

УДК 616.8

ЭКЗОСОМАЛЬНЫЙ ТРАНСПОРТ И ПРОГРЕССИРОВАНИЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОГО ПРОЦЕССА ПРИ БОКОВОМ АМИОТРОФИЧЕСКОМ СКЛЕРОЗЕ

© 2019 г. М. В. Иванова^{1, *}, Е. О. Чеканова¹, Б. В. Белугин², И. Л. Тутыхина², И. В. Должикова², И. В. Закройщикова¹, А. В. Васильев¹, М. Н. Захарова¹

¹ФГБНУ “Научный центр неврологии”, Москва, Россия

²ФГБУ “НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи” Минздрава России, Москва, Россия

Поступила в редакцию 30.11.2018 г.

После доработки 15.02.2019 г.

Принята к публикации 25.02.2019 г.

В последние годы все большее внимание уделяется изучению коммуникации клеток нервной системы с помощью внеклеточных везикул, в том числе экзосом, как в физиологических условиях, так и при развитии заболеваний. Экзосомы представляют собой малые внеклеточные везикулы размером от 50 до 200 нм, которые выделяются большинством типов клеток и обеспечивают коммуникацию между клетками путем транспорта протеинов, липидов, РНК к клеткам-мишеням. Кроме того, они выполняют антиген-презентирующие, сигнальные функции и могут выступать в качестве провоспалительных агентов. Накоплено множество данных о роли экзосом в развитии патологического процесса при заболеваниях нервной системы, прежде всего, опухолей головного мозга и нейродегенеративных заболеваний. Боковой амиотрофический склероз (БАС) представляет собой прогрессирующее фатальное заболевание, при котором происходит избирательная гибель двигательных нейронов, что в течение нескольких лет неминуемо приводит к нарушению функционирования мышц, осуществляющих жизненно-важные функции, и смерти пациента. Механизмы, лежащие в основе гибели мотонейронов и распространения патологического процесса, не известны. Прогнозировать темпы нарастания двигательных нарушений и вероятную продолжительность жизни пациента невозможно. Среди основных этапов патогенеза БАС выделяют накопление агрегатов патологических белков в телах нейронов, нарушение метаболизма РНК. Доказана возможность переноса патологических белков и других молекул, связанных с развитием БАС, с помощью экзосом. В настоящей работе приводится обзор основных исследований, посвященных изучению роли экзосом в развитии различных патологических процессов, происходящих в ЦНС, механизмов распространения и прогрессирования нейродегенеративного процесса при БАС и роли экзосом в их развитии, обсуждаются потенциальные биомаркеры заболевания, присутствующие в экзосомальной фракции.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, БАС, экзосомы, внеклеточные везикулы, нейродегенерация, патологические белки

DOI: 10.1134/S1027813319030087

ВВЕДЕНИЕ

Боковой амиотрофический склероз (БАС) является прогрессирующим фатальным заболеванием, при котором происходит гибель двигательных нейронов, что приводит к развитию слабости в мускулатуре, в том числе обеспечивающей жизненно важные функции, такие как дыхание и глотание. Заболеваемость составляет 2 случая на 100000 человек в год, распространенность около 5 случаев на 100000 человек, средний возраст раз-

вития заболевания 55–65 лет, однако в последние десятилетия отмечается тенденция к нарастанию заболеваемости, уменьшению возраста дебюта заболевания, увеличению доли пациентов молодого возраста (до 40 лет) [1].

Большинство случаев БАС являются спорадическими, около 10% случаев – наследственными. Как наследственные, так и спорадические случаи БАС могут сопровождаться лобно-височной дementией. Заболевание, как правило, дебютирует локально, затрагивая одну анатомическую область, затем распространяется горизонтально и вертикально, поражая новые участки нервной системы. В конце концов, происходит генерализа-

* Адресат для корреспонденции: 125367 Россия, Москва, Волоколамское ш., 80, тел.: +7(499) 740-80-79, e-mail: fspubl@gmail.com.

ция патологического процесса и утрата жизненно важных функций. Длительность заболевания составляет, в среднем 3–5 лет, однако существуют как агрессивные формы заболевания со стремительным прогрессированием симптомов, оканчивающиеся смертью больного в течение нескольких месяцев, так и относительно доброкачественные, в случае которых при должном уходе пациенты могут прожить несколько десятилетий [1].

Причины гибели мотонейронов при БАС и механизмы распространения и прогрессирования патологического процесса до конца не ясны. К основным патологическим механизмам, лежащим в основе гибели мотонейронов при БАС, относят: мутации в ряде генов (*TARDBP*, *SOD1*, *C9ORF72*, *FUS*, *ANG* и др.), нарушения в работе систем репарации ДНК, метаболизма РНК, процессов укладки (фолдинга) и деградации белков, образование агрегатов патологических белков, нарушения структуры и функций цитоскелета, аксонального транспорта, окислительный стресс, эксайтотоксичность, нарушение функций митохондрий, дисфункция олигодендроглии, реакции врожденного и приобретенного иммунитета и многое другое [1]. Этот список постоянно пополняется и расширяется, однако оценить точную значимость того или иного процесса и связать ее с клиническими характеристиками заболевания, в первую очередь, с темпами его прогрессирования, до сих пор не представляется возможным.

Анализируя пути распространения патологического процесса, необходимо прежде всего рассматривать механизмы межклеточной коммуникации. Традиционно между клетками нервной системы рассматривались три основных вида коммуникаций. Наиболее известным является передача сигнала через химические синапсы с помощью нейротрансмиттеров. Второй механизм — это взаимодействие клеток посредством каналов щелевых контактов. Третий — паракринная регуляция, которая включает несколько различных механизмов. В последние годы все большая роль отводится коммуникации клеток нервной системы с помощью четвертого вида взаимодействий — внеклеточных везикул, представленных экзосомами, микровезикулами и апоптотическими тельцами. Внеклеточные везикулы занимают важное место в межклеточной коммуникации в ЦНС как в норме, так и при различных патологических состояниях, прежде всего при новообразованиях и нейродегенеративных заболеваниях, выполняя целый ряд функций, связанных с транспортом белков, липидов, РНК, выполнением сигнальных функций. В настоящей работе приведен обзор современных представлений о физиологических и патологических функциях внеклеточных везикул, в частности экзосом, механизмах прогрессирования и распространения нейродегенератив-

ного процесса при БАС и месте внеклеточных везикул в этих процессах [2].

ЭКЗОСОМЫ В НОРМЕ И ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Экзосомы

Внеклеточные везикулы представляют собой небольшие микровезикулы с липидной мембраной (30–1000 нм в диаметре), выделяемые прокариотическими и эукариотическими клетками. Внеклеточные везикулы классифицируют по размерам, биологическим функциям и способу образования. Апоптотические тельца (800–5000 нм) образуются клетками при апоптозе, микровезикулы (100–1000 нм) отщипываются от плазмалеммы, экзосомы (40–120 нм) образуются в мультивезикулярных телах и секретируются клетками путем слияния мембраны мультивезикулярного тела с плазмалеммой, высвобождая микровезикулы. Инкапсуляция молекул во внеклеточные везикулы защищает их от деградации и растворения во внеклеточном пространстве, что позволяет осуществлять их доставку на дальние расстояния через кровь и другие жидкости. Внеклеточные везикулы могут транспортировать белки, липиды, ДНК, различные виды РНК. Они могут свободно перемещаться в межклеточной среде и обнаруживаются в любых биологических жидкостях. В центральной нервной системе (ЦНС) микровезикулы во внеклеточную среду секретируют нейроны, микроглия, астроциты и олигодендроциты. Нейрональные внеклеточные везикулы расположены преимущественно в соматодендритических отделах, где вероятность их обнаружения в 50 раз больше, чем в аксонах [3, 4].

Экзосомы — это внеклеточные везикулы диаметром 50–200 нм, которые выделяются во внеклеточное пространство большинством видов клеток [5–7]. Они имеют уникальный специфический белковый, липидный и нуклеотидный состав, обусловленный их происхождением из мультивезикулярных телец (МВТ). В частности, экзосомы богаты белками мембранного транспорта, флотиллинами, аннексинами, ГТФазами, тетраспанинами (CD9, CD63, CD81, CD82), белками теплового шока (Hsp70, Hsp90), белками, участвующими в биогенезе МВТ (Alix, TSG101), фосфолипазами [8, 9]. Эти белки используются как маркеры экзосом, хотя существуют значительные вариации белкового состава экзосом, произошедших из разных источников. Разнообразие липидного состава экзосом обусловлено различием типов клеток, из которых они произошли, и определяет их функциональные свойства, а также эффективность их транспортной функции [10–13]. В исследованиях последних лет было

показано, что экзосомы содержат не только белки и липиды, но и большое разнообразие РНК – мРНК, микроРНК и другие некодирующие РНК [9, 14]. Для большинства РНК-транскриптов характерно наличие 3'-нетранслируемых областей (3'-UTRs), что указывает скорее на регуляторную, чем функциональную роль РНК экзосом [15–17]. Анализ РНК, содержащихся в экзосомах, показал преобладание таких малых РНК, как пиРНК, микроРНК и тРНК [18–20]. Экзосомы также содержат ДНК, но их функции еще предстоит изучить [21, 22].

Основная функция экзосом – обеспечение коммуникации между клетками путем транспорта протеинов, липидов, РНК к клеткам-мишеням [23, 24]. На поверхности экзосом находятся молекулы, способствующие избирательному распознаванию клетки-мишени и проникновению в нее [25, 26]. Кроме того, экзосомы выполняют антиген-презентирующие, сигнальные функции, могут выступать в качестве противо- или провоспалительных агентов [27–32]. Экзосомы могут вносить вклад в прогрессирование некоторых заболеваний, участвуя в транспорте инфекционных частиц, таких как вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) [33]. ВИЧ использует преимущества экзосомального транспорта для маскировки вирусных частиц от факторов иммунной системы [34, 35]. Экзосомальный транспорт представляет собой форму межклеточной коммуникации между клетками без непосредственного контакта между ними [36, 37]. Его значение особенно велико для ЦНС, поскольку размер экзосом измеряется нанометрами, что позволяет им преодолевать гематоэнцефалический барьер путем рецептор-опосредованного эндоцитоза [38].

Учитывая присутствие экзосом почти во всех биологических жидкостях и их роль в обеспечении коммуникации между клетками и органами, они все чаще рассматриваются как основные носители потенциальных биомаркеров тех или иных заболеваний, в частности для диагностики и прогнозирования течения злокачественных опухолей, нейродегенеративных заболеваний, вирусных инфекций и др. [39, 40]. Кроме того, в последнее время экзосомы рассматриваются в качестве возможных средств для доставки лекарственных веществ при различных заболеваниях, в том числе при патологии ЦНС [2].

Экзосомальный транспорт при патологиях нервной системы

Основные исследования роли экзосомального транспорта при патологиях нервной системы проведены при опухолях ЦНС и нейродегенеративных заболеваниях.

Опухоли ЦНС. Клиническое разнообразие и сложность опухолей головного мозга связаны с особенностями микроокружением и внутри/межклеточными взаимодействиями в ЦНС [41, 42]. Поэтому экзосомы как форма межклеточного взаимодействия могут многое рассказать о прогрессировании опухолей. Секреция экзосом злокачественными клетками может приводить к запуску сигнальных каскадов, связанных с аномальным ростом клеток и образованием гипоксической среды, типичной для опухолей [43].

Наиболее прогностически неблагоприятным видом опухолей головного мозга являются глиобластомы. Они обладают агрессивным инфильтративным типом роста, средний срок жизни при данном виде злокачественных новообразований составляет 12–15 мес. [44]. Глиобластома является чрезвычайно гетерогенной опухолью, она состоит из раковых стволовых клеток, опухолевых клеток и неопухолевых паренхиматозных клеток, таких как сосудистые клетки, микроглия и периферические иммунные клетки [45, 46]. Сообщения между этими клетками с помощью экзосом играют ключевую роль в развитии патологии. Впервые экзосомы были выявлены в среде, в которой культивировали мышечные клетки глиомы, с помощью дифференциального центрифугирования в 2007 г. [47]. В экзосомах, выделенных из клеточных линий опухоли головного мозга человека D54MG и SMA560, были обнаружены белки теплового шока Hsp27, Hsp60, Hsp70 и Hsp90 [47]. Показано, что экзосомы, выделяемые клетками линий глиобластомы, имеют высокий иммуногенный потенциал у мышей и у человека. В сыворотке пациентов с глиобластомой, в отличие от здоровых добровольцев, обнаруживались высокие уровни антител, реактивных по отношению к экзосомам, а также большое число экзосом, которые приводили к M2-поляризации моноцитов/макрофагов в экспериментах *in vitro*, что указывает на роль экзосом в поддержании роста опухоли [48]. Участие экзосом в прогрессировании опухоли было показано в работе, посвященной изучению метастатических образований, в которой проводилась характеристика экзосомального протеома нескольких моделей опухолей (например, колоректальный рак, рак желудка, молочной и поджелудочной железы), которые имеют тенденцию к метастазированию, в том числе в головной мозг. Анализируя распределение секреторируемых опухолями экзосом, исследователи показали, что экзосомальные интегринные способствуют адгезии к клеткам-мишеням по тканеспецифичному принципу и запускают сигнальные пути и воспалительный ответ в клетках-мишенях, стимулируя рост метастатических клеток [49].

Интересное исследование было проведено научной группой Akers в 2015 г. Известно, что повышение экспрессии miR-21 является биомаркером

глиомы. Исследователи изолировали внеклеточные везикулы из клеточной среды линий клеток глиобластомы, плазмы и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) пациентов с глиобластомой и исследовали распределение микроРНК в субпопуляциях внеклеточных везикул. Содержание miR-21 и других микроРНК, характерных для глиобластомы, было повышено во фракциях внеклеточных везикул, но не в оставшейся после выделения везикул ЦСЖ. В особенности была богата микроРНК экзосомальная фракция [50]. Результаты не были настолько однозначными при анализе плазмы, однако это может быть связано со сложным составом данного вида биологического материала. Описанное исследование указывает на то, что некоторые биомаркеры могут концентрироваться преимущественно в экзосомальной фракции.

Нейробластома является второй по распространенности экстракраниальной злокачественной опухолью у детей [51]. Исследования экзосомальных микроРНК на моделях нейробластомы показали, что экзосомальные микроРНК могут участвовать в механизмах выработки резистентности опухоли к химиотерапии. Авторы исследования, проведенного в 2015 г., предположили, что опухоль-ассоциированные макрофаги участвуют в формировании резистентности к химиотерапии, обмениваясь экзосомальными микро-РНК [52]. Для подтверждения данной гипотезы была проведена серия экспериментов в клеточных линиях, в ходе которых был изучен экзосомальный транспорт miR-155 из моноцитов человека в клетки нейробластомы и miR-21 из клеток нейробластомы в моноциты человека. Была определена новая роль экзосомальных комплексов в формировании сигнального пути: miR-21/TLR8-NF-kB/miR-155/TERF1 [52]. В ходе сигнального каскада клетки нейробластомы “обучают” моноциты через секрецию экзосомальной miR-21, что приводит к TLR8/NF-kB-зависимому повышению выработки miR-155. Попадая в клетки нейробластомы, miR-155 связывается непосредственно с TERF1, ингибитором теломеразы, активность которого коррелирует с резистентностью к лекарственным препаратам, плохим прогнозом при злокачественных новообразованиях [53] и активностью теломераз. Авторы пришли к выводу, что экзосомы в микроокружении опухоли являются перспективной молекулярной мишенью для улучшения чувствительности опухоли к лекарственным средствам.

Но все же наибольшее число исследований связи экзосом с патологией нервной системы проведено при нейродегенеративных заболеваниях, особенно болезнях Альцгеймера и Паркинсона. Нейродегенеративные заболевания характеризуются прогрессирующей потерей функций и/или гибелью нейронов. Микровезикулы могут участвовать в элиминации токсических белков из

нервных клеток или переносе нейропротективных экзосомальных молекул. С другой стороны, экзосомы могут распространять потенциально токсичные молекулы [54]. Большинство исследований посвящено изучению роли экзосом в прогрессировании заболеваний и патогенезе, а также возможности их применения в качестве диагностических маркеров.

Болезнь Альцгеймера. В последние 30 лет считается, что в основе развития нейродегенеративного процесса при болезни Альцгеймера лежит накопление амилоида β в виде амилоидных бляшек и тау-белков с неправильной структурой, формирующих токсические сплетения тау-белков в нейронах [55–57]. Предположение о том, что экзосомы могут играть роль в распространении патологического процесса, впервые было сделано в 2006 г. Группой исследователей было показано, что 1% амилоида β секретируется во внеклеточное пространство ассоциированно с экзосомами. Кроме того, амилоидные бляшки оказались богаты белками, ассоциированными с экзосомами (например, флотиллины, Alix), что указывает на то, что связанный с экзосомами амилоид β может участвовать в формировании бляшек [58]. В связи с этим было предложено определение экзосом как “Троянского коня нейродегенерации” [59, 60]. В ЦСЖ пациентов с болезнью Альцгеймера было выявлено повышенное содержание внеклеточных микровезикул [61]. Количество внеклеточных везикул в ЦСЖ было связано с атрофией гиппокампа и активацией микроглии [61]. Нейротоксичность экзосом была показана в исследовании, проведенном на первичной культуре астроцитов: Wang и соавт. обнаружили новый механизм индукции апоптоза с помощью насыщенных PAR-4/церамидами экзосом. Авторы считают, что данный механизм может играть важную роль при развитии болезни Альцгеймера [62].

По результатам ряда исследований было сделано предположение о протективной роли экзосом при болезни Альцгеймера. Так, было обнаружено, что белок цистатин С, обладающий нейропротективными функциями при болезни Альцгеймера, секретируется первичной культурой мышечных нейронов в ассоциации с экзосомами [63, 64]. Другой научной группой было выявлено, что экзосомы, выделяемые N2a клетками (клеточная линия быстрорастущей нейробластомы мышей) или обнаруживаемые в человеческой ЦСЖ, могут препятствовать разрушающему синаптическую пластичность действию как синтетического, так и мозгового амилоида β [65]. В исследованиях Yuuata и соавт. было показано, что экзосомы могут координировать изменения конформации амилоида β , формируя нетоксические амилоидные фибриллы и стимулируя их захват и разрушение микроглией [66].

В некоторых исследованиях экзосомы были изучены в качестве возможных диагностических и прогностических маркеров болезни Альцгеймера. Fiandaca и соавт., извлекая экзосомы из минимальных объемов плазмы и сыворотки с помощью комбинации химических и иммунохимических методов, показали, что уровни белков P-T181-tau, P-S396-tau и Ab1-42 в экзосомах могут прогнозировать развитие болезни Альцгеймера за 10 лет до возникновения первых симптомов [67]. Также при болезни Альцгеймера было показано изменение профиля экзосомальных микроРНК и других малых РНК в плазме [68]. По данным авторов исследования, наличия 7 определенных микроРНК было достаточно для точного выявления заболевания. Изменение состава экзосомальных микроРНК также было обнаружено при исследовании ЦСЖ пациентов с болезнью Альцгеймера [69].

Болезнь Паркинсона. Болезнь Паркинсона представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся отложением агрегатов белка α -синуклеина, обладающего дофаминергической нейротоксичностью. Вначале считалось, что α -синуклеин реализует свое патологическое действие только внутри клеток, но представления изменились, когда белок был обнаружен в плазме и ЦСЖ пациентов [70]. Одним из важных свойств α -синуклеина является способность к межнейрональному переносу. Такой перенос белка внутри ЦНС может быть опосредован экзосомами. Впервые способность экзосом переносить α -синуклеин в соседние клетки была показана Emmanouilidou и соавт. в работе, проведенной на линии клеток нейроblastомы человека SH-SY5Y [71]. Уровень α -синуклеина в экзосомах, выделенных из ЦСЖ пациентов с болезнью Паркинсона, коррелировал с выраженностью когнитивных нарушений у пациентов. Кроме того, экзосомы, выделенные из ЦСЖ пациентов с болезнью Паркинсона, приводили к дозозависимой индукции олигомеризации α -синуклеина [72]. Danzer и соавт. обнаружили, что экзосомальные олигомеры α -синуклеина более токсичны для клеток, чем неэкзосомальные олигомеры α -синуклеина [73]. Уровни экзосомального α -синуклеина в плазме у пациентов с болезнью Паркинсона, как правило, выше, чем в контрольной группе. Также была выявлена значимая корреляция между уровнем экзосомального α -синуклеина в плазме и тяжестью заболевания [74]. Таким образом, экзосомальный перенос α -синуклеина можно считать одним из механизмов прогрессирования болезни Паркинсона.

Прионные заболевания. В течение последнего десятилетия обсуждается роль внеклеточных везикул в качестве переносчиков патологических белков при прионных заболеваниях. Прионные болезни, или трансмиссивные нейродегенеративные заболевания, являются группой патологий,

которая характеризуется накоплением в ЦНС аномального белка, называемого патологическим прионным белком (PrP^{Sc}). PrP^{Sc} представляет собой форму нормального прионного белка PrP^C с нарушенной конформацией, накапливаясь в нейронах, он приводит к их повреждению [75]. Считается, что патологические белки выходят из клеток в составе экзосом, что способствует распространению нейродегенеративного процесса [76–78].

Внеклеточные везикулы, содержащие PrP^{Sc} были выделены из плазмы зараженных мышей в модели болезни Крейтцфельда–Якоба (БКЯ), а также из клеточной среды над клетками, инфицированными патологическими прионными белками. В составе выделенной фракции везикул определялся маркер экзосом Hsp70. Поскольку экзосомы могут проходить через гемато-энцефалический барьер, это может говорить о возможности распространения заболевания через кровь в составе экзосом [79]. Позже было показано, что при инъекции внеклеточных везикул, содержащих PrP^{Sc}, трансгенным мышам с повышенной экспрессией PrP^C действительно происходит трансмиссия заболевания [80]. Распространение патологических белков с помощью экзосом также было доказано в экспериментах, проведенных на клеточных культурах [81], при этом применение активатора (момензин) и ингибитора (GW4869) образования экзосом приводило, соответственно, к увеличению и снижению трансмиссии патологического прионного белка. Другой группой исследователей был выявлен характерный набор микроРНК, выделяемый нервными клетками, инфицированными патологическим прионным белком: с помощью глубокого секвенирования малых РНК авторы показали, что в экзосомах, выделяемых инфицированными клетками, повышено содержание let-7i, let-7b, miR-21, miR-128a, miR-29b, miR-222, miR-424 и miR-342-3p, снижен уровень miR-146a. Выявленный молекулярный портрет экзосом, несущих PrP^{Sc}, может стать инструментом в диагностике прионных заболеваний [82].

Таким образом, основными механизмами, через которые внеклеточные везикулы влияют на развитие патологического процесса при заболеваниях ЦНС, являются транспорт токсических биомолекул, в результате действия которых на клетки-мишени происходит распространение нейродегенеративного процесса (патологические белки), стимуляция воспалительных реакций, запуск сигнальных путей, приводящих к патологической трансформации клеток, формированию резистентности опухолевых клеток к химиотерапии.

МЕХАНИЗМЫ РАСПРОСТРАНЕНИЯ И ПРОГРЕССИРОВАНИЯ БАС

В настоящее время к основным молекулярным механизмам развития, прогрессирования и распространения нейродегенеративного процесса при БАС относят нарушение процессов укладки (фолдинга) и разрушения белка, образование агрегатов патологических белков, нарушение метаболизма РНК, нарушение репарации ДНК, окислительный стресс, эксайтотоксичность, нарушение функций митохондрий, нарушение структуры и функций цитоскелета, аксонального транспорта, дисфункция олигодендроглии и иммунные реакции с участием микроглии и астроглии. Это далеко не полный список и он постоянно пополняется новыми процессами, ведущими к гибели мотонейронов [1]. В предыдущих разделах обсуждалось, что основное значение эксосом в прогрессировании и распространении патологического процесса в ЦНС связано с переносом патологических белков и различных сигнальных молекул, таких как малые РНК и факторы, участвующие в реакциях нейровоспаления, поэтому данным вопросам будет уделено отдельное внимание.

Одним из наиболее важных явлений в патогенезе БАС считается нарушение структуры и конформации белков. Признаки дисфункции белков обнаруживаются как при семейных, так и при спорадических формах БАС и характеризуются формированием агрегатов, нарушением расщепления и посттрансляционными модификациями, такими как убиквитинирование или гиперфосфорилирование. Указанные изменения могут быть как следствием мутаций в кодирующих генах, так и вторичным феноменом, индуцированным патологическими процессами, происходящими при БАС. Уже на ранних этапах заболевания происходит отложение нитей убиквитинированных белков в двигательных нейронах [83]. Это отражает наличие в клетке модифицированных, конформационно нестабильных белков, подлежащих разрушению. На более поздних этапах болезни двигательного нейрона образуются плотные агрегаты убиквитинированных белков, иногда в сочетании с эозинофильными агрегатами, описанными как “тельца Буниной” [84]. В настоящее время выделены группы белков, имеющих патогенетическое значение при БАС. Выявлено 53 белка с нарушенной структурой, из которых 50% относятся к РНК-связанным протеинам, участвующим в метаболизме РНК, процессинге и транспорте. Остальные белки задействованы в ядерном транспорте, формировании цитоскелета и процессах деградации белков. К основным патологическим белкам, выделенным у больных с БАС, относят SOD1 (супероксиддисмутаза-1), TDP-43 (ТАР ДНК-связывающий белок 43), C9orf72 (Chromosome 9

Open Reading Frame 72), РНК-связывающий белок FUS (Fused in Sarcoma) и др.

До 20% семейных случаев БАС связаны с мутацией в гене, кодирующем Cu/Zn супероксиддисмутазу 1 (SOD1). В норме SOD1 защищает клетки от супероксидных радикалов, превращая их в молекулярный кислород и перекись водорода, он считается цитозольным ферментом, но обнаруживается во внеклеточной среде как в норме, так и при патологии. Среди примерно 200 мутаций, обнаруженных в гене SOD1 [85], большинство связано с нарушением конформационной стабильности кодируемого белка, что приводит к отложению цитоплазматических включений с его участием в двигательных нейронах. Показано наличие корреляции между выраженностью обусловленной мутациями конформационной нестабильности белка и скоростью прогрессирования заболевания. Мутантный SOD1 также может формировать субмикроскопические олигомеры, которые часто растворимы, могут обладать большей токсичностью, чем крупные видимые агрегаты. Также в мотонейронах многих пациентов со спорадической формой БАС обнаруживаются агрегаты белка SOD1 дикого типа с посттрансляционными модификациями. Эти белки могут обладать цитотоксичностью, например, нарушая аксональный транспорт. Молекулярные механизмы реализации токсического эффекта мутантного SOD1 многогранны и до конца не изучены. Они включают индукцию процессов окислительного стресса, ускорение образования белков с нарушенной конформацией, формирования токсичных нитротирозинов, связывание мутантных SOD1 с гидрофобной клеточной мембраной и др. [86]. Все это приводит к нарушению целого ряда клеточных функций: гипертонности клеток, нарушению функций митохондрий, индукции реакции несвернутых белков, стрессу со стороны эндоплазматического ретикула, нарушению аксонального транспорта и раннему разрушению нервно-мышечных синапсов.

Белок TDP-43, кодируемый геном *TARDBP*, известен как один из основных компонентов цитоплазматических включений при БАС. TDP-43 является ядерным РНК-связывающим белком, в норме он принимает участие в регуляции транскрипции РНК. В пораженных нейронах и глиальных клетках он перераспределяется из ядра в цитоплазму. С-терминальный домен TDP-43 представлен глутамин/аспарагиновым (Q/N) при оноподобным доменом, который обеспечивает его способность к самоагрегации. Большинство патогенных мутаций в гене *TARDBP* детектируется именно в участках, кодирующих эту область, и приводит к увеличению стабильности белка и его способности к агрегации. Фосфорилированный TDP-43 является основным компонентом цитоплазматических агрегатов белков и выявляется у

примерно 95% пациентов со спорадической формой БАС. У пациентов с БАС агрегаты TDP-43 обнаруживаются преимущественно в стресс-гранулах в цитоплазме. Патологическое значение TDP-43 связано как с нарушением его функции в ядре, так и с его токсичностью в составе агрегатов, приводящей к нарушению формирования аксонов и уменьшению их длины. Нарушение формирования аксонов указывает на взаимодействие TDP-43 с компонентами цитоскелета мотонейронов [87].

Ген *C9orf72* кодирует белок массой около 54 кДа, функции которого пока не ясны. В 2011 году было показано, что патологическая экспансия интронного гексануклеотидного повтора (GGG-GCC/CCGGGG) в гене *C9orf72* лежит в основе 40–50% семейных случаев БАС и 8–10% спорадических случаев, а также случаев сочетания БАС с лобно-височной деменцией [88, 89]. Экспансия гексануклеотидных повторов характеризуется нестабильностью: ее размеры могут значительно различаться в разных типах клеток у одного индивида. В результате экспансии происходит снижение экспрессии мРНК, появляются крупные транскрипты РНК, включающие в норму некодируемую область с гексануклеотидными повторами, которые могут приобретать токсические свойства, а также давать начало токсичным дипептидным повторам (DPR) [90], образуются белковые цитоплазматические включения. Для пациентов с экспансией гексануклеотидных повторов характерны включения, содержащие TDP-43, сферические включения, содержащие пептиды массой 62 кДа, в состав которых входят РНК-связывающий белок RBM45, hnRNP A3 (гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин A3) и агрегаты токсичных дипептидных повторов (DPR), упомянутых выше.

Среди белков, ассоциированных с БАС, многие участвуют в метаболизме РНК, например TDP-43 и FUS. TDP-43 и FUS влияют почти на все этапы функционирования ДНК и РНК, включая транскрипцию, сплайсинг, транспорт РНК, переработку микроРНК и трансляцию. Какие из этих процессов являются наиболее значимыми при БАС пока не известно. В норме ассоциированные с БАС ДНК/РНК-связывающие белки являются преимущественно ядерными, мутантные белки часто в большом количестве мигрируют в цитоплазму, в результате чего в ядре образуется их дефицит. Неясно, связан ли патологический эффект мутантных белков в большей степени с потерей функции в ядре или с обретением цитотоксического эффекта в цитоплазме [1].

В последние годы многие исследования были сконцентрированы на анализе роли малых РНК, в первую очередь микроРНК, при БАС. Методом секвенирования нового поколения было выявлено снижение экспрессии 38 микроРНК в крови у

пациентов с БАС. При этом профиль микроРНК различался в зависимости от формы (бульбарная/спинальная) и темпов прогрессирования заболевания [91]. В другом исследовании с помощью секвенирования и последующего подтверждения данных методом ПЦР в реальном времени было обнаружено повышение уровня некоторых микроРНК в крови и области нервно-мышечного сочленения у пациентов с БАС (miR-338-3p, miR-223-3p, and miR-326) [92].

Немаловажным звеном патогенеза в последние годы считается нейровоспаление. Реакции врожденного иммунитета, активируемые молекулярными структурами, ассоциированными с повреждениями (DAMPs) и с патогенами (PAMPs), и приобретенного иммунитета, управляют балансом между процессами разрушения нейронов и регенерации. Основными клеточными элементами, участвующими в реакциях врожденного иммунитета, являются клетки микроглии и астроциты, которые в ответ на взаимодействие с молекулами, выбрасываемыми поврежденными клетками, и патологическими белками активируются и секретуют провоспалительные молекулы, такие как IL-1b, IL-6, TNF-а [93]. Активация микроглии и астроцитов (приобретение ими нейротоксического фенотипа) происходит еще до возникновения клинических симптомов заболевания и увеличивается по мере его прогрессирования. Микроглия и астроциты могут играть также протективную роль, секретуя противовоспалительные цитокины и факторы роста. Помимо этого, происходит инфильтрация нервной системы иммунными клетками, в первую очередь Т-клетками. Считается, что CD4+ Т-клетки, особенно Т-регуляторные клетки, могут играть протективную роль, замедляя прогрессирование и распространение патологического процесса [94]. Таким образом, влияние иммунной системы на нейродегенеративный процесс при БАС определяется балансом между патогенными и протективными реакциями.

Экзосомальный транспорт при БАС

На сегодняшний день проведено несколько исследований, посвященных изучению особенностей внеклеточных везикул и роли экзосомального транспорта при БАС. Различий в отношении биогенеза, состава мембранных маркеров и численности экзосом между пациентами с БАС и здоровыми людьми выявлено не было, однако количество белков, ассоциированных с БАС в экзосомах, выделяемых из биологических жидкостей пациентов, больше [95]. Предполагается, что белки, доставленные экзосомами к клеткам-мишеням, депонируются в цитоплазме, ядре нейрона или во внеклеточном пространстве, способствуя развитию заболевания. Также считается, что при БАС имеет значение транспорт РНК с помощью

экзосом (в особенности микроРНК). Первым белком, ассоциированным с БАС, который был обнаружен в составе экзосом, был SOD1. До сих пор значение экзосомального транспорта патологического белка SOD1 является наиболее изученным.

SOD1 секретируется во внеклеточную среду астроцитами, фибробластами, культурами клеток спинного мозга и мотонейрон-подобными клетками NSC-34 [96–100]. SOD1 был обнаружен в ЦСЖ у пациентов с БАС [101]. Впервые связь SOD1 с экзосомами при БАС была выявлена Gomes и соавт. в 2007 г.: в культурах клеток NSC-34, стабильно экспрессирующих дикий и мутантный SOD1 (hSOD1wt/G93A), указанные белки обнаруживались в клеточной среде в составе экзосом. Мутантный белок обнаруживался в экзосомах и был хуже “упакован” по сравнению с белками дикого типа. Было сделано предположение, что в связи с этим он лучше захватывается клетками и повреждает их. Кроме того, показано, что выделение SOD1G93A во внеклеточную среду в составе экзосом даже в небольшом количестве может стимулировать развитие воспаления. Таким образом, авторы пришли к выводу, что мутантный белок SOD1 может распространяться и оказывать повреждающее воздействие с помощью экзосом [102].

В дальнейшем эта гипотеза была подтверждена в исследовании, проведенном в животной модели у мышей, экспрессирующих мутантный SOD1. Астроциты, продуцирующие избыточное количество белка SOD1G93A также секретируют повышенное количество экзосом, которые распространяли мутантный SOD1 по нейронам спинного мозга, что приводило к их избирательной гибели. Важно отметить, что астроциты и другие клетки нервной системы могут избавляться от неправильно упакованных и потенциально токсичных белков, таких как мутантный SOD1, сбрасывая его в экзосомы [103]. С другой стороны, выброс экзосом с патологическими белками оказывает токсический эффект на находящиеся по соседству двигательные нейроны, которые их захватывают, что приводит к распространению патологического процесса [104]. Нарушение упаковки SOD1 обнаружено не только в семейных, но и в спорадических случаях БАС. Возможность секреции неправильно упакованного SOD1 дикого типа в экзосомах и захвата подобных экзосом здоровыми клетками также была экспериментально доказана. Мутантный и неправильно упакованный SOD1 дикого типа может передаваться от клетки к клетке в виде агрегатов белков, выделяемых умирающими клетками и поглощаемых соседними клетками путем макропиноцитоза, или с помощью микровезикул, выделяемых во внеклеточное пространство. Повышенное содержание SOD1 определялось в экзосомах и микровезику-

лах, выделенных из плазмы крови пациентов с БАС. Это говорит о том, что распространение белков с нарушенной упаковкой с помощью экзосом может быть значимым общим патогенетическим механизмом для семейных и спорадических форм БАС [105].

Как и мутантные SOD1, агрегаты TDP-43, выделенные из головного мозга пациентов с БАС и лобно-височной деменцией, распространялись в убиквитинированной и фосфорилированной формах через экзосомы в культурах клеток нейробластомы человека. Также было показано, что инкубация линии клеток нейробластомы мышей Neuro2a с экзосомами, выделенными из головного мозга пациентов с БАС, приводило к изменению распределения TDP-43 в цитоплазме, что является важным маркером протеинопатии. Интересно отметить, что TDP-43 транспортируется экзосомами, выделенными из ЦСЖ как пациентов с БАС, так и здоровых добровольцев, и различий уровня TDP-43 в экзосомальной фракции выявлено не было [106]. В исследовании Feiler и соавт. было показано, что поврежденные белки TDP-43 агрегируют в клетках в стрессорные гранулы и накапливаются в люмене микровезикул. Далее агрегаты белка TDP-43 в составе микровезикул выделяются в межклеточную среду в составе экзосом. Показано, что везикулы, содержащие агрегаты активно поглощаются клетками первичной культуры нейронов и эти агрегаты оказывают нейротоксический эффект на клетки. В этой же работе было обнаружено, что передача агрегатов и везикул может происходить через терминальные участки аксонов [107]. В другом исследовании было показано, что TDP-43 секретируется в экзосомах линией клеток Neuro2a и первичной культурой нейронов, но не астроцитами и микроглией. В той же работе было выявлено, что агрегация белков и ингибирование аутофагии являются факторами, стимулирующими секрецию TDP-43 в экзосомах. Повышенное содержание экзосомального TDP-43 было обнаружено в головном мозге людей, страдавших БАС. Воздействие экзосом, полученных из головного мозга людей, страдавших БАС, на линии клеток Neuro2a приводило к перераспределению TDP-43 в их цитоплазме, указывая на то, что экзосомы могут вносить вклад в распространение протеинопатии TDP-43. Ингибирование секреции экзосом приводило к формированию агрегатов TDP-43 в линиях клеток нейробластомы Neuro2a и увеличению выраженности заболевания у трансгенных мышей, экспрессирующих мутантный белок TDP-43A315T человека. Таким образом, данные исследования указывают на протективную роль экзосом, которые, предположительно, очищают клетки от патологического TDP-43 [108].

В экзосомах, секретируемых клетками множественной миеломы, обнаружены ангиогенин и

другие факторы роста (VEGF, PDGF-BB), а также ангиогенные факторы (VEGFR1, VEGFR2, CD31) [109]. Также в экзосомах, выделяемых культурой клеток глиобластомы выявлено повышенное содержание ангиогенные белки, такие как ангиогенин, IL-6, IL-8, VEGF, TIMP-1, TIMP-2, по сравнению с самими клетками [26]. Это может указывать на возможную роль экзосом в транспорте ангиогенина. Показано, что экзосомы могут переносить токсичные дипептидные повторы (DPR), образуемые при экспансии гексануклеотидных повторов в гене *C9orf72*, между нейронами [110].

Кроме белков, экзосомы являются переносчиками РНК, прежде всего малых РНК, в частности микроРНК. МикроРНК являются одним из основных грузов, транспортируемых экзосомами, мембрана которых надежно защищает структуру РНК от разрушения ферментами. Известно, что при БАС происходит повышение экспрессии некоторых микроРНК, таких как miR-146b, miR-29b, let-7a/b, miR-27b, miR-21, miR-210 и miR-155. Работ, посвященных исследованию экзосомального транспорта микроРНК при БАС и его значения в развитии заболевания пока крайне мало. В одном исследовании была выявлена повышенная экспрессия miR-124 в линии мотонейрон-подобных клеток NSC-34 с мутантным SOD1 и в выделяемых ими экзосомах. Воздействие таких экзосом на линию клеток микроглии N9 приводило к постоянной активации NF- κ B, MMP-2 и MMP-9 и повышенной экспрессии IL-1 β , TNF- α , MHC-II, и iNOS, что говорит о поляризации в сторону провоспалительного фенотипа M1. Через 24 ч после начала инкубации происходило значительное повышение уровней IL-10, Аргиназы 1, TREM2, RAGE и мРНК TLR4, а также miR-124, miR-146a и miR-155, что указывает на поляризацию по смешанному M1/M2 типу [111]. Другой научной группой было показано, что экспрессия miR-27a-3p в экзосомах, выделенных из сыворотки пациентов с БАС, снижена, по сравнению со здоровыми добровольцами [112].

Одним из направлений в изучении БАС являются исследования, посвященные потенциальной возможности применения стромальных клеток жировой ткани в терапии заболевания. Введение стромальных клеток жировой ткани животным в мышинной модели БАС приводило к уменьшению выраженности заболевания в результате стимулирования нейропротекции и нейрогенерации. Действие экзосом, выделенных из стромальных клеток жировой ткани было исследовано в *in vitro* модели БАС [113]. Было показано, что экзосомы способны предупреждать повреждение мотонейронов в результате окислительного стресса и за счет этого увеличивать их выживаемость. Авторы считают, что действие экзосом, выделяемых стромальными клетками жировой ткани, связано с

секрецией микроРНК, оказывающих протективное действие [114].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты анализа исследований, посвященных изучению роли экзосом и других внеклеточных везикул в развитии заболеваний ЦНС, в первую очередь БАС, указывают на их двойственную роль в патологическом процессе. С одной стороны, экзосомы способствуют распространению и прогрессированию заболевания, транспортируя патологические белки от пораженных клеток к здоровым, где они откладываются в виде агрегатов, а также микроРНК и другие молекулы, которые приводят к активации микроглии и ее сдвигу в сторону провоспалительного фенотипа. С другой, экзосомы могут иметь нейропротективное значение, освобождая клетки от патологических белков, являясь транспортерами нейропротективных факторов, таких как факторы роста, протективные микроРНК. Какая роль экзосом является ведущей и в каких обстоятельствах пока определить не представляется возможным, однако, наиболее вероятно, экзосомальный транспорт является одним из основных вариантов межклеточных коммуникаций, задействованных в ходе развития патологического процесса при БАС.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00480 А.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Захарова М.Н., Брылев Л.В., Авдюнина И.А., Лысогорская Е.В., Воробьева А.А., Иванова М.В., Червяков А.В., Васильев А.В., Бакулин И.С. // Неврология. Национальное руководство. Под ред. Гусева Е.И., Коновалова А.Н., Скворцовой В.И. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. С. 644–662.
2. Ciregia F., Urbani A., Palmisano G. // Front. Mol. Neurosci. 2017. V. 10. P. 276.
3. Raposo G., Stoorvogel W. // J. Cell. Biol., 2013. V. 200. P. 373.
4. György B., Szabó T., Pásztoi M. // Cell. Mol. Life Sci. 2011. V. 68. P. 2667–2688.
5. Thery C., Boussac M., Veron P., Ricciardi-Castagnoli P., Raposo G., Garin J., Amigorena S. // J. Immunol. 2001. V. 166. P. 7309–7318.
6. Alvarez-Erviti L., Seow Y., Schapira A., Gardiner C., Sargent I., Wood M., Cooper J. // Neurobiol. Dis. 2011. V. 42. P. 360–367.
7. Alvarez-Erviti L., Seow Y., Yin H., Betts C., Lakhali S., Wood M. // Nat. Biotechnol. 2011. V. 29. P. 341–345.
8. Subra C., Grand D., Laulagnier K., Stella A., Lambeau G., Paillasse M., De Medina P., Monsarrat B., Perret B., Silvente-Poirot S., Poirot M., Record M. // J. Lipid Res. 2010. V. 51. P. 2105–2120.

9. *Vlassov A., Magdaleno S., Setterquist R., Conrad R.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. V. 1820. P. 940–948.
10. *Ratajczak J., Miekus K., Kucia M., Zhang J., Reca R., Dvorak P., Ratajczak M.* // *Leukemia.* 2006. V. 20. P. 847–856.
11. *Subra C., Laulagnier K., Perret B., Record M.* // *Biochimie.* 2007. V. 89. P. 205–212.
12. *Wubbolts R., Leckie R., Veenhuizen P., Schwarzmann G., Möbius W., Hoernschemeyer J., Slot J., Geuze H., Stoorvogel W.* // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 10963–10972.
13. *Chu Z., Witte D., Qi X.* // *Exp. Cell. Res.* 2005. V. 303. P. 300–307.
14. *Valadi H., Ekstrom K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J., Lörvall J.* // *Nat. Cell Biol.* 2007. V. 9. P. 654–659.
15. *Pegtel D., Cosmopoulos K., Thorley-Lawson D., van Eijndhoven M., Hopmans E., Lindenberg J., de Gruijl T., Würdinger T., Middeldorp J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2010. V. 107. P. 6328–6333.
16. *Montecalvo A., Larregina A., Shufesky W., Stolz D., Sullivan M., Karlsson J., Baty C., Gibson G., Erdos G., Wang Z., Milosevic J., Tkacheva O., Divito S., Jordan R., Lyons-Weiler J., Watkins S., Morelli A.* // *Blood.* 2012. V. 119. P. 756–766.
17. *Cheng L., Sharples R., Scicluna B., Hill A.* // *J. Extracell. Vesicles.* 2014. V. 3.
18. *Cheng L., Sun X., Scicluna B., Coleman B., Hill A.* // *Kidney Int.* 2014. V. 86. P. 433–444.
19. *Bellingham S., Coleman B., Hill A.* // *Nucleic Acids Res.* 2012. V. 40. P. 10937–10949.
20. *Koga Y., Yasunaga M., Moriya Y., Akasu T., Fujita S., Yamamoto S., Matsumura Y.* // *J. Gastrointest. Oncol.* 2011. V. 2. P. 215–222.
21. *Waldenstrom A., Genneback N., Hellman U., Ronquist G.* // *PLoS One.* 2012. V. 7. e34653
22. *Balaj L., Lessard R., Dai L., Cho Y., Pomeroy S., Breakefield X., Skog J.* // *Nat. Commun.* 2011. V. 2. P. 180.
23. *Kanu N., Imokawa Y., Drechsel D., Williamson R., Birkett C., Bostock C., Brockes J.* // *Curr. Biol.* 2002. V. 12. P. 523–530.
24. *Gousset K., Schiff E., Langevin C., Marijanovic Z., Caputo A., Browman D., Chenouard N., de Chaumont F., Martino A., Enninga J., Olivo-Marin J., Männel D., Zurzolo C.* // *Nat. Cell Biol.* 2009. V. 11. P. 328–336.
25. *Mittelbrunn M., Gutierrez-Vazquez C., Villarroya-Beltri C., González S., Sánchez-Cabo F., González M., Bernad A., Sánchez-Madrid F.* // *Nat. Commun.* 2011. V. 2. P. 282.
26. *Skog J., Würdinger T., van Rijn S., Meijer D., Gainche L., Sena-Esteves M., Curry W., Carter B., Krichevsky A., Breakefield X.* // *Nat. Cell Biol.* 2008. V. 12. P. 1470–1476.
27. *Raposo G., Nijman H., Stoorvogel V., Liejendekker R., Harding C., Melief C., Geuze H.* // *J. Exp. Med.* 1999. V. 183. P. 1161–1172.
28. *Zitvogel L., Regnault A., Lozier A., Wolfers J., Flament C., Tenza D., Ricciardi-Castagnoli P., Raposo G., Amigorena S.* // *Nat. Med.* 1998. V. 4. P. 594–600.
29. *Wolfers J., Lozier A., Raposo G., Regnault A., Théry C., Masurier C., Flament C., Pouzieux S., Faure F., Tursz T., Angevin E., Amigorena S., Zitvogel L.* // *Nat. Med.* 2001. V. 7. P. 297–303.
30. *Théry C., Duban L., Segura E., Véron P., Lantz O., Amigorena S.* // *Nat. Immunol.* 2002. V. 3. P. 1156–1162.
31. *Iero M., Valenti R., Huber V., Filipazzi P., Parmiani G., Fais S., Rivoltini L.* // *Cell Death Differ.* 2008. V. 15. P. 80–88.
32. *Théry C., Ostrowski M., Segura E.* // *Nat. Rev. Immunol.* 2009. V. 9. P. 581–593.
33. *Gould S., Booth A., Hildreth J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003. V. 100. P. 10592–10597.
34. *Wiley R., Gummuluru S.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2006. V. 103. P. 738–743.
35. *Izquierdo-Useros N., Naranjo-Gomez M., Erkizia I., Puertas M., Borràs F., Blanco J., Martínez-Picado J.* // *PLoS Pathog.* 2010. V. 6.
36. *Ramachandran S., Palanisamy V.* // *Wiley. Interdiscip. Rev.* 2012. V. 3. P. 286–293.
37. *Chen X., Liang H., Zhang J., Zen K., Zhang C.* // *Protein. Cell.* 2012. V. 3. P. 28–37.
38. *Bellingham S., Guo B., Coleman B.* // *Front. Physiol.* 2012. V. 3. P. 124.
39. *Properzi F., Pocchiari M.* // *Int. J. Cell Biol.* 2013. V. 8. P. 839329.
40. *Sampey G., Meyering S., Zadeh M., Saifuddin M., Hakami R., Kashanchi F.* // *J. Neurovirol.* 2014. V. 20. P. 199–208.
41. *D'Asti E., Garnier D., Lee T.H., Montermini L., Meehan B., Rak J.* // *Front. Physiol.* 2012. V. 3. P. 294.
42. *D'Asti E., Chennakrishnaiah S., Lee T.H., Rak J.* // *Cell Mol. Neurobiol.* 2016. V. 36. №3. P. 383–407.
43. *Kucharzewska P., Christianson H., Welch J., Svensson K., Fredlund E., Ringnér M., Mörgelin M., Bourseau-Guilmain E., Bengzon J., Belting M.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2013. V. 110. P. 7312–7317.
44. *Dolecek T., Propp J., Stroup N., Kruchko C.* // *Neuro. Oncol.* 2012. V. 14. P. 1–49.
45. *Wu A., Wei J., Kong L.* // *Oncotarget.* 2016. V. 6. P. 31413–31427.
46. *Graner M., Cumming R., Bigner. D.* // *J. Neurosci.* 2007. V. 27. P. 1214–1227.
47. *Harshyne L., Nasca B., Kenyon L., Andrews D., Hooper D.* // *Neuro. Oncol.* 2016. V. 18. P. 206–215.
48. *Hoshino A., Costa-Silva B., Shen T., Rodrigues G., Hashimoto A., Tesic Mark M., Molina H., Kohsaka S., Di Giannatale A., Ceder S., Singh S., Williams C., Sopplop N., Uryu K., Pharmed L., King T., Bojmar L., Davies A., Ararso Y., Zhang T., Zhang H., Hernandez J., Weiss J., Dumont-Cole V., Kramer K., Wexler L., Narendran A., Schwartz G., Healey J., Sandstrom P., Labori K., Kure E., Grandgenett P., Hollingsworth M., de Sousa M., Kaur S., Jain M., Malloy K., Batra S., Jarnagin W., Brady M., Fodstad O., Muller V., Pantel K., Minn A., Bissell M., Garcia B., Kang Y., Rajasekhar V., Ghajar C., Matei I., Peinado H., Bromberg J., Lyden D.* // *Nature.* 2015. V. 527. P. 329–335.
49. *Park J., Eggert A., Caron H.* // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 2010. V. 24. P. 65–86.
50. *Akers J., Ramakrishnan V., Kim R., Phillips S., Kaimal V., Mao Y., Hua W., Yang I., Fu C., Nolan J., Nakano I.,*

- Yang Y., Beaulieu M., Carter B., Chen C. // *Neuro. Oncol.* 2015. V. 123. P. 205–216.
51. Ohali A., Avigad S., Ash S., Goshen Y., Luria D., Feinmesser M., Zaizov R., Yaniv I. // *Cancer.* 2006. V. 107. P. 1391–1399.
 52. Challagundla K., Wise P., Neviani P., Goshen Y., Luria D., Feinmesser M., Zaizov R., Yaniv I. // *J. Natl. Cancer Inst.* 2015. V. 107. pii: djv135.
 53. Smith V., Dai F., Spitz M., Peters G., Fiebig H., Hussain A., Burger A. // *J. Chemother.* 2009. V. 21. P. 542–549.
 54. Park S., Ahn E.S., Kim Y. // *Cell Biol. Int.* 2015. V. 39. P. 379–387.
 55. Karran E., Mercken M., De Strooper B. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2011. V. 10. P. 698–712.
 56. De Strooper B., Karran E. // *Cell.* 2016. V. 164. P. 603–615.
 57. Scheltens P., Blennow K., Breteler M., de Strooper B., Frisoni G., Salloway S., Van der Flier W. // *Lancet.* 2016. V. 388. P. 505–517.
 58. Rajendran L., Honsho M., Zahn T., Keller P., Geiger K., Verkade P., Simons K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2006. V. 103. P. 11172–11177.
 59. Ghidoni R., Benussi L., Binetti G. // *Med. Hypotheses.* 2008. V. 70. P. 226–227.
 60. Joshi P., Turola E., Ruiz A., Bergami A., Libera D., Benussi L., Giussani P., Magnani G., Comi G., Legname G., Ghidoni R., Furlan R., Matteoli M., Verderio C. // *Cell Death Differ.* 2014. V. 21. P. 582–593.
 61. Agosta F., Dalla Libera D., Spinelli E.G., Finardi A., Canu E., Bergami A., Bocchio Chiavetto L., Baronio M., Comi G., Martino G., Matteoli M., Magnani G., Verderio C., Furlan R. // *Ann. Neurol.* 2014. V. 76. P. 813–825.
 62. Wang G., Dinkins M., He Q., Zhu G., Poirier C., Campbell A., Mayer-Proschel M., Bieberich E. // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 21384–21395.
 63. Sundelöf J., Arnlöv J., Ingelsson E., Sundström J., Basu S., Zethelius B., Larsson A., Irizarry M., Giedraitis V., Rönnemaa E., Degerman-Gunnarsson M., Hyman B., Basun H., Kilander L., Lannfelt L. // *Neurology.* 2008. V. 71. P. 1072–1079.
 64. Ghidoni R., Paterlini A., Albertini V., Glionna M., Monti E., Schiaffonati L., Benussi L., Levy E., Binetti G. // *Neurobiol.* 2011. V. 32. P. 1435–1442.
 65. An K., Klyubin I., Kim Y., Jung J., Mably A., O'Dowd S., Lynch T., Kanmert D., Lemere C., Finan G., Park J., Kim T., Walsh D., Rowan M., Kim J. // *Mol. Brain.* 2013. V. 6. P. 47.
 66. Yuyama K., Sun H., Mitsutake S., Igarashi Y. // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 10977–10989.
 67. Fiandaca M., Kapogiannis D., Mapstone M., Boxer A., Eitan E., Schwartz J., Abner E., Petersen R., Federoff H., Miller B., Goetzl E. // *Alzheimers Dement.* 2015. V. 11. P. 600–607.
 68. Lugli G., Cohen A., Bennett D., Shah R., Fields C., Hernandez A., Smalheiser N. // *PLoS One.* 2015. V. 10.
 69. Gui Y., Liu H., Zhang L., Lv W., Hu X. // *Oncotarget.* 2015. V. 6. P. 37043–37053.
 70. El-Agnaf O., Salem S., Paleologou K., Cooper L., Fullwood N., Gibson M., Curran M., Court J., Mann D., Ikeda S., Cookson M., Hardy J., Allsop D. // *FASEB J.* 2003. V. 17. P. 1945–1947.
 71. Emmanouilidou E., Melachroinou K., Roumeliotis T., Garbis S., Ntzouni M., Margaritis L., Stefanis L., Vekrellis K. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. P. 6838–6851.
 72. Stuenkel A., Kunadt M., Kruse N., Bartels C., Moebius W., Danzer K., Mollenhauer B., Schneider A. // *Brain.* 2016. V. 139. P. 481–494.
 73. Danzer K., Kranich L., Ruf W., Cagsal-Getkin O., Winslow A., Zhu L., Vanderburg C., McLean P. // *Mol. Neurodegener.* 2012. V. 7. P. 42.
 74. Shi M., Liu C., Cook T., Bullock K., Zhao Y., Ginghina C., Li Y., Aro P., Dator R., He C., Hipp M., Zabetian C., Peskind E., Hu S., Quinn J., Galasko D., Banks W., Zhang J. // *Acta Neuropathol.* 2014. V. 128. P. 639–650.
 75. Prusiner S.B. // *Trends Biochem. Sci.* 1996. V. 21. P. 482–487.
 76. Fevrier B., Vilette D., Archer F., Loew D., Faigle W., Vidal M., Laude H., Raposo G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004. V. 101. P. 9683–9688.
 77. Vella L., Sharples R., Lawson V., Masters C., Cappai R., Hill A. // *J. Pathol.* 2007. V. 211. P. 582–590.
 78. Alais S., Simoes S., Baas D., Lehmann S., Raposo G., Darlix J., Leblanc P. // *Biol. Cell.* 2008. V. 100. P. 603–615.
 79. Saá P., Yakovleva O., de Castro J., Vasilyeva I., Simak J., De Paoli S.H., Cervenakova L. // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. P. 29247–29260.
 80. Cervenakova L., Saá P., Yakovleva O., Vasilyeva I., de Castro J., Brown P., Dodd R. // *Transfus. Apher. Sci.* 2016. V. 55. P. 70–83.
 81. Guo B., Bellingham S., Hill A. // *J. Biol. Chem.* 2016. V. 291. P. 5128–5137.
 82. Bellingham S., Coleman B., Hill A. // *Nucleic Acids Res.* 2012. V. 40. P. 10937–10949.
 83. Leigh P., Anderton B., Dodson A., Gallo J., Swash M., Power D. // *Neurosci. Lett.* 1988. V. 93. P. 197–203.
 84. Okamoto K., Mizuno Y., Fujita Y. // *Neuropathology.* 2008. V. 28. P. 109–115.
 85. Radunović A., Leigh P.N. // *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord.* 1999. V. 1. P. 45–49.
 86. Bosco D.A., Morfini G., Karabacak N., Song Y., Gros-Louis F., Pasinelli P., Goolsby H., Fontaine B., Lemay N., McKenna-Yasek D., Frosch M., Agar J., Julien J., Brady S., Brown R. // *Nat. Neurosci.* 2010. V. 13. P. 1396–1403.
 87. Arai T., Hasegawa M., Akiyama H., Ikeda K., Nonaka T., Mori H., Mann D., Tsuchiya K., Yoshida M., Hashizume Y., Oda T. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. V. 22. P. 602–611.
 88. DeJesus-Hernandez M., Mackenzie I., Boeve B., Boxer A., Baker M., Rutherford N., Nicholson A., Finch N., Flynn H., Adamson J., Kouri N., Wojtas A., Sengdy P., Hsiung G., Karydas A., Seeley W., Josephs K., Coppola G., Geschwind D., Wszolek Z., Feldman H., Knopman D., Petersen R., Miller B., Dickson D., Boylan K., Graff-Radford N., Rademakers R. // *Neuron.* 2011. V. 72. P. 245–256.
 89. Renton A., Majounie E., Waite A., Simón-Sánchez J., Rollinson S., Gibbs J., Schymick J., Laaksovirta H., van Swieten J., Myllykangas L., Kalimo H., Paetau A.,

- Abramzon Y., Remes A., Kaganovich A., Scholz S., Duckworth J., Ding J., Harmer D., Hernandez D., Johnson J., Mok K., Ryten M., Trabzuni D., Guerreiro R., Orrell R., Neal J., Murray A., Pearson J., Jansen I., Sondervan D., Seelaar H., Blake D., Young K., Halliwell N., Callister J., Toulson G., Richardson A., Gerhard A., Snowden J., Mann D., Neary D., Nalls M., Peuralinna T., Jansson L., Isoviiita V., Kaivorinne A., Hölttä-Vuori M., Ikonen E., Sulkava R., Benatar M., Wu J., Chiò A., Restagno G., Borghero G., Sabatelli M. // *Neuron*. 2011. V. 72. P. 257–268.
90. Ciura S., Lattante S., Le Ber I., Latouche M., Tostivint H., Brice A., Kabashi E. // *Ann. Neurol.* 2013. V. 74. P. 180–187.
91. Liguori M., Nuzziello N., Licciulli F., Consiglio A., Simone M., Viterbo R., Creanza T., Ancona N., Tortorella C., Margari L., Grillo G., Giordano P., Liuni S., Trojano M. // *Hum. Mol. Genet.* 2018. V. 27. P. 66–79.
92. De Felice B., Manfellotto F., Fiorentino G., Annunziata A., Biffali E., Pannone R., Federico A. // *Front. Genet.* 2018. V. 14. P. 310.
93. Heneka M., Kummer M., Latz E. // *Nat. Rev. Immunol.* 2014. V. 14. P. 463–477.
94. Lewis C., Manning J., Rossi F., Krieger C. // *Neurol. Res. Int.* 2012. V. 12. P. 803701.
95. Beers D., Henkel J., Zhao W., Wang J., Huang A., Wen S., Liao B., Appel S. // *Brain*. 2011. V. 134. P. 1293–1314.
96. Mondola P., Annella T., Santillo M. // *Cell. Biol.* 1996. V. 28. P. 677–681.
97. Lafon-Cazal M., Adjali O., Gal. 677h.g, Poncet J., Jouin P., Homburger V., Bockaert J., Marin P. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 24438–24448.
98. Turner B., Atkin J., Farg M., Zang D., Rembach A., Lopes E., Patch J., Hill A., Cheema S. // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. P. 108–117.
99. Urushitani M., Sik A., Sakurai T., Nukina N., Takahashi R., Julien J. // *Nat. Neurosci.* 2006. V. 9. P. 108–118.
100. Basso M., Pozzi S., Tortarolo M., Fiordaliso F., Bisighini C., Pasetto L., Spaltro G., Lidonnici D., Gensano F., Battaglia E., Bendotti C., Bonetto V. // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. P. 15699–15711.
101. Jacobsson J., Jonsson P., Andersen P., Forsgren L., Marklund S. // *Brain*. 2001. V. 124. P. 1461–1466.
102. Gomes C., Keller S., Altevogt P., Costa J. // *Neurosci. Lett.* 2007. V. 428. P. 43–46.
103. Grad L., Yerbury J., Turner B., Guest W., Pokrishevsky E., O'Neill M., Yanai A., Silverman J., Zeineddine R., Corcoran L., Kumita J., Luheshi L., Yousefi M., Coleman B., Hill A., Plotkin S., Mackenzie I., Cashman N. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014. V. 111. P. 3620–3625.
104. Nonaka T., Masuda-Suzukake M., Arai T., Hasegawa Y., Akatsu H., Obi T., Yoshida M., Murayama S., Mann D., Akiyama H., Hasegawa M. // *Cell. Rep.* 2013. V. 4. P. 124–134.
105. Iguchi Y., Katsuno M., Takagi S., Ishigaki S., Niwa J., Hasegawa M., Tanaka F., Sobue G. // *Neurobiol. Dis.* 2012. V. 45. P. 862–870.
106. Feneberg E., Steinacker P., Lehnert S., Schneider A., Walther P., Thal D., Linsenmeier M., Ludolph A., Otto M. // *Amyotroph. Lateral. Frontotemporal Degener.* 2014. V. 15. P. 351–356.
107. Feiler M., Strobel B., Freischmidt A., Helferich A., Kappel J., Brewer B., Li D., Thal D., Walther P., Ludolph A., Danzer K., Weishaupt J. // *J. Cell. Biol.* 2015. V. 211. P. 897–911.
108. Iguchi Y., Eid L., Parent M., Soucy G., Bareil C., Riku Y., Kawai K., Takagi S., Yoshida M., Katsuno M., Sobue G., Julien J. // *Brain*. 2016. V. 139. P. 3187–3201.
109. Zarfati M., Katz T., Avivi I., Brenner B., Aharon A. // *Thromb. Res.* 2016. V. 140. Suppl 1. P. S1932016.
110. Westergard T., Jensen B., Wen X., Cai J., Kropf E., Iacovitti L., Pasinelli P., Trotti D. // *Cell. Rep.* 2016. V. 11. P. 645–652.
111. Pinto S., Cunha C., Barbosa M., Vaz A., Brites D. // *Front. Neurosci.* 2017. V. 11. P. 273.
112. Xu Q., Zhao Y., Zhou X., Luan J., Cui Y., Han J. // *Intractable Rare Dis. Res.* 2018. V. 7. P. 13–18.
113. Marconi S., Bonaconsa M., Scambi I., Squintani G., Rui W., Turano E., Ungaro D., D'Agostino S., Barbieri E., Angiari S., Farinazzo A., Constantini G., Del Carro U., Bonetti B., Mariotti R. // *Neuroscience*. 2013. V. 248. P. 333–343.
114. Bonafede R., Scambi I., Peroni D., Potrich V., Boschi F., Benati D., Bonetti B., Mariotti R. // *Exp. Cell Res.* 2016. V. 340. P. 150–158.

Exosomal Transport and Progression of Neurodegeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis

**M. V. Ivanova^{a, #}, E. O. Chekanova^a, B. V. Belugin^b, I. L. Tutykhina^b, I. V. Dolzhikova^b,
I. V. Zakroishchikova^a, A. V. Vasil'ev^a, and M. N. Zakharova^a**

^aResearch Center of Neurology, Moscow, Russia

^bGamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Healthcare, Moscow, Russia

[#]e-mail: fspubl@gmail.com

Received November 30, 2018;

Revised February 15, 2019;

Accepted February 25, 2019

In recent years, increasing attention has been paid to the study of the communication between cells in the nervous system with extracellular vesicles, including exosomes, under physiological and pathological conditions.

Exosomes represent small extracellular vesicles ranging in size from 50 to 200 nm, which are secreted by most cell types and provide communication between cells by transporting proteins, lipids, and RNA to target cells. In addition, they perform antigen-presenting, signaling functions and can act as anti-inflammatory or pro-inflammatory agents. Data has been accumulated on the role of exosomes in the development of the pathological process in nervous system diseases, primarily brain tumors and neurodegenerative diseases. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive fatal disease in which the selective death of motor neurons occurs. ALS inevitably leads to disruption of the functioning of the muscles performing vital functions and death of the patient in several years. The mechanisms underlying the death of motor neurons and the spread of the pathological process are not clear. It is impossible to predict the rate of disease progression and the probable life expectancy of the patient. The most important mechanisms of ALS development include the accumulation of aggregates of pathological proteins in neuronal bodies and impaired RNA metabolism. The possibility of transfer of pathological proteins and other molecules associated with the development of ALS through exosomes has been proven. This review provides an overview of studies on exosomes in different CNS diseases. The mechanisms of progression and spreading of the neurodegenerative process in ALS focusing on the role exosomes and potential biomarkers of the disease present in the exosomal fraction are discussed.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, ALS, exosomes, extracellular vesicles, neurodegeneration, pathological proteins