуляционными свойствами, близкими к свойствам тромбоцитарного фактора III, поэтому и были названы «тромбоцитарной пылью». Так как супернатант «тромбоцитарной пыли» после ультрацентрифугирования не содержал тромбоцитарный фактор III, то было выдвинуто предположение, что именно наличие в крови данных частиц активируют тромбоциты, которые приобретают физиологическую активность [2]. Андерсон в 1969 году в своих работах показал, что данные мельчайшие частицы присутствуют в хрящевой матрице эпифизарной пластинки верхней части большеберцовой кости мыши и предположил, что они выделяются из хондроцитов и играют определенную роль в иницировании кальцификации в эпифизе кости [3]. В начале 70-х годов появляются работы, в которых описывается передача сигналов между клетками с помощью мембранных компонентов [4, 5]. В дальнейшем такие частицы удалось выделить из плазмы крови теленка [6]. А в 2011 году был предложен общий термин «внеклеточные везикулы» [7].

Термин «внеклеточные везикулы» (ВВ) объединяет все мембранно-ограниченные внеклеточные структуры, и в настоящее время они вызывают интерес в связи с их участием в различных биологических процессах: межклеточное взаимодействие во время эмбрионального развития, подавление роста опухоли, ускорение регенерации, приживление трансплантата, иммунные реакции, клеточная адгезия и др. [8].

Характеристика и состав внеклеточных структур. Экзосомы

ВВ – это микроскопические пузырьки, которые в зависимости от их величины, биогенеза, выполняемых функции и способа образования, классифицируют как экзосомы (Ехo), микровезикулы и апоптотические тельца (табл.) [9-11].

Для представления реального размера внеклеточных везикул, их сравнительно охарактеризовали следующим образом: Ехo имеют одинаковые размеры с вирусами, микровезикулы – с бактериями и белками, а апоптотические тельца – с активированными тромбоцитами крови (рис. 1).

Апоптотические тельца представляют собой фрагменты клеток после апоптоза, которые в дальнейшем фагоцитируются тканевыми макрофагами. Микровезикулы образуются в результате «отпочковывания» фрагментов цитоплазмы клеток. Процесс образования самых мелких внеклеточных везикулы – экзосом представляет собой впячивание плазматической мембраны клетки с образованием пузырьков в полость, так называемой эндосомы, где они накапливаются и созревают, а после слияния эндосомы с мембраной клетки выталкиваются наружу. Основной функцией ВВ является перенос информации и межклеточная коммуникация. Однако, секреция ВВ является не только биологическим процессом, характерным для всех клеток, но и следствием их старения. Неблагоприятные факторы (тепловой шок, высокая температура, низкое значение рН среды), воздействующие на организм, провоцируют ускорение секреции ВВ [12].

Наибольший научный интерес сегодня представляют экзосомы – мембранные бислойные

Таблица – Сравнительная характеристика внеклеточных везикул

	Экзосома	Микровезикула	Апоптотические тельца
Размер	20-150 нм	100-1000 нм	1000-5000 нм
Механизм образования	Путем экзоцитоза из многовезикулярных эндосом	Путем почкования на плазматической мембране	В ходе апоптоза для «упаковки» содержимого клетки
Способ изоляции <i>in vitro</i>	Ультрацентрифугирование при 100.000 – 200.000g	Центрифугирование при 18.000 – 20.000g	Центрифугирование при 1.200 – 10.000g или ультрацентрифугирование при 100.000g
Клеточные источники	Все клетки организма	Все клетки организма	Все клетки организма
Биомаркеры	Белки Alix, TSG101 ESCRT, трансмембранные белки: CD63, CD81, CD9	Интегрины, селектины, маркер внешней клеточной мембраны – фосфатидилсерин	ДНК, гистоны, цельные органеллы, маркер внешней мембраны клетки – фосфатидилсерин

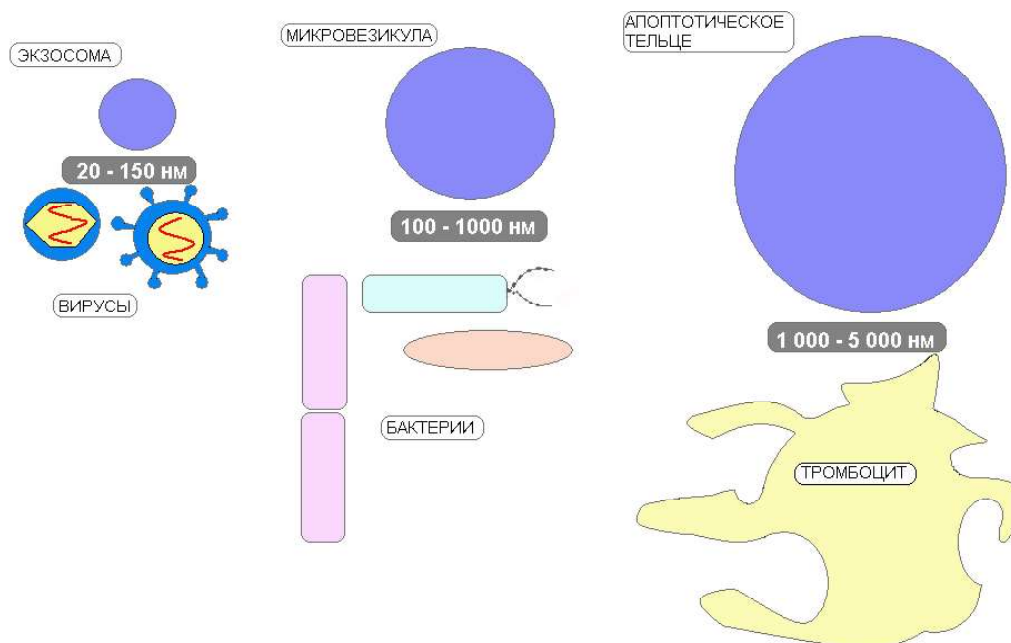


Рисунок 1 – Размер внеклеточных везикул

структуры диаметром 20-150 нм, секретируемые как стволовыми, так и дифференцированными клетками. Набор компонентов экзосом напрямую зависит от микроокружения и клетки, которая их секретирует, и характеризуется разнообразием белков (более 4000), липидов (более 190), мРНК (более 1600) и микроРНК (более 750) [13]. Липидный состав мембраны Ехо представлен сфингомиелином, фосфатидилэтаноламином, фосфатидилсерином, холестерином, насыщенными жирными кислотами, церамидом и его производными. Углеводный состав – наличием маннозы, сиаловой кислоты и сложных гликанов [14]. Экзосомальные белки являются маркерами для характеристики выделенных из биологических жидкостей организма ВВ. Белковый состав экзосом функционально разнообразен и в настоящее время его принято делить на нетканеспецифичные: белки цитоскелета (актин и тубулин); мембранные белки тетраспанины (CD9, CD63, CD81 и CD82); транспортные белки (аннексины – регулируют процессы слияния мембран, Rab35 – управление везикулярным движением, Rab27b – устанавливает позицию состыковки Ехо с плазматической мембраной); флотиллины (Flot); белки адгезии интегрины (ITGA, ITGB); белки биосинтеза Ехо (TSG101 и Alix); белки теплового шока (Hsp70, Hsp90) и сигнальной трансдукции (лактадгерин); белки комплекса гистосовместимости МНС I и др., а также тканеспецифичные,

которые свидетельствуют о принадлежности Ехо к определенной клетке либо ткани. Так, например, белок МНС II характерен для Ехо из В-лимфоцитов или ДК клеток; белок HER-2 присутствует только в Ехо из ткани рака молочной железы [15] и другие белки, характерные для различных раковых клеточных линий [16, 17]. Изучение состава компонентов Ехо имеет важное значение для получения представлений о их функционировании в межклеточных коммуникациях и влиянии на различные физиологические и патологические процессы.

Ехо секретируются всеми типами клеток, но в качестве источника биологического материала для получения Ехо наиболее часто используют мезенхимальные стволовые клетки (МСК), выделенные из костного мозга (КМ), пуповинной крови (ПК), жировой ткани, индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Описано получение Ехо из клеток-предшественников нервной ткани, кардиомиоцитов, а также зрелых клеток организма: макрофагов, гранулоцитов и Т-лимфоцитов [18]. Ехо можно получить не только из клеточных культур, но и из биологических жидкостей организма: слюны, слез, выделений из носа, пота, мочи, спинномозговой жидкости, семенной жидкости, лимфы, околоплодных вод, молозива и грудного молока, плазмы и сыворотки крови, межклеточной жидкости печени. Важно отметить, что присутствие Ехо в различных жид-

костях организма можно использовать как биомаркеры при мониторинге и диагностике заболеваний, в том числе и онкологических [19, 20].

В настоящее время в клинической практике все больше используется клеточная терапия с применением МСК, которые секретируют широкий спектр активных молекул: факторов роста, цитокинов, хемокинов. Именно паракринный механизм лежит в основе воздействия МСК на различные клетки организма при введении пациенту. Благодаря своим выраженным иммуномодулирующим и противовоспалительным свойствам МСК все чаще применяется для проведения клеточной иммуносупрессивной терапии при таком осложнении аллогенной трансплантации как реакция «трансплантат против хозяина», апластической анемии, аутоиммунных заболеваниях. Но существуют причины, ограничивающие диапазон применения клеток. Так, наличие гематоэнцефалического барьера снижает эффективность их использования для лечения патологий головного мозга. Кроме того, несмотря на гипоиммуногенность при введении пациенту аллогенных МСК в некоторых случаях может развиваться иммунная реакция [21]. В то же время, МСК являются самым продуктивным источником формирования Ехо, которые сохраняют иммуномодулирующие эффекты клетки-донора, обеспечивают передачу активных биомолекул окружающим клеткам и горизонтальный перенос генетической информации [22]. Эти свойства Ехо, изолированных из МСК, делают их потенциальными кандидатами для использования в иммунотерапии различных патологий и для разработки новых методов иммунотерапии онкологических заболеваний. Более того, Ехо могут применяться для адресной доставки лекарственных средств (ЛС) и биомолекул [23].

Рост исследований функциональных свойств экзосом и отсутствие унифицированных протоколов по их выделению требуют установления минимальных критериев для подтверждения принадлежности получаемого продукта к Ехо. Это тем более актуально с началом клинических испытаний по применению ВВ, из которых более 280 зарегистрировано на сайте ClinicalTrials.go. Поэтому Международное сообщество по изучению ВВ (ISEV) в 2018 году установило минимальный набор биохимических, биофизических и функциональных стандартов, которые характеризуют Ехо. Было предложено для подтверждения наличия в изоляте Ехо обязательное присутствие 2 типов не тканеспецифических белков: трансмембранных,

подтверждающих присутствие мембраны (тетраспанины, интегрины или молекулы клеточной адгезии и др.), и цитозольных (Alix, Flot 1/2, Hsc70, Hsp84, актин, тубулин и др.) [24]. Есть данные, что универсальными маркерными белками Ехо являются лишь CD81, Alix и HSC70, тогда как другие маркеры (CD63, CD9, TSG101, Syntenin-1, Flot-1) встречались лишь в 2/3 Ехо.

Перспектива использования Ехо в диагностике и лечении онкологических заболеваний требует применения дополнительных методов по улучшению эффективности везикул. Методы генной инженерии (трансфекция), культивирования клеток с факторами роста, воздействия неблагоприятных факторов (облучение, тепловой или холодовой шок, гипоксия, изменения оптимальной рН среды) позволяют увеличить количество Ехо и повысить их качество (рис. 2).

Было доказано, что культивирование МСК плаценты человека в условиях 3% гипоксии способствовало трехкратному повышению образования Ехо [25]. Рентгеновское облучение МСК увеличивало содержание белков в Ехо до 80% и тем самым способствовало передаче информации необлученным клеткам [26]. Ехо тучных клеток, культивированных в условиях оксидативного стресса, имели повышенное содержание мРНК и способствовали выживаемости других клеток, на которые воздействовал оксидативный стресс [27]. Трансфекция Ехо методом электропорации использовалась для введения малых гетерологических интерферирующих РНК (siRNA) и обеспечивала эффективную и полную доставку этих молекул в мононуклеарные клетки крови (моноциты и лимфоциты). В клетках-реципиентах такая доставка приводила к подавлению экспрессии гена MAPK-1, мутация которого может формировать различные формы рака [28]. Культивирование МСК с фактором роста тромбоцитов увеличивало количество Ехо, содержащих тромбопоэтин, и усиливало ангиогенную активность клеток [29]. Присутствие в среде культивирования интерферона- α способствовало образованию Ехо с противовоспалительной активностью, а добавление бактериального липополисахарида – Ехо с сильно выраженной противобактериальной и секреторной активностью [30, 31].

В последние годы для борьбы с онкологическими заболеваниями были разработаны липосомы – синтетические молекулы для доставки противоопухолевых препаратов. С одной стороны, они представляют перспективу для борьбы со



Рисунок 2 – Методы повышения терапевтического эффекта экзосом: ЛС – лекарственное средство

злокачественными новообразованиями, с другой стороны, возникают проблемы при их применении, связанные со снижением эффективности терапии. Причинами неудач использования липосом в доклинических исследованиях являлись органоспецифическая токсичность, медикаментозная аллергия, различные психогенные реакции, развитие резистентности, короткое время жизни [32]. Поэтому был разработан способ доставки ЛС непосредственно в очаг опухоли с использованием Ехо, так как они характеризуются низкой токсичностью, длительным временем жизни, отсутствием аллергических и иммунных реакций, то есть их применение не вызывает побочных явлений у пациентов в процессе лечения [33].

Существует несколько способов «упаковки» ЛС в Ехо МСК (рис. 2). Так, Ехо, выделенные из МСК костного мозга (МСК-Ехо), инкубируют с необходимым ЛС, липофильные свойства которого позволяют препарату пассивно проникать внутрь Ехо [33]. Второй способ – это поглощение МСК химиотерапевтических препаратов, присутствующих в сверхвысокой концентрации в среде культивирования, и «запаковывание» ЛС в Ехо внутри клетки [34]. Третий – трансфекция или генетическая модификация Ехо с помощью электропорации, позволяющая включать в Ехо необходимые последовательности ДНК, РНК и синтезированные белки [28]. В настоящее время методы загрузки ЛС в Ехо активно разрабаты-

ваются во всем мире. Доказана высокая эффективность насыщения Ехо, выделенных из макрофагов, при совместной инкубации Ехо и ЛС в присутствии детергента сапонины, вызывающего пермеабиллизацию или при обработке смеси ультразвуком, или при экструзии под давлением [35].

Существует ряд подтверждений положительного эффекта доставки препаратов Ехо при лечении онкологических заболеваний. Так, применение цитостатического противоопухолевого препарата «Паклитаксел» ограничено в связи с повышенной частотой вызываемых им побочных реакций. «Упаковывание» данного ЛС в Ехо снижает частоту нежелательных побочных эффектов. Стоит подчеркнуть, что «Паклитаксел» в МСК-Ехо вызывает гибель клеток линии рака поджелудочной железы человека СРРАС-1. Вторым примером является химиотерапия препаратом «Куркумин», загрузка которого в Ехо увеличивала стабильность ЛС, доступность и хорошую растворимость в организме [36].

Диагностика и противоопухолевая иммунотерапия с применением экзосом

Наибольшую значимость представляет оценка эффективности использования экзосом в онкологии. Более 100 клинических исследований зарегистрировано на сайте ClinicalTrials.go с применением Ехо для диагностики и лечения злокачественных новообразований. Так как Ехо

секретируются в кровотоке как нормальными, так и раковыми клетками, и ДНК опухолевых Ехо несет те же генетические мутации, что и сами клетки опухоли, то анализ ДНК выделенных из периферической крови Ехо может помочь в диагностике злокачественных новообразований, а также выявить возможные генетические мутации в здоровой клетке [37]. Известно, что Ехо могут не только подавлять опухолевый рост, но и ускорять его с последующим участием в метастазировании. Такой способностью обладают Ехо опухолевых клеток, несущих молекулы металлопротеаз ADAM-10, ADAM-17, которые повышают инвазивность или Ехо, содержащие интегрины (фибронектин) и способствующие адгезии опухолевых клеток и их метастазированию. Более того, опухолевые Ехо посредством переноса онкопротеинов способны менять структуру стромальных клеток, способствуя созданию ниш для пролиферации раковых клеток, активируя ангиогенез [38, 39].

Онкологические заболевания плохо поддаются лечению в связи с их способностью маскироваться от иммунных клеток. Цель противоопухолевой иммунотерапии – стимуляция активности цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) и установление стойкого иммунитета против раковых клеток. При обеспечении постоянной передачи сигналов от CD4+ Т-клеток к CD8+ Т-клеткам и поддержании активности CD8+ Т-клеток можно оптимизировать иммунный ответ ЦТЛ, который активирует взаимодействие FasL/Fas, что приводит к апоптозу клетки-мишени, тем самым повышая противоопухолевый иммунитет [40,41].

Благодаря функции молекулярного переноса, экзосомы способны регулировать иммунный ответ, стимулируя либо подавляя иммунную систему. Доставляя к клеткам-мишеням биомолекулы, они влияют на их фенотип и функцию иммунной системы в целом. Опухолевые клетки секретируют намного больше экзосом, чем нормальные здоровые клетки, и опухолевые Ехо вызывают иммуносупрессивный эффект: угнетают активацию ЦТЛ, создают иммунную толерантность, уклоняются от иммунного ответа, усиливают производство иммуносупрессивных цитокинов (ИЛ-10, TGFβ, ИЛ-4, простагландин Е и др). Противоположный эффект вызывают экзосомы из дендритных и лимфоидных клеток, которые активируют ЦТЛ и естественные киллерные клетки [13, 42].

Таким образом, Ехо в иммунотерапии могут использоваться в качестве эффективных противо-

раковых вакцин, тем самым иметь огромный потенциал в процессах разработки новых терапевтических стратегий диагностики, контроля и лечения онкологических заболеваний [42].

Заключение

Функциональные свойства внеклеточных везикул, в частности экзосом, в настоящее время активно изучаются, что открывает широкие перспективы по их использованию в клинической практике. Несмотря на отсутствие универсальных методов выделения и идентификации экзосом, многочисленные исследования доказали их пригодность к адресной доставке лекарственных средств, что может быть использовано в таргетной терапии. Полная воспроизводимость ДНК материнской клетки открывает огромный потенциал для разработки новых подходов к диагностике онкологических заболеваний и контролю за их лечением. Доклинические и клинические исследования экзосом, выделенных из иммунных клеток, подтверждают их иммунотерапевтический потенциал и перспективность применения в противоопухолевой иммунотерапии.

Литература

1. Chargaff, E. The biological significance of the thromboplastic protein of blood / E. Chargaff, R. West // *J. Biol. Chem.* 1946 Nov. Vol. 166, N 1. P. 189–197.
2. Wolf, P. The nature and significance of platelet products in human plasma / P. Wolf // *Br. J. Haematol.* 1967 May. Vol. 13, N 3. P. 269–288.
3. Anderson, H. C. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage / H. C. Anderson // *J. Cell. Biol.* 1969 Apr. Vol. 41, N 1. P. 59–72.
4. Michalke, W. Communication between cells of different type / W. Michalke, W. R. Loewenstein // *Nature.* 1971 Jul. Vol. 232, N 5306. P. 121–122.
5. Espey, L. L. Exchange of cytoplasm between cells of the membrana granulosa in rabbit ovarian follicles / L. L. Espey, R. H. Stutts // *Biol. Reprod.* 1972 Feb. Vol. 6, N 1. P. 168–175.
6. Dalton, A. J. Microvesicles and vesicles of multivesicular bodies versus “virus-like” particles / A. J. Dalton // *J. Natl. Cancer Inst.* 1975 May. Vol. 54, N 5. P. 1137–1148.
7. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles / B. Gyorgy [et al.] // *Cell. Mol. Life Sci.* 2011 Aug. Vol. 68, N 16. P. 2667–2688.
8. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles / E. van der Pol [et al.] // *Pharmacol. Rev.* 2012 Jul. Vol. 64, N 3. P. 676–705.
9. Kalra, H. Focus on Extracellular Vesicles: Introducing the Next Small Big Thing / H. Kalra, G. Drummen, S. Mathivanan // *Int. J. Mol. Sci.* 2016 Feb. Vol. 17, N 2. P. 170.
10. Théry, C. Membrane vesicles as conveyors of immune responses / C. Théry, M. Ostrowski, E. Segura // *Nat. Rev.*

- Immunol. 2009 Aug. Vol. 9, N 8. P. 581-593.
11. Сравнительный анализ методов выделения внеклеточных микровезикул из культуральной среды / Т. А. Штамм [и др.] // Биомед. химия. 2018. Т. 64, № 1. С. 23–30.
 12. Raposo, G. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends / G. Raposo, W. Stoorvogel // J. Cell. Biol. 2013 Feb. Vol. 200, N 4. P. 373–383.
 13. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential / Y. Zhang [et al.] // Cell. Biosci. 2019 Feb. Vol. 9, N 1. P. 19–37.
 14. Colombo, M. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles / M. Colombo, G. Raposo, C. Thery // Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 2014. Vol. 30. P. 255–289.
 15. Systemic presence and tumor-growth promoting effect of ovarian carcinoma released exosomes / S. Keller [et al.] // Cancer Lett. 2009 Jun. Vol. 278, N 1. P. 73–81.
 16. Focus on Extracellular Vesicles: Physiological Role and Signaling Properties of Extracellular Membrane Vesicles / N. Iraci [et al.] // Int. J. Mol. Sci. 2016 Feb. Vol. 17, N 2. P. 171.
 17. Mathivanan, S. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication / S. Mathivanan, H. Ji, R. J. Simpson // J. Proteomics. 2010 Sep. Vol. 73, N 10. P. 1907–1920.
 18. Великонивцев, Ф. С. Терапия внеклеточными везикулами: возможности, механизмы и перспективы применения / Ф. С. Великонивцев, А. С. Головкин // Рос. кардиол. журн. 2020. Т. 25, № 10. С. 221–231.
 19. Экзосома как элемент регуляторной системы организма [Электронный ресурс] / А. А. Абрамов [и др.] // Импульс жизни. Режим доступа: <https://lifeimpulse.com/news/ekzosomy-kak-element-regulyatornoy-sistemy-organizma/?ysclid=182soyr4ej516457452>. Дата доступа: 08.11.2022.
 20. Джагаров, Д. Э. Экзосомы – бутылочная почта организма [Электронный ресурс] / Д. Э. Джагаров // Химия и жизнь. 2013. № 6. Режим доступа: https://elementy.ru/nauchno-populyarnaya_biblioteka/432105/Ekzosomy_butylochaya_pochta_organizma. Дата доступа: 08.11.2022.
 21. Immunogenicity of pluripotent stem cells and their derivatives / P. E. de Almeida [et al.] // Circ. Res. 2013 Feb. Vol. 112, N 3. P. 549–561.
 22. Lai, R. C. Mesenchymal Stem Cell Exosomes / R. C. Lai, R. W. Yeo, S. K. Lim // Semin. Cell Dev. Biol. 2015 Apr. Vol. 40. P. 82–88.
 23. Therapeutic potential of multipotent mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles / N. Heldring [et al.] // Hum. Gene Ther. 2015 Aug. Vol. 26, N 8. P. 506–517.
 24. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines / C. Théry [et al.] // J. Extracell. Vesicles. 2018 Nov. Vol. 7, N 1. 1535750.
 25. Exosomal signaling during hypoxia mediates microvascular endothelial cell migration and vasculogenesis / C. Salomon [et al.] // PLoS One. 2013 Jul. Vol. 8, N 7. e68451.
 26. Exosome-mediated microRNA transfer plays a role in radiation-induced bystander effect / S. Xu [et al.] // RNA Biol. 2015. Vol. 12, N 12. P. 1355–1363.
 27. Exosomes communicate protective messages during oxidative stress; possible role of exosomal shuttle RNA / M. Eldh [et al.] // PLoS One. 2010 Dec. Vol. 5, N 12. e15353.
 28. Lasser, C. Exosomes in diagnostic and therapeutic applications: biomarker, vaccine and RNA interference delivery vehicle / C. Lasser // Exp. Opin Biol. Ther. 2015 Jan. Vol. 15, N 1. P. 103–117.
 29. Platelet-derived growth factor regulates the secretion of extracellular vesicles by adipose mesenchymal stem cells and enhances their angiogenic potential / T. Lopatina [et al.] // Cell. Commun. Signal. 2014 Apr. Vol. 12. P. 26.
 30. Exosomes mediate the cell-to-cell transmission of IFN- α -induced antiviral activity / J. Li [et al.] // Nat. Immunol. 2013 Aug. Vol. 14, N 8. P. 793–803.
 31. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b / D. Ti [et al.] // J. Transl. Med. 2015 Sep. Vol. 13. P. 308.
 32. Efficacy and safety of angiogenesis inhibitors in advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis / S. Hong [et al.] // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2015 May. Vol. 141, N 5. P. 909–921.
 33. Batrakova, E. V. Using exosomes, naturally-equipped nanocarriers, for drug delivery / E. V. Batrakova, M. S. Kim // J. Control Release. 2015 Dec. Vol. 219. P. 396–405.
 34. A New Approach for Loading Anticancer Drugs Into Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosome Mimetics for Cancer Therapy / S. Kalimuthu [et al.] // Front Pharmacol. 2018 Sep. Vol. 9. 1116.
 35. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy / M. J. Haney [et al.] // J. Controlled. Release. 2015 Jun. Vol. 207. P. 18–30.
 36. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes / D. Sun [et al.] // Mol. Ther. 2010 Sep. Vol. 18, N 9. P. 1606–1614.
 37. The Biodistribution and Immune Suppressive Effects of Breast Cancer-Derived Exosomes / S. W. Wen [et al.] // Cancer Res. 2016 Dec. Vol. 76, N 23. P. 6816–6827.
 38. Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer / M. P. Bebelman [et al.] // Pharmacol. Ther. 2018 Aug. Vol. 188. P. 1–11.
 39. Exosomes increased angiogenesis in papillary thyroid cancer microenvironment / F. Wu [et al.] // Endocr. Relat. Cancer. 2019 May. Vol. 26, N 5. P. 525–538.
 40. Zhang, L. Metabolic Control of CD8(+) T Cell Fate Decisions and Antitumor Immunity / L. Zhang, P. Romero // Trends Mol. Med. 2018 Jan. Vol. 24, N 1. P. 30–48.
 41. Glycosyl-phosphatidylinositol-anchored interleukin-2 expressed on tumor-derived exosomes induces antitumor immune response in vitro / J. Zhang [et al.] // Tumori. 2010 May-Jun. Vol. 96, N 3. P. 452–459.
 42. Exosome-based immunotherapy: a promising approach for cancer treatment / Z. Xu [et al.] // Mol. Cancer. 2020 Nov. Vol. 19, N 1. P. 160.

Поступила 21.09.2022 г.

Принята в печать 07.12.2022 г.

References

- Chargaff E, West R. The biological significance of the thromboplastic protein of blood. *J Biol Chem.* 1946 Nov;166(1):189-97. doi:10.1016/s0021-9258(17)34997-9
- Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol.* 1967 May;13(3):269-88. doi: 10.1111/j.1365-2141.1967.tb08741.x
- Anderson HC. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J Cell Biol.* 1969 Apr;41(1):59-72. doi: 10.1083/jcb.41.1.59
- Michalke W, Loewenstein WR. Communication between cells of different type. *Nature.* 1971 Jul 9;232(5306):121-2. doi: 10.1038/232121b0
- Espey LL, Stutts RH. Exchange of cytoplasm between cells of the membrana granulosa in rabbit ovarian follicles. *Biol Reprod.* 1972 Feb;6(1):168-75. doi: 10.1093/biolreprod/6.1.168
- Dalton AJ. Microvesicles and vesicles of multivesicular bodies versus "virus-like" particles. *J Natl Cancer Inst.* 1975 May;54(5):1137-48. doi: 10.1093/jnci/54.5.1137
- György B, Szabó TG, Pásztói M, Pál Z, Misják P, Aradi B, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci.* 2011 Aug;68(16):2667-88. doi: 10.1007/s00018-011-0689-3
- van der Pol E, Böing AN, Harrison P, Sturk A, Nieuwland R. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles. *Pharmacol Rev.* 2012 Jul;64(3):676-705. doi: 10.1124/pr.112.005983
- Kalra H, Drummen G, Mathivanan S. Focus on Extracellular Vesicles: Introducing the Next Small Big Thing. *Int J Mol Sci.* 2016 Feb;17(2):170. doi: 10.3390/ijms17020170
- Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2009 Aug;9(8):581-93. doi: 10.1038/nri2567
- Shtam TA, Samsonov RB, Volnitskiy AV, Kamyshinskiy RA, Verlov NA, Knyazeva MS, i dr. Comparative analysis of methods of extracellular microvesicle isolation from culture medium. *Biomed Khimiya.* 2018;64(1):23-30. (In Russ.) doi: 10.18097/PBMC20186401023
- Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol.* 2013 Feb 18;200(4):373-83. doi: 10.1083/jcb.201211138
- Zhang Y, Liu Y, Liu H, Tang WH. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell Biosci.* 2019 Feb;9(1):19-37. doi:10.1186/s13578-019-0282-2
- Colombo M, Raposo G, Thery C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2014;30:255-89. doi: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122326
- Keller S, König A-K, Marmé F, Runz S, Wolterink S, Koensgen D, et al. Systemic presence and tumor-growth promoting effect of ovarian carcinoma released exosomes. *Cancer Lett.* 2009 Jun;278(1):73-81. doi: 10.1016/j.canlet.2008.12.028
- Iraci N, Leonardi T, Gessler F, Vega B, Pluchino S. Focus on Extracellular Vesicles: Physiological Role and Signaling Properties of Extracellular Membrane Vesicles. *Int J Mol Sci.* 2016 Feb 6;17(2):171. doi: 10.3390/ijms17020171
- Mathivanan S, Ji H, Simpson RJ. Exosomes: extracellular organelles important in intercellular communication. *J Proteomics.* 2010 Sep;73(10):1907-20. doi: 10.1016/j.jprot.2010.06.006
- Velikonitvsev FS, Golovkin AS. Extracellular Vesicle Therapy: Opportunities, Mechanisms, and Prospects of Application. *Ros Kardiol Zhurn.* 2020;25(1):221-31. doi:10.15829/1560-4071-2020-408 (In Russ.)
- Abramov AA, Pospelov VI, Koritskiy AV, Rummyantsev SA, Rummyantsev AG. Exosome as an element of an organism's regulatory system. *Impul's Zhizni.* Available from: <https://lifeimpulse.com/news/ekzosomy-kak-element-regulyatornoy-sistemy-organizma/?ysclid=182soyp4ej516457452>. [Accessed 08th November 2022]. (In Russ.)
- Dzhagarov DE. Exosomes are the body's bottle mail. *Khimiya Zhizni.* 2013;(6). Available from: https://elementy.ru/nauchno-populyarnaya_biblioteka/432105/Ekzosomy_butylochnaya_pochta_organizma. [Accessed 08th November 2022]. (In Russ.)
- de Almeida PE, Ransohoff JD, Nahid A, Joseph C Wu. Immunogenicity of pluripotent stem cells and their derivatives. *Circ Res.* 2013 Feb;112(3):549-61. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.249243.
- Lai RC, Yeo RW, Lim SK. Mesenchymal Stem Cell Exosomes. *Semin Cell Dev Biol.* 2015 Apr;40:82-8. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.03.001
- Heldring N, Mäger I, Wood MJA, Le Blanc K, Andaloussi SEL. Therapeutic potential of multipotent mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles. *Hum Gene Ther.* 2015 Aug;26(8):506-17. doi: 10.1089/hum.2015.072
- Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles.* 2018 Nov;7(1):1535750. doi: 10.1080/20013078.2018.1535750
- Salomon C, Ryan J, Sobrevia L, Kobayashi M, Ashman K, Mitchell M, et al. Exosomal signaling during hypoxia mediates microvascular endothelial cell migration and vasculogenesis. *PLoS One.* 2013 Jul;8(7):e68451. doi: 10.1371/journal.pone.0068451
- Xu S, Wang J, Ding N, Hu W, Zhang X, Wang B, et al. Exosome-mediated microRNA transfer plays a role in radiation-induced bystander effect. *RNA Biol.* 2015;12(12):1355-63. doi: 10.1080/15476286.2015.1100795
- Eldh M, Ekström K, Valadi H, Sjöstrand M, Olsson B, Jernås M, et al. Exosomes communicate protective messages during oxidative stress; possible role of exosomal shuttle RNA. *PLoS One.* 2010 Dec 17;5(12):e15353. doi: 10.1371/journal.pone.0015353
- Lasser C. Exosomes in diagnostic and therapeutic applications: biomarker, vaccine and RNA interference delivery vehicle. *Expert Opin Biol Ther.* 2015 Jan;15(1):103-17. doi: 10.1517/14712598.2015.977250
- Lopatina T, Bruno S, Tetta C, Kalinina N, Porta M, Camussi G. Platelet-derived growth factor regulates the secretion of extracellular vesicles by adipose mesenchymal stem cells and enhances their angiogenic potential. *Cell Commun Signal.* 2014 Apr;12:26. doi: 10.1186/1478-811X-12-26
- Li J, Liu K, Liu Y, Xu Y, Zhang F, Yang H, et al. Exosomes mediate the cell-to-cell transmission of IFN- α induced antiviral activity. *Nat Immunol.* 2013 Aug;14(8):793-803. doi: 10.1038/ni.2647
- Ti D, Hao H, Tong C, Liu J, Dong L, Zheng J, et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b. *J Transl Med.* 2015 Sep;13:308. doi:

- 10.1186/s12967-015-0642-6
32. Hong S, Tan M, Wang S, Luo S, Chen Y, Zhang L. Efficacy and safety of angiogenesis inhibitors in advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015 May;141(5):909-21. doi: 10.1007/s00432-014-1862-5
 33. Batrakova EV, Kim MS. Using exosomes, naturally-equipped nanocarriers, for drug delivery. *J Control Release*. 2015 Dec;219:396-405. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.07.030
 34. Kalimuthu S, Gangadaran P, Rajendran RL, Zhu L, Oh JM, Won Lee H, et al. A New Approach for Loading Anticancer Drugs Into Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosome Mimetics for Cancer Therapy. *Front Pharmacol*. 2018 Sep;9:1116. doi: 10.3389/fphar.2018.01116
 35. Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, Gupta R, Plotnikova EG, He Z, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *J Control Release*. 2015 Jun;207:18-30. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.03.033
 36. Sun D, Zhuang X, Xiang X, Liu Y, Zhang S, Liu C, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Mol Ther*. 2010 Sep;18(9):1606-14. doi: 10.1038/mt.2010.105
 37. Wen SW, Sceneay J, Lima LG, Wong CSF, Becker M, Krumeich S, et al. The Biodistribution and Immune Suppressive Effects of Breast Cancer-Derived Exosomes. *Cancer Res*. 2016 Dec;76(23):6816-6827. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0868
 38. Bebelman MP, Smit MJ, Pegtel DM, Baglio SR. Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Pharmacol Ther*. 2018 Aug;188:1-11. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.02.013
 39. Wu F, Li F, Lin X, Xu F, Cui R-R, Zhong J-Y, et al. Exosomes increased angiogenesis in papillary thyroid cancer microenvironment. *Endocr Relat Cancer*. 2019 May;26(5):525-538. doi: 10.1530/ERC-19-0008
 40. Zhang L, Romero P. Metabolic Control of CD8(+) T Cell Fate Decisions and Antitumor Immunity. *Trends Mol Med*. 2018 Jan;24(1):30-48. doi: 10.1016/j.molmed.2017.11.005
 41. Zhang J, Zhang Y, Luo C, Xia Y, Chen H, Wu X. Glycosylphosphatidylinositolanchored interleukin-2 expressed on tumor-derived exosomes induces antitumor immune response in vitro. *Tumori*. 2010 May-Jun;96(3):452-9. doi: 10.1177/030089161009600313
 42. Xu Z, Zeng S, Gong Z, Yan Y. Exosome-based immunotherapy: a promising approach for cancer treatment. *Mol Cancer*. 2020 Nov;19(1):160. doi: 10.1186/s12943-020-01278-3

Submitted 21.09.2022

Accepted 07.12.2022

Сведения об авторах:

Ю.В. Савич – младший научный сотрудник, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,

E-mail: jul.pehota@yandex.ru – Савич Юлия Валерьевна;

Я.И. Исайкина – к.б.н., зав. лабораторией клеточных биотехнологий и цитотерапии, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии;

М.А. Новикова – научный сотрудник, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Information about authors:

Y.V. Savich – associate officer, Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology & Immunology,

E-mail: jul.pehota@yandex.ru – Yuliya V. Savich;

Y.I. Isaikina – Candidate of Biological Sciences, head of the laboratory, Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology & Immunology;

M.A. Novikova – research officer, Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology & Immunology.