

©Коллектив авторов

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ ГЛИОМ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*А.А. Филин<sup>1\*</sup>, А.А. Чернышева<sup>1</sup>, Г.В. Павлова<sup>2</sup>, В.Б. Лощенов<sup>3,4</sup>, О.И. Гурина<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского  
Минздрава России, 119034, Москва, Кропоткинский пер., 23; \*эл. почта: z99c@mail.ru

<sup>2</sup>Институт биологии гена Российской академии наук, 119334, Москва, ул. Вавилова, 34/5, Москва

<sup>3</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38

<sup>4</sup>Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, 115409, Москва, Каширское шоссе, 31

Глиобластома — первичная опухоль головного мозга — является одним из наиболее агрессивных видов злокачественных новообразований. Даже в случае ранней диагностики и при своевременно начатом лечении с помощью современных химиотерапевтических препаратов, лучевой терапии и хирургического лечения прогноз остаётся неблагоприятным с коротким периодом выживания после постановки диагноза. В связи с этим продолжается исследование основных патогенетических звеньев развития глиобластом. В настоящее время основное внимание уделяется исследованию молекулярной характеристики опухолей, включая анализ внеклеточных везикул, которые играют важную роль в процессах межклеточной коммуникации. В настоящем обзоре с целью освещения актуальной информации о роли внеклеточных везикул в диагностике и терапии глиом проведён анализ накопленных результатов российских и зарубежных исследований, связанных с данным направлением. Основной задачей данной работы было рассмотрение особенностей внеклеточных везикул как контейнеров и переносчиков глиомных маркеров, а также нуклеиновых кислот, используемых в диагностике и терапии.

**Ключевые слова:** глиома; биомаркеры; внеклеточные везикулы; миРНК; диагностика; терапия

**DOI:** 10.18097/PBMC20226806419

### ВВЕДЕНИЕ

Среди первичных опухолей центральной нервной системы наиболее широко распространёнными являются глиомы [1]. На их долю приходится около 30% первичных и 80% злокачественных новообразований головного мозга [2]. Стандартный набор методов лечения, включающий в себя иссечение опухоли, радио- или химиотерапию, оказывается в большинстве случаев малоэффективным: продолжительность жизни более половины пациентов, получивших терапию, не превышает 2-х лет [3]. У прошедших терапию пациентов часто наблюдаются рецидивы, что, вероятно, связано с высокой степенью инвазивности глиом и их пролиферативным потенциалом. Другими важными проблемами, возникающими при лечении глиом, являются невозможность диагностирования опухоли на ранних стадиях её возникновения, а также отсутствие специфических мишеней для терапии.

Для решения перечисленных проблем необходимо обнаружение надёжных специфических биомаркеров глиом, которые бы не только указывали на наличие низкодифференцированных клеток, но также использовались при мониторинге рецидивов заболевания и реакции пациента на терапию. Большое количество работ в области исследования глиальных маркеров посвящено внеклеточным везикулам (ВВ), содержимое которых может быть использовано при анализе патологических процессов.

В качестве цели работы был выбран анализ данных о ВВ как транспортерах диагностических и терапевтических молекул.

### 1. ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ КАК ИСТОЧНИК БИОМАРКЕРОВ ГЛИОМ

Основными методами диагностики глиом в настоящее время являются МРТ, КТ, иммуноферментный анализ нейроспецифических белков, биопсия ткани головного мозга с последующей верификацией иммунохимическими методами. Однако каждый из них имеет свои ограничения. В связи с этим обнаружение злокачественных новообразований головного мозга на ранних стадиях все еще затруднено, что обуславливает продолжение поиска новых подходов ранней диагностики. Относительно новым направлением является метод “жидкостной биопсии” — наименее инвазивный метод, заключающийся в исследовании биологических жидкостей организма (венозная кровь, спинномозговая жидкость, моча и лимфа) для выявления циркулирующих опухолевых клеток, внеклеточных везикул, циркулирующих внеклеточных белков, циркулирующих опухолевых ДНК. В настоящее время продолжается поиск универсальных онкомаркеров, на основе анализа которых будет возможна ранняя диагностика и прогноз заболевания. При этом, биомаркеры должны удовлетворять следующим основным требованиям:

*Принятые сокращения:* ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; ВВ – внеклеточные везикулы; миРНК – микро-РНК; TGF-β1 – трансформирующий фактор роста β1; рiРНК – малые некодирующие РНК; МСК – мезенхимальные стволовые клетки; МТР – магнитно-резонансная томография; КТ – компьютерная томография.

быть доступными для выделения, обладать высокой степенью чувствительности и специфичности, уровень биомаркера должен коррелировать с объёмом и распространением опухоли, а также обнаруживаться на ранних стадиях развития неопластического процесса и при рецидивировании.

Наряду с этими свойствами, биологические маркеры должны легко анализироваться современным спектром биохимических методов и отражать все изменения патологического процесса. Исходя из вышеизложенного очевидно, что найти маркеры, отвечающие всем критериям, достаточно сложно. Стоит также учитывать, что наличие ГЭБ обуславливает дополнительные критерии выбора маркера. Несмотря на то, что целостность ГЭБ нарушается при глиоме, стенки сосудов головного мозга могут оставаться неповреждёнными и блокировать транспорт веществ между глиомой и её микроокружением. Таким образом, биомаркеры этого типа опухолей должны обладать способностью проникать через ГЭБ в периферический кровоток.

Согласно результатам исследований, некоторые биологические маркеры показывают свою значимость для диагностики, мониторинга течения заболевания, прогнозирования, выявления рецидивов и реакции на разные способы терапии [4-6]. В этом аспекте активно изучаются ВВ, что подтверждается наличием в современной литературе глубоких систематических обзоров [7, 8].

ВВ представляют собой гетерогенную группу липидных бислоевых компартментов, секретирующихся многочисленными типами клеток при физиологических или патологических состояниях [9]. Они способны проникать через ГЭБ в периферический кровоток, что в дальнейшем даёт возможность их обнаружения в биологических жидкостях (кровь, моча, грудное молоко, околоплодные воды, спинномозговая жидкость, сперма, слюна, асцит) [10, 11]. ВВ могут образовываться различными типами клеток и могут

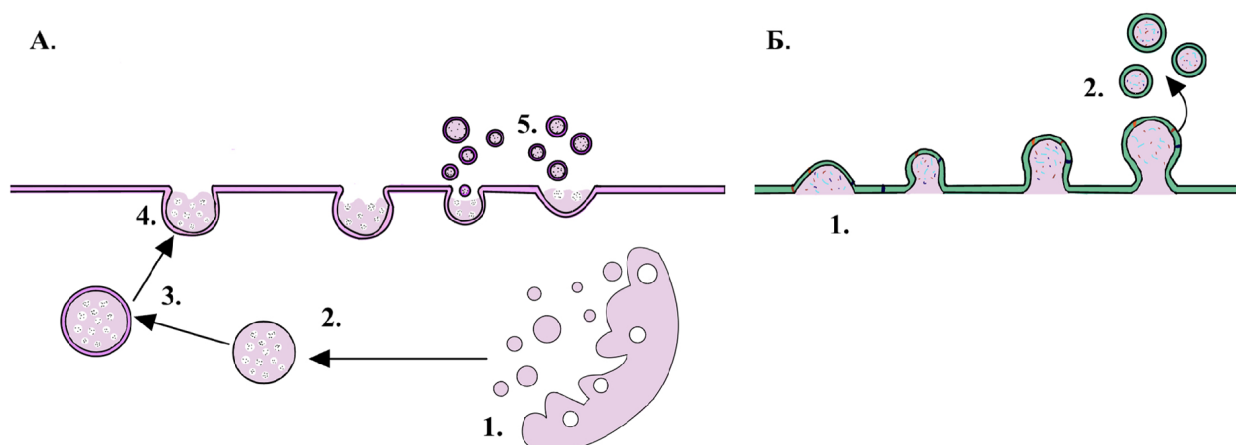
быть нагружены такими компонентами, как белки, липиды, ДНК, миРНК и различные типы некодирующих РНК [12].

В настоящее время принято выделять три класса ВВ: экзосомы, микровезикулы и апоптотические тела. Наиболее интересными в контексте исследования ВВ как тераностиков являются экзосомы и микровезикулы. Экзосомы представляют собой подгруппу ВВ размером 30-100 нм, которые образуются эндоцитарным путём (рисунок), тогда как ВВ размером в диапазоне 100-1000 нм, называемые микровезикулами, образуются путём выпячивания плазматической мембраны клетки с последующим отделением от неё (рисунок) [9, 13-15]. Эти два подтипа ВВ влияют на ангиогенез, миграцию и инвазию опухолевых клеток, их пролиферацию и лекарственную резистентность.

André-Grégoire и соавт. было выявлено повышение количества ВВ в плазме крови пациентов с мультиформной глиобластомой по сравнению с контрольной группой [16], а в исследовании других авторов было продемонстрировано, что количество определяемых микровезикул в плазме крови пациентов прямо коррелировало с ранним рецидивом опухоли и более коротким сроком жизни [17]. В то же время после проведённой терапии отмечалось снижение количества микровезикул в плазме крови, что было показано как на животных моделях опухолевых ксенотрансплантатов [18], так и при пилотных клинических исследованиях [19]. Результаты приведённых выше работ указывают на возможность применения количественного анализа ВВ как для контроля эффективности проводимой терапии, так и для прогноза рецидивирования.

Состав липидной мембраны и цитоплазмы экзосом и микровезикул аналогичен составу таковых у клеток, из которых были образованы ВВ [14, 20].

Поскольку развитие опухолевого процесса сопровождается количественными изменениями везикул, которые, в свою очередь, нагружены



**Рисунок.** Генерация экзосом и микровезикул. А. 1 – Образование ранней эндосомы путём отсоединения от аппарата Гольджи. 2 – Образование поздней эндосомы. 3 – Образование мультивезикулярной эндосомы и транспорт её на плазматическую мембрану клетки за счёт энергии GTP-азы. 4 – Слияние мультивезикулярной эндосомы с мембраной. 5 – Выход экзосом. Б. 1 – Реорганизация (перестройка фосфолипидного бислоя) плазматической мембраны клетки, позволяющая изгибать мембрану. 2 – Выпячивание плазматической мембраны и выход микровезикул.

молекулами, специфичными для глиомных клеток, ВВ могут использоваться для обнаружения эффективных маркеров и мониторинга прогрессирования неоплазии. Показано, что выделенные из биологических жидкостей (венозной крови и спинномозговой жидкости) пациентов с глиомой циркулирующие экзосомы и микровезикулы связаны с метастазированием или рецидивированием [21-23].

В современных исследованиях показано, что прогностическими и диагностическими маркерами глиом, транспортируемыми ВВ, могут служить различные биологические молекулы. Однако наиболее многообещающими биомаркерами являются миРНК, которые могут быть ассоциированы с процессами индукции глиобластомы [24, 25, 32, 33]. Так, в исследовании [25] с помощью панели “TaqMan OpenArray Human Advanced MicroRNA” Simionescu и соавт. проводили определение профиля экспрессии миРНК в ВВ, выделенных из плазмы крови пациентов с глиобластомой и у здоровых людей. В процессе работы авторы идентифицировали в общей сложности 133 миРНК, экспрессируемых у здоровых людей и у группы пациентов с глиобластомой как до проведения операции по удалению глиомы, так и после оперативного вмешательства. Наиболее показательными для диагностики глиобластомы были: (i) миРНК-106b-5p, миРНК-486-3p, миРНК-766-3p, экспрессия которых после проведенной операции повышалась до уровня контрольной группы; (ii) миРНК-30d-5p, экспрессия которой после хирургической резекции снижалась и достоверно не отличалась от уровня экспрессии в группе контроля. Авторы исследования обратили особое внимание на миРНК-625-5p, экспрессия которой наблюдалась у пациентов только до проведения операции по удалению глиобластомы. Ранее в работе [26] авторы показали, что миРНК-106b-5p способствует пролиферации, миграции и инвазии клеток глиомы, а также ингибирует апоптоз опухолевых клеток в условиях *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, Liu и соавт. [27] продемонстрировали наличие более высокой экспрессии миРНК-106b-5p в образцах опухолевой ткани пациентов с глиобластомой по сравнению с экспрессией в нормальной ткани головного мозга, что прямо коррелирует со стадией заболевания. Wu и соавт. сообщили, что при исследовании *in vitro* и *in vivo* повышение экспрессии миРНК-486-3p увеличивает чувствительность клеток к темозоломиду [28]. В доступной литературе нет информации о роли экспрессии миРНК-766-3p при глиобластоме, однако известно, что при различных онкологических заболеваниях миРНК-766-3p действует как супрессор опухоли [29]. Zhao и соавт. показали, что миРНК-30d-5p принимает участие в развитии и прогрессировании различных типов опухолей [30], однако в настоящее время исследования о вкладе миРНК-30d-5p в прогрессирование глиомы не проводились. Zhang и соавт. сообщили о роли миРНК-625-5p в ингибировании пролиферации, миграции и инвазии клеток глиомы, а также об увеличении чувствительности клеток глиомы к действию химиопрепаратов [31].

Другим перспективным биомаркером является миРНК-21, которая стимулирует пролиферацию, инвазию и метастазирование опухолевых клеток [32, 33], способствуя ангиогенезу [34, 35] и ингибируя апоптоз [24]. Уровни миРНК-21 в ВВ снижаются после резекции опухоли. Предполагается, что повторное увеличение количества этого маркера может свидетельствовать о возникновении рецидива. Кроме того, в двух независимых исследованиях [35] было показано увеличение концентраций миРНК-21 в везикулах, выделенных как из сыворотки крови, так и из спинномозговой жидкости, у пациентов с глиомой по сравнению со здоровыми людьми.

Другие миРНК рассмотрены в таблице. Широкое разнообразие этих молекул открывает перспективы дальнейших исследований, направленных на поиск биологических маркеров глиом, отвечающих всем требованиям.

Кроме миРНК диагностическое значение имеют ассоциированные с везикулами глиомные белки. Так, было показано, что выявление в сыворотке крови ВВ, транспортирующих рецептор мозгового нейротрофического фактора TrkB [40] и рецептор эпидермального фактора роста EGFRvIII [41, 42], ассоциировано с индукцией различных опухолей, включая глиомы. TGF- $\beta$ 1, контролирующий пролиферацию и клеточную дифференцировку, также может служить специфическим маркером глиомы, присутствуя в ВВ у пациентов с глиомой и не выявляясь в ВВ здорового человека [42].

Другим направлением анализа спектра биологически активных компонентов ВВ является дифференциальная диагностика опухолей головного мозга. Например, малые некодирующие РНК, в частности рiРНК, позволяют надежно дифференцировать глиобластому IV степени злокачественности от анапластической астроцитомы. Количественный анализ ряда рiРНК, таких как рiРНК 016658, рiРНК 016659, рiРНК 020829 и рiРНК 20490, позволил выявить их преобладающее количество в сывороточных ВВ пациентов с глиомой IV степени злокачественности, по сравнению с таковыми у пациентов с анапластической астроцитомой [43].

## 2. ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ В ТЕРАПИИ ГЛИОМ

Высокая инфильтративная способность опухолевых клеток обеспечивает их инвазию в окружающую паренхиму головного мозга, препятствуя полному удалению опухолевой массы и являясь причиной рецидивов.

По мере развития способов терапии проведено множество доклинических исследований новых таргетных препаратов. На настоящий момент существуют системы (наноконтейнеры, липосомы, наночастицы) направленной доставки лекарственных и диагностических препаратов в клетки-мишени головного мозга на основе векторных моноклональных антител к нейроспецифическим антигенам. Однако из-за особенностей строения ГЭБ,

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ ГЛИОМ

Таблица. Везикулярные миРНК сыворотки крови как перспективные биомаркеры глиом

Повышенное содержание миРНК	Сниженное содержание миРНК	Источник	Био-эффект	Потенциал диагностики	Потенциал прогнозирования	Потенциал мониторинга болезни	Ссылка
миРНК-21	—	Микро-везикулы клеток глиомы	Усиливает ангиогенез и пролиферацию глиомы	Отличать пациентов с глиомой от здоровых контрольных групп	—	—	[36]
миРНК-422а, миРНК-494-3р, миРНК-4443, миРНК-502-5р, миРНК-520f-3р, миРНК-549а	—	Экзосомы клеток глиомы	—	Отличать пациентов с глиомой от здоровых контрольных групп	Снижение уровня миРНК-422а связано с плохим прогнозом. Повышение уровня миРНК-502-5р связано с более длительной выживаемостью	—	[37]
—	миРНК-29b	Экзосомы клеток глиомы	—	Отличать пациентов с глиомой от здоровых контрольных групп.	Снижение уровней положительно коррелировало с короткой общей выживаемостью и короткой выживаемостью без болезней	Повышение уровня после резекции	[38]
миРНК-182-5р, миРНК-486-5р	миРНК-328-3р, миРНК-339-5р, миРНК-340-5р, миРНК-485-3р, миРНК-543	Экзосомы клеток глиомы	—	Отличать пациентов с глиомой от здоровых контрольных групп. Точная пред-операционная диагностика опухоли	—	—	[6]
миРНК-21, миРНК-222, миРНК-124-3р	—	Экзосомы клеток глиомы	—	Отличать пациентов с глиомой от здоровых контрольных групп	Уровни миРНК-21, связанные с экзосомами, могут предсказать классификацию глиомы до операции.	Снижение уровня после резекции	[39]

ограничивающего прохождение высокомолекулярных структур в ткань головного мозга, эффективный транспорт веществ и целенаправленное воздействие терапевтических агентов на опухолевые клетки всё ещё остаются важной проблемой в диагностике и терапии глиом.

В силу ряда преимуществ ВВ, отвечающих требованиям носителей (низкая иммуногенность, высокая эффективность загрузки и способность проникать через ГЭБ), исследуется их применение в качестве новых систем доставки лекарственных препаратов [44-46]. Zhu и соавт. исследовали проницаемость через ГЭБ нативных (неизменённых) ВВ, а также модифицированных ВВ, загруженных доксорубином. Авторы проводили двойное модифицирование ВВ пептидом Angioper-2 и трансаktиватором транскрипционных пептидов и в условиях *in vivo* показали, что модифицированные везикулы обладали способностью более эффективно преодолевать ГЭБ, мигрируя к опухолевым клеткам,

и характеризовались более высокой способностью ингибировать их рост по сравнению с нативными везикулами; также было продемонстрировано, что введение мышам доксорубина, заключённого в экзосомы, оказалось более эффективным в подавлении роста глиомы, чем инъекция свободного доксорубина [47].

Другое исследование, демонстрирующее перспективность использования экзосом в качестве тераностиков, было проведено Jia и соавт. Учёные получали экзосомы из линии Raw264.7 (макрофаги мыши), загружали наночастицами оксида железа и куркумином, после чего конъюгировали с пептидом RGERPPR (RGE), являющийся специфическим лигандом к нейропилину-1, сверхэкспрессируемому в клетках глиомы и эндотелии опухолевых сосудов. В результате в условиях *in vitro* и *in vivo* (на ортотопической мышинной модели) отмечалось более эффективное нацеливание модифицированных экзосом на опухолевые клетки, а также влияние

на их рост по сравнению с контролями. Кроме того, ранние опухоли мышей, которым вводили модифицированные экзосомы, имели более чёткие границы на изображениях МРТ, что делает такие экзосомы ценными для ранней диагностики новообразований [48].

Хорошо известно, что экзосомы могут применяться в качестве контейнеров для транспортировки биологически активных веществ, включая миРНК, к клеткам-мишеням [44, 46]. В связи с этим весьма перспективным представляется изучение возможности применения “противоопухолевых” миРНК для подавления неопластических процессов в клетках глиомы. Ученые из университета Гуанчжоу [49], предположив возможность эффективности использования миРНК-124-3р в терапии глиомы, загружали ею экзосомы, выделенные из нейральных стволовых клеток. На ксенографтной модели мышей исследователи продемонстрировали успешную доставку миРНК-124-3р в клетки глиомы и повышенное ингибирование пролиферации, миграции и инвазии опухолевых клеток.

Другим источником миРНК, ингибирующих глиому, могут являться МСК. Этот тип клеток часто используется в качестве клеточной терапии различных заболеваний. Так, в исследовании Ху и соавт. был продемонстрирован эффект влияния экзосом, полученных из МСК и несущих повышенное количество миРНК-133b, на снижение пролиферации, инвазии и миграции клеток глиомы путём нарушения сигнального пути Wnt/ $\beta$ -катенина за счёт ингибирования экспрессии гена EZH2, являющегося одним из ключевых регуляторов инвазии и метастазирования [50].

Другим, не менее важным механизмом противоопухолевых эффектов миРНК в отношении глиом является подавление её резистентности к химиопрепаратам. Так, Yu и соавт. выявили эффект повышения чувствительности глиомы к темозоломиду после доставки в опухоль препарата на основе экзосом из МСК, трансфицированных миРНК-199a [51]. Есть все основания полагать, что препараты “противоопухолевых миРНК” на основе экзосомных контейнеров могут в ближайшем будущем занять свою нишу в терапии глиом.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре рассмотрены современные взгляды на диагностику и терапию глиомы с помощью ВВ и их компонентов. Благодаря активно проводимым в этой области исследованиям, данные о роли ВВ в диагностике постепенно накапливаются. Также ВВ могут представлять собой эффективный и безопасный способ доставки миРНК, особенно в случае конструирования таргетной системы, нацеленной на клетки глиомы.

Однако, несмотря на очевидные преимущества ВВ, имеется ряд ограничений их использования. До конца не выявлены молекулярные механизмы, лежащие в основе биосинтеза ВВ и нет полного понимания биологических механизмов, определяющих

“загрузку” ВВ. В настоящее время отсутствуют методы стандартизации применения ВВ в качестве как диагностических, так и прогностических маркеров. Таким образом, потенциальное применение ВВ в клинической практике требует лучшего знания биогенеза ВВ и их функций.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 17-00-00161 КОМФИ, 17-00-00157 КОМФИ, 17-00-00159 КОМФИ и 17-00-00162 КОМФИ).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Louis D.N., Perry A., Wesseling P., Brat D.J., Cree I.A., Figarella-Branger D., Hawkins C., Ng H.K., Pfister S.M., Reifenberger G., Soffietti R., von Deimling A., Ellison D.W. (2021) The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Neuro-Oncology*, **23**(8), 1231-1251. DOI: 10.1093/neuonc/noab106
2. Schwartzbaum J.A., Fisher J.L., Aldape K.D., Wrensch M. (2006) Epidemiology and molecular pathology of glioma. *Nat. Clin. Pract. Neurol.*, **2**(9), 494-503. DOI: 10.1038/ncpneuro0289
3. Weller M., van den Bent M., Preusser M., le Rhun E., Tonn J.C., Minniti G., Bendszus M., Balana C., Chinot O., Dirven L., French P., Hegi M.E., Jakola A.S., Platten M., Roth P., Rudà R., Short S., Smits M., Taphoorn M.J.B., von Deimling A., Westphal M., Soffietti R., Reifenberger G., Wick W. (2022) Author correction: EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **19**(5), 357-358. DOI: 10.1038/s41571-022-00623-3
4. Mallawaarachy D.M., Hallal S., Russell B., Ly L., Ebrahimkhani S., Wei H., Christopherson R.I., Buckland M.E., Kaufman K.L. (2017) Comprehensive proteome profiling of glioblastoma-derived extracellular vesicles identifies markers for more aggressive disease. *J. Neurooncol.*, **131**(2), 233-244. DOI: 10.1007/s11060-016-2298-3
5. Vagner T., Chin A., Mariscal J., Bannykh S., Engman D.M., di Vizio D. (2019) Protein composition reflects extracellular vesicle heterogeneity. *Proteomics*, **19**(8), e1800167. DOI: 10.1002/pmic.201800167
6. Ebrahimkhani S., Vafaei F., Hallal S., Wei H., Lee M.Y.T., Young P.E., Satgunaseelan L., Beadnall H., Barnett M.H., Shivalingam B., Suter C.M., Buckland M.E., Kaufman K.L. (2018) Deep sequencing of circulating exosomal microRNA allows non-invasive glioblastoma diagnosis. *NPJ Precis. Oncol.*, **12**(28), 1-9. DOI: 10.1038/s41698-018-0071-0

7. Chistiakov D.A., Chekhonin V.P. (2014) Extracellular vesicles shed by glioma cells: Pathogenic role and clinical value. *Tumour Biol.*, **35**(9), 8425-8438. DOI: 10.1007/s13277-014-2262-9
8. Sourani A., Saghaei S., Sabouri M., Soleimani M., Dehghani L. (2021) A systematic review of extracellular vesicles as non-invasive biomarkers in glioma diagnosis, prognosis, and treatment response monitoring. *Mol. Biol. Rep.*, **48**(10), 6971-6985. DOI: 10.1007/s11033-021-06687-1
9. Jurj A., Zanoaga O., Braicu C., Lazar V., Tomuleasa C., Irimie A., Berindan-Neagoe I. (2020) A comprehensive picture of extracellular vesicles and their contents. Molecular transfer to cancer cells. *Cancers (Basel)*, **12**(2), 298. DOI: 10.3390/cancers12020298
10. Palviainen M., Saari H., Kärkkäinen O., Pekkinen J., Auriola S., Yliperttula M., Puhka M., Hanhineva K., Siljander P.R. (2019) Metabolic signature of extracellular vesicles depends on the cell culture conditions. *J. Extracell. Vesicles.*, **8**(1), 1596669. DOI: 10.1080/20013078.2019.1596669
11. Batool S.M., Hsia T., Khanna S.K., Gamblin A.S., Rosenfeld Y., You D.G., Carter B.S., Balaj L. (2022) Decoding vesicle-based precision oncology in gliomas. *Neurooncol. Adv.*, **4**(Suppl 2), ii53-ii60. DOI: 10.1093/naajnl/vdac035
12. Kalra H., Simpson R.J., Ji.H., Aikawa E., Altevogt P., Askenase P., Bond V.C., Borràs F.E., Breakefield X., Budnik V., Buzas E., Camussi G., Clayton A., Cocucci E., Falcon-Perez J.M., Gabrielsson S., Gho Y.S., Gupta D., Harsha H.C., Hendrix A., Hill A.F., Inal J.M., Jenster G., Krämer-Albers E.M., Lim S.K., Llorente A., Lötvall J., Marcilla A., Mincheva-Nilsson L., Nazarenko I., Nieuwland R., Nolte-'t Hoen E.N., Pandey A., Patel T., Piper M.G., Pluchino S., Prasad T.S., Rajendran L., Raposo G., Record M., Reid G.E., Sánchez-Madrid F., Schiffelers R.M., Siljander P., Stensballe A., Stoorvogel W., Taylor D., Thery C., Valadi H., van Balkom B.W., Vázquez J., Vidal M., Wauben M.H., Yáñez-Mó M., Zoeller M., Mathivanan S. (2012) Vesiclepedia: A compendium for extracellular vesicles with continuous community annotation. *PLoS Biol.*, **10**(12), e1001450. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001450
13. Jurj A., Pop-Bica C., Slaby O., Stefan C.D., Cho W.C., Korbán S.S., Berindan-Neagoe I. (2020) Tiny actors in the big cellular world: Extracellular vesicles playing critical roles in cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(20), 7688. DOI: 10.3390/ijms21207688
14. Chuo S.T., Chien J.C., Lai C.P. (2018) Imaging extracellular vesicles: Current and emerging methods. *J. Biomed. Sci.*, **25**(1), 91. DOI: 10.1186/s12929-018-0494-5
15. Zhang Y., Liu Y., Liu H., Tang W.H. (2019) Exosomes: Biogenesis, biologic function and clinical potential. *Cell Biosci.*, **9**, 19. DOI: 10.1186/s13578-019-0282-2
16. André-Grégoire G., Bidère N., Gavard J. (2018) Temozolomide affects extracellular vesicles released by glioblastoma cells. *Biochimie*, **155**, 11-15. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.02.007
17. Evans S.M., Putt M., Yang X.Y., Lustig R.A., Martinez-Lage M., Williams D., Desai A., Wolf R., Brem S., Koch C.J. (2016) Initial evidence that blood-borne microvesicles are biomarkers for recurrence and survival in newly diagnosed glioblastoma patients. *J. Neurooncol.*, **127**(2), 391-400. DOI: 10.1007/s11060-015-2051-3
18. Shao H., Chung J., Balaj L., Charest A., Bigner D.D., Carter B.S., Hochberg F.H., Breakefield X.O., Weissleder R., Lee H. (2012) Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy. *Nat. Med.*, **18**(12), 1835-1840. DOI: 10.1038/nm.2994
19. Koch C.J., Lustig R.A., Yang X.Y., Jenkins W.T., Wolf R.L., Martinez-Lage M., Desai A., Williams D., Evans S.M. (2014) Microvesicles as a biomarker for tumor progression versus treatment effect in radiation/temozolomide-treated glioblastoma patients. *Transl. Oncol.*, **7**(6), 752-758. DOI: 10.1016/j.tranon.2014.10.004
20. Colombo F., Norton E.G., Cocucci E. (2021) Microscopy approaches to study extracellular vesicles. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.*, **1865**(4), 129752. DOI: 10.1016/j.bbagen.2020.129752
21. Marei H.E., Althani A., Afifi N., Hasan A., Caceci T., Cifola I., Caratelli S., Sconocchia G., d'Agnano I., Cenciarelli C. (2022) Glioma extracellular vesicles for precision medicine: Prognostic and theragnostic application. *Discov. Oncol.*, **13**(1), 49. DOI: 10.1007/s12672-022-00514-0
22. Müller Bark J., Kulasinghe A., Chua B., Day B.W., Punyadeera C. (2020) Circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *Br. J. Cancer.*, **122**(3), 295-305. DOI: 10.1038/s41416-019-0603-6
23. Wang H., Jiang D., Li W., Xiang X., Zhao J., Yu B., Wang C., He Z., Zhu L., Yang Y. (2019) Evaluation of serum extracellular vesicles as noninvasive diagnostic markers of glioma. *Theranostics*, **9**(18), 5347-5358. DOI: 10.7150/thno.33114
24. van der Vos K.E., Abels E.R., Zhang X., Lai C., Carrizosa E., Oakley D., Prabhakar S., Mardini O., Crommentuijn M.H., Skog J., Krichevsky A.M., Stemmer-Rachamimov A., Mempel T.R., El Khoury J., Hickman S.E., Breakefield X.O. (2016) Directly visualized glioblastoma-derived extracellular vesicles transfer RNA to microglia/macrophages in the brain. *Neuro-Oncology*, **18**(1), 58-69. DOI: 10.1093/neuonc/nov244
25. Simionescu N., Nemezc M., Petrovici A.R., Nechifor I.S., Buga R.C., Dabija M.G., Eva L., Georgescu A. (2022) Microvesicles and microvesicle-associated microRNAs reflect glioblastoma regression: Microvesicle-associated miR-625-5p has biomarker potential. *Int. J. Mol. Sci.*, **23**(15), 8398. DOI: 10.3390/ijms23158398
26. Huang W., Shi Y., Han B., Wang Q., Zhang B., Qi C., Liu F. (2020) LncRNA GAS5-AS1 inhibits glioma proliferation, migration, and invasion via miR-106b-5p/TUSC2 axis. *Hum. Cell*, **33**, 416-426. DOI: 10.1007/s13577-020-00331-z
27. Liu F., Gong J., Huang W., Wang Z., Wang M., Yang J., Wu C., Wu Z., Han B. (2013) MicroRNA-106b-5p boosts glioma tumorigenesis by targeting multiple tumor suppressor genes. *Oncogene*, **33**, 4813-4822. DOI: 10.1038/nc.2013.428
28. Wu H., Li X., Zhang T., Zhang G., Chen J., Chen L., He M., Hao B., Wang C. (2020) Overexpression miR-486-3p promoted by allicin enhances temozolomide sensitivity in glioblastoma via targeting MGMT. *NeuroMolecular Medicine*, **22**, 359-369. DOI: 10.1007/s12017-020-08592-5
29. You Y., Que K., Zhou Y., Zhang Z., Zhao X., Gong J., Liu Z. (2018) MicroRNA-766-3p inhibits tumour progression by targeting Wnt3a in hepatocellular carcinoma. *Mol. Cells*, **41**, 830-841. DOI: 10.14348/MOLCELLS.2018.0181
30. Zhao Q., Yuan X., Zheng L., Xue M. (2022) miR-30d-5p: A non-coding RNA with potential diagnostic, prognostic and therapeutic applications. *Front. Cell Dev. Biol.*, **10**, 829435. DOI: 10.3389/fcell.2022.829435
31. Zhang J., Zhang J., Zhang J., Qiu W., Xu S., Yu Q., Liu C., Wang Y., Lu A., Zhang J., Lu X. (2017) MicroRNA-625 inhibits the proliferation and increases the chemosensitivity of glioma by directly targeting AKT2. *Am. J. Cancer Res.*, **7**(9), 1835-1849.
32. Ghaemmaghami A.B., Mahjoubin-Tehran M., Movahedpour A., Morshedi K., Sheida A., Taghavi S.P., Mirzaei H., Hamblin M.R. (2020) Role of exosomes in malignant glioma: MicroRNAs and proteins in pathogenesis and diagnosis. *Cell Commun. Signal.*, **18**(1), 120. DOI: 10.1186/s12964-020-00623-9

33. Yang C.H., Yue J., Pfeffer S.R., Fan M., Paulus E., Hosni-Ahmed A., Sims M., Qayyum S., Davidoff A.M., Handorf C.R., Pfeffer L.M. (2014) MicroRNA-21 promotes glioblastoma tumorigenesis by down-regulating insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP3). *J. Biol. Chem.*, **289**(36), 25079-25087. DOI: 10.1074/jbc.M114.593863
34. Hermansen S.K., Nielsen B.S., Aaberg-Jessen C., Kristensen B.W. (2016) MiR-21 is linked to glioma angiogenesis: A co-localization study. *J. Histochem. Cytochem.*, **64**(2), 138-148. DOI: 10.1369/0022155415623515
35. Akers J.C., Ramakrishnan V., Kim R., Skog J., Nakano I., Pingle S., Kalinina J., Hua W., Kesari S., Mao Y., Breakefield X.O., Hochberg F.H., van Meir E.G., Carter B.S., Chen C.C. (2013) MiR-21 in the extracellular vehicles (EVs) of cerebrospinal fluid (CSF): A platform for glioblastoma biomarker development. *PLoS One*, **8**(10), e78115. DOI: 10.1371/journal.pone.0078115
36. Skog J., Wurdinger T., van Rijn S., Meijer D.H., Gainche L., Curry W.T., Carter B.S., Krichevsky A.M., Breakefield X.O. (2008) Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat. Cell Biol.*, **10**(12), 1470-1476. DOI: 10.1038/ncb1800
37. Drusco A., Fadda P., Nigita G., Fassan M., Bottoni A., Gardian M.P., Sacchi D., Calore F., Carosi M., Antenucci A., Casini B., Kelani H., Pescarmona E., di Leva G., Zanesi N., Berger M.S., Croce C.M. (2018) Circulating microRNAs predict survival of patients with tumors of glial origin. *EBioMedicine*, **30**, 105-112. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.03.022
38. Zhong F., Huang T., Leng J. (2019) Serum miR-29b as a novel biomarker for glioblastoma diagnosis and prognosis. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, **12**(11), 4106-4112.
39. Santangelo A., Imbrucè P., Gardenghi B., Belli L., Agushi R., Tamanini A., Munari S., Bossi A.M., Scambi I., Benati D., Mariotti R., di Gennaro G., Sbarbati A., Eccher A., Ricciardi G.K., Ciceri E.M., Sala F., Pinna G., Lippi G., Cabrini G., Dechecchi M.C. (2018) A microRNA signature from serum exosomes of patients with glioma as complementary diagnostic biomarker. *J. Neurooncol.*, **136**, 51-62. DOI: 10.1007/s11060-017-2639-x
40. Pinet S., Bessette B., Vedrenne N., Lacroix A., Richard L., Jauberteau M.O., Battu S., Lalloué F. (2016) TrkB-containing exosomes promote the transfer of glioblastoma aggressiveness to YKL-40-inactivated glioblastoma cells. *Oncotarget*, **7**(31), 50349-50364. DOI: 10.18632/oncotarget.10387
41. Birkó Z., Nagy B., Klekner Á., Virga J. (2020) Novel molecular markers in glioblastoma-benefits of liquid biopsy. *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(20), 7522. DOI: 10.3390/ijms21207522
42. Graner M.W., Alzate O., Dechkovskaia A.M., Keene J.D., Sampson J.H., Mitchell D.A., Bigner D.D. (2009) Proteomic and immunologic analyses of brain tumor exosomes. *FASEB J.*, **23**(5), 1541-1557. DOI: 10.1096/fj.08-122184
43. Hallal S., Ebrahim Khani S., Wei H., Lee M.Y.T., Sim H.W., Sy J., Shivalingam B., Buckland M.E., Alexander-Kaufman K.L. (2020) Deep sequencing of small RNAs from neurosurgical extracellular vesicles substantiates miR-486-3p as a circulating biomarker that distinguishes glioblastoma from lower-grade astrocytoma patients. *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(14), 4954-4975. DOI: 10.3390/ijms21144954
44. Sun K., Zheng X., Jin H., Yu F., Zhao W. (2022) Exosomes as CNS drug delivery tools and their applications. *Pharmaceutics*, **14**(2252), 1-22. DOI: 10.3390/pharmaceutics14102252
45. Katsuda T., Kosaka N., Ochiya T. (2014) The roles of extracellular vesicles in cancer biology: Toward the development of novel cancer biomarkers. *Proteomics*, **14**(4-5), 412-425. DOI: 10.1002/pmic.201300389
46. Vader P., Breakefield X.O., Wood M.J. (2014) Extracellular vesicles: Emerging targets for cancer therapy. *Trends Mol. Med.*, **20**(7), 385-393. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.03.002
47. Zhu Z., Zhai Y., Hao Y., Wang Q., Han F., Zheng W., Hong J., Cui L., Jin W., Ma S., Yang L., Cheng G. (2022) Specific anti-glioma targeted-delivery strategy of engineered small extracellular vesicles dual-functionalised by angiop-2 and TAT peptides. *J. Extracell. Vesicles*, **11**(8), e12255. DOI: 10.1002/jev2.12255
48. Jia G., Han Y., An Y., Ding Y., He C., Wang X., Tang Q. (2018) NRP-1 targeted and cargo-loaded exosomes facilitate simultaneous imaging and therapy of glioma *in vitro* and *in vivo*. *Biomaterials*, **178**, 302-316. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.06.029
49. Qian C., Wang Y., Ji Y., Chen D., Wang C., Zhang G., Wang Y. (2022) Neural stem cell-derived exosomes transfer miR-124-3p into cells to inhibit glioma growth by targeting FLOT2. *Int. J. Oncol.*, **61**(4), 115. DOI: 10.3892/ijo.2022.5405
50. Xu H., Zhao G., Zhang Y., Jiang H., Wang W., Zhao D., Hong J., Yu H., Qi L. (2019) Mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-133b suppresses glioma progression via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway by targeting EZH2. *Stem Cell Res. Ther.*, **10**(1), 381. DOI: 10.1186/s13287-019-1446-z
51. Yu L., Gui S., Liu Y., Qiu X., Zhang G., Zhang X., Pan J., Fan J., Qi S., Qiu B. (2019) Exosomes derived from microRNA-199a-overexpressing mesenchymal stem cells inhibit glioma progression by down-regulating AGAP2. *Aging (Albany NY)*, **11**(15), 5300-5318. DOI: 10.18632/aging.102092

Поступила в редакцию: 12. 11. 2022.  
После доработки: 11. 12. 2022.  
Принята к печати: 15. 12. 2022.

EXTRACELLULAR VESICLES FOR DIAGNOSIS AND THERAPY OF GLIOMAS:  
PROBLEMS AND OPPORTUNITIES

*A.A. Filin<sup>1\*</sup>, A.A. Chernysheva<sup>1</sup>, G.V. Pavlova<sup>2</sup>, V.B. Loshchenov<sup>3,4</sup>, O.I. Gurina<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>V.P. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology,  
Ministry of Health of the Russian Federation,  
23 Kropotkinskiy per., Moscow, 119034 Russia; \*e-mail: z99c@mail.ru

<sup>2</sup>Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences,  
34/5 Vavilova str., Moscow, 119334 Russia

<sup>3</sup>Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences,  
38 Vavilova str., Moscow, 119991 Russia

<sup>4</sup>National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute),  
31 Kashirskoe shosse, Moscow, 115409 Russia

Glioblastoma is a primary brain tumor and one of the most aggressive malignant neoplasms. The prognosis remains poor with a short survival period after diagnosis even in the case of timely detection and early treatment with the use of advanced chemotherapy, radiation therapy and surgical treatment. In this regard, the research of the main pathogenetic links in the glioblastoma development continues. The current focus is on studying the molecular characteristics of tumours, including the analysis of extracellular vesicles, which play an essential role in intercellular communication processes. In this review, in order to provide up-to-date information on the role of extracellular vesicles in the diagnosis and therapy of gliomas, the analysis of the achieved results of Russian and foreign research related to this area has been carried out. The main goal of this review is to describe the features of extracellular vesicles as the containers and glioma marker transporters, as well as nucleic acids used in diagnosis and therapy.

**Key words:** glioma; biomarkers; extracellular vesicles; miRNA; diagnosis; therapy

**Funding.** The work was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (grants 17-00-00161 COMFI, 17-00-00157 COMFI, 17-00-00159 COMFI, and 17-00-00162 COMFI).

Received: 12.11.2022; revised: 11.12.2022; accepted: 15.12.2022.