Внеклеточные везикулы (экзосомы) и паразитарные болезни: типовые технологии изоляции и исследования. Часть 1

Шендеров Б.А.^{1, 2},
Кузнецова К.Ю.³,
Сергиев В.П.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)», 109004, г. Москва, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, 119121, г. Москва, Российская Федерация

Экзосомные микровезикулярные структуры (ЭМВС) – это внеклеточные микро- и нанообразования, окруженные мембранами, продуцируемые эукариотическими и прокариотическими клетками *in vivo* и *in vitro*, способные передавать различные низкомолекулярные соединения (белки, пептиды, кофакторы, липиды, метаболиты, ДНК, РНК, некодирующие РНК и др.), которые могут быть обнаружены в биологических жидкостях и различных тканях хозяина. ЭМВС могут участвовать в синтезе энергии, осуществлять межклеточную коммуникацию, регулировать иммунные, нейроэндокринные ответы и многие другие функции и реакции клеток, поддерживать здоровье и участвовать в патогенезе многих заболеваний.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Концепция исследования – Шендеров Б.А., дизайн исследования – Кузнецова К.Ю., Сергиев В.П., сбор материала – Шендеров Б.А., Сергиев В.П., обработка материала – Кузнецова К.Ю., написание текста – Шендеров Б.А., Кузнецова К.Ю., редактирование – все авторы.

Для цитирования: Шендеров Б.А., Кузнецова К.Ю., Сергиев В.П. Внеклеточные везикулы (экзосомы) и паразитарные болезни: типовые технологии изоляции и исследования. Ч. 1 // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9, № 4. С. 110–115. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-4-110-115>

Статья поступила в редакцию 22.07.2020. Принята в печать 09.11.2020.

Ключевые слова:

внеклеточные везикулы, изоляция и функции экзосом, молекулярная структура, паразитарная патология

Extracellular vesicles (exosomes) and parasitic infections: typical isolation and research technologies. Part 1

Shenderov B.A.^{1, 2},
Kuznetsova K.Yu.³,
Sergiyev V.P.²

¹ K.G. Razumovsky Moscow State University, 109004, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University), 119991, Moscow, Russian Federation

³ Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, 119121, Moscow, Russian Federation

Exosomal microvesicular structures (EMVS) are extracellular micro-and nano-formations surrounded by membranes produced by eukaryotic and prokaryotic cells *in vivo* and *in vitro*, capable of transmitting to other cells various low-molecular compounds (proteins and peptides, cofactors, lipids, metabolites, DNA, RNA, non-

coding RNA, and others), which can be detected in biological fluids and various host tissues. They can participate in the synthesis of energy, carry out intercellular communication, regulate immune, neuro-endocrine responses and many other functions and reactions of cells, maintain health and participate in the pathogenesis of many diseases.

Funding. The study was not sponsored.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Contributions. Research concept – Shenderov B.A.; research design – Kuznetsova K.Yu., Sergiev V.P.; collection of material – Shenderov B.A., Sergiev V.P.; processing of material – Kuznetsova K.Yu.; writing the text – Shenderov B.A., Kuznetsova K.Yu.; editing – all authors.

For citation: Shenderov B.A., Kuznetsova K.Yu., Sergiyev V.P. Extracellular vesicles (exosomes) and parasitic infections: typical isolation and research technologies. Part 1. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye* [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2020; 9 (4): C. 110–5. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-4-110-115> (in Russian)

Received 22.07.2020. **Accepted for publication** 09.11.2020.

Keywords:
extracellular
vesicle, exosome
isolation and
functions,
molecular
structure, parasitic
pathology

Паразитарные болезни до настоящего времени остаются важнейшей мировой проблемой, угрожающей здоровью человека. Повышение осведомленности об этой патологии, поиск более эффективных способов борьбы с паразитарными болезнями остаются настоятельной необходимостью. В ходе длительной коэволюции с различными видами хозяев паразиты разработали сложные стратегии коммуникации и управления физиологическим гомеостазом, позволяющим им выживать в организме хозяина. В последние годы с открытием внеклеточных везикул и установлением их несомненной роли во внутриклеточных и межклеточных взаимодействиях исследователи все более активно начинают сосредотачивать свое внимание на роли этих внеклеточных микро- и наноструктур при паразитарных болезнях [1–3].

Внутриклеточные цитоплазматические везикулы впервые были описаны бельгийским ученым Christian de Duve в 1955 г. Лизосомы распознают в цитоплазме клеток наличие или недостаток различных нутриентов и активируют сигнальный ядерно-лизосомальный путь, ответственный за ответ клеток на дефицит этих нутриентов и регуляцию энергетического метаболизма. В содержимом лизосом найдено около 60 различных растворимых гидролаз (сульфатазы, гликозидазы, фосфатазы, липазы, нуклеазы), способных гидролизовать широкий спектр биологических субстратов (гликозаминогликаны, сфинголипиды, гликоген, белки и др.) в кислой среде. Подвергая деградации различный внеклеточный или внутриклеточный материал, лизосомы участвуют в формировании метаболитов и новых биологически активных молекул и передают их собственным и другим клеткам через соответственно эндоцитоз (фагоцитоз, макропиноцитоз и др.) или путем аутофагии (self-eating).

Внутриклеточные везикулы участвуют в специфической аутофагально-лизосомальной деградации и метаболизации поступающих эндогенных соединений и компонентов, а в последующем адресно передают вновь созданные продукты исходным и реципиентным клеткам хозяина [4]. В настоящее время внутри- и внеклеточные везикулярные микро- и нанообразования в научной литературе обозначают по-разному: экзосомы, эктосомы, микровезикулы, микрочастицы, виросомы, вирусосхожие частицы, апоптозные тельца, онкосомы и др. [5–7]. Внеклеточные везикулы,

присутствуя в большинстве жидкостей организма человека, могут осуществлять межклеточную коммуникацию, регулировать эпигенетические, иммунные, нейроэндокринные и другие процессы, включая клеточное старение, в эукариотических и прокариотических клетках [2, 4, 8].

При длительных и/или чрезмерных стрессовых ситуациях в клетках увеличивается число внеклеточных везикул, в которых начинают накапливаться дефектные или избыточные низкомолекулярные соединения, способные индуцировать развитие патологических процессов (изменение иммунологической реактивности, хроническое воспаление и др.).

В течение длительного времени научный интерес в области паразитарных болезней преимущественно был сосредоточен на обнаружении и идентификации различных секреторных сигнальных молекул, участвующих в резистентности хозяина к патогенным паразитам, возникновению и прогрессированию паразитарных заболеваний. В последнее десятилетие заметно возросло внимание исследователей и клиницистов к оценке роли внеклеточных и внутриклеточных микровезикул в этиопатогенезе паразитарных инфекций [1, 2, 9]. В данном обзоре проведен анализ опубликованных в зарубежной литературе данных о роли внеклеточных везикулярных структур в этиопатогенезе паразитарных инфекций у млекопитающих, включая человека.

Общая характеристика, физиологические свойства и метаболические характеристики экзосом – микровезикулярных структур

Начало исследования внеклеточных микровезикул можно датировать 1946 г., когда E. Chargaff и R. West впервые описали в плазме нормальной крови небольшие по размеру частицы субклеточного прокоагулянтного фактора, образуемого тромбоцитами. Позднее он был более детально описан в 1967 г. как «пыль тромбоцитов» и как богатые липидами везикулы с диаметром 20–50 нм [10]. В последующем внеклеточные микровезикулярные структуры эндогенного происхождения были обнаружены у водорослей (1957),

животных и бактериальных клеток (1959), у высших растений (1965), грибов (1973), у паразитов (1979) и, наконец, у археев (2000). Они естественно высвобождаются из клеток и не способны к репликации [2, 3, 11–14].

В 2011 г. было создано международное общество (International Society for Extracellular Vesicles, ISEV), работа которого полностью посвящена изучению биологии и прикладному использованию этих нановнеклеточных образований [14]. Термин «экзосомы» был предложен Rose Johnstone в 1987 г. [4]. В 2011 г. микровезикулярные структуры в соответствии с предложениями ISEV стали подразделять на экзосомы, микровезикулы и апоптотические тела. Относительно недавно появились данные о наличии определенной связи между лизосомами и экзосомами. При этом оказалось, что аутофагия, возникающая при дефиците необходимых биоактивных молекул, уменьшала высвобождение экзосом. Напротив, ингибирование аутофагии способствовало секреции экзосом. При нарушении деградации поврежденных лизосом в их содержимом происходит прогрессированная аккумуляция цитоплазматических молекул, что способствует их высвобождению в виде частично или полностью не перевариваемого материала в экзосомы [15].

Экзосомы могут быть идентифицированы в клетках практически всех тканей организма хозяина, а также во многих биологических жидкостях млекопитающих, включая человека (слюна, моча, смывы носоглотки и бронхов, амниотическая жидкость, плазма, сыворотка крови, спинномозговая жидкость, грудное молоко и т.д.) [1, 12, 14]. Биологическая важность лизосом и экзосом во многих физиологических процессах до настоящего времени полностью не установлена.

Аутофагия и секреция экзосом, несомненно, являются координированными процессами, которые совместно участвуют в гомеостазе хозяина, а возникающие в них дефекты ассоциируют со многими заболеваниями человека [4, 8, 16]. Внеклеточные везикулярные структуры в зависимости от размера, способа выделения и источника образования делят на экзосомы (30–150 нм), формирующиеся в результате высвобождения мультивезикулярных тел за счет отделения участков плазматической мембраны во внутреннюю

часть клетки; микровезикулы (100–1000 нм), образующиеся в результате выпячивания и отделения плазматической мембраны от внешней стороны клеток; и апоптотические тела (1000–5000 нм в диаметре), образующиеся при программированной гибели клеток в процессе апоптоза и их фрагментации [5, 17] (см. рисунок).

Клеточные и внеклеточные микровезикулы (лизосомы и экзосомы) различают также по составу мембранных липидов, белков и их внутреннего содержимого, участию в физиологических и патологических реакциях и функциях организма хозяина. Если в составе двуслойной липидной мембраны преимущественно присутствует лизобисфосфотидиловая кислота, эти микровезикулы относят к лизосомам, которые могут подвергаться деградации. Если в составе мембран преобладают церамиды, микровезикулы превращаются в экзосомы, способные выделяться в межклеточное пространство [7, 12, 14, 17]. Поскольку консенсуса по номенклатуре последних микровезикул не достигнуто до настоящего времени, в этом обзоре для обозначения всех видов выделяемых внеклеточных нановезикул терминологически они будут обозначаться как экзосомные микровезикулярные структуры (или просто экзосомы) (ЭМВС).

Экзосомы движутся в межклеточном пространстве или в биологических жидкостях, пока они не фиксируются к рецепторам определенных клеток. Если они не связываются, экзосомы подвергаются элиминации из организма путем деградации или за счет других механизмов очищения [18]. Фармакокинетические исследования на мышинных моделях показали, что 4–10% первоначально парентерально вводимых экзосом могут сохранять свою структуру и функции в биологических жидкостях (например, крови) в течение достаточно ограниченного времени (от 10 мин до 5,5 ч). Клетки способны захватывать экзосомы за счет рецепторно/липидного сливания с плазматическими мембранами реципиентных клеток. Захват внеклеточных микровезикул является энергозависимым процессом [15].

Состав экзосом достаточно гетерогенен и изменяется в динамике. В содержимом ЭМВС различного происхождения уже выявлено 3500–11 261 белков, 1300–2375 мРНК (около 10% мРНК родительских клеток), 120–764 микроРНК,

Основные типы внеклеточных нанообразований [5] (по Skotland T. et al., 2017)

2000 липидов, гликанов, фрагментов двухпочечных ДНК, других низкомолекулярных субстанций и образований (фрагменты митохондрий, плазмиды, прионы, вирусы и др.). Присутствие этих внеклеточных образований в биологических жидкостях организма в местах их нахождения и в реципиентных клетках, расположенных в отдалении, свидетельствует об их важности как в поддержании гомеостаза, так и при патологических процессах [3, 6, 15, 16, 18–21]. Когда содержимое внеклеточных микровезикул взаимодействует с молекулами реципиентных клеток, они участвуют в формировании других ЭМВС, которые аналогичным образом выделяются из клеток и вновь объединяются с другими клетками. Этот процесс обозначают как многократную межклеточную коммуникацию [15, 16].

Типовые технологии изоляции и исследования экзосомных микровезикулярных структур, в том числе паразитарного происхождения. В настоящее время разработаны многочисленные приемы изоляции, очистки и молекулярного исследования ЭМВС из различного биоматериала. С учетом задач эти методы имеют определенные особенности. На протяжении многих лет наиболее распространенными приемами выделения и анализа ЭМВС различного происхождения являются ультрацентрифугирование, оценка плотности получаемого осадка, градиентное центрифугирование, преципитация, ультрафильтрация, эксклюзивная хроматография, иммунные и другие методы [8, 10, 16, 22, 23]. Ультрацентрифугирование является наиболее эффективным приемом выделения ЭМВС из исследованного биоматериала и включает несколько этапов с использованием разных скоростей вращения ротора центрифуги. Загрязняющие ЭМВС более крупные частицы (липопротеиновые комплексы, фрагменты клеток, жгутики, белковые агрегаты и другие по составу и массе компоненты) остаются в осадке после ультрацентрифугирования. Дифференцированное ультрацентрифугирование удаляет большие фрагменты разрушенных клеток вначале при низкой скорости вращения центрифуги (ниже 20 000g); дальнейшее удаление белков ЭМВС производят путем их преципитации с использованием высоких скоростей вращения ротора (не менее 100 000g). При центрифугировании с измененным градиентом плотности в биоматериал могут добавлять раствор сахарозы или йодксанола, что способствует лучшему отделению ЭМВС от контаминирующих белков и других частиц. Фильтрация – это еще один простой метод изоляции ЭМВС из образцов биоматериала. Используя мембраны с известными размерами пор, можно отделять различные фрагменты клеток и получать очищенные внутри- и внеклеточные микро- и наночастицы.

Обычно фильтрацию комбинируют с методами центрифугирования [10, 23]. Иногда для увеличения преципитации к биоматериалу, содержащему ЭМВС, добавляют различные растворимые полимеры. Для этих целей используют коммерческие наборы (киты), антитела (или пептиды), имеющие сродство к поверхностным белкам, аптамеры, связывающиеся с нуклеиновыми кислотами, специфические наборы (киты), имеющие сродство к липидным и другим компонентам мембран. Для отделения и манипулирования с ЭМВС используются также различные приемы электрокинетиче-

ской изоляции (например, иммуноэлектрофорез), а также другие, позволяющие селективно захватывать и концентрировать ЭМВС [10, 22–24].

В последние годы используют новые стратегии изоляции и идентификации ЭМВС (создание биомолекулярных зондов, применение поверхностных плазмонов, наноматериалов, магнитные технологии и др.) [10].

Бельгийская фирма Cell Guidance Systems выпускает хроматографические колонки, позволяющие выделять высокоочищенные ЭМВС из крови за 1–2 ч. Использование специальных биореакторов для увеличения выращенных в питательных средах различных эукариотических и прокариотических организмов позволяет в более чем 10–100 раз увеличивать выход ЭМВС для аналитических и других целей [25]. Различные субтипы ЭМВС содержат низкомолекулярные субстанции, различающиеся по своему происхождению, молекулярному составу, ультраструктуре, размерам, форме и другим морфологическим, физико-химическим и функциональным характеристикам.

Современные приемы молекулярного исследования ЭМВС используют широкий спектр методов не только суммарной их характеристики, но даже на уровне отдельных экзосом [15]. Для выявления морфологических, физико-химических, биомолекулярных и функциональных свойств ЭМВС используют электронную, сканирующую электронную, трансмиссивную электронную и криомикроскопию, проточную цитометрию, вестерн-блоттинг, хроматографические, масс-спектрометрические, иммунологические и другие методы анализа [7, 26].

Дальнейший анализ ЭМВС осуществляют с использованием разнообразных приемов ОМИК-анализа, газовой и жидкостной хроматографии, различных вариантов масс-спектропии или их комплекса [15, 25, 27]. Для выявления и оценки молекулярного состава ЭМВС в биоматериале «невооруженным глазом» без их выделения и очистки начинают использовать флуоресцентный метод.

Флуоресцентные молекулы позволяют облегчить детекцию экзосомных отдельных низкомолекулярных соединений за счет антиген/антитела взаимодействия или гибридизации нуклеиновых кислот [28]. Помимо флуоресцентных молекул, используют различные липофильные красители, которые окрашивают липидные мембраны или красители, связывающиеся с РНК [10]. Эти приемы высокочувствительны и не требуют больших количеств исследуемого материала.

Нуклеиновые кислоты, присутствующие в этих экзосомах, можно определять с использованием ПЦР и технологий секвенирования. Эффективным колориметрическим приемом визуального исследования ЭМВС является добавление к биоматериалу наночастиц золота (AuNps) и аптамеров ДНК. Вносимые соединения приводят к изменению цвета агрегатов от красного до голубого [10, 28].

Наиболее распространенные приемы и методы изоляции, изучения молекулярного состава и функционирования ЭМВС применительно к различным патогенным простейшим и нематодам недавно опубликованы в нескольких обзорах [3, 9, 10, 29]. Перечень подобных быстрых и удобных в использовании новинок в области изучения паразитарных ЭМВС и входящих в них биомолекул в ближайшие годы, несомненно, увеличится [10].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шендеров Борис Аркадьевич (Boris A. Shenderov)* – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Конструирование и внедрение продуктов и рационов персонализированного питания» ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)», Москва, Российская Федерация

E-mail: shenderof@yandex.ru

<http://orcid.org/0000-0003-3298-6508>

Кузнецова Камалая Юнис-кызы (Kamalya Yu. Kuznetsova) – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории санитарной бактериологии и паразитологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России, Москва, Российская Федерация

E-mail: kama.123@yandex.ru

<http://orcid.org/0000-0003-2176-7852>

Сергиев Владимир Петрович (Vladimir P. Sergiyev) – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

E-mail: v.sergiev@yandex.ru

<http://orcid.org/0000-0002-1163-8419>

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Riaz F., Cheng G. Exosome-like vesicles of helminths: implication of pathogenesis and vaccine development. *Ann Transl Med.* 2017; 5 (7): 175. DOI: <https://doi.org/10.21037/atm.2017.0e.45>
2. Wu Z., Wang L., Li J., Wang L., Wu Z., Sun X. Extracellular vesicle-mediated communication within host-parasite interactions. *Front Immunol.* 2019; 9: 3066. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03066>
3. Khosravi M., Mirsamadi E.S., Mirjalali H., Zali M.R. Isolation and functions of extracellular vesicles derived from parasites: the promise of a new era in immunotherapy, vaccination, and diagnosis. *Int J Nanomed.* 2020; 15: 2957–2969. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S250993>
4. Hessvik N.P., Llorente A. Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cell Mol Life Sci.* 2018; 75: 193–208. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2595-9>
5. Skotland T., Sandvig K., Llorente A. Lipids in exosomes: current knowledge and the way forward. *Prog Lipid Res.* 2017; 66: 30–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.03.001>
6. Sedgwick A.E., D'Souza-Schorey C. The biology of extracellular microvesicles. *Traffic.* 2018; 19 (5): 319–27. DOI: <https://doi.org/10.1111/tra.12558>
7. Hartjes T.A., Mytnyk S., Jenster G.W., van Steijn V., van Royen M.E. Extracellular vesicle quantification and characterization: common methods and approaches. *Bioengineering.* 2019; 6: 7. DOI: <https://doi.org/10.3390/bioengineering6010007>
8. Mallocci M., Perdomo L., Veerasamy M., Andriantsitohaina R., Sirmard G., Martinez M.C. Extracellular vesicles: mechanisms in human health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2019; 30: 813–56. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7265>
9. Nawaz M., Malik M.I., Hameed M., Zhou L. Research progress on the composition and function of parasite-derived exosomes. *Acta Trop.* 2019; 196: 30–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.004>
10. Wang Y., Yuan W., Kimber M., Lu M., Dong L. Rapid differentiation of host and parasitic exosome vesicles using microfluidic photonic crystal biosensor. *ACS Sens.* 2018; 3 (9): 1616–21. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b00360>
11. Silveira J.F., Abrahamsohn P.A., Colli W. Plasma membrane vesicles isolated from epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. *Biochim Biophys Acta.* 1979; 550 (2): 222–32.
12. Yanez-Mo M., Siljander P. R-M., Andreu Z., Zavec A.B., Borrás F.E., et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell. Vesicles.* 2015; 4: 27066. DOI: <https://doi.org/10.103402/jev.v4.27066>
13. Mekonnen G.G., Pearson M., Loukas A., Sotillo J. Extracellular vesicles from parasitic helminths and their potential utility as vaccines. *Expert Rev Vaccines.* 2018; 17: 197–205. DOI: <https://doi.org/10.1080/14760584.2018.1431125>
14. Woith E., Fuhrmann G., Melzig M.F. Extracellular vesicles-connecting kingdoms. *Int J Mol Sci.* 2019; 20: 5695. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20225695>
15. Vidal M. Exosomes: revisiting their role as «garbage bags». *Traffic.* 2019; 20: 815–28. DOI: <https://doi.org/10.1111/tra.12687>
16. Tian J., Casella G., Zhang Y., Rostami A., Li X. Potential roles of extracellular vesicles in the pathophysiology, diagnosis, and treatment of autoimmune diseases. *Int J Biol Sci.* 2020; 16 (4): 620–32. DOI: <https://doi.org/10.7150/ijbs.39629>
17. Devhare P.B., Ray R.B. Extracellular vesicles: Novel mediator for cell to cell communications in liver pathogenesis. *Mol Aspects Med.* 2018; 60: 115–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.11.001>
18. Record M., Silvente-Poirot M., Wakelam M.J.O. Extracellular vesicles: lipids as key components of their biogenesis and functions. *J Lipid Res.* 2018; 59 (8): 1316–23. DOI: <https://doi.org/10.1194/jlr.E086173>
19. Kuipers M.E., Hokke C.H., Smits H.H., Hoene E.N.M.N. Pathogen-derived extracellular vesicle-associated molecules that affect the host immune system: an overview. *Front Microbiol.* 2018; 9: 2182. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02182>
20. Buck A.H., Coakley G., Simbari F., McSorley H.J., Quintana J.F., Le Bihan T., et al. Exosomes secreted by nematode parasites transfer small RNAs to mammalian cells and modulate innate immunity. *Nat Commun.* 2014; 5: 5488. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms6488>
21. Atayde V.D., Lira A., Chaparro V., et al. Exploitation of the Leishmania exosomal pathway by Leishmania RNA virus 1. *Nat Microbiol.* 2019; 4 (4). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0352-y>
22. Contreras-Naranjo J.C., Wu H.-J., Ugaz V.M. Microfluidics for exosome isolation and analysis: enabling liquid biopsy for personalized medicine. *Lab Chip.* 2017; 17 (21): 3558–77. DOI: <https://doi.org/10.1039/c71c00592j>
23. Chen B.-Y., Sung C.W.-H., Chen C., Cheng C.-M., Lin D.P.-C., Huang C.-T. et al. Advances in exosomes technology. *Clin Chim Acta.* 2019; 493: 14–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.021>
24. Zhu G., Chen X. Aptamer-based targeted therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 134: 65–78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.08.005>
25. Palviainen M., Saari H., Karkkainen O., Pekkinen J., Auriola S., Yliperttula M., et al. Metabolic signature of extracellular vesicles depends on

* Автор для корреспонденции.

the cell culture conditions. *J Extracell Vesicles*. 2019; 8: 1596669. DOI: <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1596669>

26. Koritzinsky E.H., Street J.M., Star R.A., Yuen P.S.T. Quantification of exosomes. *J Cell Physiol*. 2017; 232 (7): 1587–90. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.25387>

27. Shenderov B.A., Sinitsa A.V., Zaharchenko M.M., Lang C. *Metabiotcs. Present State, Challenges and Perspectives*. Springer Nature Switzerland AG, 2020: 123 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-34167-1>

28. Ibsen S.D., Wright J., Lewis J.M., Kim S., Ko S.-Y., et al. Rapid isolation and detection of exosomes and associated biomarkers from plasma. *ACS Nano*. 2017; 11 (7): 6641–51. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b00453>

29. Pech-Canul A.C., Monteon V., Solis-Oviedo R.L. A brief view of the surface membrane proteins from *Trypanosoma cruzi*. *J Parasitol Res*. 2017; 2017: 3751403. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/3751403>