

Роль внеклеточных везикул в диагностике прогрессирования глиобластомы

А.И. Рябова¹, В.А. Новиков^{1,2}, Н.В. Юнусова¹, А.А. Пономарева¹,
Л.В. Спирина^{1,2}, О.В. Грибова¹

¹Научно-исследовательский институт онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; Россия, 634009 Томск, переулок Кооперативный, 5;

²ФГБУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России;
Россия, 634050 Томск, Московский тракт, 2

Контакты: Анастасия Игоревна Рябова ranigor@mail.ru

В статье проведен обзор исследований, в которых освещена роль внеклеточных везикул в неинвазивной диагностике рецидива глиобластомы. Глиобластома является самой частой злокачественной опухолью головного мозга у взрослых и характеризуется фатальным прогнозом. Своевременное лечение рецидива опухоли позволяет увеличить выживаемость пациентов, улучшить функциональный исход и снизить нагрузку на ухаживающих. Стандартный метод диагностики рецидива — нейровизуализационные исследования, которые на ранних этапах не позволяют дифференцировать рецидив опухоли от постлучевых изменений. Жидкостная биопсия и выявление маркеров в циркулирующих внеклеточных везикулах считаются перспективным направлением в современной онкологии и позволяют осуществить раннюю и дифференциальную диагностику опухоли, определить молекулярно-генетический статус опухоли в динамике и ответ на лечение, диагностировать рецидив опухоли в ранние сроки. В этом плане для диагностики глиобластом наиболее перспективным является изучение экспрессии глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), его мутантного варианта EGFRvIII, подопланина (PDPN) и изоцитратдегидрогеназы 1 (IDH1) на внеклеточных везикулах; для первичной диагностики глиобластомы и раннего рецидива — микроРНК-210, -301a, -222, -124-3p, -21; для контроля эффективности иммунотерапии больных с рецидивными формами глиобластом после стандартной терапии — оценка CD9+/GFAP+/survivin+ экзосом плазмы крови.

Ключевые слова: внеклеточные везикулы, жидкостная биопсия, рецидив глиобластомы, неинвазивная диагностика, обзор

Для цитирования: Рябова А.И., Новиков В.А., Юнусова Н.В. и др. Роль внеклеточных везикул в диагностике прогрессирования глиобластомы. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(3):8–18.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-3-8-18



The role of extracellular vesicles in the diagnosis of glioblastoma progression

A.I. Ryabova¹, V.A. Novikov^{1,2}, N.V. Yunusova¹, A.A. Ponomareva¹, L.V. Spirina^{1,2}, O.V. Gribova¹

¹Oncology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences;
5 Kooperativnyy Pereulok, Tomsk 634009, Russia;

²Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russia;
2 Moskovskiy Trakt, Tomsk 634050, Russia

The article reviews studies highlighting the role of extracellular molecules in non-invasive diagnosis of glioblastoma recurrence. Glioblastoma is the most common malignant tumor of the brain characterized by fatal outcome prognosis. Current treatment of tumor recurrence allows to increase patient survival, improve functional outcome and decrease caregivers' load. The standard method of recurrence diagnosis is neuroimaging which at early stages cannot distinguish between tumor recurrence and post-radiation changes. Currently in oncology, liquid biopsy and marker detection in circulating extracellular vesicles are considered promising approaches allowing to obtain early and differential tumor diagnosis, determine dynamic molecular and genetic status of the tumor, diagnose tumor recurrence at early stages. In this context, the most promising approach to glioblastoma diagnosis is associated with studying of expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), epidermal growth factor receptor (EGFR), its mutant variant EGFRvIII, podoplanin (PDPN) and isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) in extracellular vesicles; for primary glioblastoma diagnosis and early recurrence: studying of microRNA-210, -301a, -222, -123-3p, -21; for control of immunotherapy effectiveness in patients with recurrent forms of glioblastoma after standard treatment: evaluation of CD9+/GFAP+/survivin+ exosomes in plasma.

Key words: extracellular vesicles, liquid biopsy, glioblastoma recurrence, non-invasive diagnostics, review

For citation: Ryabova A.I., Novikov V.A., Yunusova N.V. et al. The role of extracellular vesicles in the diagnosis of glioblastoma progression. Uspeski molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2020;7(3):8–18. (In Russ.).

Введение

Глиобластома является наиболее часто диагностируемой и агрессивной глиальной опухолью головного мозга. Она характеризуется неуклонно рецидивирующим течением и фатальным прогнозом. По результатам самого большого популяционного регистра опухолей центральной нервной системы CBTRUS общая 1-летняя выживаемость пациентов с глиобластомой составляет около 40 %, 5-летняя – 5–7 % [1]. Даже при соблюдении современного стандарта комбинированного лечения у пациентов в крупных рандомизированных исследованиях III фазы медиана безрецидивной выживаемости не превышает 11 мес, медиана общей выживаемости – 2 лет [2–4]. Своевременное адекватное лечение рецидива глиобластомы позволяет увеличить выживаемость пациента, улучшить качество его жизни и снизить нагрузку на ухаживающих [5, 6].

В настоящее время для оценки опухоли при динамическом наблюдении за пациентами с глиобластомой используют магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга с контрастированием, которая не является 100 % чувствительной и специфичной. Накопление контрастного вещества при МРТ в зоне облучения головного мозга после проведения лучевой терапии может свидетельствовать не только о возникновении рецидива, но и о феномене псевдопрогрессии или о лучевом некрозе. Псевдопрогрессия обычно возникает в течение первых 12 нед после проведения адьювантной химиолучевой терапии у 10–30 % пациентов с глиобластомой [7, 8]. Обратный феномен – псевдоответ – проявляется уменьшением очагов накопления контраста на фоне стабилизации гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) под действием ангиогенной терапии и не свидетельствует об истинном ответе опухоли на лечение [8, 9]. Применение перфузионных и радиоизотопных исследований позволяет дифференцировать активно растущую опухоль и постлучевые изменения [10, 11], однако эти исследования доступны не во всех клиниках и не всегда позволяют диагностировать рецидив опухоли на ранних этапах [12, 13]. Верификация рецидива глиобластомы с использованием биопсии не проводится вследствие высокоинвазивного характера процедуры и наличия осложнений, которые могут ухудшить состояние пациента. В случаях невозможности дифференцировать псевдопрогрессию и прогрессирование глиобластомы решение о лечении обычно откладывается до тех пор, пока визуализирующие исследования не прояснят поведение опухоли [14]. Задержка лечения зачастую приводит к росту опухоли, нарастанию неврологического дефицита и ухудшению прогноза пациентов.

Злокачественные опухоли секретируют в кровоток и другие физиологические жидкости, определенные опухолевые маркеры (растворимые белки, циркулирующие нуклеиновые кислоты) как самостоятельно, так и в составе циркулирующих опухолевых клеток

и внеклеточных везикул (ВВ). Было показано, что при глиальных опухолях эти биомаркеры могут пересекать как поврежденный, так и интактный ГЭБ [15] и возможно их определение в крови и ликворе больных глиобластомой. В настоящее время активно исследуется потенциал так называемой жидкостной биопсии в диагностике и лечении глиальных опухолей, в том числе глиобластомы [16, 17].

Внеклеточные везикулы представляют собой небольшие структуры (50–1000 нм), заключенные в липидный бислой, секретируемые как нормальными, так и опухолевыми клетками. ВВ включают экзосомы (30–100 нм), микровезикулы (до 1000 нм) и апоптотические тела (1000–5000 нм), различающиеся по размеру, содержанию и биогенезу. Микровезикулы формируются путем наружного почкования плазматической мембраны, тогда как экзосомы формируются из эндосом с образованием мультивезикулярных тел, которые затем сливаются с плазматической мембраной. В то время как нормальные клетки секретируют микровезикулы и экзосомы, апоптотические тела образуются только во время запрограммированной клеточной гибели, которая, как и во многих опухолях, играет важную роль в патофизиологии глиобластомы [18]. Высвобождаемые клетками глиобластомы ВВ содержат широкий спектр молекул, включая нуклеиновые кислоты и белки, отражающие специфические молекулярные признаки клеток первичной опухоли, и изменяются в процессе лечения [19–21], при этом липидная мембрана защищает внутреннее содержимое ВВ от ферментной деградации [18, 22]. Было показано, что ВВ из клеток опухоли пересекают интактный ГЭБ и обнаруживаются в крови пациентов с глиобластомой [15]. Они могут быть выделены из плазмы крови и ликвора путем ультрацентрифугирования, ультрацентрифугирования в сочетании с ультрафильтрацией или путем иммунопреципитации и дифференцированы с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (рис. 1), нанотрекингового анализа, а также ряда мембраносвязанных белков, которые могут быть идентифицированы с использованием проточной цитометрии или вестерн-блоттинга [19, 23].

Было показано, что ВВ, продуцируемые глиобластомой, играют важную роль в клеточной коммуникации и модуляции микроокружения опухоли. Они обеспечивают гетерогенность опухоли, модулируют пролиферацию, перепрограммируют метаболическую активность, индуцируют ангиогенез и инвазию, способствуют подавлению иммунного ответа и приобретению лекарственной устойчивости [24, 25]. Поскольку производные глиобластомы ВВ содержат специфические «молекулярные сигнатуры» своих родительских клеток и способны переноситься через ГЭБ в биологические жидкости, такие как кровь и спинномозговая жидкость, они рассматриваются как ценный источник потенциальных диагностических биомаркеров.

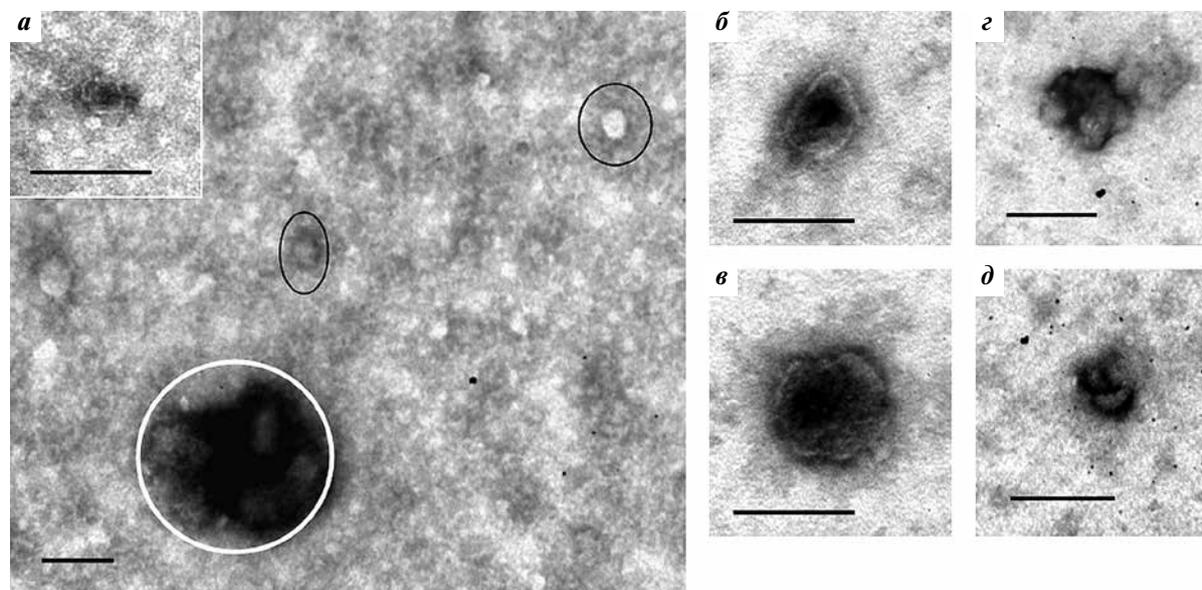


Рис. 1. Электронная микроскопия, негативное контрастирование фосфорновольфрамовой кислотой (длина масштабной линии соответствует 100 нм): а – общий вид образца экзосом, выделенного из плазмы больного мультиформной глиобластомой. Черными овалами показаны микрочастицы, белым – частицы детрита. На верхней врезке – везикула; б, в – экзосомы (40–100 нм); з, д – частицы детрита

Fig. 1. Electron microscopy, negative contrast with phosphotungstic acid (scale line corresponds to 100 nm): а – general appearance of an exosome sample extracted from plasma of a patient with glioblastoma multiforme. Black ovals show microparticles, white ovals show detritus particles. The upper panel shows a vesicle; б, в – exosomes (40–100 nm); з, д – detritus particles

Наиболее изученным компонентом ВВ являются кодирующие и не кодирующие РНК. В ряде исследований было показано, что отдельные мутантные варианты матричной РНК (мРНК) могут быть обнаружены во ВВ больных глиобластомой с чувствительностью до 82 % и специфичностью до 100 % и коррелируют с генетическими изменениями в опухоли [19, 20, 26–28]. Однако не все глиобластомы содержат исследованные мутации и уровень этих мРНК не оценивался в динамике, что не позволяет использовать эти маркеры для диагностики прогрессирования опухолевого процесса.

Не кодирующие РНК принимают участие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов и играют важную роль практически во всех аспектах опухолевого генеза, включая инициацию опухоли, прогрессирование и устойчивость к терапии. В геномных исследованиях показано, что при различных видах рака не кодирующие РНК обычно дисрегулируются, действуя как онкогены или супрессоры опухоли [29]. Из не кодирующих микроРНК наиболее изучены микроРНК, содержащие 21–24 нуклеотида, длинные не кодирующие РНК (днкРНК), состоящие из 200 нуклеотидов или более, а также циркулярные РНК (циркРНК), представляющие собой класс одноцепочечных молекул РНК с ковалентно замкнутой петлевой структурой, которые характеризуются высокой стабильностью [30, 31].

На сегодняшний день опубликован ряд исследований, результаты которых подтверждают диагностическую [32–36], прогностическую [35–39] и предиктивную [40, 41] роль циркРНК у пациентов с глиомами

головного мозга. Несмотря на существующую возможность определения циркРНК в свободной форме или в составе ВВ в биологических жидкостях, в проведенных исследованиях экспрессия циркРНК определялась главным образом в опухолевой ткани, и потенциал циркРНК в неинвазивной диагностике рецидива глиобластомы в настоящее время не ясен. Роль днкРНК в качестве биомаркера изучена несколько шире. В исследованиях выявлена связь отдельных днкРНК со скоростью пролиферации клеток, прогнозом и ответом на лечение не только в опухолевой ткани, но и в крови пациентов в свободном состоянии и в составе экзосом [42–46]. Однако в доступной литературе отсутствуют сведения об исследовании уровней экспрессии днкРНК в крови или цереброспинальной жидкости больных глиобластомой в динамике в процессе лечения и при дальнейшем наблюдении.

Значительно шире определена роль различных микроРНК в качестве прогностических и предиктивных биомаркеров глиом, определяются панели микроРНК, в том числе выделенных из экзосом, для ранней и дифференциальной диагностики опухолей головного мозга различного генеза [47–49]. Впервые динамика уровня экзосомальной микроРНК-21 в цереброспинальной жидкости до и после хирургического лечения оценена J. C. Akers и соавт. [50]. У 1 пациента были исследованы пробы ликвора, взятые во время удаления глиобластомы и через 3 мес после тотальной резекции. Относительное содержание микроРНК-21 во ВВ, выделенных из ликвора, после удаления опухоли уменьшилось примерно в 50 раз. В исследовании R. Shi и соавт. были изучены образцы сыворотки

и ликвора у 2 пациентов с глиобластомой до и после удаления рецидивной опухоли. Результаты показали, что уровень экзосомальной микроРНК-21 в цереброспинальной жидкости резко уменьшился после хирургического вмешательства ($p < 0,01$), в то время как значимой разницы в уровнях микроРНК-21 в экзосомах сыворотки крови до и после операции не обнаружено [51].

Позднее рядом авторов было показано, что уровень экзосомальных микроРНК в сыворотке крови статистически значимо снижается после удаления глиобластомы. А. Santangelo и соавт. оценили экспрессию экзосомальных микроРНК-21, -222 и -124-3р в сыворотке крови у 25 пациентов с глиомами высокой степени злокачественности до и после хирургического лечения. При оценке уровня экспрессии исследуемых микроРНК в образцах, полученных после операции, было обнаружено резкое снижение уровня как отдельных микроРНК (микроРНК-21 ($p < 0,001$), микроРНК-222 ($p < 0,01$) и микроРНК-124-3р ($p < 0,001$)), так и кумулятивного уровня экспрессии исследуемых микроРНК ($p < 0,001$). В динамике был прослежен только 1 пациент с глиобластомой, у которого через 3 мес хирургического лечения во время терапии по протоколу Stupp при контрольной МРТ головного мозга было заподозрено прогрессирование заболевания. Уровень экспрессии микроРНК-21, -222 и 124-3р в циркулирующих экзосомах был увеличен, и через 2 мес данные контрольной МРТ подтвердили продолженный рост опухоли [49].

F. Lan и соавт. исследовали экзосомальную микроРНК-301a в сыворотке крови 7 пациентов с глиобластомой до операции, через 2 нед после хирургического вмешательства и при диагностике рецидива. Было обнаружено, что уровень экзосомальной микроРНК-301a в сыворотке крови у больных глиомой был значительно повышен по сравнению со здоровым контролем и неглиальными опухолями головного мозга ($p < 0,01$). Экспрессия экзосомальной микроРНК-301a в сыворотке крови значительно снижалась после хирургического лечения ($p < 0,01$) и вновь повышалась при рецидиве глиобластомы ($p < 0,01$) [52]. В другом исследовании этой группы авторов был изучен уровень экспрессии экзосомальной микроРНК-210 у 10 пациентов с глиобластомой в динамике. Образцы крови отбирали до хирургического лечения первичной опухоли, после операции и после диагностики рецидива. Уровень микроРНК-210 в сыворотке крови был заметно снижен после оперативного вмешательства ($p < 0,01$), а в момент рецидива глиобластомы обнаруживалось значительное его увеличение ($p < 0,01$) [53]. Сводные данные о диагностической, прогностической и предикторной ценности определения микроРНК во ВВ, выделенных из биологических жидкостей пациентов с глиобластомой, представлены в таблице.

Помимо нуклеиновых кислот ВВ содержат белки, обладающие потенциалом биомаркеров глиоблас-

томы. Н. Shao и соавт. проанализировали панель из 4 белков, характерных для глиобластомы (рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), его мутантный вариант EGFRvIII, подоплантин (PDPN) и изоцитратдегидрогеназа 1 (IDH1)), в полученных из сыворотки ВВ [54]. Было показано, что ВВ демонстрируют отчетливую молекулярную сигнатуру опухоли, и повышенная экспрессия EGFR, EGFRvIII, PDPN и IDH1 R132H позволила диагностировать глиобластому с точностью от 36 до 76 % при использовании отдельных маркеров, а при объединении результатов точность возросла до 91 %. У 12 пациентов с глиобластомой образцы крови были взяты до и после стандартной химиолучевой терапии. На основании относительного изменения количества ВВ и уровней экспрессии биомаркеров ВВ определяли индекс лекарственного ответа, который позволил достоверно ($p < 0,005$) дифференцировать пациентов с прогрессированием и ответивших на терапию. Позднее Н. Wang и соавт. [22] сравнили уровень экспрессии EGFR во ВВ сыворотки 23 пациентов с глиомами различной степени злокачественности (5 пациентов с глиобластомой). Парные сравнения экспрессии EGFR в образцах, взятых до хирургического лечения и через 1 нед после операции у 8 пациентов, показали достоверное снижение экспрессии EGFR после удаления опухоли в каждом случае ($p < 0,05$).

Исследование содержимого ВВ требует применения трудоемких и финансово затратных методов, что делает затруднительным их использование в клинической практике. Наиболее трудоемким и время-затратным является выделение ВВ из биологических жидкостей с применением различных вариантов ультрацентрифугирования. Поэтому в настоящее время разработан, находится в процессе коммерциализации или уже коммерциализирован ряд технологий: выделение экзосом из мочи путем агглютинации с помощью лектинов, выделение экзосом из плазмы крови с помощью магнитных частиц и аптамеров для последующего анализа поверхностных белков экзосом методом проточной цитометрии, многочисленные тест-системы выделения экзосомальных микроРНК [55].

В ряде исследований показано, что при глиобластоме в крови пациентов содержится значительно больше ВВ, чем у здоровых лиц [56–58]. Для определения возможности использовать уровень микровезикул в сыворотке для дифференцировки псевдопрогрессии и прогрессирования С. J. Koch и соавт. исследовали образцы крови 11 пациентов с глиобластомой в динамике начиная с послеоперационного периода в течение 2 лет. Количество микровезикул оценивали с помощью проточной цитометрии и электронной микроскопии. Были обнаружены статистически значимые различия в количестве микровезикул при прогрессировании заболевания по сравнению с пациентами, у которых был зарегистрирован ответ на лечение ($p = 0,014$) [56].

Диагностическая, прогностическая и предикторная ценность определения микроРНК во ВВ, выделенных из биологических жидкостей пациентов с ГБ

Diagnostic, prognostic and predictive value of microRNA measurements in EVs from patients with GB

Автор, год Author, year	Источник ВВ EVs source	Пациенты Patients	Результат Result	Исследуемые РНК Studied RNAs	p
J.C. Akers и соавт., 2013 [50] J.C. Akers et al., 2013 [50]	ВВ сыворотки Serum EVs	24 пациента с ГБ, 5 неонкологических пациентов 24 patients with GB, 5 non-oncological patients	Уровень экспрессии не различался No difference in expression levels	МикроРНК-21 MicroRNA-21	0,4
	ВВ ликвора Cerebrospinal fluid EVs	13 пациентов с ГБ, 13 неонкологических пациентов 13 patients with GB, 13 non-oncological patients	Уровень экспрессии в среднем в 10 раз выше у пациентов с ГБ Expression level on average is 10 times higher in patients with GB	МикроРНК-21 MicroRNA-21	<0,001
L. Manterola и соавт., 2014 [47] L. Manterola et al., 2014 [47]	Экзосомы сыворотки крови Serum exosomes	75 пациентов с вдГБ, 55 здоровых лиц 75 patients with ndGB, 55 healthy subjects	Уровень экспрессии выше у пациентов с ГБ Expression level is higher in patients with GB	RNU6-1 МикроРНК-320 МикроРНК-574-3р RNU6-1 MicroRNA-320 MicroRNA-574-3p	<0,0001 <0,007 <0,003
R. Shi и соавт., 2015 [51] R. Shi et al., 2015 [51]	Экзосомы ликвора Cerebrospinal fluid exosomes	45 пациентов с ГБ, 25 неонкологических пациентов 45 patients with GB, 25 non-oncological patients	Уровень экспрессии выше у пациентов с ГБ Expression level is higher in patients with GB	МикроРНК-21 MicroRNA-21	<0,01
	Экзосомы сыворотки крови Serum exosomes	45 пациентов с ГБ, 25 неонкологических пациентов 45 patients with GB, 25 non-oncological patients	Существенной разницы не выявлено No significant difference found	МикроРНК-21 MicroRNA-21	Не указана Not specified
S. Ebrahim- khani et al., 2018 [48] S. Ebrahim- khani et al., 2018 [48]	Экзосомы сыворотки крови Serum exosomes	12 пациентов с ГБ-IDHwt, 12 здоровых лиц 12 patients with IDHwt GB, 12 healthy subjects	Диагностическая ценность панели микроРНК Diagnostic value of microRNA panel	МикроРНК-182-5р МикроРНК-328-3р МикроРНК-339-5р МикроРНК-340-5р МикроРНК-485-3р МикроРНК-486-5р МикроРНК-543 MicroRNA-182-5p MicroRNA-328-3p MicroRNA-339-5p MicroRNA-340-5p MicroRNA-485-3p MicroRNA-486-5p MicroRNA-543	Точность диагностики 91,7 % Diagnostic accuracy 91.7 %
A. Santangelo и соавт., 2018 [49] A. Santangelo et al., 2018 [49]	Экзосомы сыворотки крови Serum exosomes	44 пациента с ГБ, 30 здоровых лиц 44 patients with GB, 30 healthy subjects	Уровень экспрессии выше у пациентов с ГБ Expression level is higher in patients with GB	МикроРНК-21, МикроРНК-222 МикроРНК-124-3р MicroRNA-21, MicroRNA-222, MicroRNA-124-3p	<0,0001 <0,0001 <0,001
		25 пациентов с ГБ 25 patients with GB	Снижение экспрессии после удаления опухоли Decrease in expression after tumor resection	МикроРНК-21, МикроРНК-222 МикроРНК-124-3р MicroRNA-21, MicroRNA-222, MicroRNA-124-3p	<0,001 <0,01 <0,001

Окончание таблицы

End of table

Автор, год Author, year	Источник ВВ EVs source	Пациенты Patients	Результат Result	Исследуемые РНК Studied RNAs	<i>p</i>
F. Lan и соавт., 2018 [52] F. Lan et al., 2018 [52]	Экзосомы сыворотки крови Serum exosomes	60 пациентов с глиомой grade I–IV (27 ГБ), 43 здоровых лица 60 patients with grade I–IV gliomas (27 GB), 43 healthy subjects	Уровень экспрессии выше у пациентов с глиомой Expression level is higher in patients with glioma	МикроРНК-301a MicroRNA-301a	<0,01
		15 пациентов с вдГБ, 7 пациентов с рецидивной ГБ 15 patients with ndGB, 7 patients with recurrent GB	Снижение экспрес- сии после удаления опухоли; повыше- ние при рецидиве Decrease in expression after tumor resection, increase after recurrence	МикроРНК-301a MicroRNA-301a	<0,01 <0,01
F. Lan и соавт., 2020 [53] F. Lan et al., 2020 [53]	Экзосомы сыворотки крови Serum exosomes	91 пациент с глиомой grade I–IV (37 ГБ), 50 здоровых лиц 91 patients with grade I–IV gliomas (37 GB), 50 healthy subjects	Уровень экспрессии выше у пациентов с глиомой Expression level is higher in patients with glioma	МикроРНК-210 MicroRNA-210	<0,01
		20 пациентов с вдГБ, 10 пациентов с рецидивной ГБ 20 patients with ndGB, 10 patients with recurrent GB	Снижение экспрес- сии после удаления опухоли; повыше- ние при рецидиве Decrease in expression after tumor resection, increase after recurrence	МикроРНК-210 MicroRNA-210	<0,01 <0,01

Примечание. ВВ – внеклеточные везикулы; ГБ – глиобластома; вдГБ – впервые диагностированная глиобластома; ГБ-IDHwt – глиобластома без мутации гена изоцитратдегидрогеназы.

Note. EVs – extracellular vesicles; GB – glioblastoma; ndGB – newly diagnosed glioblastoma; IDHwt GB – glioblastoma with wild-type isocitrate dehydrogenase gene.

Позднее G. André-Grégoire и соавт. сравнили размеры и количество ВВ, выделенных из плазмы крови 6 пациентов с впервые диагностированной глиобластомой и 6 здоровых доноров. ВВ у пациентов с глиобластомой и здоровых доноров имели сопоставимый средний диаметр 80 (50–100) нм. В то же время концентрация экзосом в плазме крови пациентов с глиобластомой была выше по сравнению с таковой в группе контроля ($p < 0,05$) [57].

В исследование D. Osti и соавт. были включены пациенты с глиобластомой ($n = 43$), здоровые лица ($n = 33$) и пациенты с другими злокачественными новообразованиями центральной нервной системы ($n = 25$). Образцы крови отбирали до хирургического вмешательства и через 3 дня после операции. Собранные образцы плазмы затем очищали методом дифференциального центрифугирования с ультрафильтрацией через 0,22 мкм фильтр. Средний размер ВВ у пациентов с глиобластомой и в группе валидации составил около 150 нм ($p = 0,075$). Достоверно более высокое количество циркулирующих ВВ было обнаружено в исходном состоянии у пациентов с глиобластомой по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с метастатическими и внечерепными

опухолями. При сравнении концентрации ВВ в плазме крови у 9 пациентов с рецидивом глиобластомы с парными образцами до и после операции было показано, что содержание ВВ увеличено в дооперационных образцах плазмы, достоверно снижается после резекции первичной опухоли и вновь повышается при рецидиве заболевания ($p = 0,028$) [58].

Остается открытым вопрос о влиянии терапевтических воздействий при глиобластоме на размеры, количество и состав ВВ, а также на возможную погрешность, связанную с ответом на лечение, при диагностике прогрессирования на основании оценки ВВ в сыворотке и ликворе пациентов. В ряде исследований было показано влияние основных режимов химиотерапии и ультразвуковой гипертермии на высвобождение ВВ при глиобластоме. В исследовании H. Shao и соавт. было оценено влияние алкилирующего препарата темозоломида (TMZ), используемого в 1-й линии адъювантной терапии глиобластомы на клетки GBM мыши. Воздействие TMZ не вызывало значительных изменений в клеточной экспрессии CD63, EGFR или EGFRvIII, однако приводило к дозозависимому снижению количества как клеток, так и ВВ. Затем образцы крови 12 пациентов с глиобластомой

были собраны до и после стандартной химиолучевой терапии с TMZ. Как уже было описано выше, индекс лекарственного ответа, определяемый с использованием относительного изменения количества ВВ и уровней экспрессии белков ВВ, позволил достоверно дифференцировать пациентов с прогрессирующим и ответивших на терапию [54].

В другом исследовании эта группа авторов оценила влияние TMZ на уровни экзосомальной мРНК Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (MGMT) и алкилпурин-ДНК-N-гликозилазы (APNG) – ключевых ферментов, восстанавливающих TMZ-индуцированные повреждения ДНК. В клеточных линиях было показано, что уровни MGMT и APNG были повышены в лекарственно-устойчивых клеточных линиях, тогда как в чувствительных линиях они были незначительны. При этом экзосомальные уровни мРНК MGMT коррелировали со статусом метилирования промотора MGMT в опухоли как в клеточных линиях, так и у пациентов с глиобластомой. Оценка кинетики изменений мРНК MGMT и APNG после инкубации с TMZ показала, что в TMZ-резистентных клеточных линиях наблюдалось довольно быстрое временное увеличение уровня экзосомальной мРНК MGMT и APNG, а в чувствительных клеточных линиях уровень этих мРНК снижался. Анализ экзосомальной мРНК MGMT и APNG у 7 пациентов с глиобластомой показал, что уровень этих мРНК коррелировал с уровнем мРНК в первичной опухоли, уменьшался при ответе на терапию TMZ и увеличивался при прогрессировании процесса [27].

Влияние TMZ на стволовые клетки глиомы, отвечающие за резистентность к лечению, в том числе к алкилирующим химиопрепаратам, было оценено G. André-Grégoire и соавт. В исследовании показано, что воздействие TMZ (50–100 мкм, 48 ч) не оказывало токсичного эффекта на стволовые клетки глиомы, культивируемые в виде сфероидов, и приводило к увеличению количества ВВ, не влияя на их средний размер, а также обогащало ВВ маркерами клеточной адгезии [57]. Таким образом, будучи относительно неэффективным в элиминации стволовых клеток глиомы *in vitro*, TMZ может увеличить высвобождение и распространение факторов опухолевой прогрессии.

T. Simon и соавт. описали изменения в ВВ, продуцируемых клетками глиобластомы после инкубации с бевацизумабом (BVZ) – антиангиогенным препаратом, включенным во 2-ю линию терапии глиобластомы. BVZ оказывает положительное влияние на качество жизни и выживаемость пациентов с глиобластомой главным образом благодаря уменьшению проницаемости сосудов опухоли и перитуморального отека. Было отмечено, что BVZ захватывается клетками глиобластомы, обнаруживается на поверхности ВВ и индуцирует изменения в протеомном грузе ВВ, связанные с прогрессией опухоли и терапевтической резистентностью. Таким образом, обнаружен потенциальный

новый механизм выхода глиобластомы из-под действия BVZ [59].

В исследовании N.D. Sheybani и соавт. было оценено влияние ультразвуковой гипертермии на количество и протеомный профиль ВВ в монослойной культуре глиомы мышей. Показано, что после воздействия фокусированного ультразвука в течение 15 мин значительно увеличивается высвобождение ВВ (~46 %) без качественного изменения их морфологии. При этом отмечены обогащение общих маркеров, ассоциированных с ВВ (фибронектин и белки цитоскелета), и снижение уровня маркеров, ассоциированных с прогрессирующим и резистентностью к лечению (главный белок Vault, калуменин, аннексин А6 и белок теплового шока 5) [60].

В ряде исследований в клеточных культурах было показано увеличение высвобождения ВВ в ответ на терапевтическое воздействие [27, 57, 60], однако оценка влияния терапии на размер, количество и состав ВВ выполнялась непосредственно после завершения воздействия и остается не ясным, как долго сохраняются повышение выделения ВВ и изменения из состава. Напротив, в клинических исследованиях отмечено уменьшение уровня ВВ при ответе на терапию, однако число пациентов, включенных в эти исследования, незначительно и не позволяет сделать окончательные выводы [27, 54]. Таким образом, необходимо дальнейшее изучение влияния различных методов лечения на уровень и состав ВВ при глиобластоме в динамике у пациентов с различной чувствительностью к терапии.

Несмотря на потенциал ВВ в определении прогрессирования глиобластомы, существует ряд препятствий для клинического применения. Методы изоляции ВВ включают различные виды ультрацентрифугирования, ультрацентрифугирования в сочетании с ультрафильтрацией, изоляцию на основе полимеров, каждый из которых захватывает тонко различающиеся субпопуляции ВВ. Процедуры выделения ВВ часто занимают много времени, требуют большого количества исходного материала. Существует проблема выделения тотального пула и пула опухолевых ВВ, поскольку концентрация специфического маркера глиом GFAP (глиального фибриллярного кислого белка) на ВВ будет в несколько сотен раз ниже, чем на клетках исходной опухоли, вследствие особенностей биогенеза экзосом [18, 61]. В этом плане наиболее перспективным, на наш взгляд, является исследование цереброспинальной жидкости как биологической жидкости, обогащенной ВВ опухолевого происхождения. Использование ВВ из плазмы крови для диагностики и оценки эффективности терапии глиобластом не менее привлекательно, так как, по сути, представляет неинвазивную методику, однако диагностическая, предикторная и прогностическая значимость маркеров ВВ остается предметом дальнейших научных исследований (рис. 2) [62].

В литературе представлены возможности использования ВВ для терапии глиобластом в эксперименте.

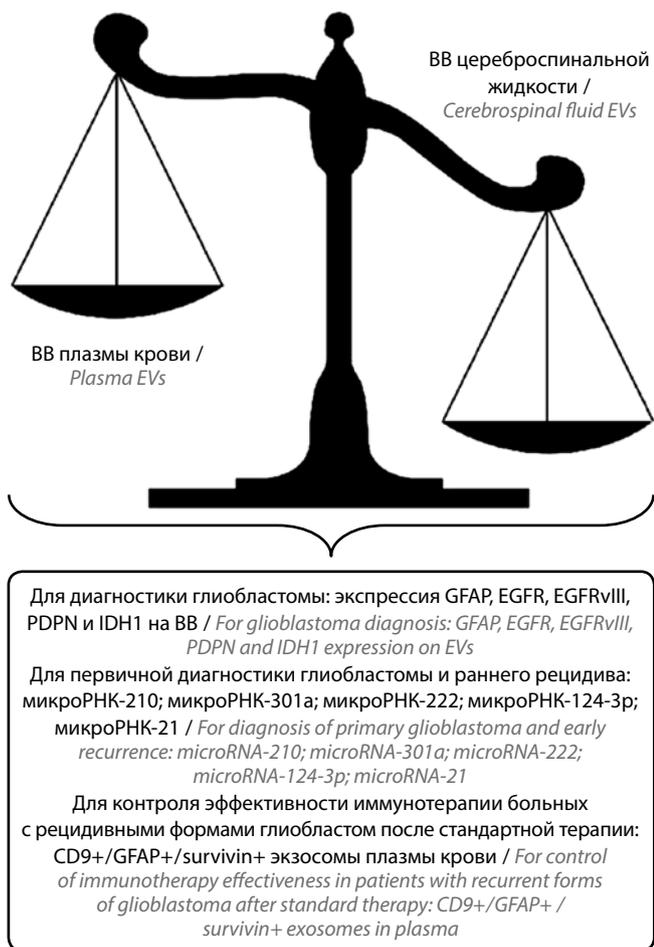


Рис. 2. Возможности использования внеклеточных везикул (ВВ) для диагностики и оценки эффективности терапии глиобластомы. GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок; EGFR – рецептор эпидермального фактора роста; EGFRvIII – мутантный вариант рецептора эпидермального фактора роста; PDPN – подопланин; IDH1 – изоцитратдегидрогеназа 1

Fig. 2. Possibilities of using extracellular vesicles (EVs) for diagnosis and evaluation of glioblastoma therapy effectiveness. GFAP – glial fibrillary acidic protein; EGFR – epidermal growth factor receptor; EGFRvIII – mutant variant of epidermal growth factor receptor; PDPN – podoplanin; IDH1 – isocitrate dehydrogenase 1

Показана высокая эффективность экзосом от НК-клеток в лечении глиобластом [63]. Полученные из мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (MSC) экзосомы являются наиболее привлекательным носителем для доставки белков, микроРНК, лекарств, металлов до опухолевых клеток реципиентов вследствие эффективной биосовместимости, сниженной иммуногенности (сниженная экспрессия МН1 I и II), малого размера и способности преодолевать ГЭБ, значительной нацеленности на опухоль. Кроме этого, в настоящее время хорошо отработаны методики культивирования MSC человека из различных источников

(костный мозг, жировая ткань). Показан хороший противоопухолевый эффект экзосом MSC после их инкубации с таксолем. Нагруженные таксолем экзосомы выделяли и инкубировали с различными высокометастатическими клеточными линиями человека. Несмотря на то что контрольные экзосомы MSC почти не ингибировали опухолевый рост, воздействие экзосом, нагруженных таксолем, было связано с цитотоксичностью, достигающей 80–90 %, что указывает на специфическое и более эффективное нацеливание на опухоль. Системное внутривенное применение полученных из MSC экзосом, нагруженных таксолем, выявило уменьшение подкожных первичных опухолей более чем на 60 %, а также значительную редукцию метастазов MDA-hyb1 в легких, печени, селезенке и почках. Эффект от MSC-экзосом был аналогичен эффектам, наблюдаемым для таксола, хотя концентрация таксола в экзосомах была примерно в 1000 раз ниже [64]. Также перспективно использование связанных с оксидом железа экзосом от MSC различного происхождения (жировая ткань, костный мозг, дентальная пульпа, клетки пуповины человека) для абляции опухолевых клеток посредством магнитной гипертермии [65].

Заключение

Жидкостная биопсия, являясь перспективным направлением в современной онкологии, значима в диагностике и прогнозе исхода заболевания у пациентов с глиобластомами. Существует множество перспективных мишеней, способных не только выявить заболевание, но и предсказать эффект лечения (экспрессия GFAP, EGFR, EGFRvIII, PDPN и IDH1 на ВВ для диагностики глиобластом; для первичной диагностики глиобластомы и раннего рецидива: микроРНК-210; -301a; -222; -124-3р; -21; для контроля эффективности иммунотерапии больных с рецидивными формами глиобластом после стандартной терапии перспективна оценка CD9+/GFAP+/survivin+ экзосом плазмы крови). Однако существующие проблемы, связанные с чувствительностью методов детекции, не позволяют применять их в клинической практике. Циркулирующие опухолевые клетки, ВВ, внеклеточные нуклеиновые кислоты, а также опухолевые белки до сих пор остаются потенциальными маркерами диагностики и прогрессирования заболевания. Интерес исследователей не угасает к ним на протяжении последнего десятилетия. Продолжается накопление фундаментальных знаний об опухолевой прогрессии глиом, что, несомненно, будет способствовать развитию новых методов в диагностике и прогнозе течения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Ostrom Q.T., Cioffi G., Gittleman H. et al. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2012–2016. *Neurooncology* 2019;21(Suppl 5):v1–100. DOI: 10.1093/neuonc/noz150.
- Chinot O.L., Wick W., Mason W. et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med* 2014;370(8):709–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1308345.
- Gilbert M.R., Dignam J.J., Armstrong T.S. et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med* 2014;370(8):699–708. DOI: 10.1056/NEJMoa1308573.
- Stupp R., Taillibert S., Kanner A. et al. Effect of tumor-treating fields plus maintenance temozolomide vs maintenance temozolomide alone on survival in patients with glioblastoma: a randomized clinical trial. *JAMA* 2017;318(23):2306–16. DOI: 10.1001/jama.2017.18718.
- Абсаямова А.В., Кобяков Г.Л., Агабекян Г.О. и др. Эффективность бевацизумаба при прогрессирующей глиобластоме. Собственные данные. *Медицинский алфавит* 2018;2(29):60–5. [Absalyamova O.V., Kobaykov G.L., Agabekyan G.O. et al. Bevacizumab efficacy in progressive glioblastoma. Own data. *Medicinskiy alfavit = Medical Alphabet* 2018;2(29):60–5. (In Russ.)].
- Weller M., Le Rhun E., Preusser M. et al. How we treat glioblastoma. *ESMO Open* 2019;4(Suppl 2):e000520. DOI: 10.1136/esmoopen-2019-000520.
- Трофимова Т.Н. Нейрорадиология: оценка эффективности хирургии и комбинированной терапии глиом. *Практическая онкология* 2016;17(1):32–40. [Trofimova T.N. *Neuroradiology: evaluation of effectiveness of surgery and the combined therapy of gliomas. Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology* 2016;17(1):32–40. (In Russ.)].
- Strauss S.B., Meng A., Ebani E.J., Chiang G.C. Imaging glioblastoma post-treatment: progression, pseudoprogression, pseudoresponse, radiation necrosis. *Radiol Clin North Am* 2019;57(6):1199–216. DOI: 10.1016/j.rcl.2019.07.003.
- Arevalo O.D., Soto C., Rabiei P. et al. Assessment of glioblastoma response in the era of bevacizumab: longstanding and emergent challenges in the imaging evaluation of pseudoresponse. *Front Neurol* 2019;10:460. DOI: 10.3389/fneur.2019.00460.
- Zikou A., Sioka C., Alexiou G.A. et al. Radiation necrosis, pseudoprogression, pseudoresponse, and tumor recurrence: imaging challenges for the evaluation of treated gliomas. *Contrast Media Mol Imaging* 2018;2018: 6828396. DOI: 10.1155/2018/6828396.
- Чернов В.И., Зельчан Р.В., Медведева А.А. и др. Способ радионуклидной диагностики опухолей головного мозга. Патент на изобретение RU2692451C2, 24.06.2019. Заявка № 2017134177 от 02.10.2017. [Chernov V.I., Zelchan R.V., Medvedeva A.A. Method for radionuclide diagnosing of cerebral tumors. Patent RU2692451C2, 24.06.2019. Application No. 2017134177 dated 02.10.2017. (In Russ.)].
- MacArthur K.M., Kao G.D., Chandrasekaran S. et al. Detection of brain tumor cells in the peripheral blood by a telomerase promoter-based assay. *Cancer Res* 2014;74(8):2152–9. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0813.
- Gao F., Cui Y., Jiang H. et al. Circulating tumor cell is a common property of brain glioma and promotes the monitoring system. *Oncotarget* 2016;7(44):71330–40. DOI: 10.18632/oncotarget.11114.
- Mohammadi H., Shiue K., Grass G.D. et al. Isocitrate dehydrogenase 1 mutant glioblastomas demonstrate a decreased rate of pseudoprogression: a multi-institutional experience. *Neurooncol Pract* 2020;1(7):185–95. DOI: 10.1093/nop/npz050.
- García-Romero N., Carrión-Navarro J., Esteban-Rubio S. et al. DNA sequences within glioma-derived extracellular vesicles can cross the intact blood-brain barrier and be detected in peripheral blood of patients. *Oncotarget* 2017;8(1):1416–28. DOI: 10.18632/oncotarget.13635.
- Silantsev A.S., Falzone L., Libra M. et al. Current and future trends on diagnosis and prognosis of glioblastoma: from molecular biology to proteomics. *Cells* 2019;8(8):863. DOI: 10.3390/cells8080863.
- Yekula A., Muralidharan K., Rosh Z.S. et al. Liquid biopsy strategies to distinguish progression from pseudoprogression and radiation necrosis in glioblastomas. *Adv Biosyst* 2020;e2000029. DOI: 10.1002/adbi.202000029.
- Hallal S., Ebrahimkhani S., Shivalingam B. et al. The emerging clinical potential of circulating extracellular vesicles for non-invasive glioma diagnosis and disease monitoring. *Brain Tumor Pathol* 2019;36(2):29–39. DOI: 10.1007/s10014-019-00335-0.
- Chen W.W., Balaj L., Liao L.M. et al. Beaming and droplet digital PCR analysis of mutant IDH1 mRNA in glioma patient serum and cerebrospinal fluid extracellular vesicles. *Mol Ther Nucleic Acids* 2013;2(7):e109. DOI: 10.1038/mtna.2013.28.
- Figueroa J.M., Skog J., Akers J. et al. Detection of wild-type EGFR amplification and EGFRvIII mutation in CSF-derived extracellular vesicles of glioblastoma patients. *Neuro Oncol* 2017;19(11):1494–502. DOI: 10.1093/neuonc/nox085.
- Lane R., Simon T., Vintu M. et al. Cell-derived extracellular vesicles can be used as a biomarker reservoir for glioblastoma tumor subtyping. *Commun Biol* 2019; 2:315. DOI: 10.1038/s42003-019-0560-x.
- Wang H., Jiang D., Li W. et al. Evaluation of serum extracellular vesicles as noninvasive diagnostic markers of glioma. *Theranostics* 2019;9(18):5347–58. DOI: 10.7150/thno.33114.
- Xu R., Rai A., Chen M. et al. Extracellular vesicles in cancer – implications for future improvements in cancer care. *Nat Rev Clin Oncol* 2018;15(10):617–38. DOI: 10.1038/s41571-018-0036-9.
- Ciccocioppo F., Lanuti P., Marchisio M., Miscia S. Extracellular vesicles involvement in the modulation of the glioblastoma environment. *J Oncol* 2020;2020:3961735. DOI: 10.1155/2020/3961735.
- Yekula A., Yekula A., Muralidharan K. et al. Extracellular vesicles in glioblastoma tumor microenvironment. *Front Immunol* 2020;10:3137. DOI: 10.3389/fimmu.2019.03137.
- Skog J., Würdinger T., van Rijn S. et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol* 2008;10(12):1470–6. DOI: 10.1038/ncb1800.
- Shao H., Chung J., Lee K. et al. Chip-based analysis of exosomal mRNA mediating drug resistance in glioblastoma. *Nat Commun* 2015;6:6999. DOI: 10.1038/ncomms7999.
- Manda S.V., Kataria Y., Tatireddy B.R. et al. Exosomes as a biomarker platform for detecting epidermal growth factor receptor-positive high-grade gliomas. *J Neurosurg* 2018;128(4):1091–101. DOI: 10.3171/2016.11.JNS161187.
- Zhang Y., Cruickshanks N., Pahuski M. et al. Noncoding RNAs in glioblastoma. In: *Glioblastoma*. Ed.: S. Vleeschouwer. Brisbane, QLD, Australia: Codon Publications, 2017. Pp. 95–130.
- Liu J., Zhao K., Huang N., Zhang N. Circular RNAs and human glioma. *Cancer Biol Med* 2019;16(1):11–23. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0425.
- Sun J., Li B., Shu C. et al. Functions and clinical significance of circular RNAs in glioma. *Mol Cancer* 2020;19(1):34. DOI: 10.1186/s12943-019-1121-0.
- Barbagallo D., Caponnetto A., Cirmi-gliaro M. et al. CircSMARCA5 inhibits

- migration of glioblastoma multiforme cells by regulating a molecular axis involving splicing factors SRSF1/SRSF3/PTB. *Int J Mol Sci* 2018;19(2): 480. DOI: 10.3390/ijms19020480.
33. Duan X.B., Liu D.L., Wang Y., Chen Z.Q. Circular RNA hsa_circ_0074362 promotes glioma cell proliferation, migration, and invasion by attenuating the inhibition of mir-1236-3p on HOXB7 expression. *DNA Cell Biol* 2018;37:917–24. DOI: 10.1089/dna.2018.4311.
 34. Wang R.J., Zhang S., Chen X.Y. et al. EIF4A3-induced circular RNA MMP9 (circMMP9) acts as a sponge of miR-124 and promotes glioblastoma multiforme cell tumorigenesis. *Mol Cancer* 2018;17:166. DOI: 10.1186/s12943-018-0911-0.
 35. Wang Y., Sui X., Zhao H. et al. Decreased circular RNA hsa_circ_0001649 predicts unfavorable prognosis in glioma and exerts oncogenic properties *in vitro* and *in vivo*. *Gene* 2018;676:117–22. DOI: 10.1016/j.gene.2018.07.037.
 36. Barbagallo D., Caponnetto A., Brex D. et al. CircSMARCA5 regulates VEGFA mRNA splicing and angiogenesis in glioblastoma multiforme through the binding of SRSF1. *Cancers (Basel)* 2019;11(2):194. DOI: 10.3390/cancers11020194.
 37. Jin P., Huang Y., Zhu P. et al. CircRNA circHIPK3 serves as a prognostic marker to promote glioma progression by regulating miR-654/IGF2BP3 signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;503(3):1570–4. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.07.081.
 38. Zhang M., Huang N., Yang X. et al. A novel protein encoded by the circular form of the *SHPRH* gene suppresses glioma tumorigenesis. *Oncogene* 2018;37(13):1805–14. DOI: 10.1038/s41388-017-0019-9.
 39. Yang M., Li G., Fan L. et al. Circular RNA circ_0034642 elevates BATF3 expression and promotes cell proliferation and invasion through miR-1205 in glioma. *Biochem Biophys Res Commun* 2019;508(3):980–5. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.12.052.
 40. Lei B., Huang Y., Zhou Z. et al. Circular RNA hsa_circ_0076248 promotes oncogenesis of glioma by sponging miR-181a to modulate SIRT1 expression. *J Cell Biochem* 2019;120(4):6698–708. DOI: 10.1002/jcb.27966.
 41. Ding C., Yi X., Wu X. et al. Exosome-mediated transfer of circRNA CircNFIIX enhances temozolomide resistance in glioma. *Cancer Lett* 2020;479:1–12. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.03.002.
 42. Chen W., Xu X.K., Li J.L. et al. MALAT1 is a prognostic factor in glioblastoma multiforme and induces chemoresistance to temozolomide through suppressing miR-203 and promoting thymidylate synthase expression. *Oncotarget* 2017;8(14):22783–99. DOI: 10.18632/oncotarget.15199.
 43. Shen J., Hodges T.R., Song R. et al. Serum HOTAIR and GAS5 levels as predictors of survival in patients with glioblastoma. *Mol Carcinog* 2018;57(1): 137–41. DOI: 10.1002/mc.22739.
 44. Tan S.K., Pastori C., Penas C. et al. Serum long noncoding RNA HOTAIR as a novel diagnostic and prognostic biomarker in glioblastoma multiforme. *Mol Cancer* 2018;17(1):74. DOI: 10.1186/s12943-018-0822-0.
 45. Xie J., Wang X., Liu S. et al. LncRNA SAMMSON overexpression distinguished glioblastoma patients from patients with diffuse neurosarcoidosis. *Neuroreport* 2019;30(12):817–21. DOI: 10.1097/WNR.0000000000001278.
 46. Zhang Z., Yin J., Lu C. et al. Exosomal transfer of long non-coding RNA SBF2-AS1 enhances chemoresistance to temozolomide in glioblastoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2019;38(1):166. DOI: 10.1186/s13046-019-1139-6.
 47. Manterola L., Guruceaga E., Gállego Pérez-Larraya J. et al. A small noncoding RNA signature found in exosomes of GBM patient serum as a diagnostic tool. *Neuro Oncol* 2014;16(4):520–7. DOI: 10.1093/neuonc/not218.
 48. Ebrahimkhani S., Vafae F., Hallal S. et al. Deep sequencing of circulating exosomal microRNA allows non-invasive glioblastoma diagnosis. *NPJ Precis Oncol* 2018;2:28. DOI: 10.1038/s41698-018-0071-0.
 49. Santangelo A., Imbruce P., Gardenghi B. et al. A microRNA signature from serum exosomes of patients with glioma as complementary diagnostic biomarker. *J Neurooncol* 2018;136(1):51–62. DOI: 10.1007/s11060-017-2639-x.
 50. Akers J.C., Ramakrishnan V., Kim R. et al. MiR-21 in the extracellular vesicles (EVs) of cerebrospinal fluid (CSF): a platform for glioblastoma biomarker development. *PLoS One* 2013;8(10): e78115. DOI: 10.1371/journal.pone.0078115.
 51. Shi R., Wang P.Y., Li X.Y. et al. Exosomal levels of miRNA-21 from cerebrospinal fluids associated with poor prognosis and tumor recurrence of glioma patients. *Oncotarget* 2015;6(29):26971–81. DOI: 10.18632/oncotarget.4699.
 52. Lan F., Qing Q., Pan Q. et al. Serum exosomal miR-301a as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma. *Cell Oncol (Dordr)* 2018;41:25–33. DOI: 10.1007/s13402-017-0355-3.
 53. Lan F., Yue X., Xia T. Exosomal microRNA-210 is a potentially non-invasive biomarker for the diagnosis and prognosis of glioma. *Oncol Lett* 2020;19(3):1967–74. DOI: 10.3892/ol.2020.11249.
 54. Shao H., Chung J., Balaj L. et al. Protein typing of circulating microvesicles allows real-time monitoring of glioblastoma therapy. *Nat Med* 2012;18(12): 1835–40. DOI: 10.1038/nm.2994.
 55. Малек А.В., Самсонов П.В., Къзи А. Перспективы разработки методов диагностики и мониторинга онкологических заболеваний на основе анализа экзосом, секретируемых опухолевыми клетками. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(4):9–18. [Malek A., Samsonov R.V., Chiesi A. Development of cancer diagnostics and monitoring methods based on analysis of tumor-derived exosomes. *Rossiiskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2015;14(4):9–18. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9784-2015-14-4-9-18.
 56. Koch C.J., Lustig R.A., Yang X.Y. et al. Microvesicles as a biomarker for tumor progression versus treatment effect in radiation/temozolomide-treated glioblastoma patients. *Transl Oncol* 2014;7(6):752–8. DOI: 10.1016/j.tranon.2014.10.004.
 57. André-Grégoire G., Bidere N., Gavard J. Temozolomide affects extracellular vesicles released by glioblastoma cells. *Biochimie* 2018;155:11–5. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.02.007.
 58. Osti D., Del Bene M., Rappa G. et al. Clinical significance of extracellular vesicles in plasma from glioblastoma patients. *Clin Cancer Res* 2019;25(1):266–76. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1941.
 59. Simon T., Pinioti S., Schellenberger P. et al. Shedding of bevacizumab in tumour cells-derived extracellular vesicles as a new therapeutic escape mechanism in glioblastoma. *Mol Cancer* 2018;17(1):132. DOI: 10.1186/s12943-018-0878-x.
 60. Sheybani N.D., Batts A.J., Mathew A.S. et al. Focused ultrasound hyperthermia augments release of glioma-derived extracellular vesicles with differential immunomodulatory capacity. *Theranostics* 2020;10(16):7436–47. DOI: 10.7150/thno.46534.
 61. Brennan K., Martin K., FitzGerald S.P. et al. A comparison of methods for the isolation and separation of extracellular vesicles from protein and lipid particles in human serum. *Sci Rep* 2020;10(1):1039. DOI: 10.1038/s41598-020-57497-7.
 62. Galbo P.M. Jr, Ciesielski M.J., Figel S. et al. Circulating CD9+/GFAP+/survivin+ exosomes in malignant glioma patients following survivin vaccination. *Oncotarget* 2017;8(70):114722–35. DOI: 10.18632/oncotarget.21773.
 63. Zhu L., Oh J.M., Gangadaran P. et al. Targeting and therapy of glioblastoma

- in a mouse model using exosomes derived from natural killer cells. *Front Immunol* 2018;9:824. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00824.
64. Melzer C., Rehn V., Yang Y. et al. Taxol-loaded MSC-derived exosomes provide a therapeutic vehicle to target metastatic breast cancer and other carcinoma cells. *Cancers (Basel)* 2019;11(6):E798. DOI: 10.3390/cancers11060798.
65. Altanerova U., Babincova M., Babinec P. et al. Human mesenchymal stem cell-derived iron oxide exosomes allow targeted ablation of tumor cells via magnetic hyperthermia. *Int J Nanomedicine* 2017;12:7923–36. DOI: 10.2147/IJN.S145096.

Вклад авторов

А.И. Рябова: обзор публикаций по теме статьи, написание отдельных глав рукописи, формирование общего списка литературы;
 В.А. Новиков: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна обзора;
 Н.В. Юнусова: написание отдельных глав рукописи, научное редактирование текста, подготовка рукописи к публикации;
 А.А. Пономарева, Л.В. Спирина, О.В. Грибова: написание отдельных глав рукописи.

Authors' contributions

A.I. Ryabova: reviewing of publications of the article's theme, writing individual chapters of the manuscript, formation of list of references;
 V.A. Novikov: reviewing of publications of the article's theme, review design development;
 N.V. Yunusova: writing individual chapters of the manuscript, scientific text editing, preparation of the manuscript for publication;
 A.A. Ponomareva, L.V. Spirina, O.V. Gribova: writing individual chapters of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.И. Рябова / A.I. Ryabova: <https://orcid.org/0000-0002-7171-8728>
 В.А. Новиков / V.A. Novikov: <https://orcid.org/0000-0003-0364-0831>
 Н.В. Юнусова / N.V. Yunusova: <https://orcid.org/0000-0003-4595-4177>
 А.А. Пономарева / A.A. Ponomareva: <https://orcid.org/0000-0003-2060-4840>
 Л.В. Спирина / L.V. Spirina: <https://orcid.org/0000-0002-5269-736X>
 О.В. Грибова / O.V. Gribova: <https://orcid.org/0000-0003-1696-427X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Financing. The work was performed without external funding.