

**ЭРНАНДЕС Елена Изяславовна**

Кандидат биологической наук, главный редактор Издательского дома «Косметика и медицина»

Экзосомы как инструменты клеточной терапии в медицине и косметологии

АБСТРАКТ. Экзосомы — один из самых ярких трендов современной косметологии, который стремительно набирает обороты. Эти внеклеточные везикулы играют важную роль в межклеточной коммуникации и передаче биологически активных веществ. В статье рассматриваются механизмы образования и действия экзосом, а также их потенциальное применение в регенерации тканей, стимуляции иммунного ответа и в anti-age терапии. Обсуждаются текущие направления исследований, проблемы стандартизации и перспективы использования экзосом в медицине и косметологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экзосомы, клеточная терапия, межклеточная коммуникация, регенерация, anti-age, косметология, внеклеточные везикулы

В поле зрения специалистов эстетической медицины экзосомы попали относительно недавно, буквально пару лет назад. За короткий срок они стали одним из самых обсуждаемых инструментов современной косметологии, с которым связывают большие надежды. Ажиотаж вокруг экзосом объясняется их функцией — они переносят различные биоактивные вещества, участвующие в межклеточной коммуникации и координирующие работу клеток в пределах ткани и органа, а иногда и целого организма. Однако экзосомы — не просто контейнеры. Они целенаправленно доставляют свой груз клеткам, которым он предназначен. Возможность таргетной доставки необходимых веществ с помощью экзосом открывает большие перспективы в решении широкого спектра биомедицинских задач — от диагностических до терапевтических [1].

Как именно работают экзосомы в рамках клеточной терапии и для каких целей они применяются в медицине и косметологии? На эти вопросы мы ответим в данной статье. Но прежде — краткий исторический экскурс.

ЭКЗОСОМЫ: ДОРОГА К ПРИЗНАНИЮ

Экзосомы — это окруженные мембраной пузырьки (везикулы) диаметром 30–200 нм, выделяемые клетками разных тканей и органов в межклеточное пространство.

История изучения экзосом началась в 1945–1946 гг., когда Chargaff E. и West R. заметили необычные пузырьки в осадке, получаемом при центрифугировании крови с высокой свертываемостью [2, 3] (**рис. 1**). В 1960-х гг. Wolf P. с помощью электронного микроскопа увидел в человеческой плазме маленькие частицы, происходившие из тромбоцитов, и, предположив, что они участвуют в свертывании крови, назвал их «тромбоцитарной пылью» (platelet dust) [4]. Примерно в то же время в матриксе эпифизарного хряща были обнаружены мелкие везикулы, влияющие на кальцификацию хряща, — им дали название «матриксные везикулы» (matrix vesicles) [5].

Эти ранние наблюдения заложили основу для дальнейших исследований происхождения и роли везикул в физиологических и патологических процессах. В 1971 г. Aaronson S. и соавт. впервые использовали термин «внеклеточные везикулы» (extracellular vesicles; EV) для обозначения разнородной популяции мембранных пузырьков, выделяемых одноклеточной водорослью *Ochromonas danica* [6].

В 1974 г. Nunez E.A. и соавт. описали в цитоплазме клеток крупные структуры со множеством мелких пузырьков внутри. Исследователи назвали эти структуры мультивезикулярными тельцами (multivesicular bodies; MVB), а пузырьки в дальнейшем получили название интралюминальных везикул (intraluminal vesicles; ILV; в русскоязычной литературе можно встретить название «внутрипросветные везикулы»). Было выдвинуто предположение, что MVB сливаются

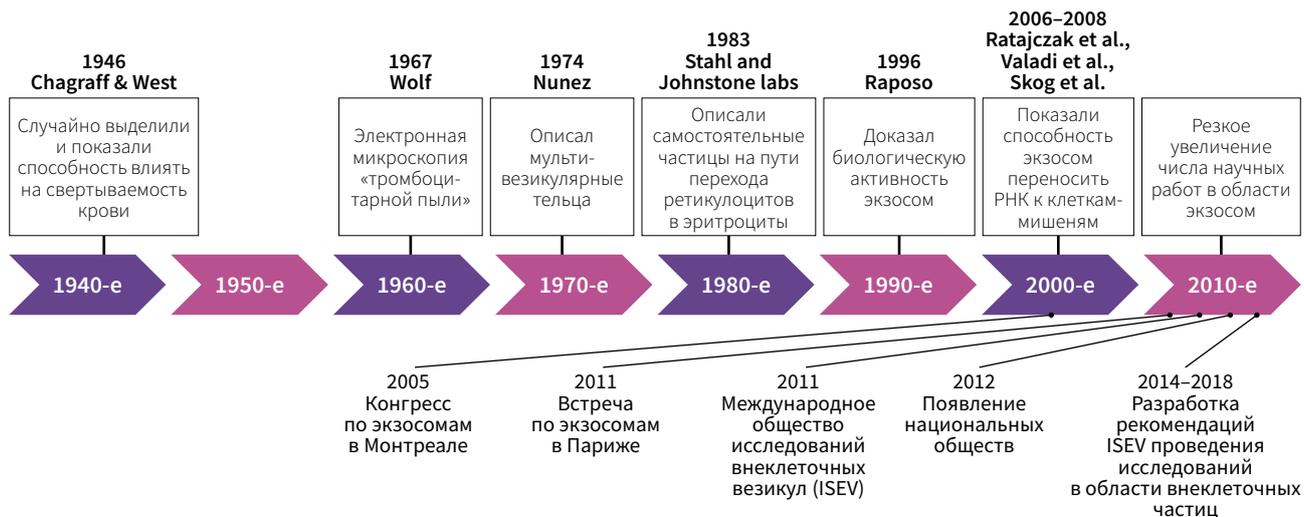


РИС. 1. История изучения экзосом

с мембраной клетки, и ILV высвобождаются во внеклеточное пространство [7]. Данное предположение было подтверждено в 1980-х гг. Harding C. и соавт., изучая с помощью электронной микроскопии ретикулоциты (клетки-предшественники эритроцитов), обнаружили слияние MVB с плазматической мембраной, в результате чего ILV выходили из клетки наружу [8]. Долгое время высвобожденные везикулы не имели определенного названия, пока в 1987 г. Johnstone R.M. и соавт. не предложили для них термин «экзосомы» (exosomes) [9].

Поворотным событием в истории изучения экзосом стало обнаружение молекул главного комплекса гистосовместимости класса II (МНС II) в экзосомах иммунных клеток [10]. Этот факт, говоривший об

участии экзосом в презентации антигенов и иммунной регуляции, стал основанием предположить их вовлеченность в различные физиологические и патологические процессы. Подтверждение вскоре было получено: в экзосомах клеток разных типов были обнаружены белки, липиды и нуклеиновые кислоты, причем «набор» этих веществ варьировал в зависимости от типа клеток, их функционального состояния и микроокружения [11–13].

Начиная с 2010 г. наблюдается резкое увеличение числа публикаций, посвященных экзосомам, а также патентов по их получению и применению, что говорит о переходе научного интереса в практическую плоскость (рис. 2) [14]. В 2011 г. было образовано Международное общество исследований внеклеточ-

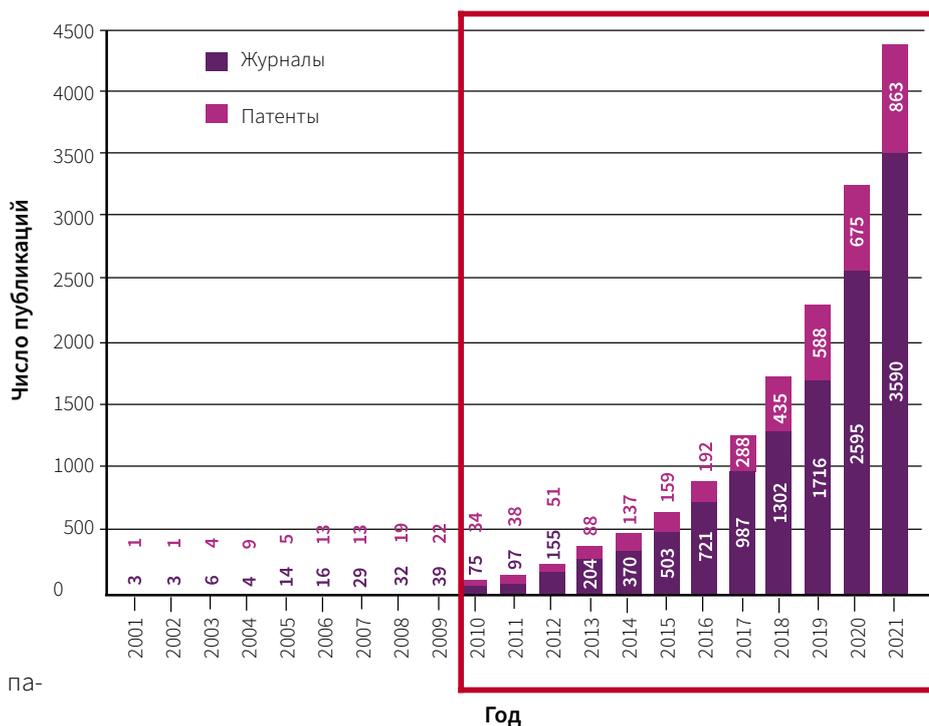


РИС. 2. Научные публикации и патенты на тему экзосом

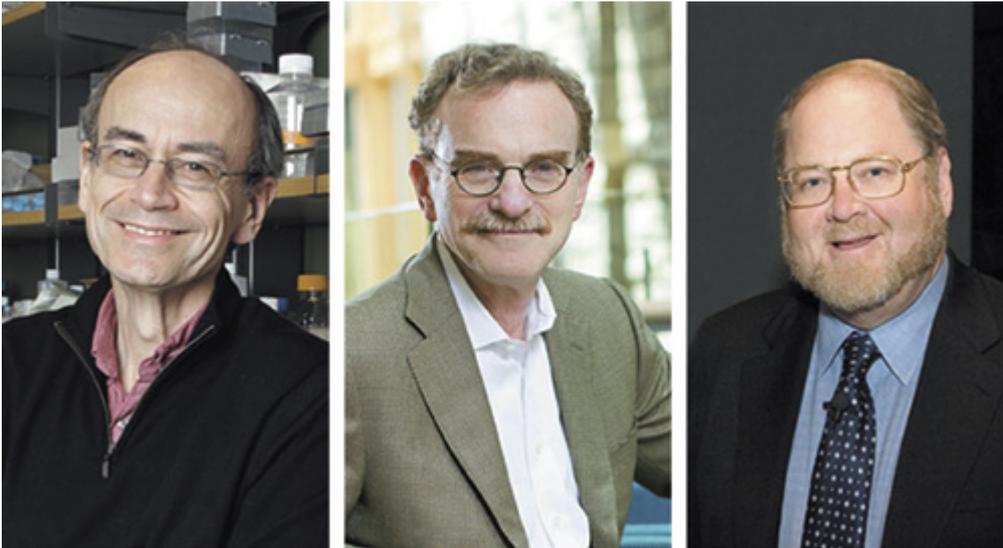


РИС. 3. Лауреаты Нобелевской премии 2013 г. «за открытие системы везикулярного транспорта — основной транспортной системы в клетках»

ных везикул (International Society for External Vesicles; ISEV), и уже к 2014 г. оно сформулировало рекомендации по стандартизации и упрощению процесса регистрации и отчетности исследований, касающихся экзосом и других внеклеточных частиц. К слову, в 2023 г. была выпущена обновленная версия этих рекомендаций.

Знаковым событием в истории изучения экзосом стало присуждение в 2013 г. Нобелевской премии по физиологии и медицине «за открытие системы везикулярного транспорта — основной транспортной системы в клетках». Премию получили трое ученых из разных научно-исследовательских центров — Рэнди Шекман, Джеймс Ротман и Томас Зюдхоф, внесшие вклад в разгадку тайны организации транспортной системы внутри клетки (**рис. 3**). Живая клетка — это фабрика, которая производит и экспортирует большое количество разнообразных веществ. Эти вещества транспортируются внутри клетки в небольших «упаковках» — везикулах. Работы Шекмана, Ротмана и Зюдхофа раскрыли систему контроля за внутри-

клеточным транспортом: Шекман обнаружил набор генов, контролирующих перемещение везикул, Ротман — механизм работы белков, позволяющих везикулам сливаться с целевыми мембранами и передавать груз, Зюдхоф показал, как осуществляется высвобождение содержимого везикул. А поскольку экзосомы имеют непосредственное отношение к системе везикулярного транспорта, данное открытие дало новый импульс к их изучению.

ВИДЫ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЧАСТИЦ

Внеклеточные частицы — общее название везикул, отделяемых от клетки-производителя. Экзосомы — это один из вариантов внеклеточных частиц, но не единственный. Помимо них, есть еще микровезикулы (другое название — эктосомы) и апоптотические тельца (**рис. 4**) [15, 16].

Экзосомы высвобождаются посредством экзоцитоза, имеют сферическую форму и диаметр в диа-

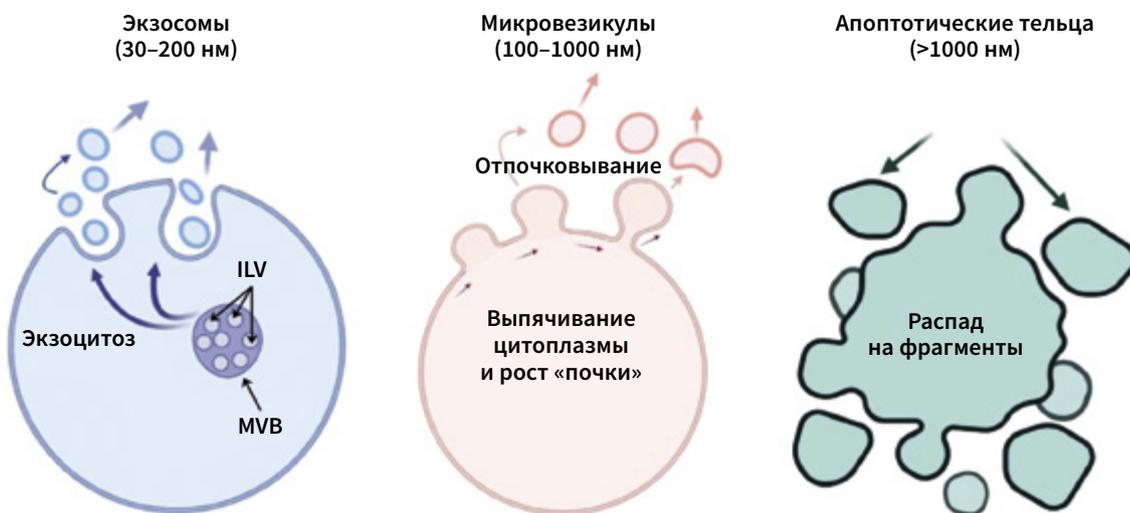


РИС. 4. Виды внеклеточных частиц [15]

ТАБЛИЦА 1. Внеклеточные частицы: сравнительная характеристика

ПАРАМЕТР	ЭКЗОСОМЫ	МИКРОВЕЗИКУЛЫ (ЭКТОСОМЫ)	АПОПТОТИЧЕСКИЕ ТЕЛЬЦА
Диаметр	30–200 нм	100–1000 нм	> 1000 нм
Форма	Сферическая	Различная	Различная
Формирование	Экзоцитоз	Почкование части клеточной цитоплазмы	Фрагментирование клетки
Состав	Белки, нуклеиновые кислоты, липиды, метаболиты	Белки, нуклеиновые кислоты, липиды, метаболиты	Фрагменты ДНК и гистонов, остатки хроматина, части цитоплазмы, белковые фрагменты
Маркеры	CD9, CD63, CD81, HSP70, HSP90	CD40, CD44, фактор свертывания крови III	Фосфатидилсерин, расщепленная каспаза-3, фрагменты ДНК
Функция	Межклеточная коммуникация	Межклеточная коммуникация	Продукт запрограммированной клеточной смерти. Обеспечивают удаление апоптотических клеток из ткани

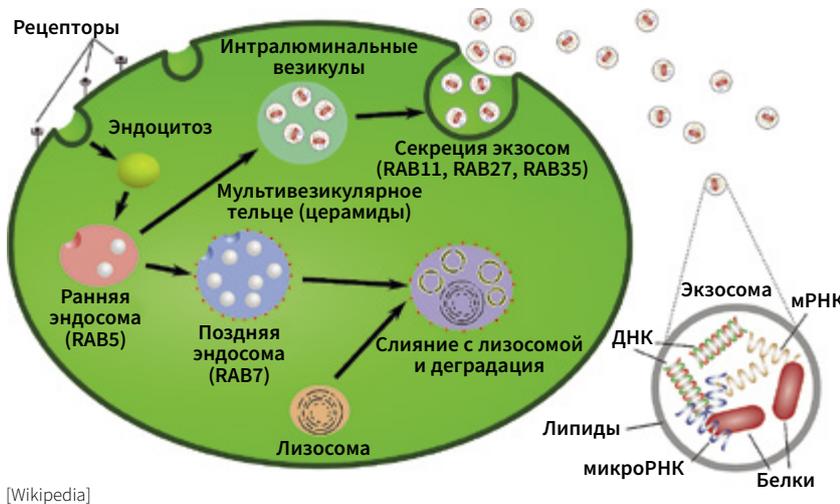
пазоне 30–200 нм. Микровезикулы (MV) отделяются от клетки путем почкования, имеют неправильную форму и размеры 100–1000 нм в диаметре. Апоптотические тельца формируются при фрагментировании клетки в процессе апоптоза и имеют размеры более 1000 нм. Сравнительное описание всех трех групп внеклеточных частиц представлено в **табл. 1**.

Все внеклеточные частицы так или иначе участвуют в переносе информации между клетками, однако сегодня именно экзосомы вызывают повышенный интерес [17]. Причина в том, что их формирование от и до осуществляется внутри клетки. С одной стороны, это позволяет клетке компоновать «полезный груз» из биологически активных веществ в нужном

количестве и пропорциях в соответствии с необходимостью (которая может меняться в разных условиях). С другой — оснащать экзосомы системами распознавания и стыковки с клеткой-мишенью, что необходимо для таргетной доставки. Механизмы почкования части клеточной цитоплазмы или фрагментирования клетки при ее распаде этого сделать не позволяют.

ОБРАЗОВАНИЕ И СТРОЕНИЕ ЭКЗОСОМ

Процесс формирования экзосом проходит в несколько стадий (**рис. 5**) [18].



[Wikipedia]



Мультивезикулярные тельца (MVB), содержащие интралюминальные везикулы (ILV), сливаются с клеточной мембраной. Оказавшись вне клетки, ILV становятся экзосомами. (Изображение В-лимфоцита, трансформированного вирусом Эпштейна-Барр) [18]

РИС. 5. Образование экзосом

На первом этапе путем инвагинации клеточной мембраны образуется ранняя эндосома. В ее внутренней полости могут присутствовать вещества, которые случайным образом оказались вблизи участка инвагинации с внешней стороны клеточной мембраны. Но не захват внешних веществ является целью данного процесса. Главное — это формирование окруженного мембраной пузырька, контейнера, который в дальнейшем может быть загружен ценным грузом и превратиться сначала в ILV в составе MVB, а после выделения из клетки — в экзосому.

Однако такая судьба ждет не все ранние эндосомы. Как только эндосома сформировалась, она получает специальную метку, которая определяет ее будущее: если ранняя эндосома помечена лизобисфосфатидиловой кислотой (красные точки на рисунке), то она сольется с лизосомой и будет «переварена», а если церамидами (желтые точки на рисунке) — войдет в состав MVB и будет вытолкнута из клетки наружу. Руководят этими процессами ферменты ГТФазы, относящиеся к семейству Rab. Различные члены этого семейства выполняют разные задачи: Rab5 контролирует образование ранней эн-

досомы, Rab7 организует слияние эндосомы с лизосомой, а Rab11, Rab27 и Rab35 необходимы для выхода экзосом во внеклеточное пространство.

На каком этапе и каким образом осуществляется загрузка экзосом, до конца не ясно. Очевидно, что в клетке есть необходимые механизмы селекции и загрузки «полезного груза». В общей сложности в экзосомах было обнаружено порядка 4400 белков, 200 липидов, 1630 мРНК и 760 микроРНК, однако конкретная комплектация варьирует у клеток разных типов и меняется в зависимости от внешних условий. И это понятно, ведь функция экзосом — передать послание от одной клетке другой, чтобы скоординировать их совместное поведение в изменчивой среде обитания: меняются обстоятельства — меняется послание.

Вместе с тем у экзосом разных клеток есть общие черты. Прежде всего это касается оболочки. Она представляет собой плазматическую мембрану, состоящую из липидного бислоя и связанных с ним белковых и углеводных структур. Некоторые из этих структур встречаются у всех экзосом — вне зависимости от их происхождения (**рис. 6**). В частности,

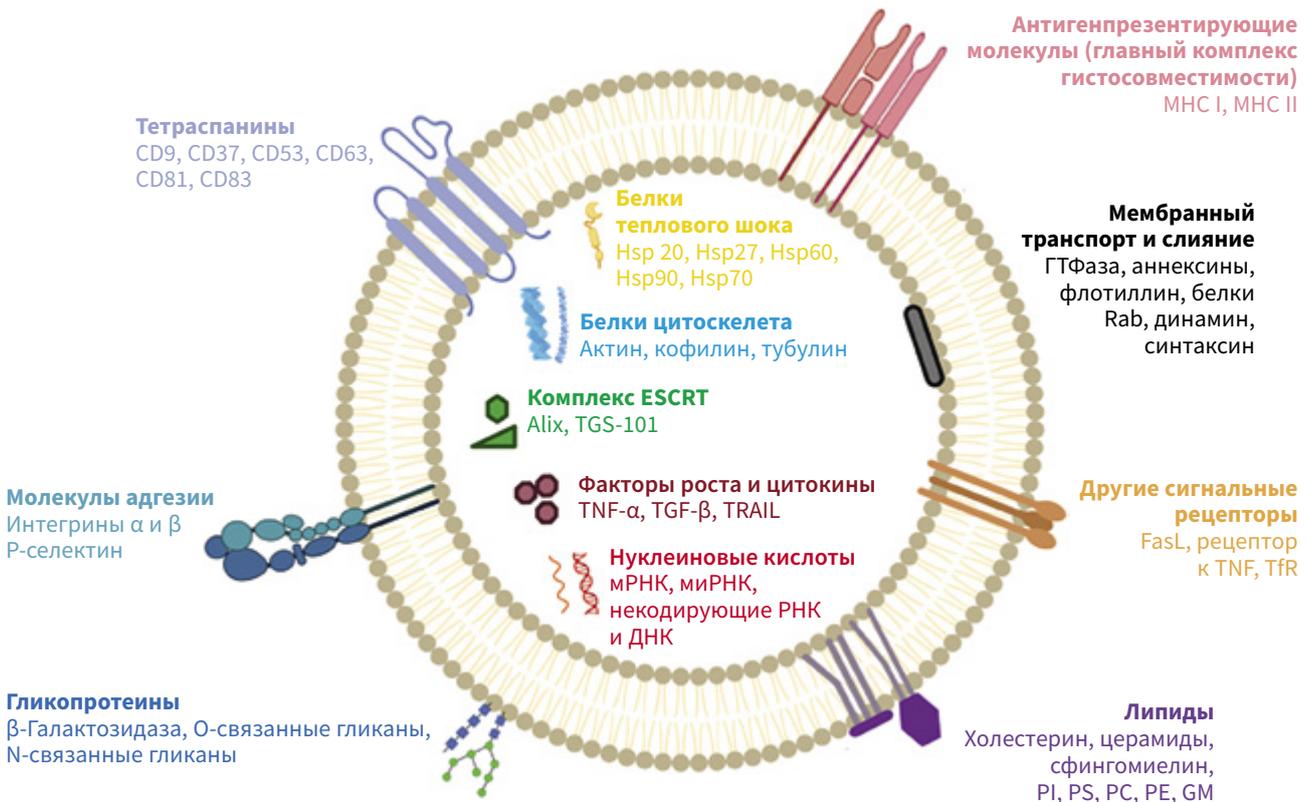


РИС. 6. Строение экзосом [15]

Мембранные белки: тетраспанины, антигенпрезентирующие молекулы, гликопротеины и молекулы адгезии. Белки в просвете экзосом: белки теплового шока (Hsp), цитоскелетные белки, компоненты ESCRT (внутриклеточный сортировочный комплекс, необходимый для транспорта белков), белки слияния, факторы роста и цитокины. Липиды: холестерин, церамиды, сфингомиелин, фосфатидилинозитол (PI), фосфатидилсерин (PS), фосфатидилэтаноламин (PE) и ганглиозиды (GM). Нуклеиновые кислоты: мРНК, миРНК, некодирующие РНК и ДНК. Hsc — когнат теплового шока; TSG — ген предрасположенности к раку; TNF — фактор некроза опухоли; TGF — трансформирующий фактор роста; TRAIL — лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с TNF; FasL — лиганд Fas; Tfr — рецептор трансферрина