Внеклеточные везикулы (экзосомы) и паразитарные болезни. Часть 2. Роль экзосомных микровезикулярных структур при паразитарных заболеваниях*

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

При взаимодействии хозяина и паразита экзосомальные внеклеточные структуры (ЭМВС) опосредуют взаимную коммуникацию, переносят факторы вирулентности и другие эффекторные и регуляторные молекулы, воздействующие на экспрессию различных генов возбудителя и хозяина. Лучшее понимание формирования и функционирования ЭМВС может индуцировать новые идеи для развития молекулярных диагностических приемов, вакцин и терапевтических методов для паразитарных и, возможно, других 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. Часть 2. Роль экзосомных микровезикулярных структур при паразитарных заболеваниях // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10, № 1. С. 66–74. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-1-66-74>

Статья поступила в редакцию 22.07.2020. Принята в печать 28.12.2020.

Ключевые слова:

паразиты, экзосомальные внеклеточные структуры, паразитарная патология, диагностика, иммунотерапия, вакцинация

Extracellular vesicles (exosomes) and parasitic infections. Part 2. The role of exosomal microvesicular structures in parasitic diseases

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

¹ K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management (the First Cossack 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

* Часть 1 опубликована в журнале «Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение» № 4, 2020.

When the host and parasite interact, exosomal microvesicular structures (EMVS) mediates mutual communication, transfers virulence factors and other effector molecules, and regulates the expression of various pathogen and host genes. A better understanding of the mechanisms of formation and functioning of EMVS can induce new ideas for further development of molecular diagnostic biomarkers, vaccines, and therapeutic methods for parasitic, and perhaps other disease.

Funding. The study was not sponsored.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Contribution. Research concept – Shenderov B.A., research design – Kuznetsova K.Yu., Sergiev V.P.; material collection – Shenderov B.A., Sergiev V.P.; material processing – Kuznetsova K.Yu.; text writing – 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. Part 2. The role of exosomal microvesicular structures in parasitic diseases. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye* [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2021; 10 (1): 66–74. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-1-66-74> (in Russian)

Received 22.07.2020. **Accepted for publication** 28.12.2020.

Keywords:
parasites, exosomal
microvesicular
structures,
parasitic pathology,
diagnosis,
immunotherapy,
vaccination

Организм человека в течение своей жизни сталкивается более чем с 400 различными видами паразитов, при этом около 90 из них потенциально могут вызывать у него ту или иную патологию даже со смертельным исходом. Наиболее распространенными являются паразитарные заболевания, вызываемые простейшими (*phylum Apicomplexa*), проникающими через кожу, а затем в кровяное русло и в различные органы и ткани организма человека, или трематодами (*phylum Platyhelminthes*) с пищевым путем заражения. ЭМВС, обнаруживаемые у различных паразитов, их переносчиков и у млекопитающих с острой, хронической формой паразитарной патологии или бессимптомных носителей, образуются путем слияния лизосомальных и внеклеточных везикул. В патогенезе паразитарных заболеваний участвуют как паразитарные экзосомы, так и экзосомы, высвобождающиеся из клеток хозяина после инвазии паразитов [1–4]. Это предполагает, что биологические активные соединения экзосом, секретируемых паразитом, при попадании в клетки хозяина могут модулировать у него иммунные и другие реакции. При определенных условиях это может привести к развитию паразитарной болезни. В то же время хозяин способен высвобождать экзосомы, участвующие в активации его врожденного и приобретенного иммунитета, формируя противоинфекционную защиту в отношении внедрившегося паразитарного агента [2, 3, 5]. Известно более 70 видов патогенных простейших (*Plasmodium* spp., *Trypanosoma* spp., *Leishmania* spp. и др.), ежегодно поражающих сотни миллионов людей. Исследования биоматериала, взятого у больных или умерших от паразитарных инфекций, показали, что в биологических жидкостях (моча или в кровь) этих людей присутствуют не только живые простейшие, но и ЭМВС, секретируемые этими патогенами или инфицированными ими клетками. Обнаруживаемые в ЭМВС антигены, токсины, генетический материал, метаболиты и другие низкомолекулярные соединения, ассоциируемые с этими простейшими, специфическим образом участвуют в патогенезе данных паразитарных инфекций и модулируют различные функции организма хозяина [2, 3, 6–10]. Многие низкомолекулярные молекулы, обнаруженные в экзосомах патогенных простейших, выступают в качестве мессенджеров паразитарной инвазии, повышая чувствительность кле-

ток и тканей будущих хозяев к внедрению этих простейших [4, 10–13]. Молекулярный состав экзосом варьирует в зависимости от типа протиста и включает много общих белковых компонентов (аннексины, белки теплового шока, молекулы адгезии, тетраспанины, галектиновые белки и т.д.), липидов (холестерин, гликофинголипиды, лизофосфатидилхолин, сфингомиелин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин и т.д.), нуклеиновых кислот (мРНК, тРНК, рРНК, фрагменты рРНК, микроРНК; одноцепочечная ДНК, ретротранспозонные РНК-транскрипты, митохондриальная ДНК и т.д.) [3, 5].

Трематодозы – гельминтозы, вызываемые паразитическими червями из класса сосальщиков, количество которых в природе достигает 6000 видов. У человека и у животных заболевания, вызываемые гельминтами, преимущественно характеризуются интоксикацией организма и различными аллергическими проявлениями; ими инфицировано более 400 млн человек, а более 10% населения земного шара находится в группе риска. При трематодозах известны 2 типа экзосомных микровезикулярных структур: ЭМВС, продуцируемые внеклеточными паразитами, и ЭМВС, образуемые клетками хозяина, инфицированными этими патогенами. Оба эти варианта выступают в качестве сигнальных молекул в межклеточной коммуникации паразитов и организма хозяина и участвуют в патогенезе заболевания и защите от него [1]. Гельминты и секретируемые ими ЭМВС используют разнообразные стратегии для манипулирования позвоночными хозяевами, однако данные о содержании в ЭМВС специфических белков, липидов, микроРНК и других биоактивных молекул ограничены [1, 3, 5, 14–16].

Экзосомные микровезикулярные структуры плазмодий. Малярия – распространенная антропонозная паразитарная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя. Клинические признаки малярии включают периодическую лихорадку, рвоту, усталость и головную боль. Возбудитель малярии человека относится к отряду *Haemosporidia*, роду *Plasmodium*. Известны 4 вида: *Plasmodium vivax* и *P. ovale* – возбудители трехдневной малярии, *P. falciparum* – возбудитель тропической малярии и *P. malaria* – возбудитель четырехдневной малярии. Присутствие экзосомных микровезикул в периферической крови больных, страдающих

малярией, вызванной *P. falciparum* или *P. vivax*, было впервые описано еще в 2011 г. В протеоме ЭМБС этих простейших присутствовали такие антигены, как поверхностные белки, лактатдегидрогеназа, эндолаза, альдолаза, цистеин протеазы и др. Некоторые из них были вовлечены в развитие системного воспаления у больных малярией [6, 10, 17].

Исследования на модели малярии у крыс показали, что внеклеточные везикулы, выделенные из ретикулоцитов, содержали белковые антигены и специфические липиды, которые не только подавляли протективный иммунный ответ, но и были ответственны за смерть животных [17, 18]. На той же модели малярии было установлено, что дефекты функционирования гена *ABCA1* в хромосоме животных резко уменьшали секрецию экзосом, ассоциированных с *P. falciparum*, что защищало экспериментальных мышей от фенотипических проявлений церебральной малярии. Экзосомы, секретируемые штаммом *P. falciparum* и другими плазмодиями, способствовали развитию малярийной инфекции, поддерживали высокий уровень паразитемии и выживание паразитов в организме животного, индуцировали ретикулоцитоз, повышали тяжесть течения малярии, подавляли иммунный ответ в отношении возбудителя. ЭМБС вирулентного штамма плазмодия передавали генетический материал в клетки животных, участвовали в презентации паразитарных белковых антигенов, а экзосомные микроРНК ингибировали экспрессию генов в эндотелиальных клетках [5]. У людей, инфицированных *P. falciparum*, гаплотипы промотора гена *ABCA1* также влияли на тяжесть течения и частоту осложнений при малярии. Изучение уровня экзосом, образуемых тромбоцитами, позволило предположить, что количественное содержание ЭМБС в крови больных малярией и высокая температура тела могут играть важную роль в развитии воспалительных проявлений, индуцированных *P. vivax* [5, 6, 18].

Экзосомные микровезикулярные структуры лейшманий. Лейшманиозы – группа трансмиссивных протозойных болезней, вызываемых древнейшими эукариотическими протистами лейшманиями (*Leishmania donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*, *L. major*, *L. braziliensis* и др.), со сложным жизненным циклом, происходящим либо в песчаной мухе, либо в макрофагах хозяина млекопитающих. Выделяют клинические формы лейшманиозов: кожный, слизисто-кожный и висцеральный лейшманиоз [19]. Присутствие экзосом у больных с лейшманиозом впервые было показано в 2010 г. [20]. Авторы установили, что разнообразные белковые компоненты ЭМБС ответственны за вирулентные свойства этих патогенных простейших, участвуют в межклеточной передаче информации от паразитов в клетки иммунной системы больных.

Экзосомная металлопротеаза GP63 лейшманий активно участвует в модуляции иммунного ответа макрофагов, регулируя синтез белковых тирозинфосфатаз и транскрипционных факторов. По способности модулировать иммунный ответ белковые компоненты экзосом, ассоциированных с культурами различных видов лейшманий, были схожи с экзосомами млекопитающих. Они ингибировали иммунные реакции макрофагов, моноцитов, дендритных клеток моноцитарного происхождения и стимулировали образование

интерлейкинов (IL) -8, -10 и окиси азота (NO), ингибируя интерферон γ (IFN γ) и фактор некроза опухоли α (TNF- α), цитокины. Экзосомы лейшманий потенциально могли поддерживать или подавлять выживаемость этих паразитов, активировать и модулировать работу генов в различных клетках иммунной системы, что приводило к снижению продукции некоторых воспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-12p70 [10, 20]. Провоспалительный эффект экзосом, секретируемых патогенными простейшими (например, *L. major*), мог проявляться также в виде привлечения в очаг воспаления нейтрофилов и эозинофилов [8].

Помимо белков, ЭМБС, секретируемые *L. braziliensis* и *L. donovani*, могут содержать генетический материал, ДНК, РНК, митохондрии и вирусы. Однако функции некодирующих РНК (включая rRNA, tRNA и др.) в экзосомах лейшманий остаются неясными [3, 5]. Биохимический и электронно-микроскопический анализ экзосом, полученных из клеток, инфицированных лейшманиями, несущими РНК-вирус 1 (LRV1), показал, что эти вирусные частицы в составе ЭМБС могли переноситься в другие клетки паразитов, что повышало их инфекционность в организме хозяина. У мышей, коинфицированных паразитами и содержащими LRV1 экзосомы, клинически заболевание имело более тяжелое течение [19].

Экзосомные микровезикулярные структуры трипаносом. Трипаносомоз – это зооантропонозная протозойная болезнь, возбудитель – 2 вида патогенных простейших из рода *Trypanosoma* (*Trypanosoma brucei* и *T. cruzi*): первый вызывает африканский трипаносомоз, или сонную болезнь, а второй – американский трипаносомоз (болезнь Шагаса). Трипаносомы проходят сложный цикл развития со сменой хозяев, в процессе которого они находятся в морфологически различных формах. Инвазионной стадией *T. cruzi* для переносчика, как и для позвоночного животного и человека, являются трипомастиготы. Люди заражаются *T. cruzi* преимущественно трансмиссивным механизмом передачи возбудителя, который осуществляется контаминационным путем – при расчесывании укусов триатомовых клопов и втирании их испражнений в поврежденные кожные покровы. Возможно заражение возбудителем трансплацентарно и через амниотическую жидкость (врожденный трипаносомоз), при грудном вскармливании, гемотрансфузиях, трансплантации органов, а также пищевым путем при употреблении жидкостей и пищевых продуктов, контаминированных этим паразитом.

Трипаносомы секретируют различные типы внеклеточных везикул, проникновение которых в клетки организма человека модулирует иммунный ответ хозяина, а с другой стороны, способствует выживанию инфицированных паразитов. Внутри клеток различных тканей трипомастиготы проникают в кислые клеточные фаголизосомы, где они в течение 2–4 ч дифференцируются в репликативную форму (амастиготу). В патогенезе этого заболевания участвует большое количество различных молекул и частиц, в том числе и внеклеточные везикулы.

Наличие ЭМБС у эпимастиготных форм *T. cruzi* впервые было описано в 1979 г. [3]. Проведенные *in vitro* исследования превращения трипомастигот в амастиготы в фаголизосомах при pH 7,4 и 5 и их экзопротеомов позволило идентифи-

цировать соответственно 271 и 483 различных белков, 180 из них были одинаковы по своим химическим характеристикам. У людей с болезнью Шагаса проведенный анализ протеомов внутри- и внеклеточных везикул амастигот показало присутствие повышенного количества муцинов и поверхностных муцино связанных белков со схожими иммуномодулирующими функциями [3, 13, 21, 22].

ЭМВС, образуемые *T. cruzi*, содержали транс-сиалидазы, цинкозависимые металлопротеазы (GP63) и амастин (транс-мембранный гликопротеин), играющие решающую роль в адгезии, пролиферации, дифференцировке и выживании внутриклеточных форм *T. cruzi*. Крузипаины (папаиноподобные цистеиновые протеазы) экзосом необходимы для выживания паразита, они генерируют сильный иммунный ответ у инфицированных людей. ЭМВС амастигот *T. cruzi* содержат белки, РНК и микроРНК, участвующие во взаимодействии хозяина и паразита, в их сигнальном и транспортном взаимодействии, в слиянии их мембран, окислительно-восстановительных и других процессах. Поверхностные мембранные белки имеют решающее значение для адаптации, дифференцировки и выживания паразита в течение его жизненного цикла [3, 22]. Благодаря указанным низкомолекулярным молекулам в ЭМВС, осуществляется инвазия паразитов и реализуется патогенез нарушений в клетках хозяина (например, их внедрение в клетки сердечной мышцы, подавление врожденного иммунитета и комплемент-опосредованного лизиса). Высвобождаемое из ЭМВС большинство секретируемых белков регулирует подвижность патогенных трипаносом, задерживает их продвижение в уже поврежденные клетки и повышает их устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды. Эти белки регулируют активность snoRNA и mRNA в клетках хозяина, а также участвуют в контроле жизнеспособности этих простейших и превращении их в различные морфологические формы [8].

У человека с болезнью Шагаса ЭМВС вовлечены в усиление паразитизма и воспаления сердечной мышцы [13, 21, 23]. ЭМВС, секретируемые *T. cruzi*, индуцировали различные эпигенетические изменения в геноме, метаболоме и фенотипе человека, чувствительного к протозойной инфекции. В ЭМВС, ассоциируемых с этими паразитами, присутствуют иммуносупрессивные белки (фосфоглицерат мутаза, эндолаза, пируваткиназа и др.), активно участвующие в продукции провоспалительных (IL-6, IL-12, IL-1 β) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов [10]. В результате патогенного действия трипаносом и продуктов их распада, специфической сенсibilизации и аутоаллергии возникают различные воспалительные, инфильтративные и дегенеративные изменения в тканях внутренних органов, центральной и периферической нервной системы [6, 8].

Экзосомы *T. cruzi*, принимающие участие в трансформации различных морфологических форм этих простейших, повышали восприимчивость клеток хозяина к ним за счет индуцирования изменений в экспрессии некоторых генов клеток макроорганизма. Присутствующие в ЭМВС *T. cruzi* микроРНК участвуют в межклеточной коммуникации патогена и хозяина, изменяют экспрессию генов в иммунных клетках, в том числе за счет стимуляции мРНК, ассоциированных с провоспалительными генами *il-6* и *cxcl2* [5, 8, 23].

При инкубации *in vitro* клеточных линий Vero и HL-1 с экзосомами, секретируемых штаммом *T. cruzi* Pan4, наблюдали изменения клеточной проницаемости и увеличение уровня внутриклеточного Ca²⁺; это приводило к остановке клеточного цикла синтеза ДНК, необходимого для завершения митоза. Имеются предположения, что проникновение ЭМВС *T. cruzi* в клетки хозяина увеличивает количество клеток, подвергающихся инфицированию трипаносомами, и является причиной характерных клинических проявлений болезни Шагаса. Согласно последним данным научных публикаций, выявление в биологических жидкостях ЭМВС, секретируемых трипаносомами, позволяет оценить тяжесть шагазной кардиомиопатии, эффективность вакцин и лекарственных средств, используемых при этой паразитарной патологии, и даже предотвращать риск ее возникновения [22, 23].

Экзосомные микровезикулярные структуры трихомонад. Трихомонады – это анаэробные жгутиковые простейшие из класса семейства *Trichomonadidae*. В организме человека паразитируют 3 вида этих протист: *Trichomonas vaginalis* (вагинальная трихомонада), *T. tenax* (ротовая трихомонада) и *T. hominis* (кишечная трихомонада). Цикл развития этих паразитов включает жгутиковую, амёбовидную и цистоподобную стадии.

Трихомониаз – это антропонозная протозойная болезнь, вызываемая *T. vaginalis* и характеризующаяся поражением мочеполовой системы. Протеомный анализ ЭМВС, продуцируемых *T. vaginalis*, показал, что в их составе присутствуют многие белки (тетраспанины, сигнальные белки, метаболические ферменты, поверхностные белки, протеазы и др.), схожие по химическому составу и структуре с протеинами биоматериала, взятого у больного человека или модельных животных [3]. Экзосомные белки, высвобождаемые высокоадгезивными штаммами *T. vaginalis*, способствуют прилипанию патогенных простейших к эпителиальным клеткам. Помимо активации адгезии, они регулируют межклеточные взаимоотношения трихомонад, а также взаимодействие клеток хозяина и паразита, различным образом модулируют иммунный ответ [10, 12, 17]. Регуляторные молекулы, присутствующие в ЭМВС, вмешиваются в воспалительные процессы в организме хозяина, что проявляется снижением секреции IL-8, ключевого цитокина для привлечения нейтрофилов и в усилении продукции IL-10, ингибировании экспрессии генов, ответственных за синтез цитокинов IL-6, -13 и -17. Экзосомы, секретируемые клетками патогенных штаммов *T. vaginalis*, участвуют также в подавлении продукции эпителиальными клетками шейки матки цитокина IL-8 и замедляют миграцию нейтрофилов в очаг инфекции [5, 17, 24].

Экзосомные микровезикулярные структуры токсоплазм. Токсоплазмоз – болезнь животных и людей, вызываемая простейшими *Toxoplasma gondii* и характеризующаяся поражением нервной и лимфатической систем, глаз, скелетных мышц и миокарда. Большинство пациентов не имеют клинических симптомов, в то время как у людей с ослабленной иммунной системой могут развиваться тяжелые симптомы. Впервые экзосомы токсоплазм и исследование их протеома было выполнено в 2017 г. [25]. В последующих исследованиях было установлено, что ЭМВС, образуемые *T. gondii*, имеют средний размер 50 нм и содержат не-

сколько различных белков (например, HSP70, CD63 и P30) [3, 5, 26]. HSP70 и CD63 ранее были описаны как белковые маркеры многих паразитарных экзосом; поверхностный белок P30 был специфичен и обнаруживался только в ЭМБС *T. gondii* [5]. Эти белки и микроРНК, связанные с ЭМБС, у макрофагов повышают продукцию цитокинов IFN γ , IL-12 и TNF- α . ЭМБС, участвующие в двустороннем межклеточном взаимодействии клеток простейших и хозяина, усиливают гуморальный и клеточный иммунный ответы, направленные на усиление защиты хозяина в отношении инфекции *T. gondii* [5, 26]. Экзосомы токсоплазм повышают пролиферацию спленоцитов, что стимулирует усиление уровня производимых ими Th1-цитокинов (IL-2 и IFN γ), подавляет экспрессию генов, ответственных за синтез Th2-цитокинов (IL-5 и IL-10) и усиливает продукцию сывороточных и IgA-антител в кишечнике. Активация макрофагов повышает образование IFN γ , IL-12 и TNF- α и стимулирует гуморальные и клеточные специфические и неспецифические иммунные реакции. Анализ ЭМБС, секретированных клетками, инфицированными патогенными паразитами, выявил в них 11 микроРНК, некоторые из них, вероятно, могут регулировать экспрессию генов иммунных и других клеток-хозяев [3, 5].

Экзосомные микровезикулярные структуры шистосом. Шистосомоз – заболевание, вызываемое трематодами из рода *Schistosoma*, ежегодно поражающее более 200 млн человек в 74 странах мира [27]. В зависимости от вида паразит поражает желудочно-кишечный тракт (*S. mansoni* и *S. japonicum*) или мочеполовую систему (*S. haematobium*). Существование экзосомных микровезикулярных структур у гельминтов впервые было обнаружено у *S. mansoni* [6, 27, 28]. Геномный и протеомный анализы ЭМБС шистосом и людей, потребляющих пищу, зараженную этими паразитами, позволили идентифицировать в экзосомах паразитов, клетках печени, других органах и тканях, а также в биологических жидкостях больных до 50–80 ключевых белковых антигенов, присущих этим гельминтам. ЭМБС, секретруемые *S. mansoni*, содержат белки, микроРНК и другие биологически активные молекулы, которые могут быть транспортированы в клетки-хозяина при развитии шистосомной инфекции. Многие белки, обнаруженные в ЭМБС *S. mansoni*, связаны с процессами гликолиза, агрегацией и активацией тромбоцитов; другие (металлопротеазы, цистеиновые и сериновые протеазы, тетраспанины, катепсины, 14-3-3-белки, циклофилины, карбоксилазы) участвуют в инвазии, миграции, усвоении питательных веществ, иммуномодуляции и контроле гомеостаза [3, 16, 28]. Многие из перечисленных белков в растворенном состоянии или в виде нерастворимых ЭМБС участвуют в развитии токсических реакций в организме инфицированных людей и животных или негативно модулируют их иммунный статус [3, 14, 29].

ЭМБС, продуцируемые паразитом *S. japonicum*, участвуют в двустороннем межклеточном взаимодействии паразита и клеток хозяина, активируют его иммунный ответ, уменьшают продукцию провоспалительных и стимулируют продукцию противовоспалительных цитокинов, обеспечивают транспорт miRNA к клеткам млекопитающих, участвующим

во взаимодействии паразит–хозяин, ослабляют тяжесть и подавляют прогрессирование клинических проявлений воспалительных процессов в кишечнике.

Установлено, что интраперитонеальная инъекция экзосом, секретруемых дендритными клетками, ассоциированными с шистосомами, уменьшала тяжесть и подавляла прогрессирование воспалительных процессов в кишечнике мышей с экспериментальным колитом. Оценка иммунного статуса этих животных выявила снижение у них провоспалительных цитокинов (IL-17, IFN γ , IL-22, IL-12 и TNF- α) и количественный рост противовоспалительного цитокина TGF- β в зависимости от видо- и штаммовой принадлежности паразита [27]. Основываясь на этих данных, рекомендовано ЭМБС, секретруемые шистосомами, использовать в качестве потенциальных иммуносупрессивных средств при различных воспалительных заболеваниях человека [30]. Результаты протеомного и микроРНК-анализов ЭМБС, образуемых шистосомами и взрослыми червями, позволяют использовать их в качестве специфических маркеров при диагностике различных стадий жизни этих простейших и в оценке динамики протекания паразитозов, вызванных ими [27, 29].

Некоторые специфические экзосомные белки шистосом предлагают рассматривать в качестве потенциальных кандидатов при конструировании вакцин для стимуляции иммунитета у населения, проживающего в регионах с повышенным риском трематодозов [6, 14, 28–30].

Экзосомные микровезикулярные структуры печеночной двуустки. Фасциолезы – зоонозные биогельминтозы из группы трематодозов с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя. Фасциолез, вызываемый *Fasciola hepatica*, поражает жвачных животных (овцы и крупный рогатый скот), а иногда и людей, у которых паразит развивается в печени и в желчных путях. ЭМБС, образуемые *F. hepatica*, участвуют в двусторонней межклеточной коммуникации; их содержимое транспортируется в клетки кишечного тракта [5]. В составе ЭМБС этого гельминта выявлены разнообразные цитоскелетные белки (актин, тубулин, миозин, парамиозин, тропомиозин), гликолитические ферменты (енолаза, альдолаза, GAPDH, PEPCK), кальций-связывающие протеины (кальмодулин, кальпонин), гистоны, факторы удлинения, метаболические ферменты, иммуноглобулины, пероксиредоксины, антистрессовый белок HSPs, CD19-белок и микроРНК с потенциальной иммунорегуляторной активностью [3, 31]. Компоненты ЭМБС при попадании в клетки данного паразита регулируют у них адаптацию к факторам среды, повышают выживаемость этих трематод в организме млекопитающих и вызывают у них выраженную иммуносупрессию [32].

Экзосомные микровезикулярные структуры эхинококков. Кистозный эхинококкоз (КЭ) – зоонозный природно-антропоургический биогельминтоз из группы цестодозов, вызываемый эхинококками из рода *Echinococcus* (*E. multilocularis* и *E. granulosus*). Инфицирование человека происходит при реализации фекально-орального механизма передачи возбудителя и поступлением личинок паразита преимущественно с пищей. Личинки эхинококка проникают через стенки кишечника в сосудистое русло и в конечном счете в основном в печень и легкие. Люди заражаются не только

через пищу, загрязненную яйцами *E. granulosus*, но и при попадании яиц возбудителя с загрязненными руками в рот. Во время инфекции эхинококк способен уклоняться от реакций иммунной системы и успешно пребывает в организме человека [33]. Человек и *E. granulosus* оба могут высвобождать экзосомы, несущие разнообразные биомолекулы, которые облегчают межклеточную коммуникацию и бывают обнаружены в сыворотке больных, страдающих КЭ.

Протеомный анализ содержимого ЭМВС выявил 49 белков, в том числе 45 белков человека (карбоангидраза, основной белок тромбоцитов, тубулин, каталаза, богатый гистидином гликопротеин, глутатионпероксидаза, фруктозе-бисфосфатацетилтрансфераза, пероксиредоксин, α - и β -гемоглобины, пируваткиназа, сывороточный альбумин, триозофосфатизомераза и др.) и 4 белка паразитарного происхождения (антиген-5, белок, ответственный за транспорт специфического липида, α -маннозидаза, малат-дегидрогеназа). Большинство белков человеческого происхождения, присутствующих в ЭМВС больных КЭ, связаны со структурой цитоскелета; некоторые из них обладали антимикробной активностью. Их образование индуцируется в клетках хозяина под воздействием сигналов со стороны паразитов.

Специфические паразитарные белки, присутствующие в ЭМВС, участвуют в таких процессах, как агрегация тромбоцитов, регулируемый экзоцитоз и др., что подтверждает их важную роль в патогенезе КЭ и в двусторонней коммуникации между *E. granulosus* и клетками хозяина. Многие белки, обнаруженные в ЭМВС, обладают различными патогенными свойствами (включая высокоиммуногенные и толерогенные антигены и пептидазы), подавляют синтез оксида азота клетками хозяина и связаны с выживаемостью кисты в организме. Сывороточные экзосомы больных с КЭ экспрессировали в клетках хозяина те гены, которые были связаны с его реакцией на паразитарную инфекцию (включая подвижность, пролиферацию, выживание клеток, активацию тромбоцитов, трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов, подавление воспаления) [3, 33–35]. ЭМВС обоих видов *Echinococcus* spp. оказывали модулирующее влияние на активность макрофагов, участвовали в межклеточной коммуникации клеток этого паразита и его взаимодействие с клетками иммунной системы хозяина [36, 37]. В содержимом ЭМВС обнаружена *miR-71*, регулирующая экспрессию различных генов макрофагов [5]. Имеющиеся в ЭМВС поверхностные тетраспаны и микроРНК, участвующие в поддержании инвазии и сохранении паразитов в организме хозяина, в настоящее время предлагают рассматривать как потенциальную мишень при конструировании вакцины для лечения и иммунизации населения в регионах с повышенной опасностью КЭ [3, 33, 35, 38].

Использование паразитарных экзосомных микровезикулярных структур как источник биоинформативных метаболитов и транспортное средство специфических эффекторов и/или ингибиторов в медицинских технологиях диагностики, профилактики и лечения. До настоящего времени диагностика паразитарных инфекций преимущественно использует микроскопию препаратов биоматериала. Молекулярных приемов и инструментов специфической диагностики протозойных заболеваний в России не суще-

ствует. Это связано с разнообразием патогенных паразитов и с высоким уровнем сложности их обнаружения. Полный паразитарный анализ доступен лишь в нескольких учреждениях и требует существенных финансовых затрат и высокой квалификации специалистов. Ограниченные исследования ЭМВС паразитарного генеза показали, что в их составе присутствует множество низкомолекулярных соединений, обладающих негативными или позитивными эффектами на организм человека. Экспериментальные и клинические наблюдения свидетельствуют о том, что паразитарные ЭМВС могут играть центральную роль в поддержании гомеостаза человека, его эпигенетических, иммунных и других функций и биохимических реакций. Оказалось, в частности, что патогенные простейшие и нематоды, продуцируя разнообразные ЭМВС с множеством специфических белков, липидов, микроРНК и других низкомолекулярных соединений, способны существенно модулировать врожденные и приобретенные иммунные реакции в отношении этих паразитов [2, 39]. Наличие специфических рецепторов позволяет ЭМВС избирательно осуществлять межклеточные информационные взаимодействия клеток паразита с клетками-мишенями организма хозяина.

В неблагоприятных условиях организмы животных и человека не могут успешно противостоять воздействию вирулентных факторов патогенных простейших и гельминтов, что приводит к паразитарному заболеванию и даже к смерти больного. При определенных условиях у здоровых людей или у больных в процессе восстановления организм синтезирует необходимые количества ЭМВС, компоненты которых позитивно участвуют во внеклеточных взаимодействиях паразита и организма хозяина, благоприятных для здоровья хозяина и подавляющих рост или элиминирующих патогенные паразитарные агенты. Меняя позитивно поверхностные рецепторы и модифицируя состав ЭМВС, можно конструировать и персонифицированно доставлять соответствующие специфические низкомолекулярные нутриенты, лекарственные препараты, другие эффекторы и ингибиторы в клетки-мишени или в секреторную систему организма хозяина для профилактики и лечения конкретных паразитарных инфекций [40, 41].

Специфические низкомолекулярные соединения на мембранах и внутри полости паразитарных ЭМВС рассматриваются как чувствительные молекулярные биомаркеры при диагностике инфекций, вызванных патогенными простейшими и гельминтами [2, 11, 28, 42–45]. Экзосомные белки и микроРНК начинают использовать в качестве супрессивных средств при иммунотерапии таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит, сахарный диабет 1-го типа, астма, аллергия [3, 46–48], а также хронических воспалительных патологий кишечника [49, 50].

Специфические белки и микроРНК паразитарных ЭМВС находят применение и при изготовлении новых вакцинных препаратов [2, 26, 39]. К настоящему времени известно несколько приемов введения в экзосомы различных биологически активных соединений (электропорация, пассивная диффузия, трансфекция) [7, 51]. Исследования линейных мышей, которым вводили внутривенно и интраперитонеально на протяжении 3 нед 10 доз (8,5 мкг белка

на дозу) модифицированных ЭМВС с повышенными количествами *miRNA-199a-3p* и определенных белков, не выявили у модельных животных никаких существенных признаков токсичности, иммуногенности и метаболических нарушений. В крови не менялись уровень цитокинов и количество эритроцитов; гистопатологические изменения тканей/органов (вилочковая железа, сердце, легкие, печень, почки, селезенка, мозговая ткань, мочевого пузыря и др.) также отсутствовали. На основе этих данных был сделан вывод: ЭМВС можно безопасно использовать в качестве носителя лекарственных соединений при терапии различных заболеваний [41]. Эффективность терапии паразитарных и других заболеваний с включением в нее ЭМВС зависит не только от происхождения и сроков хранения, но и от способов их введения в организм (инъекции, оральное или интраназальное применение), а также от множества других факторов и условий. Медицинское использование экзосом находится еще только на первых этапах своего развития [2, 35, 38, 52].

Заключение

Паразитарные болезни являются одной из важнейших причин экономических и людских потерь в мире. Более 1 млрд человек во всем мире страдают от этих заболеваний [2]. Открытие ЭМВС произошло еще в начале 1980-х гг. Все эукариотические и прокариотические клетки могут выделять ЭМВС; они обнаруживаются практически во всех жидкостях организма, естественно высвобождаются и не способны к репликации.

В составе ЭМВС может присутствовать множество разнообразных низкомолекулярных биологически активных соединений, участвующих в межклеточной коммуникации, регуляции эпигенетических, метаболических, иммунных, нейроэндокринных и других процессов как у здоровых, так

и у больных людей. Это свидетельствует о том, что в природе ЭМВС имеют несомненное эволюционное и биологическое значение [5, 52–55].

В 2013 г. Д. Ротман, З. Шекман и Т. Зюдиф за работы по изучению везикулярного транспорта были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине «Везикулярный транспорт – основа транспортной системы в наших клетках». Исследования ЭМВС, образуемых различными мультиклеточными гельминтами и простейшими, ведутся лишь на протяжении последних нескольких лет. Их роль в патогенезе паразитарных инфекций и других состояний человека пока находится лишь на первых этапах экспериментального и клинического изучения. ЭМВС обладают рядом преимуществ при использовании в качестве диагностических маркеров из-за наличия в них большого количества специфических биомолекул и достаточно длительной сохранности последних в различных условиях [28]. ЭМВС, высвобождаемые как паразитами, так и клетками хозяина, способны существенно модифицировать врожденный, приобретенный, гуморальный и клеточный иммунитет. В медицине ЭМВС могут найти практическое применение в качестве иммуносупрессивных препаратов для снижения тяжести и прогрессирования паразитарных, аутоиммунных, воспалительных и раковых заболеваний [2, 5, 6, 8, 10, 30, 42, 56]. Низкомолекулярные соединения, связанные с ЭМВС, могут стать основой для изготовления паразитарных вакцин и выступать в качестве новых биомаркеров при диагностике различных паразитарных инфекций и нового транспортного средства для иммунных, лекарственных и других медицинских препаратов [2, 14–16, 23].

Лучшее понимание основ и механизмов возникновения и функционирования внутри- и внеклеточных микровезикулярных структур у эукариотических паразитов и млекопитающих, включая человека, позволит лучше представить, как эти молекулярные субклеточные образования могут быть использованы в практической медицине.

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 (ПКУ)», Москва, Российская Федерация

E-mail: shenderof@yandex.ru

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

Кузнецова Камал Янис-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>

* Автор для корреспонденции.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Riaz F., Cheng G. Exosome-like vesicles of helminths: implication of pathogenesis and vaccine development. *Ann Trans Med.* 2017; 5 (7): 175. DOI: <https://doi.org/10.21037/atm.2017.0e.45>
2. 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: 2957–69. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S250993>
3. 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>
4. Silveira J.F., Abrahamsohn P.A., Colli W. Plasma membrane vesicles isolated from epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 1979; 550 (2): 222–32.
5. 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>
6. 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>
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., Simard 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. 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>
11. 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>
12. Vidal M. Exosomes: revisiting their role as “garbage bags”. *Traffic.* 2019; 20: 815–28. DOI: <https://doi.org/10.1111/tra.12687>
13. Woith E., Fuhrmann G., Melzig M.F. Extracellular vesicles – connecting kingdoms. *Int J Mol Sci.* 2019; 2019: 205695. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20225695>
14. 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>
15. 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>
16. 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>
17. Record M., Silvente-Poirot M., Wakelam M.J.O. Extracellular vesicles: lipids as key components of their biogenesis and functions. *J Lipid Res.* 2018; 2018: 5913161323. DOI: <https://doi.org/10.1194/jlr.E086173>
18. 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>
19. 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>
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. Zhang W., Jiang X., Bao J., Wang Y., Liu H., Tang L. Exosomes in pathogen infections: a bridge to deliver molecules and link functions. *Front Immunol.* 2018; 9: 90. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00090>
23. Montaner S., Galiano A., Trelis M., Martin-Jaular L., Del Portillo H.A., Bernal D., et al. The role of extracellular vesicles in modulating the host immune response during parasitic infections. *Front Immunol.* 2014; 5: 433. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00433>
24. Bayer-Santos E., Aguilar-Bonavides C., Rodrigues S.P., Cordero E.M., Marques A.F., Varela-Ramirez A., et al. Proteomic analysis of *Trypanosoma cruzi* secretome: characterization of two populations of extracellular vesicles and soluble proteins. *J Proteome Res.* 2013; 12 (2): 883–97. DOI: <https://doi.org/10.1021/pr300947g>
25. Twu O., de Miguel N., Lustig G., Stevens G.C., Vashisht A.A., Wohlschlegel J.A., et al. *Trichomonas vaginalis* exosomes deliver cargo to host cells and mediate host-parasite interactions. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (7): e1003482. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003482>
26. Mandacaru S.C., Queiroz R.M.L., Alborghetti M.R., de Oliveira L.S., de Lima C.M.R., Bastos I.M.D., et al. Exoproteome profiling of *Trypanosoma cruzi* during amastigogenesis early stages. *PLoS One.* 2019; 14 (11): e0225386. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225386>
27. Gazzinelli-Guimaraes P.H., Nutman T.B. Helminth parasites and immune regulation. *F1000 Research.* 2018; 7: 1685. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.15596.1>
28. Marti M., Johnson P.J. Emerging roles for extracellular vesicles in parasitic infections. *Curr Opin Microbiol.* 2016; 32: 66–70. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.04.008>
29. Chow F.W.-N., Kotsoyvelos G., Ovando-Vazquez C., Neophytou K., Bermudez-Barrientos J.R., et al. Secretion of an Argonaute protein by a parasitic nematode and the evolution of its siRNA guides. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47 (7). DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz142>
30. Campos F.M., Franklin B.S., Teixeira-Carvalho A., Filho A.L., de Paula S.C., Fontes C.J., et al. Augmented plasma microparticles during acute *Plasmodium vivax* infection. *Malaria J.* 2010; 9: 327. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2875-9-327>
31. Silverman J.M., Clos J., Horakova E., Wang A.Y., Wiesgigl M., Kelly I., et al. *Leishmania* exosomes modulate innate and adaptive immune responses through effects on monocytes and dendritic cells. *J Immunol.* 2010; 185 (9): 5011–22. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000541>
32. Buschiazio A., Muia R., Larrieux N., Pitcovsky T., Mucci J., Campetella O. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase in complex with a neutralizing antibody: structure/function studies towards the rational design of inhibitors. *PLoS Pathog.* 2012; 8: e1002474. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002474>
33. 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>
34. Moreira L., Serrano F., Osuna A. Extracellular vesicles of *Trypanosoma cruzi* tissue-culture cell-derived trypomastigotes: Induction of physiological changes in non-parasitized culture cells. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019; 13 (2): e0007163. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007163>
35. Olmos-Ortiz L.M., Barajas-Mendiola M.A., Barrios-Rodiles M., Castellano L.E., Arias-Negrete S., Cuellar-Mata P., et al. *Trichomonas vaginalis* exosome-like vesicles modify the cytokine profile and reduce inflammation in parasite infected mice. *Parasite Immunol.* 2017; 39: e12426. DOI: <https://doi.org/10.1111/pim.12426>
36. Bautista-Lopez N.L., Ndao M., Camargo F.V., et al. Characterization and diagnostic application of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote excreted-secreted antigens shed in extracellular vesicles released from infected mammalian cells. *J Clin Microbiol.* 2017; 55 (3): 744–58. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.01649-16>
37. Wolk P.F., Zardo M.L., Miot H.T., Goldenberg S., Carvalho P.C., Morikawa P.A. Proteomic profiling of extracellular vesicles secreted from *Toxoplasma gondii*. *Proteomics.* 2017; 17: 1600477. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201600477>
38. Li Y., Liu Y., Xiu F., Wang J., Cong H., He S., et al. Characterization of exosomes derived from *Toxoplasma gondii* and their functions in modulating immune responses. *Int J Nanomed.* 2018; 13: 467–77. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S151110>
39. Samoil V., Dagenais M., Ganapathy V., Jerry Aldridge J., Glebov A., Ardini A., Paula Ribeiro P. Vesicle-based secretion in schistosomes: analysis

- of protein and microRNA (miRNA) content of exosome-like vesicles derived from *Schistosoma mansoni*. *Sci Rep*. 2018; 8: 3286. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21587-4>
40. 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>
41. Toledo R., Bernal M.D., Marcilla A. Proteomics of foodborne trematodes. *J Proteomics*. 2011; 74: 1485–503. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.03.029>
42. Wang L., Yu Z., Wan S., Wu F., Chen W., Zhang B., et al. Exosomes derived from dendritic cells treated with *Schistosoma japonicum* soluble egg antigen attenuate DSS-induced colitis. *Front Pharmacol*. 2017; 8: 651. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00651>
43. Meninger T., Lerman G., Regev-Rudzki N., Gold D., Ben-Dov I.Z., Sidi Y., et al. Schistosomal MicroRNAs isolated from extracellular vesicles in sera of infected patients: a new tool for diagnosis and follow-up of human schistosomiasis. *J Infect Dis*. 2017; 215: 378–86. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw539>
44. Fromm B., Ovchinnikov V., Hoyer E., Bernal D., Hackenberg M., Marcilla A. On the presence and immunoregulatory functions of extracellular microRNAs in the trematode *Fasciola hepatica*. *Parasite Immunol*. 2017; 39: e12399. DOI: <https://doi.org/10.1111/pim.12399>
45. Cwiklinski K., de la Torre-Escudero E., Trelis M., Bernal D., Dufresne P., Robinson J., et al. The Extracellular vesicles of the helminth pathogen, *Fasciola hepatica*: biogenesis pathways and cargo molecules involved in parasite pathogenesis. *Mol Cell Proteomics*. 2015; 14: 3258–73. DOI: <https://doi.org/10.1074/mcp.M115.0539>
46. Roig J., Saiz M.L., Galiano A., et al. Extracellular vesicles from the helminth *Fasciola hepatica* prevent DSS-induced acute ulcerative colitis in a T-lymphocyte independent mode. *Front Microbiol*. 2018; 9: 1036. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01036>
47. Smallwood T.B., Giacomini P.R., Loukas A., et al. Helminth immunomodulation in autoimmune disease. *Front Immunol*. 2017; 8: 453. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00453>
48. Maizels R.M. Parasitic helminth infections and the control of human allergic and autoimmune disorders. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22: 481–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.04.024>
49. Wang W., Zhou X., Cui F., Shi C., Wang Y., Men Y., et al. Proteomic analysis of exosomes derived from patients sera infected with *Echinococcus granulosus*. *Korean J Parasitol*. 2019; 57 (5): 489–97. DOI: <https://doi.org/10.3347/kjp.2019.57.5.489>
50. Siles-Lucas M., Sanchez-Ovejero C., Gonzalez-Sanchez M., Gonzalez E., Falcon-Perez J.M., Boufana B., et al. Isolation and characterization of exosomes derived from fertile sheep hydatid cysts. *Vet Parasitol*. 2017; 236: 22–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.01.022>
51. Zhou X., Wang W., Cui F., Shi C., Ma Y., Yu Y., et al. Extracellular vesicles derived from *Echinococcus granulosus* hydatid cyst fluid from patients: isolation, characterization and evaluation of immunomodulatory functions on T cells. *Int J Parasitol*. 2019; 49 (13–14): 1029–37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.08.003>
52. Coakley G., Maizels R.M., Buck A.H. Exosomes and other extracellular vesicles: the new communicators in parasite infections. *Trends Parasitol*. 2015; 31: 477–89. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.06.009>
53. Zheng Y., Guo X., He W., Shao Z., Zhang X., Yang J., et al. Effects of *Echinococcus multilocularis* miR-71 mimics on murine macrophage RAW264.7 cells. *Int Immunopharmacol*. 2016; 34: 259–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.03.015>
54. 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/c7lc00592j>
55. 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>
56. 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>