

УДК 576.54, 615.038, 616.8-085.2/.3

STATE-OF-THE-ART: ПРИМЕНЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ И ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ И СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ

© 2023 г. Н. А. Басалова^{1, 2}, С. С. Джауари², Ю. А. Юршев², А. Л. Примак²,
А. Ю. Ефименко^{1, 2, *}, В. А. Ткачук^{1, 2}, М. Н. Карагяур^{1, 2, *}

¹Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Поступила в редакцию 02.06.2023 г.

После доработки 03.06.2023 г.

Принята к публикации 04.06.2023 г.

Внеклеточные везикулы представляют собой макромолекулярные комплексы, продуцируемые практически всеми типами эукариотических и прокариотических клеток. Согласно современным представлениям, они позволяют клеткам обмениваться информацией, регулировать активность друг друга и координировать свои действия в процессах развития организма, поддержания гомеостаза, регенерации тканей и пр. Внеклеточные везикулы обладают рядом уникальных свойств: способностью накапливать определенные типы белков и нуклеиновых кислот, защищать их от деградаци и обеспечивать их доставку в целевые клетки, что может быть использовано при создании биомиметических подходов к терапии широкого спектра заболеваний. Состав везикул, предпочтение к докингу с определенным типом клеток и, в конечном счете, их терапевтический потенциал являются очень гибкими параметрами и в высокой степени зависят от типа и свойств культуры клеток-продуцентов, а также условий культивирования. Данный обзор дает представление о состоянии и перспективности терапевтических стратегий, предполагающих использование внеклеточных везикул для нейропротекции и стимуляции регенерации ткани головного мозга после повреждения, а также рассматривает существующие клинические исследования с применением внеклеточных везикул в области неврологии и нейрохирургии. Особое внимание в обзоре уделено новым перспективным подходам к увеличению продукции внеклеточных везикул, манипуляции их содержанием и увеличению эффективности направленного докинга с целью увеличения их терапевтической активности и специфичности.

Ключевые слова: внеклеточные везикулы, ESCRT, нейропротекция, нейровоспаление, мезенхимные стромальные клетки, нейральные стволовые клетки

DOI: 10.31857/S1027813323040076, EDN: SXVPPH

ВВЕДЕНИЕ

Увеличение средней продолжительности жизни коррелирует с ростом частоты встречаемости сосудистых патологий головного мозга: острых и хронических нарушений мозгового кровообращения [1]. Ряд данных заболеваний (геморрагический инсульт) и их отсроченных последствий (демиелинизирующие и нейродегенеративные состояния) на сегодняшний день не имеют эффективной патогенетической терапии и являются нерешенной медицинской проблемой [2, 3].

В то же время, исследования последних лет показывают, что создание препаратов, способных замедлить прогрессирование повреждения мозговой ткани и стимулировать ее регенерацию, принципиально возможно [4–6]. В частности, основой для их создания могут стать нейральные стволовые клетки (НСК) и мезенхимные стволовые/стромальные клетки (МСК) или продукты их секреции, содержащие широкий спектр биологически активных веществ и молекулярных комплексов, переносимых в виде растворимых факторов и в составе внеклеточных везикул (ВВ) [4–6]. Множество исследований, как *in vitro*, так и *in vivo*, демонстрируют, что компоненты секреторного комплекса обладают нейропротективными и противовос-

* Адресат для корреспонденции: 119192, Россия, Москва, Ломоносовский проспект, 27/10, e-mail: efimenkoay@my.msu.ru, m.karagyaour@mail.ru.

палительными свойствами, т.е. способны препятствовать развитию патогенетических механизмов, характерных для острейшего и острого периодов в клинике повреждений мозговой ткани [7, 8]. Помимо этого, компоненты секрета способны стимулировать восстановление на подострой и хронической стадиях поврежденной мозговой ткани, запуская процессы ангиогенеза, нейрогенеза и активируя резидентные стволовые клетки [9, 10].

Растворимые факторы и молекулярные комплексы (прежде всего, везикулы), входящие в состав секрета стволовых клеток, обладают различными механизмами действия и динамикой реализации биологического эффекта, и вследствие этого функционально дополняют друг друга. Так, нейротрофические факторы роста и цитокины в составе секрета в основном обеспечивают немедленный эффект секрета (нейропротекция в острейшем и остром периоде) через активацию специфических рецепторов и сигнальных каскадов [11, 12], однако, продолжительность такого эффекта невелика ввиду быстрой деградации этих белковых молекул в очаге повреждения. Большинство белков, входящих в состав растворимой фракции секрета, не способно проникать через гематоэнцефалический барьер [13].

Компоненты везикулярной фракции секрета (экзосомы, микровезикулы и пр.) обладают принципиально другим механизмом реализации биологической активности: прежде всего, они переносят кодирующие и не кодирующие регуляторные РНК, которые, проникая внутрь целевых клеток, способны изменять транскрипционную активность последних [14, 15]. Это позволяет управлять поведением клеток и/или изменять их свойства на достаточно длительный период времени, что необходимо для полноценной регенерации поврежденной ткани. Везикулы обладают и другим важным для реализации нейропротективной активности свойством — способностью проникать через гематоэнцефалический барьер [16, 17], что потенциально позволяет им достигать поврежденных клеток в очаге повреждения, даже при внутривенном введении. Совокупность свойств ВВ позволяет рассматривать их, как основу для разработки перспективных лекарственных кандидатов для нейропротекции и профилактики осложнений после повреждения нервной ткани.

Более того, активное развитие молекулярно-биологических и клеточных технологий позволяет многократно усилить потенциал технологии ВВ. Так, на сегодняшний день реальностью стали как подходы, увеличивающие эффективность загрузки ВВ необходимыми молекулами и повышающие специфичность их докинга с целевыми клетками, так и подходы к направленному изменению условий культивирования клеток, усили-

вающие продукцию ВВ [18, 19]. Высокий терапевтический потенциал препаратов на основе ВВ, а также взрывной рост достижений в этой области подтолкнул нас к написанию данного обзора, в котором мы хотим рассмотреть накопленный опыт, перспективы и ограничения применения таких препаратов в терапии повреждений мозговой ткани.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ: ПОДТИПЫ И МЕХАНИЗМЫ БИОГЕНЕЗА

Механизм передачи информации посредством продукции и захвата ВВ является консервативным и встречается у всех живых организмов от прокариот до высших эукариот [20]. Изначально секреция ВВ рассматривалась лишь как способ утилизации ненужных клетке компонентов, однако сейчас их считают важнейшим способом коммуникации между клетками. На сегодняшний день известно, что ВВ переносят от клетки к клетке в неизменном состоянии рецепторы, факторы роста, липидные комплексы, нуклеиновые кислоты (включая различные типы РНК), делая возможной одновременную передачу нескольких различных типов сигнальных молекул в нативном виде [20–22].

Морфологически ВВ представляют собой покрытые билипидной мембраной полые пузырьки [23, 24]. Их классификация в настоящее время базируется на биогенезе, размере и биологических функциях (табл. 1). Основываясь на этих параметрах, выделяют множество типов ВВ [20, 25]. Однако в терапевтическом применении важнейшими уже долгое время остаются следующие два основных класса: экзосомы и микровезикулы [25, 26].

В отличие от микровезикул, которые имеют размеры 100–1000 нм и “отпочковываются” непосредственно от плазматической мембраны, экзосомы имеют существенно меньший размер (около 50–150 нм) и синтезируются в эндолизосомальном компартменте, также называемом компартментом мультивезикулярных телец (multivesicular endosomes, MVBs) [27]. Биогенез экзосом принято сейчас разделять на несколько параллельных независимых путей, в частности, ESCRT (endosomal sorting complex required for transport)-зависимый механизм и ESCRT-независимый путь, задействующий тетраспанины [20, 28].

ВВ разных типов не имеют уникальных специфических маркеров, поскольку все маркеры, предложенные на данный момент для идентификации, могут быть в той или иной степени экспонированы как на экзосомах, так и на микровезикулах. Выделение и очистка ВВ может быть выполнена различными методами, включая такие как ультрацентрифугирование, ультрафильтрация, цен-

Таблица 1. Характеристика основных типов ВВ [22, 25]

Тип везикул	Характеристики			
	происхождение	размер, нм	маркеры	содержимое
Экзосомы	Эндолизосомальный путь; интралюминальное отпочковывание в мультивезикулярном компартменте и слияние частиц с плазматической мембраной	50–150	Тетраспанины (напр. TSPAN29 и TSPAN30), ESCRT, PDCD6IP, TSG101, флотилин	мРНК, миРНК цитоплазматические и мембранные белки, включая рецепторы и МНС молекулы
Микровезикулы	Клеточная мембрана, отпочковывание напрямую от плазматической мембраны	100–1000	Интегрины, селектины, CD40 лиганд	мРНК, миРНК цитоплазматические и мембранные белки, включая рецепторы
Апоптотические везикулы и тельца	Клеточная мембрана; в процессе пузырения клеток, вступивших в апоптоз	100–5000	Значительное количество фосфатидилсерина	Любые фрагменты клеток, включая фрагменты клеточных органелл

трифугирование в градиенте сахарозы, иммунопреципитация, высокоэффективная жидкостная хроматография и другие [29]. Разнообразие методов выделения ВВ, отсутствие специфических маркеров и стандартных протоколов по выделению, приводит к получению “смешанных” фракций и появлению проблемы правильной интерпретации результатов. Поскольку на сегодняшний день не представляется возможным 100% четкое разделение фракции ВВ на экзосомы и мультивезикулярные тельца, во многих статьях термин “внеклеточные везикулы” используется для обозначения обоих типов.

МЕХАНИЗМЫ СОРТИРОВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ВО ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ

Содержимое ВВ варьирует в зависимости от их типа, свойств и условий культивирования клеток-продуцентов [30]. Необходимым условием создания препаратов на основе ВВ является разработка подходов к получению терапевтически значимых количеств ВВ с относительно постоянным составом по ключевым активным (действующим) молекулам. Большая часть содержимого ВВ оказывается в них посредством отщуривания участка цитоплазмы и, соответственно, может включать практически любой из компонентов цитоплазмы [31]. Таким образом, во ВВ попадают цитоплазматические белки, мРНК и некодирующие РНК, однако существует ряд природных механизмов, которые обогащают содержимое ВВ (прежде всего, это касается экзосом) определенными типами белков и РНК. Изучение данных механизмов, поиск подходов к манипуляции ими и разработка новых биомиметических подходов с

высокой вероятностью позволят приблизить создание целого ряда препаратов для коррекции острых и хронических патологий нервной системы.

Как и следует из названия при ESCRT-опосредованном механизме образования экзосом ключевую роль в направленной сортировке белков в везикулы выполняют компоненты системы ESCRT (ESCRT-0/-I/-II/-III), которые, идентифицируя меченные белки, стягивают их в формирующиеся экзосомы [32, 33]. Существует множество указаний на то, что основным способом мечения сортируемых белков являются их пост-трансляционные модификации (ПТМ), при этом большое количество белков-участников системы ESCRT (порядка 20) и их уникальные свойства позволяют системе ESCRT распознавать широкий спектр ПТМ [34]. Так, компоненты ESCRT-0/-I/-II распознают белки, убиквитинилированные по остатку Lys-63 [35]. Данный тип убиквитинилирования осуществляют убиквитинлигазы семейства Nedd4, распознающие сигнальную пептидную последовательность PPxY [36]. SUMOилирование белков, т.е. их конъюгация с белком SUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) посредством SUMO-конъюгирующих ферментов (например, UBC9), также является одним из способов мечения белков, подлежащих сортировке в экзосомы [37]. Предполагают, что ключевую роль в сортировке SUMOилированных белков в формирующиеся ВВ выполняют компоненты ESCRT-III [38]. Одним из белков, который транспортируется в экзосомы по данному механизму является гетерогенный ядерный нуклеопротеин hnRNP2B1, который считается ключевым участником направленного транспорта микроРНК и днРНК (длинных некодирующих РНК) во ВВ [39].

Сигналом к сортировке белков в экзосомы могут служить и другие виды ПТМ: фосфорилирование (с участием сериновых, тирозиновых и треониновых киназ) [40], N-гликозилирование остатками маннозы и полилактозы (осуществляется ферментами семейства N-ацетилглюкозаминилтрансфераз) [41] и, по-видимому, цитруллинирование остатков аргинина (осуществляет фермент пептидил-аргинин-деаминаза) [42].

Строгого доказательства роли цитруллинирования белков в мечении их для системы ESCRT нет, однако в пользу этого косвенно свидетельствует высокое содержание таких белков во ВВ (фибронектин, $\alpha 2$ -микроглобулин, фибриноген, отдельные цепи иммуноглобулинов) [43]. Стоит отметить, что ни один из видов ПТМ белков, подлежащих сортировке во ВВ, не является универсальным — эффект такой модификации во многом определяется ее характером (например, убиквитинилирование по остаткам Lys-46 или -63), свойствами белка-мишени, типом клеток и соотношением в ней отдельных компонентов системы ESCRT [40–44]. Система сортировки содержимого ВВ является тонко настроенным механизмом и многое в ее функционировании и регуляции пока остается неясным.

В ряде случаев активная сортировка белков во ВВ может играть и негативную роль, опосредуя загрузку во ВВ патогенных молекул, что приводит к диссеминации патогена и способствует более быстрому прогрессированию заболевания. Так, было показано, что Nedd4-зависимое убиквитинилирование является необходимым условием сортировки вирусных белков (ретровирусов и вируса Эпштейн–Барра) во ВВ [45], SUMOилирование играет важную роль в везикул-опосредованной диссеминации α -Синуклеина и прогрессировании болезни Паркинсона [46], а фосфорилирование Тау-белка по остатку Thr-1801 способствует его упаковке в формирующиеся экзосомы и ускоряет течение болезни Альцгеймера [47].

Помимо ПТМ сортировка отдельных белков во ВВ может определяться наличием у них определенных белковых доменов: WW-домен и Coiled coil-домен [44]. Механизм сортировки таких белков, по-видимому, обусловлен их белок-белковыми взаимодействиями с ПТМ-мечеными белками с последующим транспортом образовавшихся комплексов в везикулы.

Существует и ESCRT-независимый путь формирования ВВ, в котором задействованы тетраспанины, сфинголипиды и церамиды, однако механизм его функционирования пока не полностью понятен. Показано, что тетраспанины способны формировать в мембране “островки” (участки повышенной со-локализации), вызывая искривление поверхности мембраны, а связанные с ними белки цитоскелета способствуют смыка-

нию краев и отпочковыванию экзосом [48]. Было показано, что важную роль в латеральном взаимодействии тетраспанинов играют их ПТМ: пальмитолеирование и миристилирование [48, 49]. Что касается загрузки ВВ, образующихся по ESCRT-независимому механизму, то она, по-видимому, обусловлена способностью тетраспанинов взаимодействовать с мембранными белками и белками цитоскелета с последующей их со-локализацией в экзосомы [48]. При этом было показано, что моно- и полиубиквитинилирование сортируемых белков увеличивает вероятность их упаковки в экзосомы. Каждый из тетраспанинов обладает сродством к определенному спектру белков, что и обеспечивает вариабельность состава таких экзосом в зависимости от типа клеток-продуцентов и их физиологического состояния.

Для сортировки кодирующих и регуляторных РНК в экзосомы было показано несколько механизмов, большинство из которых включает ко-транспорт с РНК-связывающим белком (белки семейства hnRNP, YBX1, белки аргонавты Ago2 и др.) [39, 44]. Так, белки hnRNPA1 и hnRNPA2B1 способны распознавать и связывать молекулы РНК, содержащие GAGAG/GGAG-последовательности, соответственно [50, 51]. В ряде работ было также установлено, что существуют и альтернативные механизмы транспорта микроРНК в экзосомы, обусловленные аденилированием или уридилированием (в зависимости от типа клеток-продуцентов) 3'-конца микроРНК, а также активностью нейтральной сфингомиелиназы 2 и продукцией церамида, однако детали функционирования этих механизмов изучены недостаточно [44].

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ И ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ЦНС

В нервной системе ВВ являются важными участниками межклеточной коммуникации и играют важную роль в поддержании и восстановлении нейронных функций [52, 53]. С бурным технологическим развитием ВВ стали использовать для расширения терапевтических возможностей, например, для адресной доставки лекарств [54, 55]. В контексте систем доставки клиническое одобрение получили и некоторые хорошо зарекомендовавшие себя синтетические наноструктуры, такие как липосомы [56]. Однако важно уточнить, что их терапевтические эффекты оказались ограничены из-за активации систем врожденного иммунитета и быстрого выведения из крови [57]. В сравнении с синтетическими системами доставки лекарств, ВВ представляют собой более сложную и биосовместимую форму доставки и менее иммуногенны, а различные поверхностные мембранные молекулы ВВ позволяют им преодо-

левать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и адресно доставлять свое содержимое к клеткам-мишеням [58–60]. Указанные свойства ВВ демонстрируют их огромный терапевтический потенциал при лечении заболеваний центральной нервной системы (ЦНС).

Патофизиологические механизмы, лежащие в основе неврологических заболеваний достаточно сложны и некоторые из них еще предстоит досконально изучить. Важной особенностью патологий головного мозга является то, что, в целом, для них характерны одни и те же патогенетические/патофизиологические звенья, а различия в клинической картине по большей части обусловлены преобладанием того или иного патологического процесса или процессов, областью и объемом повреждения. Так, для острых повреждений головного мозга (инсульты, травмы головного мозга, острые интоксикации и инфекционные болезни) ключевыми звеньями патогенеза являются ишемическое, глутамат-опосредованное и гемоглобин-опосредованное повреждение нейронов, нарушение гематоэнцефалического барьера и нейровоспаление, которые в совокупности приводят ко вторичному повреждению мозговой ткани и расширению первичного очага повреждения [61, 62]. При хроническом повреждении (нейродегенеративные и демиелинизирующие заболевания) в патогенезе преобладают играют нейровоспаление и ишемическое повреждение мозговой ткани [63]. Общность патогенетических механизмов, лежащих в основе острых и хронических повреждений головного мозга, позволяет предположить, что лекарственный кандидат, обладающий комплексным действием и препятствующий развитию таких патологических процессов, может оказаться действенным универсальным средством для лечения широкого спектра повреждений мозговой ткани и профилактики возможных осложнений.

Первоначально для стимуляции нейропротекции и стимуляции процессов регенерации в нервной ткани после повреждения были предложены методы клеточной терапии, в том числе, с использованием МСК [64, 65]. МСК благодаря своей паракринной активности регулируют иммунный ответ, индуцируют ангиогенез и обеспечивают трофическую поддержку поврежденных нейронов, обеспечивая восстановление и регенерацию нервной ткани, поэтому они были исследованы в качестве потенциальных терапевтических агентов для лечения широкого спектра неврологических нарушений [66].

Безопасность при внутривенном введении МСК была подтверждена в клинических испытаниях, но терапевтический эффект данного вида клеточной терапии в группах пациентов оказался ограничен [67, 68]. Так, например, после систем-

ного введения большинство стволовых клеток задерживаются в капиллярах или периферических органах, таких как легкие, печень и селезенка [69]. Существуют и другие ограничения клеточной терапии (в первую очередь, низкая выживаемость трансплантированных клеток, снижение их регенераторного потенциала при пассивировании *in vitro*, возможные иммунологические осложнения, сложность хранения и т.д.), большинство из которых могут быть преодолены заменой клеточной терапии на бесклеточную, основу которой составляют факторы роста/цитокины и ВВ, продуцируемые клетками, в частности МСК.

Следует отметить, что ВВ, содержащие широкий набор нейропротективных и прорегенераторных молекул, могут продуцировать не только МСК. Недавние исследования показали, что ВВ, полученные из НСК, вводимые как в пределах, так и вне терапевтического окна тромболизиса, приводили к значительному уменьшению объема ишемического повреждения мозга, демонстрируя лучшие терапевтические эффекты в сравнении с ВВ, выделенными из МСК [70]. Модифицированные ВВ НСК, “нагруженные” трифторидирином (важным фактором для развития олигодендроцитов) стимулировали ремиелинизацию при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите в модели рассеянного склероза на животных [71]. Кроме того, был разработан инъекционный гидрогель на основе гиалуроновой кислоты для доставки ВВ НСК в головной мозг после инсульта [72]. Однако, учитывая этические и методические вопросы, связанные с выделением НСК, данные клетки не являются оптимальным выбором в качестве источника терапевтических ВВ. Получение НСК из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иНСК) могло бы стать решением данной проблемы, но массовое производство иНСК-ВВ для клинического использования все еще является нетривиальной задачей. По-видимому, одним из наиболее доступных источников ВВ для терапии мозговой ткани после повреждения являются МСК, выделенные из костного мозга, жировой ткани или пупочного канатика.

В широком спектре исследований был показан нейропротекторный эффект ВВ МСК на различных доклинических моделях неврологических нарушений [73–75]. Полученные в ходе этих исследований данные создали предпосылки для клинических исследований (КИ) препаратов на основе ВВ МСК. Так, на данный момент зарегистрированы КИ терапевтических средств на основе ВВ для коррекции следующих неврологических расстройств: NCT04388982 (болезнь Альцгеймера), NCT03384433 (цереброваскулярные расстройства) и NCT05490173 (нарушения развития нервной системы). В этих КИ использовались ВВ, выделенные из МСК разных тканей, и при-

менялись разные пути введения: для лечения болезни Альцгеймера использовались МСК жировой ткани (интраназальный путь введения), в то время как для терапии цереброваскулярных нарушений — МСК костного мозга (внутривенный путь введения). В КИ NCT03384433 (цереброваскулярные расстройства) был применен подход генной терапии — использовались ВВ аллогенных МСК, трансфицированные miR-124. Согласно данным ресурса Clinicaltrials.gov, продолжается набор в группы исследования и полученные в ходе КИ результаты пока закрыты.

ПЕРСПЕКТИВЫ, ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ И ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

Состав и терапевтические свойства везикул зависят от свойств культуры клеток-продуцентов и условий культивирования. Идеальными источниками ВВ для стимуляции восстановления ЦНС кажутся НСК или клетки глии ввиду их высокого потенциала к нейрогенной дифференцировке и поддержанию ниши НСК [76–78]. Однако ввиду существующих этических и медицинских ограничений при получении данных типов клеток высока потребность в альтернативных источниках столовых клеток с аналогичным регенераторным потенциалом. Перспективными источниками считаются МСК, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) или их производные. Было показано, что ВВ из этих источников обладают сходным регенеративным действием на мозг, при этом могут быть получены путем минимально инвазивных процедур [79–81]. В экспериментальных статьях и обзорах последних лет активно проводятся сравнения клеток различных источников, однако четкого консенсуса по данному вопросу на сегодняшний день не существует [82, 83].

Помимо тканевого источника немаловажным является и “качество” ниши клеток-продуцентов ВВ. Показано, что при выделении из “поврежденной” ниши клетки могут иметь т.н. “активированное” состояние и кардинально изменять состав своего секретомы [84–86]. Так, например, показано, что ВВ из МСК, выделенных из нормальной или опухолевой ниши имеют противоположный эффект на развитие опухоли, ингибируя или стимулируя его, соответственно [85]. В составе ВВ, выделенных из клеток мозга мыши после моделирования его травматического повреждения, экспрессия miRНК-212 снижалась, в то время как miRНК-21, miRНК-146, miRНК-7a и miRНК-7b значительно увеличивались по сравнению с ВВ от контрольных клеток, что может приводить к активации микроглии [86].

Другим важным фактором, влияющим на качество получаемых ВВ, является возраст донора, от которого получены клетки-продуценты. Показано, что ВВ от клеток, выделенных из тканей взрослых и молодых пациентов, по-разному влияют на регенерацию. Например, ВВ из старых тканей хуже поглощаются клетками-реципиентами [87], имеют сниженную способность к регуляции иммунного ответа [88,89] и дифференцировки клеток [90,91]. Также известно, что по мере старения нейроны демонстрируют снижение своей способности к микро- и макроаутофагии, что приводит к накоплению больших мультивезикулярных телец, заполненных везикулами, большей продукции ВВ такими нейронами, при этом как это влияет на состав ВВ не установлено [92].

Подходы к усилению продукции везикул. Современная терапия зачастую предполагает повторное введение высоких доз ВВ. Поэтому ключевыми при работе с клетками-продуцентами ВВ на сегодняшний день являются методы, позволяющие количественно увеличивать секрецию ВВ клетками. Известным является тот факт, что добавление ряда веществ к культурам клеток-продуцентов приводит к увеличению секреции ВВ. Так, ранее в нашем коллективе было показано, что добавление фактора роста, полученного из тромбоцитов (PDGF-BB) [93], в культуральную среду МСК стимулирует секрецию ВВ этими клетками и увеличивает их ангиогенные свойства. Активация Src сигнального пути также способствует образованию везикул в компартменте мультивезикулярных телец, что приводит к усилению секреции экзосом [94]. Ряд препаратов, таких как метформин, гепараназа или уролитин А и В потенциально могут способствовать биогенезу и секреции экзосом [95–97]. Существуют данные о том, что культивирование МСК в присутствии экстракта нормального или ишемизированного мозга крысы в сравнении с контрольной средой, содержащей ДМЕМ и фетальную бычью сыворотку, приводило к увеличению секреции микроРНК, связанных с нейрогенезом (miRНК-134, miRНК-137 и miRНК-184), а ВВ, полученные таким способом обладали более выраженными нейротропными свойствами по сравнению с ВВ от МСК, культивированных в контрольной среде [98, 99].

Другим широко используемым подходом для увеличения секреторной активности клеток является 3D-культивирование в виде сфероидов как на гидрофобных покрытиях, так и в специальных U-образных планшетах или в биореакторах [100–102]. В ряде работ было показано, что культивирование МСК в виде сфероидов приводит не только к увеличению количества секретируемых ВВ, но и к повышению в них содержания нейротропных, противовоспалительных и антиапоптотических факторов по сравнению с ВВ, по-

лученными от 2D-адгезивных монослойных культур МСК [103]. Протеомный анализ ВВ-МСК также подтверждает, что 3D-культивирование МСК увеличивает секрецию ряда важнейших нейротрофических молекул, включая BDNF, VEGF, NGF, IGF-1, а также микроРНК-16. Показано, что секретом таких клеток увеличивает уровень пролиферации НСК и стимулирует их дифференцировку в нейроны *in vivo* и *in vitro* [104, 105].

Активно разрабатываемым направлением является управление секрецией ВВ через белки, вовлеченные в их биогенез [106, 107]. Так, гиперэкспрессия адаптероподобного белка KIBRA, стабилизирующего белок Rab27a, приводит к увеличению секреции ВВ в клетках mouse hippocampal neuronal cell line (HT22) [108], а подавление белка Rab35 в олигодендроцитах приводит к внутриклеточному накоплению эндосомальных везикул, что нарушает докинг MBV и секрецию экзосом [107].

Экспериментально было установлено, что гиперэкспрессия белков комплекса ESCRT, таких как TSG101, и Alix не приводит к увеличению секреции экзосом (30–100 нм), в отличие от гиперэкспрессии CD9 в ряде клеток, в частности в линии клеток нейробластомы человека SH-SY5Y [109]. В другом исследовании было показано, что трансфекция клеток-продуцентов трицистронным плазмидным вектором, обеспечивающим комбинированную экспрессию металлопротеиназы STEAP3 (Six-Transmembrane Epithelial Antigen of Prostate 3), синдекана-4 (SDC4) и фрагмента l-аспаратоксидазы (NadB), приводила к увеличению продукции ВВ различными типами клеток примерно в 15–40 раз [110]. Трансплантация таких клеток-продуцентов мышам, моделирующим болезнь Паркинсона, снижала у последних проявления 6-оксидопамин-индуцированного нейровоспаления [110].

Управление уровнем отдельных днРНК также рассматривается как один из подходов к увеличению продукции ВВ. Так, было показано, что днРНК Plasmacytoma Variant Translocation 1 (PVT1) и NOX transcript antisense RNA (NOTAIR) активно вовлечены в регуляцию секреции ВВ, а гиперэкспрессия данных днРНК способны приводить к увеличению секреции ВВ путем стимулирования VAMP3-Rab опосредованной транспортировки мультивезикулярных тел (MVB) к плазматической мембране, их докингу и слиянию с плазматической мембраной [111, 112].

С целью усиления продукции ВВ также разрабатываются подходы физического воздействия на клетки, а ряд из них, предположительно, позволит манипулировать продукцией ВВ локально даже в живом организме. К таким воздействиям относятся низкоинтенсивное лазерное облучение (low-level laser irradiation (LLLI) [113], гамма-

ионизирующее излучение [114], обработка электрическим током низкой мощности и т.д. Предположительно, данные воздействия приводят к активации апоптоза и/или аутофагии, что в свою очередь активирует ряд белков, вовлеченных в биогенез ВВ — Alix, Rab27a, Rab27b, TSPA8 и CD63 [113, 114]. Оксидативный стресс [115], гипоксия [116], культивирование в биореакторах [117] или на жестком матриксе [118] также являются факторами, способными приводить к увеличению секреции ВВ.

Впрочем, следует отметить, что в большинстве таких работ не обсуждается изменение состава ВВ, и как следствие, возможное изменение их терапевтического потенциала. Поэтому большинство описанных выше способов стимуляции продукции ВВ требуют дальнейшей тщательной проверки. Вероятно, некоторые из предложенных подходов существенно не изменяют состав ВВ [119], в то время как при других такие изменения могут быть весьма существенными [120, 121].

Генетическая модификация клеточной линии-продуцента с целью направленной загрузки внеклеточных везикул и усиления их направленного докинга. ВВ являются продуктом биологического происхождения и поэтому характеризуются широкой вариабельностью своего состава и содержания, а также обладают ограниченной специфичностью, а в ряде случаев и недостаточной эффективностью [20, 31]. Современные генноинженерные подходы позволяют преодолеть эти ограничения, сделав препараты на основе ВВ более эффективными, стандартными по составу и коммерчески доступными.

Так, понимание механизмов сортировки сортируемого во ВВ, открывает возможность увеличивать эффективность упаковки в них необходимых белков, кодирующих и регуляторных РНК, как для исследовательских целей, так и с целью разработки высокоэффективных и специфичных лекарственных препаратов. Практически все эти подходы предполагают внесение в первичную последовательность белка или РНК сайтов, распознаваемых системой сортировки. Так, было показано, что внесение WW-домена способствует загрузке необходимых белков во ВВ (M2 белок вируса гриппа А, Cre-рекомбиназа, др.) [122, 123]. Внесение GGAG-мотива в последовательность микроРНК увеличивает ее содержание в экзосомах клеток-продуцентов [124]. Любопытный подход к упаковке мРНК во ВВ был предложен И.В. Зубаревым и коллегами [125]. Он базируется на способности ряда белков, в том числе и белков вирусного происхождения (ARC и PEG10 белки эукариот, Nef и Gag белки ВИЧ-1), локализованных в экзосомах, связывать определенные РНК последовательности.

Генноинженерные подходы могут позволить увеличить специфичность ВВ и увеличить эффективность их докинга с целевым типом клеток. Поскольку слияние ВВ с клетками во многом определяется белок-белковыми (или лиганд-рецепторными) взаимодействиями, то, экспрессируя на поверхности ВВ соответствующие белки, можно попытаться управлять эффективностью и специфичностью данного процесса. Принципиальная возможность этого подтверждается наличием аналогичных природных механизмов, благодаря которым ВВ проникают в целевые клетки (ICAM1-Интегрины, Лектин-Протеоглики, gD-Nectin1, gHgL-EphA2 и т.д.) [125, 126], а также рядом успешных экспериментальных разработок. Так, на *in vivo* модели было показано, что экспрессия на поверхности ВВ заякоренной молекулы EGF или ее аналога полипептида GE11 (YHWYGYTPQNVI), способного распознавать EGFR, позволяет более специфично и эффективно доставлять экзосомы, содержащие лекарственный препарат, в ткани EGFR-экспрессирующей опухоли [127]. Экзосомы, экспрессирующие трансмембранный домен экзосома-специфического белка Lamp2b, сшитый с кардиомиоцит-специфичным пептидом WLSEAGPVTVRALRGTSW, более эффективно накапливались в миокарде и защищали кардиомиоциты от гибели в экспериментальной модели инфаркта миокарда крыс [128]. Потенциально аналогичные подходы можно использовать для коррекции и остановки патологических процессов, протекающих в нервной ткани после повреждения, таких как гибель нейронов, нарушение ГЭБ, нейровоспаление и т.п.

Накопленный опыт позволяет предположить, что комбинированная генная инженерия белков, входящих в состав содержимого и мембран экзосом, а также связывающихся с ними РНК, дает возможность получать относительно стандартные по своему составу препараты ВВ, содержащие высокие титры искоемых РНК и белков, что может быть использовано для стимуляции регенеративных процессов и даже коррекции широкого спектра наследственных патологий.

Ограничения применения внеклеточных везикул и препаратов на их основе. ВВ и препараты на их основе, как и любой инструмент, имеют свои ограничения, которые необходимо выявить перед широкомасштабной трансляцией данной технологии в клиническую практику.

Серьезной проблемой применения ВВ является нестабильность их терапевтического эффекта. Так, в ряде исследований было показано, что ВВ МСК могут как стимулировать процессы ангиогенеза, так и проявлять антиангиогенные эффекты в провоспалительном микроокружении [129, 130]. Такая нестабильность терапевтического эффекта ВВ может быть обусловлена множеством

причин, включая источник МСК, возраст и здоровье донора, методы культивирования и кондиционирования и т.п. Другой возможной причиной нестабильности терапевтических эффектов ВВ МСК является их гетерогенность. В недавнем исследовании авторами рекомендована общая стратегия оптимизации процесса выделения МСК для получения более качественных и однородных по составу ВВ МСК [131, 132]: выбор оптимальных субпопуляций ВВ из везикулярной фракции секрета МСК для лечения различных заболеваний предположительно повысит стабильность их терапевтических эффектов. С другой стороны, понимание материальных основ данной гетерогенности и ее использование может открыть еще больше возможностей для терапии ряда патологий, а стабильности состава фракции ВВ МСК возможно достичь путем подбора условий и применением стандартизированных протоколов для выделения, культивирования и кондиционирования культур МСК. Следует отметить, что научное сообщество уделяет достаточно внимания вопросам стандартизации подходов к получению, характеристике и использованию ВВ, так, Международным обществом по изучению внеклеточных везикул разработаны рекомендации по минимальным требованиям, которые должны предъявляться к описанию ВВ в контексте научного исследования [124].

Помимо упомянутых выше проблем масштабирования данной технологии и стандартизации состава ВВ, которые отчасти могут быть решены с использованием современных методов культивирования клеток, генной инженерии или химических технологий, необходимо помнить о возможных иммунологических и онкологических осложнениях применения такого рода препаратов. Поскольку ВВ содержат молекулы, участвующие в иммунологических процессах (комплексы МНС I/II, ко-стимуляторные молекулы CD80, CD86 и CD40, молекулы адгезии ICAM-1, FasL и др.) [20–22], а также молекулы, стимулирующие процессы регенерации (заякоренные на мембране факторы роста, их мРНК, прорегенеративные и антиапоптотические микроРНК и т.д.), существует вероятность того, что введение ВВ может стимулировать развитие иммунных реакций или стимулировать прогрессию и метастазирование существующих опухолей [20–22, 85]. Причем степень выраженности такого эффекта может зависеть от источника ВВ, их дозы, способа и кратности введения [5, 133]. Это следует учитывать при планировании доклинических и клинических испытаний таких препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совокупность накопленных данных позволяет утверждать, что внеклеточные везикулы (несмотря

на ряд существующих ограничений) являются действенным и относительно безопасным инструментом для коррекции генетической программы клеток и тканей, как для стимуляции регенеративных процессов, так и для лечения наследственных патологий. Прежде всего это обусловлено биомиметической природой данных продуктов. Широкие возможности оптимизации специфичности и терапевтической активности внеклеточных везикул делают их практически безальтернативной платформой для создания широкого спектра биологических лекарственных препаратов (в том числе и для лечения заболеваний нервной системы) уже в ближайшем будущем.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 19-75-30007, <https://rscf.ru/project/19-75-30007/>.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Yousufuddin M., Young N.* // Aging (Albany NY). 2019. V. 11. № 9. P. 2542–2544. <https://doi.org/10.18632/aging.101931>
2. *Bolshakov A.P., Tretyakova L.V., Kvichansky A.A., Gulyaeva N.V.* // Biochemistry (Mosc.). 2021. V. 86. № 2. P. 156–167. <https://doi.org/10.1134/S0006297921020048>
3. *Gladstone D.J., Lindsay M.P., Douketis J., Smith E.E., Dowlatshahi D., Wein T., Bourgoin A., Cox J., Falconer J.B., Graham B.R., Labrie M., McDonald L., Mandzia J., Ngui D., Pageau P., Rodgeron A., Semchuk W., Tebbutt T., Tuchak C., van Gaal S., Villaluna K., Foley N., Coutts S., Mountain A., Gubitzi G., Udell J.A., McGuff R., Heran MKS, Lavoie P., Poppe A.Y.* // Can. J. Neurol. Sci. 2022. V. 49. № 3. P. 315–337. <https://doi.org/10.1017/cjn.2021.127>
4. *Tuo Q.Z., Zhang S.T., Lei P.* // Med. Res. Rev. 2022. V. 42. № 1. P. 259–305. <https://doi.org/10.1002/med.21817>
5. *Chrostek M.R., Fellows E.G., Crane A.T., Grande A.W., Low W.C.* // Brain Res. 2019. V. 1722. P. 146362. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146362>
6. *Karagayaur M., Dzhanuari S., Basalova N., Aleksandrushkina N., Sagaradze G., Danilova N., Malkov P., Popov V., Skryabina M., Efimenko A., Tkachuk V.* // Pharmaceutics. 2021. V. 13. № 12. P. 2031. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122031>
7. *Pischiutta F., Caruso E., Cavaleiro H., Salgado A.J., Loane D.J., Zanier E.R.* // Exp. Neurol. 2022. V. 357. P. 114199. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2022.114199>
8. *Cunningham C.J., Redondo-Castro E., Allan S.M.* // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2018. V. 38. № 8. P. 1276–1292. <https://doi.org/10.1177/0271678X18776802>
9. *Asgari Taei A., Nasoohi S., Hassanzadeh G., Kadivar M., Dargahi L., Farahmandfar M.* // Biomed. Pharmacother. 2021. V. 140. P. 111709. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111709>
10. *Muhammad S.A.* // Biofactors. 2019. V. 45. № 6. P. 880–891. <https://doi.org/10.1002/biof.1563>
11. *Baez-Jurado E., Hidalgo-Lanussa O., Barrera-Bailón B., Sahebkar A., Ashraf G.M., Echeverria V., Barreto G.E.* // Mol. Neurobiol. 2019. V. 56. № 10. P. 6902–6927. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1570-x>
12. *Dzhanuari S., Litvinova S., Efimenko A., Aleksandrushkina N., Basalova N., Abakumov M., Danilova N., Malkov P., Balabanyan V., Bezuglova T., Balayants V., Mnikhovich M., Gulyaev M., Skryabina M., Popov V., Stambolsky D., Voronina T., Tkachuk V., Karagayaur M.* // Biomedicines. 2022. V. 10. № 6. P. 1346. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061346>
13. *Pardridge W.M.* // Adv. Exp. Med. Biol. 2002. V. 513. P. 397–430. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0123-7_15
14. *Nooshabadi V.T., Mardpour S., Yousefi-Ahmadipour A., Allahverdi A., Izadpanah M., Daneshimehr F., Ai J., Banafshe H.R., Ebrahimi-Barough S.* // J. Cell. Biochem. 2018. V. 19. № 10. P. 8048–8073. <https://doi.org/10.1002/jcb.26726>
15. *Thalakiriyawa D.S., Jayasooriya P.R., Dissanayaka W.L.* // Curr. Mol. Med. 2022. V. 22. № 2. P. 98–119. <https://doi.org/10.2174/156652402166621021114453>
16. *Saint-Pol J., Gosselet F., Duban-Deweere S., Pottiez G., Karamanos Y.* // Cells. 2020. V. 9. № 4. P. 851. <https://doi.org/10.3390/cells9040851>
17. *Ramos-Zaldívar H.M., Polakovicova I., Salas-Huenuleo E., Corvalán A.H., Kogan M.J., Yefi C.P., Andia M.E.* // Fluids Barriers CNS. 2022. V. 19. № 1. P. 60. <https://doi.org/10.1186/s12987-022-00359-3>
18. *Osteikoetxea X., Silva A., Lázaro-Ibáñez E., Salmond N., Shatnyeva O., Stein J., Schick J., Wren S., Lindgren J., Firth M., Madsen A., Mayr L.M., Overman R., Davies R., Dekker N.* // J. Extracell. Vesicles. 2022. V. 11. № 5. P. e12225. <https://doi.org/10.1002/jev2.12225>
19. *Richter M., Vader P., Fuhrmann G.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 2021. V. 173. P. 416–426. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.03.020>
20. *Yáñez-Mó M., Siljander P.R., Andreu Z., Zavec A.B., Borrás F.E., Buzas E.I., Buzas K., Casal E., Cappello F., Carvalho J., Colás E., Cordeiro-da Silva A., Fais S., Falcon-Perez J.M., Ghobrial I.M., Giebel B., Gimona M., Graner M., Gursel I., Gursel M., Heegaard N.H., Hendrix A., Kierulf P., Kokubun K., Kosanovic M., Kralj-Iglic V., Krämer-Albers E.M., Laitinen S., Lässer C., Lener T., Ligeti E., Liné A., Lipps G., Llorente A., Lötvall J., Manček-Keber M., Marcilla A., Mittelbrunn M., Nazarenko I., Nolte-’t Hoen E.N., Nyman T.A., O’Driscoll L., Olivan M., Oliveira C., Pällinger É., Del Portillo H.A., Reventós J., Rigau M., Rohde E., Sammar M., Sánchez-Madrid F., Santarém N., Schallmoser K., Ostendorf M.S., Stoorvogel W., Stukelj R.*

- Van der Grein S.G., Vasconcelos M.H., Wauben M.H., De Wever O.* // *J. Extracell. Vesicles*. 2015. V. 4. P. 27066.
<https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>
21. *Kao C.Y., Papoutsakis E.T.* // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2019. V. 60. P. 89–98.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.01.005>
 22. *EL Andaloussi S., Mäger I., Breakefield X.O., Wood M.J.* // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013. V. 12. № 5. P. 347–357.
<https://doi.org/10.1038/nrd3978>
 23. *Bordanaba-Florit G., Royo F., Kruglik S.G., Falcón-Pérez J.M.* // *Nat. Protoc.* 2021. V. 16. № 7. P. 3163–3185.
<https://doi.org/10.1038/s41596-021-00551-z>
 24. *Lai C.P., Kim E.Y., Badr C.E., Weissleder R., Mempel T.R., Tannous B.A., Breakefield X.O.* // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 7029.
<https://doi.org/10.1038/ncomms8029>
 25. *van Niel G., Charrin S., Simoes S., Romao M., Rochin L., Saftig P., Marks M.S., Rubinstein E., Raposo G.* // *Dev. Cell.* 2011. V. 21. № 4. P. 708–721.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.08.019>
 26. *Mathieu M., Martin-Jaular L., Lavieu G., Théry C.* // *Nat. Cell. Biol.* 2019. V. 21. № 1. P. 9–17.
<https://doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>
 27. *Johnstone R.M., Adam M., Hammond J.R., Orr L., Turbide C.* // *J. Biol. Chem.* 1987. V. 262. № 19. P. 9412–9420.
 28. *Colombo M., Moita C., van Niel G., Kowal J., Vigneron J., Benaroch P., Manel N., Moita L.F., Théry C., Raposo G.* // *J. Cell. Sci.* 2013. V. 126. № 24. P. 5553–5565.
<https://doi.org/10.1242/jcs.128868>
 29. *Colombo M., Raposo G., Théry C.* // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2014. V. 30. P. 255–289.
<https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>
 30. *Tang Y.T., Huang Y.Y., Zheng L., Qin S.H., Xu X.P., An T.X., Xu Y., Wu Y.S., Hu X.M., Ping B.H., Wang Q.* // *Int. J. Mol. Med.* 2017. V. 40. № 3. P. 834–844.
<https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3080>
 31. *Akers J.C., Gonda D., Kim R., Carter B.S., Chen C.C.* // *J. Neurooncol.* 2013. V. 113. № 1. P. 1–11.
<https://doi.org/10.1007/s11060-013-1084-8>
 32. *Hurley J.H.* // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2010. V. 45. № 6. P. 463–487.
<https://doi.org/10.3109/10409238.2010.502516>
 33. *Gruenberg J.* // *Traffic*. 2020. V. 21. № 1. P. 76–93.
<https://doi.org/10.1111/tra.12715>
 34. *Liu C.C., Liu Y.Y., Zhou J.F., Chen X., Chen H., Hu J.H., Chen J., Zhang J., Sun R.C., Wei J.C., Go Y.Y., Morita E., Zhou B.* // *PLoS Pathog.* 2022. V. 18. № 2. P. e1010294.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010294>
 35. *Erpapazoglou Z., Dhaoui M., Pantazopoulou M., Giordano F., Mari M., Léon S., Raposo G., Reggiori F., Haguenaer-Tsapir R.* // *Mol. Biol. Cell.* 2012. V. 23. № 11. P. 2170–2183.
<https://doi.org/10.1091/mbc.E11-10-0891>
 36. *Boase N.A., Kumar S.* // *Gene*. 2015. V. 557. № 2. P. 113–122.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.12.020>
 37. *Gareau J.R., Lima C.D.* // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2010. V. 11. № 12. P. 861–871.
<https://doi.org/10.1038/nrm3011>
 38. *Marie P.P., Fan S.J., Mason J., Wells A., Mendes C.C., Wainwright S.M., Scott S., Fischer R., Harris A.L., Wilson C., Goberdhan D.C.I.* // *J. Extracell. Vesicles*. 2023. V. 12. № 3. P. e12311.
<https://doi.org/10.1002/jev2.12311>
 39. *Villarroya-Beltri C., Gutiérrez-Vázquez C., Sánchez-Cabo F., Pérez-Hernández D., Vázquez J., Martín-Cofreces N., Martínez-Herrera D.J., Pascual-Montano A., Mittelbrunn M., Sánchez-Madrid F.* // *Nat. Commun.* 2013. V. 4. P. 2980.
<https://doi.org/10.1038/ncomms3980>
 40. *Martínez-Lorenzo M.J., Anel A., Gamen S., Monlen I., Lasier P., Larrad L., Piñeiro A., Alava M.A., Naval J.* // *J. Immunol.* 1999. V. 163. № 3. P. 1274–81.
 41. *Batista B.S., Eng W.S., Pilobello K.T., Hendricks-Muñoz K.D., Mahal L.K.* // *J. Proteome Res.* 2011. V. 10. № 10. P. 4624–4633.
<https://doi.org/10.1021/pr200434y>
 42. *Skriner K., Adolph K., Jungblut P.R., Burmester G.R.* // *Arthritis Rheum.* 2006. V. 54. № 12. P. 3809–3814.
<https://doi.org/10.1002/art.22276>
 43. *Moreno-Gonzalo O., Fernandez-Delgado I., Sanchez-Madrid F.* // *Cell. Mol. Life Sci.* 2018. V. 75. № 1. P. 1–19.
<https://doi.org/10.1007/s00018-017-2690-y>
 44. *Anand S., Samuel M., Kumar S., Mathivanan S.* // *Biochim Biophys. Acta Proteins Proteom.* 2019. V. 1867. № 12. P. 140203.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.02.005>
 45. *Seo M.D., Seok S.H., Kim J.H., Choi J.W., Park S.J., Lee B.J.* // *Life (Basel)*. 2021. V. 11. № 5. P. 379.
<https://doi.org/10.3390/life11050379>
 46. *Kunadt M., Eckermann K., Stuenkel A., Gong J., Russo B., Strauss K., Rai S., Kügler S., Falomir Lockhart L., Schwalbe M., Krumova P., Oliveira L.M., Bähr M., Möbius W., Levin J., Giese A., Kruse N., Mollenhauer B., Geiss-Friedlander R., Ludolph A.C., Freischmidt A., Feiler M.S., Danzer K.M., Zweckstetter M., Jovin T.M., Simons M., Weishaupt J.H., Schneider A.* // *Acta Neuropathol.* 2015. V. 129. № 5. P. 695–713.
<https://doi.org/10.1007/s00401-015-1408-1>
 47. *Saman S., Kim W., Raya M., Visnick Y., Miro S., Saman S., Jackson B., McKee A.C., Alvarez V.E., Lee N.C., Hall G.F.* // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 6. P. 3842–3849.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M111.277061>
 48. *Verderio C., Gabrielli M., Giussani P.* // *J. Lipid Res.* 2018. V. 59. № 8. P. 1325–1340.
<https://doi.org/10.1194/jlr.R083915>
 49. *Halova I., Draber P.* // *Front. Cell. Dev. Biol.* 2016. V. 4. P. 43.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00043>
 50. *Fabbiano F., Corsi J., Gurrieri E., Trevisan C., Notarangelo M., D'Agostino V.G.* // *J. Extracell. Vesicles*. 2020. V. 10(2). P. e12043.
<https://doi.org/10.1002/jev2.12043>
 51. *Wang M., Yu F., Li P., Wang K.* // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2020. V. 21. P. 367–383.
<https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.06.008>

52. Sharma P., Mesci P., Carromeu C., McClatchy D.R., Schiapparelli L., Yates J.R., Muotri A.R., Cline H.T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019. V. 116. P. 16086–16094.
53. You Y., Borgmann K., Edara V.V., Stacy S., Ghorpade A., Ikezu T. // *J. Extracell. Vesicles*. 2019. V. 9. № 1. P. 1706801.
<https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1706801>
54. Donoso-Quezada J., Ayala-Mar S., González-Valdez J. // *Crit. Rev. Biotechnol.* 2020. V. 40. № 6. P. 804–820.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1785385>
55. Elsharkasy O.M., Nordin J.Z., Hagey D.W., de Jong O.G., Schiffelers R.M., Andaloussi S.E., Vader P. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2020. V. 159. P. 332–343.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.04.004>
56. Bulbake U., Doppalapudi S., Kommineni N., Khan W. // *Pharmaceutics*. 2017. V. 9. № 2. P. 12.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9020012>
57. Sercombe L., Veerati T., Moheimani F., Wu S.Y., Sood A.K., Hua S. // *Front. Pharmacol.* 2015. V. 6. P. 286.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00286>
58. Hoshino A., Costa-Silva B., Shen T.L., Rodrigues G., Hashimoto A., Tesic Mark M., Molina H., Kohsaka S., Di Giannatale A., Ceder S., Singh S., Williams C., Soplop N., Uryu K., Pharmed L., King T., Bojmar L., Davies A.E., Ararso Y., Zhang T., Zhang H., Hernandez J., Weiss J.M., Dumont-Cole V.D., Kramer K., Wexler L.H., Narendran A., Schwartz G.K., Healey J.H., Sandstrom P., Labori K.J., Kure E.H., Grandgenett P.M., Hollingsworth M.A., de Sousa M., Kaur S., Jain M., Mallya K., Batra S.K., Jarnagin W.R., Brady M.S., Fodstad O., Muller V., Pantel K., Minn A.J., Bissell M.J., Garcia B.A., Kang Y., Rajasekhar V.K., Ghajar C.M., Matei I., Peinado H., Bromberg J., Lyden D. // *Nature*. 2015. V. 527. № 7578. P. 329–335.
<https://doi.org/10.1038/nature15756>
59. Osawa S., Kurachi M., Yamamoto H., Yoshimoto Y., Ishizaki Y. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017. V. 488. № 1. P. 232–238.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.05.049>
60. Murphy D.E., de Jong O.G., Brouwer M., Wood M.J., Lavieu G., Schiffelers R.M., Vader P. // *Exp. Mol. Med.* 2019. V. 51. № 3. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1038/s12276-019-0223-5>
61. Kuriakose D., Xiao Z. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 20. P. 7609.
<https://doi.org/10.3390/ijms21207609>
62. Borgens R.B., Liu-Snyder P. // *Q. Rev. Biol.* 2012. V. 87. № 2. P. 89–127.
<https://doi.org/10.1086/665457>
63. Lopez J.A., Denkova M., Ramanathan S., Dale R.C., Brilot F. // *Clin. Transl. Immunology*. 2021. V. 10. № 7. P. e1316.
<https://doi.org/10.1002/cti2.1316>
64. Zhang Z.G., Chopp M. // *Lancet Neurol.* 2009. V. 8. P. 491–500.
65. Chen J., Li Y., Wang L., Zhang Z., Lu D., Lu M., Chopp M. // *Stroke*. 2001. V. 32. № 4. P. 1005–1011.
<https://doi.org/10.1161/01.str.32.4.1005> PMID: 11283404
66. Shariati A., Nemati R., Sadeghipour Y., Yaghoubi Y., Baghbani R., Javidi K., Zamani M., Hassanzadeh A. // *Eur. J. Cell. Biol.* 2020. V. 99. № 6. P. 151097.
<https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2020.151097>
67. Hess D.C., Wechsler L.R., Clark W.M., Savitz S.I., Ford G.A., Chiu D., Yavagal D.R., Uchino K., Liebeskind D.S., Auchus A.P., Sen S., Sila C.A., Vest J.D., Mays R.W. // *Lancet Neurol.* 2017. V. 16. № 5. P. 360–368.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30046-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30046-7)
68. Chung J.W., Chang W.H., Bang O.Y., Moon G.J., Kim S.J., Kim S.K., Lee J.S., Sohn S.I., Kim Y.H. *STARTING-2 Collaborators* // *Neurology*. 2021. V. 96. № 7. P. e1012–e1023.
<https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000011440>
69. Zhang S., Lachance B.B., Moiz B., Jia X. // *J. Stroke*. 2020. V. 22. P. 286–305.
70. Webb R.L., Kaiser E.E., Scoville S.L., Thompson T.A., Fatima S., Pandya C., Sriram K., Swetenburg R.L., Vaidhyan K., Arbab A.S., Baban B., Dhandapani K.M., Hess D.C., Hoda M.N., Stice S.L. // *Transl. Stroke Res.* 2018. V. 9. № 5. P. 530–539.
<https://doi.org/10.1007/s12975-017-0599-2>
71. Xiao Y., Tian J., Wu W.C., Gao Y.H., Guo Y.X., Song S.J., Gao R., Wang L.B., Wu X.Y., Zhang Y., Li X. // *Bioact. Mater.* 2021. V. 9. P. 373–384.
<https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.07.017>
72. Jiang Y., Wang R., Wang C., Guo Y., Xu T., Zhang Z., Yang G.Y., Xu H., Tang Y. // *Adv. Healthc Mater.* 2022. V. 11. № 22. P. e2201150.
<https://doi.org/10.1002/adhm.202201150>
73. Deng M., Xiao H., Zhang H., Peng H., Yuan H., Xu Y., Zhang G., Hu Z. // *Front. Cell. Neurosci.* 2017. V. 11. P. 205.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00205>
74. Liu X., Zhang M., Liu H., Zhu R., He H., Zhou Y., Zhang Y., Li C., Liang D., Zeng Q., Huang G. // *Exp. Neurol.* 2021. V. 341. P. 113700.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2021.113700>
75. Zhang Y., Liu J., Su M., Wang X., Xie C. // *Stem. Cell. Res. Ther.* 2021. V. 12. № 1. P. 111.
<https://doi.org/10.1186/s13287-020-02091-x>
76. Webb R.L., Kaiser E.E., Jurgielewicz B.J., Spellicy S., Scoville S.L., Thompson T.A., Swetenburg R.L., Hess D.C., West F.D., Stice S.L. // *Stroke*. 2018. V. 49. № 5. P. 1248–1256.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.020353>
77. Webb R.L., Kaiser E.E., Scoville S.L., Thompson T.A., Fatima S., Pandya C., Sriram K., Swetenburg R.L., Vaidhyan K., Arbab A.S., Baban B., Dhandapani K.M., Hess D.C., Hoda M.N., Stice S.L. // *Transl. Stroke Res.* 2018. V. 9. № 5. P. 530–539.
<https://doi.org/10.1007/s12975-017-0599-2>
78. Pascual M., Ibáñez F., Guerri C. // *Neural Regen Res.* 2020. V. 15. № 5. P. 796–801.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.268893>
79. Upadhyay R., Madhu L.N., Attaluri S., Gitaí D.L.G., Pinson M.R., Kodali M., Shetty G., Zanirati G., Kumar S., Shuai B., Weintraub S.T., Shetty A.K. // *J. Extracell. Vesicles*. 2020. V. 9. № 1. P. 1809064.
<https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1809064>
80. Doeppner T.R., Herz J., Görgens A., Schlechter J., Ludwig A.K., Radtke S., de Miroschedji K., Horn P.A., Giebel B., Hermann D.M. // *Stem Cells Transl. Med.*

2015. V. 4. № 10. P. 1131–1143.
<https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0078>
81. Xia Y., Ling X., Hu G., Zhu Q., Zhang J., Li Q., Zhao B., Wang Y., Deng Z. // *Stem Cell. Res. Ther.* 2020. V. 11. № 1. P. 313.
<https://doi.org/10.1186/s13287-020-01834-0>
 82. Gao Y., Wang C., Jin F., Han G., Cui C. // *Tissue Cell.* 2022. V. 76. P. 101772.
<https://doi.org/10.1016/j.tice.2022.101772>
 83. Cai J., Wu J., Wang J., Li Y., Hu X., Luo S., Xiang D. // *Cell Biosci.* 2020. V. 10. P. 69.
<https://doi.org/10.1186/s13578-020-00427-x>
 84. Lemos D.R., Duffield J.S. // *Sci. Transl. Med.* 2018. V. 10. № 426. P. ean5174.
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aan5174>
 85. Attar-Schneider O., Dabbah M., Drucker L., Gottfried M. // *Cell Signal.* 2020. V. 65. P. 109456.
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109456>
 86. Harrison E.B., Hochfelder C.G., Lamberty B.G., Meays B.M., Morsey B.M., Kelso M.L., Fox H.S., Yelamanchili S.V. // *FEBS Open Bio.* 2016. V. 6. № 8. P. 835–846.
<https://doi.org/10.1002/2211-5463.12092>
 87. Huang R., Qin C., Wang J., Hu Y., Zheng G., Qiu G., Ge M., Tao H., Shu Q., Xu J. // *Aging (Albany NY)*. 2019. V. 11. № 18. P. 7996–8014.
<https://doi.org/10.18632/aging.102314>
 88. Fafián-Labora J., Lesende-Rodríguez I., Fernández-Pernas P., Sangiao-Alvarellos S., Monserrat L., Arntz O.J., van de Loo F.J., Mateos J., Arufe M.C. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 43923.
<https://doi.org/10.1038/srep43923>
 89. Huang R., Qin C., Wang J., Hu Y., Zheng G., Qiu G., Ge M., Tao H., Shu Q., Xu J. // *Aging (Albany NY)*. 2019. V. 11. № 18. P. 7996–8014.
<https://doi.org/10.18632/aging.102314>
 90. Davis C., Dukes A., Drewry M., Helwa I., Johnson M.H., Isales C.M., Hill W.D., Liu Y., Shi X., Fulzele S., Hamrick M.W. // *Tissue Eng. Part A*. 2017. V. 23. № 21–22. P. 1231–1240.
<https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2016.0525>
 91. Voynova E., Kulebyakin K., Grigorieva O., Novoselets-kaya E., Basalova N., Alexandrushkina N., Arbatskiy M., Vigovskiy M., Sorokina A., Zinoveva A., Bakhchinyan E., Kalinina N., Akopyan Z., Tkachuk V., Tyurin-Kuzmin P., Efimenko A. // *Front. Cell. Dev. Biol.* 2022. V. 10. P. 1050489.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1050489>
 92. Guix F.X., Capitán A.M., Casadomé-Perales Á., Palomares-Pérez I., López Del Castillo I., Miguel V., Goe-deke L., Martín M.G., Lamas S., Peinado H., Fernández-Hernando C., Dotti C.G. // *Life Sci. Alliance*. 2021. V. 4. № 8. P. e202101055.
<https://doi.org/10.26508/lsa.202101055>
 93. Lopatina T., Bruno S., Tetta C., Kalinina N., Porta M., Camussi G. // *Cell. Commun. Signal.* 2014. V. 12. P. 26.
<https://doi.org/10.1186/1478-811X-12-26>
 94. Hikita T., Kuwahara A., Watanabe R., Miyata M., Oneyama C. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 3265.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-39882-z>
 95. Soto-Huelin B., Babiy B., Pastor O., Díaz-García M., Toledano-Zaragoza A., Frutos M.D., Espín J.C., Tomás-Barberán F.A., Busto R., Ledesma M.D. // *Neurobiol. Dis.* 2023. V. 182. P. 106141.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106141>
 96. Soraya H., Sani N.A., Jabbari N., Rezaie J. // *Arch. Med. Res.* 2021. V. 52. № 2. P. 151–162.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.10.007>
 97. Baietti M.F., Zhang Z., Mortier E., Melchior A., Degeest G., Geeraerts A., Ivarsson Y., Depoortere F., Coomans C., Vermeiren E., Zimmermann P., David G. // *Nat. Cell. Biol.* 2012. V. 14. № 7. P. 677–685.
<https://doi.org/10.1038/ncb2502>
 98. Choi Y.J., Li W.Y., Moon G.J., Lee P.H., Ahn Y.H., Lee G., Bang O.Y. // *J. Neurol. Sci.* 2010. V. 298. № 1–2. P. 28–34.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2010.09.003>
 99. Cha J.M., Shin E.K., Sung J.H., Moon G.J., Kim E.H., Cho Y.H., Park H.D., Bae H., Kim J., Bang O.Y. // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 1171.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-19211-6>
 100. Casajuana Ester M., Day R.M. // *Pharmaceutics*. 2023. V. 15. № 2. P. 663.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020663>
 101. Xie L., Mao M., Zhou L., Zhang L., Jiang B. // *Stem Cells Int.* 2017. V. 2017. P. 2730472.
<https://doi.org/10.1155/2017/2730472>
 102. Kim M., Yun H.W., Park D.Y., Choi B.H., Min B.H. // *Tissue Eng. Regen. Med.* 2018. V. 15. № 4. P. 427–436.
<https://doi.org/10.1007/s13770-018-0139-5>
 103. Han M., Zhang Z., Liu Z., Liu Y., Zhao H., Wang B., Zhang C., Shang H., Li Y., Wang S., Xin T. // *Biomater. Adv.* 2023. V. 149. P. 213396.
<https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213396>
 104. Teixeira F.G., Panchalingam K.M., Assunção-Silva R., Serra S.C., Mendes-Pinheiro B., Patrício P., Jung S., Anjo S.I., Manadas B., Pinto L., Sousa N., Behie L.A., Salgado A.J. // *Sci Rep.* 2016. V. 6. P. 27791.
<https://doi.org/10.1038/srep27791>
 105. Zhang Y., Chopp M., Zhang Z.G., Katakowski M., Xin H., Qu C., Ali M., Mahmood A., Xiong Y. // *Neurochem. Int.* 2017. V. 111. P. 69–81.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.08.003>
 106. Sinha S., Hoshino D., Hong N.H., Kirkbride K.C., Grega-Larson N.E., Seiki M., Tyska M.J., Weaver A.M. // *J. Cell. Biol.* 2016. V. 214. № 2. P. 197–213.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201601025>
 107. Hsu C., Morohashi Y., Yoshimura S., Manrique-Hoyos N., Jung S., Lauterbach M.A., Bakhti M., Grønborg M., Möbius W., Rhee J., Barr F.A., Simons M. // *J. Cell. Biol.* 2010. V. 189. № 2. P. 223–232.
<https://doi.org/10.1083/jcb.200911018>
 108. Song L., Tang S., Han X., Jiang Z., Dong L., Liu C., Liang X., Dong J., Qiu C., Wang Y., Du Y. // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 1639.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-09720-x>
 109. Böker K.O., Lemus-Díaz N., Rinaldi Ferreira R., Schiller L., Schneider S., Gruber J. // *Mol Ther.* 2018. V. 26. № 2. P. 634–647.
<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.11.008>

110. Kojima R., Bojar D., Rizzi G., Hamri G.C., El-Baba M.D., Saxena P., Ausländer S., Tan K.R. & Fussenegger M. // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. P. 1305.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-03733-8>
111. Sun C., Wang P., Dong W., Liu H., Sun J., Zhao L. // *Aging (Albany NY)*. 2020. V. 12. № 11. P. 10427–10440.
<https://doi.org/10.18632/aging.103268>
112. Yang L., Peng X., Li Y., Zhang X., Ma Y., Wu C., Fan Q., Wei S., Li H., Liu J. // *Mol. Cancer*. 2019. V. 18. № 1. P. 78.
<https://doi.org/10.1186/s12943-019-0990-6>
113. Bagheri H.S., Mousavi M., Rezaabakhsh A., Rezaie J., Rasta S.H., Nourazarian A., Avcı Ç.B., Tajalli H., Talebi M., Oryan A., Khaksar M., Kazemi M., Nas-siri S.M., Ghaderi S., Bagca B.G., Rahbarghazi R., Sokullu E. // *Lasers Med. Sci.* 2018. V. 33. № 5. P. 1131–1145.
<https://doi.org/10.1007/s10103-018-2495-8>
114. Jabbari N., Nawaz M., Rezaie J. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 15. P. 3649.
<https://doi.org/10.3390/ijms20153649>
115. Chiaradia E., Tancini B., Emiliani C., Delo F., Pellegrino R.M., Tognoloni A., Urbanelli L., Buratta S. // *Cells*. 2021. V. 10. № 7. P. 1763.
<https://doi.org/10.3390/cells10071763>
116. Gonzalez-King H., García N.A., Ontoria-Oviedo I., Ciria M., Montero J.A., Sepúlveda P. // *Stem Cells*. 2017. V. 35. № 7. P. 1747–1759.
<https://doi.org/10.1002/stem.2618>
117. Jeske R., Liu C., Duke L., Canonico Castro M.L., Muok L., Arthur P., Singh M., Jung S., Sun L., Li Y. // *Bioact. Mater.* 2022. V. 25. P. 732–747.
<https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.07.004>
118. Wu B., Liu D.A., Guan L., Myint P.K., Chin L., Dang H., Xu Y., Ren J., Li T., Yu Z., Jabbar S., Mills G.B., Nuk-pezhah J., Chen Y.H., Furth E.E., Gimotty P.A., Wells R.G., Weaver V.M., Radhakrishnan R., Wang X.W., Guo W. // *Nat. Cell Biol.* 2023. V. 25. № 3. P. 415–424.
<https://doi.org/10.1038/s41556-023-01092-1>
119. Sinha S., Hoshino D., Hong N.H., Kirkbride K.C., Grega-Larson N.E., Seiki M., Tyska M.J., Weaver A.M. // *J. Cell Biol.* 2016. V. 214. № 2. P. 197–213.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201601025>
120. Atienzar-Aroca S., Flores-Bellver M., Serrano-Heras G., Martínez-Gil N., Barcia J.M., Aparicio S., Perez-Cremades D., Garcia-Verdugo J.M., Diaz-Llopis M., Romero F.J., Sancho-Pelluz J. // *J. Cell Mol. Med.* 2016. V. 20. № 8. P. 1457–1466.
<https://doi.org/10.1111/jcmm.12834>
121. Fukuta T., Nishikawa A., Kogure K. // *Biochem. Biophys. Rep.* 2019. V. 21. P. 100713.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2019.100713>
122. Sterzenbach U., Putz U., Low L.H., Silke J., Tan S.S., Howitt J. // *Mol. Ther.* 2017. V. 25. № 6. P. 1269–1278.
<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.030>
123. Choi S., Yang Z., Wang Q., Qiao Z., Sun M., Wiggins J., Xiang S.H., Lu Q. // *Sci. Adv.* 2023. V. 9. № 4. P. eade2708.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.ade2708>
124. Villarroya-Beltri C., Gutiérrez-Vázquez C., Sánchez-Cabo F., Pérez-Hernández D., Vázquez J., Martín-Cof-reces N., Martínez-Herrera D.J., Pascual-Montano A., Mittelbrunn M., Sánchez-Madrid F. // *Nat. Commun.* 2013. V. 4. P. 2980.
<https://doi.org/10.1038/ncomms3980>
125. Zubarev I., Vladimirtsev D., Vorontsova M., Blatov I., Shevchenko K., Zvereva S., Lunev E.A., Faizuloev E., Barlev N. // *Cells*. 2021. V. 10. № 11. P. 3043.
<https://doi.org/10.3390/cells10113043>
126. Ginini L., Billan S., Fridman E., Gil Z. // *Cells*. 2022. V. 11. № 9. P. 1375.
<https://doi.org/10.3390/cells11091375>
127. Ohno S., Takanashi M., Sudo K., Ueda S., Ishikawa A., Matsuyama N., Fujita K., Mizutani T., Ohgi T., Ochiya T., Gotoh N., Kuroda M. // *Mol. Ther.* 2013. V. 21. № 1. P. 185–191.
<https://doi.org/10.1038/mt.2012.180>
128. Yin X., Jiang L.H. // *Front. Cardiovasc. Med.* 2023. V. 9. P. 1041481.
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1041481>
129. Salomon C., Ryan J., Sobrevia L., Kobayashi M., Ash-man K., Mitchell M., Rice G.E. // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 7. P. e68451.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068451>
130. Gonzalez-King H., García N.A., Ontoria-Oviedo I., Ciria M., Montero J.A., Sepúlveda P. // *Stem Cells*. 2017. V. 35. № 7. P. 1747–1759.
<https://doi.org/10.1002/stem.2618>
131. Witwer K.W., Van Balkom B.W.M., Bruno S., Choo A., Dominici M., Gimona M., Hill A.F., De Kleijn D., Koh M., Lai R.C., Mitsialis S.A., Ortiz L.A., Rohde E., Asada T., Toh W.S., Weiss D.J., Zheng L., Giebel B., Lim S.K. // *J. Extracell. Vesicles*. 2019. V. 8. № 1. P. 1609206.
<https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1609206>
132. Lai R.C., Tan S.S., Yeo R.W., Choo A.B., Reiner A.T., Su Y., Shen Y., Fu Z., Alexander L., Sze S.K., Lim S.K. // *J. Extracell. Vesicles*. 2016. V. 5. P. 29828.
<https://doi.org/10.3402/jev.v5.29828>
133. Dzhuari S., Basalova N., Primak A., Balabanyan V., Efimenko A., Skryabina M., Popov V., Velichko A., Bozov K., Akopyan Z., Malkov P., Stambolsky D., Tka-chuk V., Karagyaour M. // *Pharmaceutics*. 2023. V. 15. № 6. P. 1608.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061608>
134. Théry C., Kenneth W., Witwer K.W., Aikawa E. et al. // *Journal of Extracellular Vesicles*. 2018. V. 7. P. 1535750.
<https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>

State-of-the-Art: the Use of Extracellular Vesicles and Preparations Based on Them for Neuroprotection and Stimulation of Brain Tissue Regeneration after Injury

N. A. Basalova^{a, b}, S. S. Dzhaui^b, Yu. A. Yurshev^b, A. L. Primak^b,
A. Yu. Efimenko^{a, b}, V. A. Tkachuk^{a, b}, and M. N. Karagyaurov^{a, b}

^a*Institute for Regenerative Medicine, Medical Research and Education Center,
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^b*Faculty of Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

Extracellular vesicles are macromolecular complexes produced by virtually all types of eukaryotic and prokaryotic cells. According to modern concepts, they allow cells to exchange information, regulate each other's activity and coordinate their actions during the complex processes of development, maintaining homeostasis, tissue regeneration, etc. Extracellular vesicles have a number of unique properties: the ability to accumulate certain types of proteins and nucleic acids, protect them from degradation and ensure their delivery to target cells, which can be used to create biomimetic approaches to the therapy of a wide range of diseases. The composition of vesicles, the preference for docking with a particular cell type, and ultimately their therapeutic potential are very flexible parameters and are highly dependent on the type and properties of the producer cell culture, as well as cultivation conditions. This review gives an idea of the state and prospects of the therapeutic strategies implied the application of extracellular vesicles for neuroprotection and stimulation of brain tissue regeneration after injury, and also considers existing clinical studies which use extracellular vesicles in the field of neurology and neurosurgery. Particular attention in the review is given to new promising approaches to increasing the production of extracellular vesicles, manipulating their contents, and increasing the efficiency of targeted docking in order to increase their therapeutic activity and specificity.

Keywords: *extracellular vesicles, ESCRT, neuroprotection, neuroinflammation, mesenchymal stromal cells, neural stem cells*