

РОЛЬ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

THE ROLE OF EXTRACELLULAR VESICLES IN THE PATHOGENESIS OF ISCHEMIC STROKE: EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDIES (LITERATURE REVIEW)

I. Lomova
M. Tikhonova

Summary. The review analyzes the role of extracellular vesicles (EVs)—nanoparticles secreted by all cells (endothelium, neurons, glia, and blood cells) in the development of ischemic stroke (IS). EVs transport proteins, lipids, microRNAs, and other «cargoes», serving as a means of intercellular communication. In IS, the cells of the neurovascular unit and blood cells change their EV secretion profile. These EVs are involved in the initiation and maintenance of pathological processes: endothelial dysfunction, proinflammatory activation, apoptosis, disruption of the blood-brain barrier, and hypercoagulability. In clinical studies circulating EVs levels and composition, as well as vesicle-born microRNAs, correlate with the presence, severity, and volume of infarction and prognosis of ischemic stroke, offering promising tools for early diagnosis and monitoring. Experimental studies have shown that EVs of some cells (astrocytes, mesenchymal stem cells) have neuroprotective properties, transferring protective molecules and mitochondria to damaged neurons. The creation of engineered EVs loaded with therapeutic molecules (microRNA, neurotrophic factors, etc.) or mitochondria opens new possibilities for the development of targeted neuroprotective and reparative stroke therapy.

Keywords: ischemic stroke, extracellular vesicles, stroke markers, neuroprotection, mitochondria transfer, microRNA, targeted therapies for ischemic stroke.

Ломова Ирина Павловна

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник НИЛ цереброваскулярной патологии научно-исследовательского центра ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, г. Санкт-Петербург
irpalo@mail.ru

Тихонова Маргарита Борисовна

клинический ординатор, ФГБНУ Российский центр неврологии и нейронаук, г. Москва
atsuna@mail.ru

Аннотация. Обзор литературы посвящен анализу роли внеклеточных везикул (ВВ) — наночастиц, выделяемых всеми клетками (эндотелием, нейронами, глией, клетками крови) в развитии ишемического инсульта (ИИ). ВВ переносят белки, липиды, микроРНК и другие «грузы», выполняя роль межклеточной коммуникации. При ИИ клетки нейроваскулярной единицы и клетки крови изменяют профиль секреции ВВ. Эти ВВ участвуют в запуске и поддержании патологических процессов: эндотелиальной дисфункции, провоспалительной активации, апоптоза, нарушения целостности гематоэнцефалического барьера, гиперкоагуляции. В клинических исследованиях обнаружено, что уровни и состав циркулирующих ВВ, а также переносимые везикулами микроРНК коррелируют с наличием, тяжестью, объемом инфаркта и прогнозом ИИ и представляют перспективные инструменты для ранней диагностики и мониторинга. В экспериментальных работах выявлено, что ВВ некоторых клеток (астроцитов, мезенхимальных стволовых клеток) обладают нейропротекторными свойствами, перенося защитные молекулы и митохондрии к поврежденным нейронам. Создание инженерных ВВ, наполненных терапевтическими молекулами (микроРНК, нейротрофическими факторами и др.) или митохондриями, открывает новые возможности для разработки таргетной нейропротективной и репаративной терапии ИИ.

Ключевые слова: ишемический инсульт, внеклеточные везикулы, маркеры инсульта, нейропротекция, перенос митохондрий, микроРНК, таргетная терапия инсульта.

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной инвалидности и смертности в мире [1]. На долю ишемического инсульта (ИИ) приходится более 85 % всех острых нарушений мозгового кровообращения [2]. Существует высокая потребность в быстрой и надежной диагностике ИИ для использования в полной мере эффекта реперфузионной терапии и скорейшего применения нейропротекторных

стратегий. Благодаря исследованиям последних лет установлена значительная роль в патогенезе ССЗ внеклеточных везикул (ВВ). ВВ являются клеточными производными — наночастицами, которые выделяются для контакта с ближайшими и удаленными клетками конститутивно, их спектр и состав меняется при развитии патологического процесса, стрессе, активации [3]. Воспаление и эндотелиальная дисфункция лежат в основе всех сердечно-сосудистых событий. Исследования Hirsch Y et al. показали потенциальную роль ВВ, как связующего

звена этих патогенетических процессов [4]. ВВ, выделенные из крови и других жидкостей организма, в качестве средства «жидкой биопсии» могут являться маркером для ранней диагностики, мониторинга и предсказания исходов при ССЗ [5, 6].

Понятие термина «внеклеточные везикулы», классификация, внутреннее содержимое

В соответствии с рекомендациями Международного общества внеклеточных везикул (MISEV), под термином «внеклеточные везикулы» (ВВ) подразумевается гетерогенная популяция клеточных частиц, не обладающих способностью к самостоятельному делению [7]. Эти структуры представляют собой естественные продукты клеточной секреции, ограниченные липидным бислоем, в который встроены трансмембранные белки и белки, ассоциированные с липидами. Классификация ВВ традиционно основывается на их биогенезе и размере. Выделяют три основных типа: 1) экзосомы (30–150 нм) — наиболее мелкие везикулы, формирующиеся внутри клетки в процессе созревания эндосом и образования многовезикулярных телец. Их высвобождение во внеклеточную среду регулируется механизмами эндосомального сортировочного комплекса, необходимого для транспорта (ESCRT); 2) микровезикулы (МВ), или эктосомы (100–1000 нм) — частицы среднего размера, которые образуются путём прямого отпочкования от плазматической мембраны. Их высвобождение происходит как конститутивно, так и в результате активации клетки. Ключевой особенностью МВ является экспозиция на их поверхности анионных фосфолипидов, в первую очередь фосфатидилсерина (ФС). Это придаёт везикулам выраженную прокоагулянтную активность, поскольку ФС служит платформой для сборки и активации теназных и протромбиназных комплексов, что в итоге усиливает генерацию тромбина [8]; 3) апоптотические тельца (800–5000 нм) — самые крупные ВВ, которые образуются в ходе фрагментации клеток, подвергающихся апоптозу. Кроме размеров, для характеристики ВВ важное значение имеет их протеомный состав, в частности наличие на поверхности специфических маркеров. К основным классам таких белков относятся: тетраспанины (CD9, CD63, CD81); гетеротримерные G-белки; интегрины и молекулы клеточной адгезии; белки, связывающие фосфатидилсерин; рецепторы факторов роста. Именно трансмембранные белки, такие как тетраспанины, наиболее часто используются в качестве валидационных маркеров для идентификации и подтверждения наличия ВВ в образце, поскольку они характерны для большинства везикул вне зависимости от типа клеток-продуцентов [7, 9].

Содержимое, так называемые «грузы» ВВ, состоят из широкого спектра молекулярных соединений, таких как нуклеиновые кислоты, белки и липиды, которые варьируют в зависимости от подтипов ВВ, клеточного происхождения и стимулов микроокружения [10].

Ключевыми из выявляемых в составе внеклеточных везикул РНК, имеющими непосредственное отношение к патогенезу сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), являются микроРНК (miR) [11]. МикроРНК — это класс малых некодирующих молекул РНК длиной 19–22 нуклеотида. Их функция заключается в посттранскрипционном регулировании экспрессии генов за счёт комплементарного связывания с матричными РНК (мРНК). Это взаимодействие ведёт к деградации целевой мРНК или блокаде её трансляции [12]. Важно, что в системном кровотоке ВВ выступают в роли защитных носителей микроРНК, предохраняя их от разрушения под действием циркулирующих рибонуклеаз [13].

Виды ВВ, выделяемых клетками крови и эндотелием, их участие в межклеточной коммуникации при ССЗ

Наиболее многочисленной популяцией циркулирующих ВВ являются тромбоцитарные везикулы. Для них характерна экспрессия специфических маркеров: CD41, CD42a, CD42b, CD61, CD62P (P-селектин). Эти ВВ участвуют в регуляции гемостаза, воспалительных реакций и состояния сосудистой стенки. Особый интерес представляют прокоагулянтные субпопуляции тромбоцитарных ВВ, экспрессирующие на поверхности фосфатидилсерин (ФС, выявляется аннексином V) и тканевой фактор (ТФ). Именно они обладают высокой протромботической активностью, ускоряя образование тромбина и формирование тромба [14, 15]. В целом, тромбоцитарные ВВ демонстрируют как прокоагулянтный, так и провоспалительный потенциал [16]. Исследования показывают, что прокоагулянтной активностью обладает около половины аннексин V-позитивных тромбоцитарных ВВ, в то время как аннексин V-негативные везикулы участвуют в иных процессах, например, в репарации тканей и заживлении ран [17, 18].

Эритроцитарные ВВ экспрессируют характерные для своей клетки-предшественницы маркеры, такие как CD235a. Их содержимое включает ферменты антиоксидантной системы, иммуноглобулины, компоненты системы комплемента, а также значительное количество железа [19]. Большинство из них, неся на мембране ФС, проявляют прокоагулянтные свойства. Эритроцитарные экзосомы (несущие маркеры CD235a и CD63) способны активировать моноциты к продукции провоспалительного фактора TNF-α и стимулировать пролиферацию T-лимфоцитов, указывая на их возможную роль в модуляции иммунного и воспалительного ответа [20]. Кроме того, эти ВВ вовлечены в процессы атерогенеза, усиливая воспаление и межклеточную адгезию [5].

Лейкоцитарные ВВ, происходящие из нейтрофилов, моноцитов/макрофагов и лимфоцитов, идентифицируются по соответствующим клеточным маркерам. Их

типичный молекулярный груз включает провоспалительные цитокины (например, IL-1 β), молекулы адгезии (ICAM-1, PSGL-1), тканевой фактор, компоненты комплемента (C3) и металлопротеиназы. Однако состав мембранных и цитозольных белков варьирует в зависимости от субпопуляции: для моноцитарных ВВ характерны CD11b, CD14, CD64, CD142; для лимфоцитарных — CD3, CD45; для нейтрофильных — CD35, CD66b и миелопероксидаза [21]. Функционально лейкоцитарные ВВ способствуют активации и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов, участвуют в формировании специфического иммунного ответа, поддерживают воспаление, а также вносят вклад в развитие атеросклероза, дестабилизацию бляшек и тромбоз [21, 22, 23]. Таким образом, они играют двоякую роль в поддержании или нарушении соудистого гомеостаза [24].

Эндотелиальные ВВ в кровотоке определяются по набору специфических маркеров: CD62E (E-селектин), CD31, CD144, CD105 и VCAM-1. В некоторых случаях у эндотелиальных ВВ была отмечена прокоагулянтная активность при повышении экспрессии на их поверхности FC и TF [25, 8]. Повышенные уровни таких ВВ ассоциированы с прогрессированием атеросклероза, артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца [26, 27]. Наряду с патогенетической ролью, описаны и защитные функции эндотелиальных ВВ. Так, было показано, что ВВ, полученные от эндотелиальных клеток, могут оказывать кардиопротекторное действие, уменьшая повреждения, вызванные ишемией и последующей реперфузией, в экспериментальных моделях [28]. Более подробно информация о ВВ, поверхностных белках, переносимых «грузах», представлена в таблице 1.

Высвобождаясь из клеток, внеклеточные везикулы (ВВ) служат важным инструментом для передачи биологических сигналов как на короткие, так и на значительные расстояния. Таргетная доставка информации обеспечивается благодаря способности ВВ селективно связываться с клетками-мишенями. Это происходит за счёт взаимодействия поверхностных компонентов везикул (специфических липидов или лиганд-связывающих белков) с соответствующими рецепторами на мембране клетки-реципиента. После распознавания и связывания ВВ попадают внутрь клетки посредством различных механизмов, включая эндоцитоз, фагоцитоз или прямое слияние с плазматической мембраной. В результате их биологически активного груза (нуклеиновые кислоты, белки, липиды, микроРНК и др.) высвобождается в цитоплазму, что может коренным образом менять функциональное состояние и метаболические пути клетки-реципиента. Помимо доставки груза, ВВ выполняют и другую ключевую функцию: они могут переносить на своей мембране полноценные функциональные рецепторы. Таким образом, клетки, изначально не экспрессирующие определённые рецепторы, могут приобретать их, поглощая

везикулы. ВВ также могут усиливать сигнальный ответ, доставляя дополнительные копии рецепторов, уже присутствующих на клетке-мишени, что повышает её чувствительность к внешним сигналам [5, 8, 10]. Кроме того, выявлено избирательное присутствие митохондрий в ВВ. Перенос митохондрий везикулами приводил к различным реакциям в клетках и тканях реципиента (в зависимости от используемой модели заболевания/патологии), которые, в первую очередь были вызваны повышением биоэнергетики в результате присутствия митохондрий, связанных с ВВ [29].

Было обнаружено, что в состоянии покоя эндотелиальные клетки высвобождают ВВ, которые способны подавлять активацию моноцитов, и провоспалительные молекулы, связанные с воспалением сосудов при ССЗ [30]. Показано, что воспаленные эндотелиальные клетки, индуцированные TNF- α , высвобождают ВВ, обогащенные цитокинами, хемокинами и другими маркерами воспаления, которые при переносе в моноциты способствуют их дифференцировке в про- или противовоспалительные фенотипы [31]. Выявлена связь между тромбоцитарными, моноцитарными ВВ и эндотелиальными клетками при ишемии миокарда [32]. Исследования подтверждают, что транспорт микроРНК тромбоцитарными везикулами является активным механизмом регуляции клеток-мишеней. Показано, что микроРНК miR126-3p, содержащаяся в тромбоцитарных ВВ, поглощается человеческими макрофагами. Внутриклеточная доставка этой молекулы приводит к снижению экспрессии ряда генов, что, в свою очередь, усиливает фагоцитарную активность макрофагов [33]. Схожий принцип межклеточной коммуникации демонстрируют и другие микроРНК. Так, тромбоцитарные ВВ, несущие miR-21, miR-223 и miR-339, способны влиять на фенотип гладкомышечных клеток сосудов. Их действие опосредовано модуляцией экспрессии рецептора к фактору роста тромбоцитов- β (PDGFR- β), что приводит к изменению функционального состояния этих клеток [34].

Виды и функции ВВ, высвобождающихся клетками головного мозга

Внеклеточные везикулы распространены во всех типах клеток головного мозга.

ВВ участвуют в различных физиологических и патологических процессах, таких как регуляция возбуждения нейронов, синаптическая пластичность, образование и поддержание миелиновой оболочки, распространение нейровоспаления, нейропротекция, а также распространение и удаление токсичных белковых агрегатов [35]. ВВ перемещаются через гематоэнцефалический барьер с последующим распределением не только в пространстве вокруг клеток, но и в циркулирующих жидкостях, в том числе в спинномозговой жидкости, плазме

крови [36]. ВВ участвуют во многих функциях, ориентированных не только на целые клетки, но и на их части, например синапсы нейронов (развитие, регуляция, сила) и аксоны (рост, регенерация) [37]. Значительная важность межнейронных везикул и негативный контроль, вызванный их избытком, отмечены в возбуждающих глутаматергических синапсах [38]. Нейрональные ВВ участвуют в важных процессах, таких как регуляция нейрогенеза и сборка нейронных цепей [39]. Нейроны тесно связаны с глиальными клетками, такими как астроциты, олигодендроциты и микроглия.

Нейропротекторный эффект астроцитарных внеклеточных везикул (ВВ) реализуется, в частности, благодаря доставке в нейроны специфического белка — астроцитарного прионного протеина (PrP). Этот переносимый ВВ белок повышает устойчивость нейронов к окислительному стрессу, что в условиях кислородного голодания (гипоксии) или недостатка кровоснабжения (ишемии) способствует увеличению их выживаемости [40]. Кроме того, везикулы, секретируемые другими типами глиальных клеток — олигодендроцитами и микроглией, также участвуют в поддержании нейронального гомеостаза. Они выполняют функцию переносчиков для ряда ферментов, которые, попадая в нейроны, включаются в ключевые метаболические пути, обеспечивающие клетку энергией [41]. Обнаружено, что микроглия высвобождает различные ВВ в зависимости от окружающей среды и состояния активации, при этом ВВ, обогащенные патогенными микроРНК, такими как miRNA-34a, miRNA-125b, miRNA-146a, miRNA-155 способствуют нейровоспалению [42].

При иммунопатологических процессах в головном мозге ведущей в воспалительных реакциях является микроглия, способная преобразовывать свое состояние из гомеостатической (M0) в реактивную (M1) и ингибирующую (M2) формы. Это может быть связано с микроРНК, нацеленными на нейроны, с другими агентами, секретируемыми вовлеченными клетками, включая TNF α , интерлейкин 1A (IL-1A) и различные хемокины [42]. На нейровоспаление микроглии может влиять сопутствующая активация астроцитов, ВВ из которых могут ослаблять или усиливать действия микроглии [43]. Показано, что ВВ, полученные из астроцитов, инкапсулируют и впоследствии высвобождают различные нейропротекторные и нейрореститутивные факторы, включая фактор роста фибробластов-2, фактор роста эндотелия сосудов, аполипептидин-D, белки теплового шока, синапсин-1 и глутаматные транспортеры к их внеклеточным мишеням, в том числе к нейронам [44]. Известно, что другой компонент ВВ, полученных из астроцитов, miR-873a-5p, ослабляет нейровоспаление, опосредованное микроглией [43].

Эндотелиальные клетки составляют одну из крупнейших клеточных популяций в ЦНС и располагаются

в непосредственной близости от нейронов и нервных стволовых клеток. Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) состоит из эндотелиальных клеток, перицитов, астроцитов, нейронов и внеклеточного матрикса, в совокупности известных как нервно-сосудистая единица (NVU) [45]. Каждый компонент NVU тесно связан друг с другом, образуя структурную и функциональную единицу, регулируя кровоток в центральной нервной системе (ЦНС) и энергетический обмен, а также проницаемость ГЭБ. Высокоселективный, полупроницаемый ГЭБ, с одной стороны защищает мозг от проникновения патологических соединений из крови, но с другой стороны, плотный характер ГЭБ также препятствует высвобождению специфических для ЦНС биомаркеров в кровь, что делает циркулирующие маркеры ЦНС трудными для обнаружения. Целостность ГЭБ в основном поддерживается тесными контактами между эндотелиальными клетками [46]. В эндотелиоцитах ГЭБ обнаружен сниженный пиноцитоз / транцитоз [47], повышенная экспрессия молекул плотного соединения, таких как клаудины, окклюдин или zonula occludens 1 (ZO-1) [48]. Перициты и гладкомышечные клетки сосудов, расположенные в базальной мембране, обеспечивают структурную поддержку, регулируют вазодилатацию / сужение сосудов [49]. Нейроны в NVU передают сигналы и контролируют локальный мозговой кровоток напрямую, например, через оксид азота (NO), или косвенно через глиальные клетки [50], а также через уровни высвобождаемых нейротрансмиттеров при активации [51]. Многочисленные исследователи обнаружили, что ВВ могут пересекать ГЭБ и осуществлять взаимодействие между клетками NVU при помощи белков, мРНК или микроРНК для поддержания гомеостаза ЦНС [52]. Кроме того, ВВ, в частности экзосомы различного происхождения, восстанавливают поврежденные ткани и проявляют антиапоптотическое, противовоспалительное действие и защиту нейронов и сосудистой сети [53]. Xu et al. показали, что нейроны переносят miR-132 в эндотелиальные клетки через секретируемые экзосомы. Эта микроРНК поддерживает целостность сосудов головного мозга и регулирует экспрессию кадгерина эндотелия сосудов [54]. Клетки эндотелия также секретируют биоактивные молекулы для регулирования различных клеточных популяций в ЦНС с помощью ангиокринных факторов. В последние годы роль ВВ, секретируемых эндотелием церебральных сосудов, была признана важным механизмом, опосредующим взаимодействие эндотелиоцитов с нервными клетками [55, 56], показано, что экзосомы, происходящие из эндотелиоцитов, могут способствовать самообновлению, пролиферации и подавлять апоптоз нервных стволовых клеток у мышей [57].

ВВ при ишемии головного мозга в экспериментальных исследованиях

Быстрое лишение кислорода и питательных веществ сразу после ишемии во многих случаях приводят к мас-

сивной некротической и апоптотической гибели нейронов, обусловленной снижением уровня АТФ, высвобождением возбуждающих нейротрансмиттеров, выбросом активных форм кислорода, перегрузкой внутриклеточным кальцием и местным воспалением. Поскольку разрушению ГЭБ предшествуют различные физиологические процессы, ВВ, высвобождающиеся из первоначально пораженных клеток, например эндотелия, могут обеспечивать ранний и уникальный маркер начинающихся ишемических изменений в мозге [2]. Большинство экспериментальных исследований ишемического инсульта проводилось на модели фокальной ишемии (например, окклюзия СМА у крыс) или с использованием тканей или клеток, которые экспериментально подвергались гипоксии или ишемии (например, на модели кислородо-глюкозной депривации (OGD), имитирующей ишемию головного мозга). В исследовании Yang J. et al. выдвинуто предположение, что нейроны высвобождают ВВ, содержащие miRNA-98, в качестве сигнала «помоги мне» во время инсульта. Обнаружено, что miRNA-98 из невральные ВВ действует как эндогенный защитный фактор при ишемии, вызывает снижение микроглиального фагоцитоза частично поврежденных, но все еще жизнеспособных нейронов в области полутени, посредством нацеливания на рецептор фактора, активирующего тромбоциты (PAFR) [58]. Было обнаружено также, что нейроны высвобождают ВВ, содержащие miRNA-124a, что приводит к увеличению экспрессии глутаматного транспортера-1 и увеличению поглощения глутамата астроцитами [59]. В совокупности с тем фактом, что miRNA-124a увеличивается после инсульта, возможно, это происходит при инсульте как ответ на эксайтотоксические изменения. В исследовании Chiang C.-S et al. изучалось содержание везикулярных микроРНК в культурах первичных нейрональных клеток коры головного мозга крыс на модели OGD и было обнаружено, что экспрессия 45 микроРНК, содержащихся в ВВ, значительно изменена по сравнению с нормоксическими условиями [60].

В ряде исследований было показано, что при инсульте эндотелиальные клетки и соответствующие ангиокринные функции участвуют в возникновении, прогрессировании и постинсультной регенерации нервной системы [61]. В работе Kang-Yi Yue et al. выявлено, что эндотелиальные ВВ могут защищать нейроны после инсульта, вызванного OGD *in vitro* и в модели ишемии-реперфузии головного мозга при окклюзии СМА у крыс *in vivo*. Исследователи уточнили, что этот эффект, вероятно, был опосредован miR-1290, переносимой ВВ [56]. В работе Chen F. et al. на модели фокальной ишемии крыс обнаружено, что микроРНК-126 ВВ из эндотелиальных клеток головного мозга снижается через 3 ч после ишемии как в условиях транзиторной, так и постоянной ишемии и возвращается к исходному уровню через 24 ч. Выявлено, что общие уровни микроРНК-126 в сыворотке, по-видимому, снижаются только при постоянных ише-

мических состояниях, что позволяет предположить, что сывороточная микроРНК-126 может служить биомаркером тяжести инсульта [62].

В начале ишемического инсульта энергетическая недостаточность и ведет к набуханию эндотелиальных клеток, потере ими контакта друг с другом и с концевыми ножками астроцитов [63], что в сочетании с деградацией эндотелия приводит к апоптотической гибели клеток в NVU [62]. В работе Yiyang Li et al. сравнили защитную эффективность действия ВВ в отношении целостности ГЭБ между ВВ, полученными из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, и ВВ из культуры эндотелиальных клеток головного мозга после острого ИИ и исследовали, связан ли механизм с ВВ, противодействующими эндоцитозу caveолин-1 (Cav-1)-зависимых белков плотного соединения. Оба вида ВВ проявляли сходную эффективность в снижении объема инфаркта мозга и проницаемости ГЭБ и в повышении экспрессии зонулина-1 (ZO-1) и клаудина-5 (белков плотного соединения мембраны эндотелиальных клеток) через 24 ч на модели окклюзии СМА у крыс. В то же время ВВ, полученные из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, в большей степени улучшали неврологические функции. Одновременно оба метода лечения ВВ подавляли высокую экспрессию Cav-1 в эндотелиальных клетках, подвергшихся воздействию OGD и в ишемизированных микрососудах головного мозга, и эта эффективность была более заметной после введения ВВ, полученных из мезенхимальных стволовых клеток костного мозга [64].

В исследовании Hayakawa K. et al. продемонстрирован процесс эндогенного межклеточного переноса митохондрий и его результаты. Выявлено, что добавление кондиционированной среды с астроцитами, содержащей ВВ с митохондриями к нейронам, лишенным кислорода и глюкозы (OGD), повышает уровень АТФ в нейронах и их жизнеспособность [65]. В *in vivo* мышинной модели окклюзии средней артерии при инсульте флуоресцентно меченые астроцитарные митохондриальные частицы из ВВ были обнаружены в периинфарктных нейронах через 24 часа после введения в кору головного мозга. В этих кортикальных нейронах наблюдалась повышенная экспрессия сигналов, связанных с выживанием, в том числе фосфорилированного АКТ и BCL-XL, а также повышенная экспрессия TOM40, маркера митохондрий. Подавление передачи сигналов CD38 с помощью экспериментов по подавлению экспрессии гена CD38 привело к подавлению эндогенного переноса митохондрий из астроцитов в нейроны, что привело к уменьшению количества митохондрий в нейронах и ухудшению неврологических показателей. Эти результаты выявили ранее неизвестный механизм эндогенной нейропротекции, опосредованной астроцитами посредством переноса функциональных митохондрий [66, 67].

Разрушение ГЭБ приводит к повышению проницаемости сосудов, вызывает вторичное воспаление нейронов и ускоряет процесс ишемического повреждения ткани. Между тем, воспалительная реакция, индуцируемая активацией глиоцитов, также может усиливать повреждение целостности ГЭБ [68]. Микроглия играет динамическую роль как в повреждающих, так и в нейропротекторных процессах после инсульта. Как было рассмотрено Taylor R.A. and Sansing L.H при анализе нескольких исследований, микроглия противовоспалительного типа первоначально преобладает в ишемизированном ядре, с последующим переходом к микроглии провоспалительного типа в течение 2 недель [69]. В острой фазе микроглия может играть защитную роль, поскольку селективное уничтожение микроглии у крыс увеличивает объем инфаркта после окклюзии СМА [70]. В исследовании Lin Zhang et al. оценивали влияние ВВ из микроглии, предварительно кондиционированной OGD, на ангиогенез и апоптоз нейронов. В условиях *in vitro* применение ВВ стимулировало как ангиогенез, так и образование трубочек в эндотелии и подавляло повреждение нейрональных клеток. Характеристика ВВ микроглии с помощью вестерн-блоттинга и других методов показала, что эти ВВ богаты TGF- β 1. Обогащенные TGF- β 1 ВВ, секретлируемые из предварительно кондиционированной OGD микроглии, стимулировали M2 поляризацию микроглии, находящейся в окружении в ишемизированном мозге, что может способствовать регуляции ранней воспалительной реакции. У мышей, перенесших инсульт, получавших такие ВВ, выявлено лучшее функциональное восстановление при анализе поведенческих тестов. Следовательно, настоящие результаты предполагают новый способ действия ВВ, полученных из предварительно кондиционированной OGD микроглии, путем регуляции пути TGF- β /Smad2/3, чтобы способствовать регенерации тканей и неврологическому восстановлению у мышей, перенесших инсульт [71].

Регуляция подтипов микроглии посредством экзосомного транспорта микроРНК из церебральных микрососудов была также установлена в исследовании Mengqi Zhang et al. Обнаружили, что miR-3613-3p был повышен в экзосомах микрососудов мозга. Нокдаун miR-3613-3p улучшал выживаемость клеток, миграцию и ангиогенез церебральных микрососудов при OGD. Вмешательство в экспрессию эндотелиальной miR-3613-3p в микрососудах мозга препятствовало повышению miR-3613-3p в экзосомах и усиливало M2 поляризацию микроглии, что способствовало снижению апоптоза нейронов [72].

При ИИ астроциты участвуют в остром повреждении, а также функционируют для сдерживания поврежденной области мозга посредством образования глиального рубца. Активированные эндотелиальные клетки стимулируют высвобождение ВВ из астроцитов и микроглии. Существует взаимосвязь между микроглией и секреци-

ей ВВ астроцитами. Было показано, что АТФ стимулирует и изменяет высвобождение ВВ микроглией, что, в свою очередь, стимулирует приобретение воспалительного фенотипа астроцитами [73]. Более того, АТФ, высвобождаемый из астроцитов, запускает высвобождение ВВ в микроглии с повышенным содержанием IL-1 β . Поскольку астроциты однозначно связаны с целостностью ГЭБ, измененные профили ВВ астроцитов могут служить индикаторами дисфункции ГЭБ [74].

Глутамат может стимулировать высвобождение везикул из олигодендроцитов, и эти ВВ затем поглощаются нейронами в качестве поддержки в условиях стресса. Таким образом, олигодендроциты не только играют важную роль в ремиелинизации после ишемического повреждения, но также влияют на выживаемость нейронов [75]. В исследовании *in vitro*, изучавшем эффекты ВВ, полученных из олигодендроцитов, в совместной культуре олигодендроцитов / нейронов при OGD, клетки, подвергшиеся воздействию ВВ, полученных из олигодендроцитов, имели значительно более высокую метаболическую активность по сравнению с контрольными клетками. Эти ВВ, по-видимому, содержат полезные антиоксиданты, включая такие ферменты, как каталаза и супероксиддисмутаза 1 (SOD1) [75]. Также было обнаружено, что олигодендроциты высвобождают ВВ в ответ на глутаматергическую передачу сигналов и другие нейрональные сигналы.

Показано, что различные некодирующие РНК, а именно miR-124-3p, miR-126, miR-132, miR-221-3p и miR542-3p, снижаются в ишемизированном мозге и крови, тогда как другие, а именно miR-98 и miR-494, повышаются в определенные моменты времени [76]. Обнаружение этих ВВ, в том числе везикулярных микроРНК в плазме с хорошей чувствительностью могло бы обеспечить потенциальные биомаркеры для прогноза ишемии головного мозга. Введение ВВ, полученных из MSC, может повысить уровни микроРНК в ишемизированной ткани мозга. Следовательно, везикулярные микроРНК играют жизненно важную роль в координации тканевых реакций на ишемический инсульт в условиях острого и подострого периода, при этом микроРНК модулируют выживаемость нейронов, воспалительные реакции, ангиогенез, нейрогенез и пластичность нейронов.

Таким образом, информация об изменениях в клеточной функции в ЦНС на основании изменения профиля выделяемых ВВ и их содержимого может помочь в изучении патофизиологических процессов при ИИ. Эти данные о роли ВВ эндотелиального, нейронального, глиального происхождения при церебральной ишемии могут не только служить в качестве потенциальных биомаркеров остроты, тяжести и стадий развития ИИ, но и помочь в разработке нового терапевтического подхода к лечению инсульта.

ВВ при ишемическом инсульте у пациентов

Поскольку разрушению ГЭБ предшествуют различные физиологические процессы, ВВ, высвобождаемые из клеток, изначально пораженных, например, эндотелиальных клеток, могут обеспечивать раннее «молекулярное окно» в мозг, пока ГЭБ остается неповрежденным, а ткани все еще можно спасти [2]. Выявление новых прогностических биомаркеров для стратификации риска пациентов может снизить бремя заболевания. Учитывая возможность неинвазивного сбора ВВ и определения их характеристик, проведены многочисленные исследования ВВ как прогностического биомаркера для оценки изменений клеточной функции на острых стадиях инсульта [77]. При ишемии эндотелиальные клетки подвергаются значительному набуханию и воспалительному стрессу, что способствует высвобождению ВВ [63]. Было показано, что несколько типов клеток головного мозга и микроциркуляторного русла выделяют ВВ в кровь во время инсульта, включая нервные клетки, клетки-предшественники нервной системы, эндотелиальные клетки, тромбоциты, эритроциты, гранулоциты и лейкоциты, включая моноциты и лимфоциты [2].

В большинстве исследований сообщалось о высоком уровне циркулирующих ВВ у пациентов с инсультом; они ассоциировались с тяжестью инсульта, размером очаговых изменений и прогнозом. О повышенных уровнях эндотелиальных ВВ при ИИ впервые сообщили в 2006 году Simak и коллеги, они обнаружили повышенные уровни субпопуляции эндотелиальных ВВ (ФС (+), CD105(+), CD41a(-)) при остром ишемическом инсульте по сравнению с контрольной группой. Они также сообщили о корреляции между тяжестью инсульта и специфическими субпопуляциями ВВ эндотелиального происхождения. Наиболее сильной корреляцией с объемом ишемического поражения были CD54 / ICAM-1–позитивные ВВ (CD105(+), CD54(+), CD45(-)), в то время как ВВ, полученные из эндотелиальных клеток (CD105(+), CD41a (-), CD45(-)), коррелировали с долгосрочным клиническим исходом. Кроме того, они смогли провести различие между тяжелым и незначительным инсультом [78]. В работе Jung K.H с соавторами более высокие уровни CD62E (E-селектин) позитивных эндотелиальных ВВ наблюдались в проспективном исследовании 348 пациентов с острым инсультом (n=73) по сравнению с пациентами с сосудистыми факторами риска, но без инсульта (n = 275). Авторы также обнаружили, что уровни CD62E-положительных эндотелиальных ВВ связаны с недавними ишемическими эпизодами и большими объемами инфаркта. Так же было отмечено, что у пациентов с экстракраниальным и внутричерепным артериальным стенозом наблюдались различные паттерны эндотелиальных ВВ [79]. Таким образом подтверждено, что эндотелиальные ВВ могут быть маркерами повышенного риска ишемического инсульта, а также, что фе-

нотипический профиль ВВ различается в зависимости от места артериального стеноза (внутричерепного или внечерепного) у пациентов с повышенным риском цереброваскулярных заболеваний.

Ранее было показано, что клетки-предшественники нейронов замещают отмирающие нейроны в местах повреждения головного мозга. Но оставалось неясным, связана ли активация клеток-предшественников нейронов с выделением ВВ, как длительно сохраняется эта активация и связана ли она с тяжестью инсульта. Этим вопросам посвящена работа Chiva-Blanch G. С соавт. [80]. В пролонгированном крупномасштабном исследовании обнаружено, что аннексин-V-позитивные ВВ, происходящие из различных типов клеток, включая клетки-предшественники нервной системы (CD34(+), CD56(+)), тромбоциты (CD61(+)), эндотелиальные клетки (CD146(+)), эритроциты (CD235ab (+)) и лейкоциты (CD45(+)), были повышены в образцах крови пациентов с острым ишемическим инсультом. Эти результаты показывают, что инсульт вызывает генерализованную активацию клеток крови и сосудов и инициирует процесс восстановления нейрональных клеток после инсульта. Через 90 дней количество ВВ, выделяемых нейрональными клетками-предшественниками, уменьшилось, а количество ВВ, полученных из гладкомышечных клеток, увеличилось по сравнению с уровнями в начале инсульта, но это увеличение отмечалось только у пациентов с наиболее обширными повреждениями головного мозга. Очевидно, более крупные поражения головного мозга связаны с более глубоким повреждением сосудов, затрагивающим гладкомышечные клетки сосудов [80].

В другом исследовании, оценивающем количество эндотелиальных ВВ при ТИА и ИИ по сравнению со здоровым контролем, выявлено заметное увеличение протромботических эндотелиальных ВВ CD146(+), CD62E(+) и аннексин V(+) как при ТИА, так и при инсульте в течение 48 ч после события, причем при инсульте отмечена тенденция к большему повышению эндотелиальных ВВ, чем при ТИА. Их уровни остаются высокими до 30 дней после ИИ, что свидетельствует о повышенном риске повторения ИИ [81]. В обзоре El-Gamal H. et al циркулирующие ВВ оценены как биомаркеры инсульта с акцентом на значении эндотелиальных и тромбоцитарных ВВ. Эндотелиальные ВВ были признаны как биомаркерами, так и эффекторами активации и повреждения эндотелиальных клеток, в то время как тромбоцитарные ВВ обладали сильным прокоагулянтным потенциалом и активировались при тромботических состояниях [82].

Исходя из предположения, что ВВ лейкоцитарного происхождения могут способствовать воспалению сосудов и воспалительному процессу при остром ишемическом инсульте, Zhangping H. et al проанализировали значение различных фенотипов ВВ лейкоцитарного про-

исхождения в качестве специфических биомаркеров сосудистого воспалительного повреждения при ИИ. Выявили, что у пациентов с ИИ было значительно повышено количество ВВ лейкоцитарного (CD45+), моноцитарного (CD14+), лимфоцитарного (CD4+), гранулоцитарного (CD15+) происхождения по сравнению со здоровым контролем ($p < 0,05$). Было также установлено, что уровни ВВ CD14+ в плазме крови достоверно коррелировали с тяжестью инсульта ($r=0,355$, $p=0,019$), степенью стеноза сосудов головного мозга ($r=0,255$, $p=0,025$) и подтипом инсульта ($r = 0,242$, $p=0,036$). Пришли к выводу, что уровни ВВ CD14+ могут быть многообещающим биомаркером тяжести ишемии и исхода инсульта в клинике [83].

При ИИ усиление воспаления активирует систему свертывания крови, повышенную активацию тромбоцитов. Во время клеточной активации и агрегации тромбоциты могут вызывать повышенное высвобождение нескольких провоспалительных и протромботических медиаторов, включая микроРНК и ВВ. В исследовании Euyiletan S. et al. стремились оценить профиль циркулирующих микроРНК, связанных с функцией и воспалением тромбоцитов, и циркулирующие ВВ из тромбоцитов, лейкоцитов и эндотелиальных клеток у пациентов с острым ИИ. Обследованы 28 пациентов с острым ИИ, и контрольную группу составили 35 пациентов, получавших терапию ацетилсалициловой кислотой (АСК) без инсульта и/или ТИА в анамнезе. Образцы венозной крови были взяты у контрольной группы и пациентов с ИИ, получавших терапию АСК через 24 ч после начала острого ИИ, через 7 дней после госпитализации. Определяли концентрации циркулирующих подтипов ВВ (из тромбоцитов, лейкоцитов и эндотелиальных клеток) в плазме методом проточной цитометрии, а qRT-PCR использовали для определения нескольких циркулирующих микроРНК плазмы (miR-19a-3p, miR-186-5p и let-7f (предшественник микро РНК miR-98)). Выявили, что у пациентов с высокой реактивностью тромбоцитов (на основе агрегометрии тромбоцитов) была значительно повышена концентрация ВВ тромбоцитов (CD62 +) и лейкоцитов (CD45 +) по сравнению с пациентами с нормальной реактивностью тромбоцитов в день 1 острого инсульта ($p = 0,012$, $p = 0,002$, соответственно). Диагностические значения исходных микроРНК и ВВ оценивали с помощью анализа кривой ROC. Анализ кривой ROC показал, что объединение экспрессии miR-19a-3p, концентрации тромбоцитарных и лейкоцитарных ВВ дало более высокую AUC, чем значение каждого отдельного биомаркера, поскольку AUC составила 0,893 (95% ДИ, 0,79–0,99). У пациентов с умеренным инсультом были значительно повышены уровни экспрессии miR-19a-3p по сравнению с пациентами с легким инсультом в первый день ИИ. (AUC: 0,867, (95 % ДИ 0,74–0,10) $p = 0,001$). Пришли к заключению, что сочетание различных биомаркеров процессов, лежащих в основе патофизиологии ИИ, может быть полезным для ранней диагностики ишемических событий, и что в буду-

щем циркулирующие биомаркеры могут быть использованы на догоспитальном этапе ИИ [84].

В исследованиях A. Carandina et al. было обнаружено, что специфические подтипы ВВ связаны не только с тяжестью инсульта, но и как краткосрочными, так и долгосрочными исходами. Неврологический статус 47 пациентов с острым ИИ был оценен при поступлении (T0), сразу после лечения реканализацией или через 2 ч у пациентов, не получавших лечения (T1), и через одну неделю (Tw) с использованием шкалы инсульта Национального института здоровья (NIHSS), а через 3 месяца с использованием модифицированной шкалы Рэнкина (mRS). Обнаружили, что количество тромбоцитарных ВВ при поступлении было положительно связано с тяжестью ишемического инсульта в начале, а также с тяжестью среднесрочного исхода. Выявлено, что ВВ, полученные из Т-клеток, при поступлении были положительно связаны как с исходами раннего, так и среднесрочного ишемического инсульта. Более того, ВВ, полученные из Т-клеток при T1, были положительно связаны с исходом ишемического инсульта в среднесрочной перспективе. Таким образом определение ВВ может представлять собой инструмент для улучшения стратификации риска у пациентов с ишемическим инсультом и мониторинга лечения после реканализации. [85].

В работе Datta A и др изучены прогностические кандидаты биомаркеров течения лакунарного инфаркта методом количественной протеомики обогащенной ВВ плазмы [86]. Плазму собирали у 45 пациентов после лакунарного инсульта, проводили проспективный мониторинг в течение до пяти лет, разделили на пациентов 3 группы (1-отсутствие неблагоприятного исхода, 2-рецидивирующее сосудистое событие и 3-когнитивное снижение без рецидивов сосудистых событий). При биоинформатическом анализе в группах с неблагоприятным исходом выявили повышенную регуляцию специфических для мозга белков, включая основной белок миелина, белки каскада коагуляции (альфа-цепь фибриногена, бета-цепь фибриногена) и молекулы фокальной адгезии (интегрин альфа-IIb, талин-1 и filamin-A). При этом, уровень альбумина был понижен в обеих группах пациентов с неблагоприятным исходом. Таким образом, профилирование фракций циркулирующих ВВ на этапе постинсультного восстановления представляло собой технически и концептуально предпочтительную стратегию для изучения текущих нейрпатологических процессов и выявления полезных прогностических маркеров.

Исследованию прогностического потенциала ВВ в подостром периоде для предсказания результатов лечения через 6мес посвящена работа Ruben A Jödicke с соавт. Обследованы 110 пациентов с ИИ в подостром периоде, проходивших 4-недельные аэробные тренировки или сеансы релаксации. Были оценены уров-

ни следующих ВВ: эндотелиальных (EnV: аннексин V+, CD45-, CD41-, CD31+/CD144+/CD146+), лейкоцитарных (LV: аннексин V+, CD45+, CD41-), моноцитарных (MoV: аннексин V+, CD41-, CD14+), нейрональных (NV: Аннексин V+, CD41-, CD45-, CD31-, CD144-, CD146-, CD56+/CD171+/CD271+) и тромбоцитарных (PV: Аннексин V+, CD41+) до и после вмешательства. Ассоциации исходных уровней и изменения концентраций ВВ с индексом Бартела (BI) и сердечно-сосудистыми событиями в первые 6 месяцев после инсульта были проанализированы с использованием регрессионного анализа смешанной модели и регрессии Кокса. Выявили, что большинство ВВ оказались тромбоцитарного происхождения, за ними следовали нейрональные и эндотелиальные ВВ. Установлено, что более низкие значения тромбоцитарных и нейрональных ВВ на исходном уровне были связаны с худшим функциональным исходом в первые 6 месяцев после инсульта. Кроме того, увеличение нейрональных и лейкоцитарных ВВ с течением времени было связано с ухудшением BI в первые 6 месяцев после инсульта. Необходимы дальнейшие исследования взаимосвязи между типами ВВ и их динамикой с функциональным исходом после инсульта [87].

В последние годы микроРНК, переносимые ВВ, привлекают большое внимание, поскольку они функционируют как посттранскрипционные регуляторы экспрессии генов и, следовательно, представляют терапевтический потенциал [88]. Это также имело место в исследованиях «груза» ВВ, где характеристика микроРНК сочеталась с потенциальным лечением инсульта. Кроме того, микроРНК могут функционировать как биомаркеры, поскольку их легко идентифицировать с помощью методов секвенирования, QT-ПЦР или прямой гибридизации. Для неотложной диагностики инсульта, представляет интерес анализ микроРНК ВВ плазмы, полученной в острой фазе. В нескольких исследованиях сообщалось о специфичных для инсульта микроРНК, полученных из ВВ. Уровень miR-134 в ВВ плазмы у пациентов с острым ишемическим инсультом выше, чем в нормальном контроле, а объем инфаркта положительно связан с худшим прогнозом у пациентов с инсультом [89]. Повышенная экспрессия miR-9 и miR-124 [90] также отмечалась у пациентов с ИИ в острой фазе и коррелировали с объемом инфаркта и показателями NIHSS и концентрацией интерлейкина-6 в крови. Экспрессия микроРНК изменялась на протяжении различных фаз инсульта, включающего сверхострую фазу ишемии (<6 ч), острый ишемический инсульт (от одного до трех и 4–7 дней), подострую фазу ишемии (8–14 дней) и фазу восстановления (>14 дней). В клинических исследованиях выявлено, что уровни экспрессии miR-30a-5p, miR-422a, miR-21-5p и miR-125b-2 — различаются до 3-х раз на этих четырех фазах. [91].

Корреляции более высоких уровней miR-223 в циркулирующих ВВ обнаружены также у пациентов с острым

ИИ, с оценками по NIHSS и объемом инфаркта головного мозга и, следовательно, с худшим прогнозом [92]. Кроме того, при исследовании miR-422a, miR-miR-21-5p и miR-30a-5p [93] выявили начальный пик экспрессии в острой фазе с последующим снижением в подострой фазе. Эти колебания уровней микроРНК потенциально могут указывать на время, прошедшее с начала инсульта. Однако изменяющиеся уровни микроРНК вносят риск несовершенной диагностики в зависимости от времени забора крови [94]. Более того, транзиторная ишемическая атака и постоянная ишемия головного мозга различны. Через три часа после постоянной ишемии головного мозга происходит быстрое снижение уровня везикулярного miR-126 в сыворотке, и он возвращается к норме через 24 ч [95].

Анализ данных проведенных исследований позволяет выделить специфические ассоциации между микроРНК, содержащимися во внеклеточных везикулах, и ключевыми клиническими параметрами ишемического инсульта (ИИ). В частности, установлены следующие корреляции: везикулярные микроРНК: miR-9, miR-124, miR-134, miR-152-3p и miR-223 связаны с тяжестью инсульта; miR-134 и miR-223 с плохим прогнозом; miR-9, miR-124 и miR-134 с объемом инфаркта; и miR-9, miR-124 и miR-134 с повышением уровня интерлейкина-6. Повышенные уровни экспрессии miR-19a-3p отмечались у пациентов с умеренным инсультом, по сравнению с пациентами с легким инсультом в первый день ИИ. Везикулярные miR-21-5p и miR-30a-5p связаны с апоптозом, который отличает острую фазу ишемического инсульта от подострой фазы и периода восстановления [91]. Кроме того, было показано, что экзосомные miR-422a и miR-125b-2-3p в крови могут быть диагностическими биомаркерами у пациентов с инсультом, и что комбинированное использование этих двух микроРНК может быть эффективным при определении тяжести инсульта [96].

Заключение

Таким образом, основываясь на комбинации микроРНК и поверхностных и специфических белков, ВВ могут быть признаны потенциальными биомаркерами в диагностике ишемического инсульта, определения его остроты, прогноза тяжести заболевания. Понимание сроков, в течение которых определенные типы клеток в ЦНС высвобождают ВВ, и того, как их «груз» меняется с течением времени на протяжении всего хода инсульта, представляет собой захватывающую возможность расширить наши знания об изменениях в клеточной функции, проявляющихся в патофизиологии инсульта. Использование ВВ в качестве средств периферической оценки клеточной функции ЦНС позволило бы проводить клинические пробы в различные моменты времени после инсульта у пациентов [97]. Эти данные о роли

ВВ в качестве потенциальных биомаркеров патофизиологических процессов в мозге при ИИ могут помочь не только в более точной диагностике, мониторинговании и в прогнозировании исходов инсульта, но и обеспечить разработку нового таргетного подхода к лечению церебральной ишемии.

Появляющиеся многочисленные данные о том, что в содержимом ВВ обнаружены митохондрии, которые включаются в их состав в процессе их биогенеза, а перенос митохондрий с помощью ВВ приводил к повышению биоэнергетики — открывается новая возможность использования митохондрий из ВВ в качестве нового лекарственного средства при ишемии головного мозга [29].

Способность доставлять различные вещества в конкретные клетки делает ВВ перспективными кандидатами для доставки лекарств. Инженерные модификации ВВ в основном направлены на увеличение их нагрузочной способности, времени циркуляции и способности нацеливаться на достижение лучших терапевтических результатов. Исследования показывают, что повышение содержания микроРНК в сконструированных ВВ потен-

циально может облегчить ишемическое повреждение головного мозга. Например, Wang et al. [98] обнаружили, что модифицированные ВВ, богатые miR-126, более эффективны, чем естественные ВВ при лечении ишемии, вызванной диабетом, уменьшая острое повреждение и способствуя восстановлению нервной системы. Кроме того, сконструированные ВВ были исследованы в качестве средств доставки лекарств для лечения ишемических повреждений. Такие подходы могут уменьшить повреждение и инактивацию лекарственных средств во время транспортировки, улучшая их биодоступность и специфичность. Например, Zhu et al. [99] показали, что сконструированные ВВ, «нагруженные» нейротрофическим фактором головного мозга (BDNF), не только ингибировали активацию микроглии после инсульта, но и способствовали дифференцировке эндогенных нервных стволовых клеток в нейроны. Эти результаты открывают новую перспективу для углубленного изучения методов разработки модифицированных ВВ [100]. Хотя эта область все еще находится на стадии изучения, результаты уже сейчас вдохновляют на дальнейшие исследования, чтобы углубить наше понимание потенциала ВВ, в диагностике, и особенно в новых подходах к лечению ишемического инсульта.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization the Top 10 Causes of Death. [(accessed on 26 April 2021)]. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Stenz K.T., Just J., Blauenfeldt R.A., Drasbek K.R. Extracellular Vesicles in Acute Stroke Diagnostics. *Biomedicines*. 2020 Jul 28;8(8):248. doi: 10.3390/biomedicines8080248.
3. Zhang X., Wu Y., Cheng Q. et al. Extracellular Vesicles in Cardiovascular Diseases: Diagnosis and Therapy. *Front Cell Dev Biol*. 2022 Jun 1; 10:875376. doi: 10.3389/fcell.2022.875376.
4. Hirsch Y., Geraghty J.R., Reiter C.R. et al. Unpacking the Role of Extracellular Vesicles in Ischemic and Hemorrhagic Stroke: Pathophysiology and Therapeutic Implications. *Transl Stroke Res*. 2023 Apr;14(2):146–159. doi: 10.1007/s12975-022-01027-2.
5. de Freitas R.C.C., Hirata R.D.C., Hirata M.H., Aikawa E. Circulating Extracellular Vesicles As Biomarkers and Drug Delivery Vehicles in Cardiovascular Diseases. *Biomolecules*. 2021 Mar 5;11(3):388. doi: 10.3390/biom11030388
6. Elahi F.M., Casaletto K.B., Altendahl M et al. «Liquid Biopsy» of White Matter Hyperintensity in Functionally Normal Elders. *Front Aging Neurosci*. 2018 Nov 9;10:343. doi: 10.3389/fnagi.2018.00343.
7. Welsh J.A., Goberdhan D.C.I., O'Driscoll L. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J Extracell Vesicles*. 2024 Feb;13(2):e12404. doi: 10.1002/jev2.12404.
8. Zarà M., Guidetti G.F., Camera M. et al. Biology and Role of Extracellular Vesicles (EVs) in the Pathogenesis of Thrombosis. *Int J Mol Sci*. 2019 Jun 11;20(11):2840. doi: 10.3390/ijms20112840.
9. Zaborowski M.P., Balaj L., Breakefield X.O., Lai C.P. Extracellular Vesicles: Composition, Biological Relevance, and Methods of Study. *Bioscience*. 2015 Aug 1;65(8):783–797. doi: 10.1093/biosci/biv084.
10. Chong S.Y., Lee C.K., Huang C. et al. Extracellular Vesicles in Cardiovascular Diseases: Alternative Biomarker Sources, Therapeutic Agents, and Drug Delivery Carriers. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul 3;20(13):3272. doi: 10.3390/ijms20133272.
11. Zhou S.S., Jin J.P., Wang J.Q. et al. miRNAs in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets, and challenges. *Acta Pharmacol Sin*. 2018 Jul;39(7):1073–1084. doi: 10.1038/aps.2018.30.
12. Saliminejad K., Khorram Khorshid H.R., Soleymani Fard S., Ghaffari S.H. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol*. 2019 May;234(5):5451–5465. doi: 10.1002/jcp.27486.
13. Yu X., Odenthal M., Fries J.W. Exosomes as miRNA Carriers: Formation-Function-Future. *Int J Mol Sci*. 2016 Dec 2;17(12):2028. doi: 10.3390/ijms17122028.
14. Berckmans R.J., Lacroix R., Hau C.M. et al. Extracellular vesicles and coagulation in blood from healthy humans revisited. *J Extracell Vesicles*. 2019 Nov 8;8(1):1688936. doi: 10.1080/20013078.2019.1688936.
15. Lopez E., Srivastava A.K., Burchfield J. et al. Platelet-derived— Extracellular Vesicles Promote Hemostasis and Prevent the Development of Hemorrhagic Shock. *Sci Rep*. 2019 Nov 27;9(1):17676. doi: 10.1038/s41598-019-53724-y.

16. Badimon L., Suades R., Fuentes E. et al. Role of Platelet-Derived Microvesicles As Crosstalk Mediators in Atherothrombosis and Future Pharmacology Targets: A Link between Inflammation, Atherosclerosis, and Thrombosis. *Front Pharmacol.* 2016 Aug 31; 7:293. doi: 10.3389/fphar.2016.00293.
17. Goubran H.A., Burnouf T., Stakiw J., Seghatchian J. Platelet microparticle: a sensitive physiological «fine tuning» balancing factor in health and disease. *Transfus Apher Sci.* 2015 Feb;52(1):12-8. doi: 10.1016/j.transci.2014.12.015.
18. Lovisolo F., Carton F., Gino S. et al. Platelet rich plasma-derived microvesicles increased in vitro wound healing. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020 Sep;24(18):9658–9664. doi: 10.26355/eurrev_202009_23055
19. Bosman G.J., Lasonder E., Groenen-Döpp Y.A. et al. The proteome of erythrocyte-derived microparticles from plasma: new clues for erythrocyte aging and vesiculation. *J. Proteomics.* 2012 Dec 5;76 Spec No.:203–10. doi: 10.1016/j.jpro.2012.05.031.
20. Zaborowski M.P., Balaj L., Breakefield X.O., Lai C.P. Extracellular Vesicles: Composition, Biological Relevance, and Methods of Study. *Bioscience.* 2015; 65:783–797. doi:10.1093/biosci/biv084
21. Pugholm L.H., Baek R., Sondergaard E.K. et al. Phenotyping of Leukocytes and Leukocyte-Derived Extracellular Vesicles. *J Immunol Res.* 2016; 2016:6391264. doi: 10.1155/2016/6391264.
22. Dickhout A., Koenen R.R. Extracellular Vesicles as Biomarkers in Cardiovascular Disease; Chances and Risks. *Front Cardiovasc Med.* 2018 Aug 22; 5:113. doi: 10.3389/fcvm.2018.00113
23. Chen Y., Li G., Liu Y. et al. Translocation of Endogenous Danger Signal HMGB1 From Nucleus to Membrane Microvesicles in Macrophages. *J. Cell Physiol.* 2016 Nov;231(11):2319–26. doi: 10.1002/jcp.25352.
24. Angelillo-Scherrer A. Leukocyte-derived microparticles in vascular homeostasis. *Circ. Res.* 2012; 110:356–369. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.233403.
25. Lee S.T., Chu K., Jung K.H. et al. Circulating CD62E+ microparticles and cardiovascular outcomes. *PLoS One.* 2012;7(4): e35713. doi: 10.1371/journal.pone.0035713.
26. Paone S., Baxter A.A., Hulett M.D., Poon I.K.H. Endothelial cell apoptosis and the role of endothelial cell-derived extracellular vesicles in the progression of atherosclerosis. *Cell Mol Life Sci.* 2019 Mar;76(6): 1093–1106. doi: 10.1007/s00018-018-2983-9.
27. Sansone R., Baaken M., Horn P. et al. Endothelial microparticles and vascular parameters in subjects with and without arterial hypertension and coronary artery disease. *Data Brief.* 2018 May 8; 19:495–500. doi: 10.1016/j.dib.2018.04.149.
28. Yadid M., Lind J.U., Ardoña H.A.M. et al. Endothelial extracellular vesicles contain protective proteins and rescue ischemia-reperfusion injury in a human heart-on-chip. *Sci Transl Med.* 2020 Oct 14;12(565): eaax8005. doi: 10.1126/scitranslmed. aax8005.
29. Manickam D.S., Pinky P.P., Khare P. Extracellular vesicle-mediated mitochondria delivery: Premise and promise. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2025 Jun 11:271678X251349304. doi: 10.1177/0271678X251349304.
30. Njock M.S., Cheng H.S., Dang L.T. et al. Endothelial cells suppress monocyte activation through secretion of extracellular vesicles containing anti-inflammatory microRNAs. *Blood.* 2015 May 14;125(20):3202–12. doi: 10.1182/blood-2014-11-611046.
31. Hosseinkhani B., Kuypers S., van den Akker N.M.S. et al. Extracellular Vesicles Work as a Functional Inflammatory Mediator Between Vascular Endothelial Cells and Immune Cells. *Front Immunol.* 2018 Aug 6; 9:1789. doi: 10.3389/fimmu.2018.01789.
32. Hafiane A., Daskalopoulou S.S. Extracellular vesicles characteristics and emerging roles in atherosclerotic cardiovascular disease. *Metabolism.* 2018; 85:213–222. doi: 10.1016/j.metabol.2018.04.008.
33. Laffont B., Corduan A., Rousseau M. et al. Platelet microparticles reprogram macrophage gene expression and function. *Thromb. Haemost.* 2016; 115:311–323. doi: 10.1160/TH15-05-0389.
34. Silverman-Gavrila R., Silverman-Gavrila L., Bendeck M.P. Cell division fidelity is altered during the vascular response to injury: Its novel role in atherosclerosis progression. *Am. J. Pathol.* 2013; 182:628–639. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.11.007.
35. Jin T., Gu J., Li Z. et al. Recent Advances on Extracellular Vesicles in Central Nervous System Diseases. *Clin Interv Aging.* 2021 Feb 10; 16:257–274. doi: 10.2147/CIA.S288415.
36. Guha D., Lorenz D.R., Misra V. et al. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid extracellular vesicles reveals synaptic injury, inflammation, and stress response markers in HIV patients with cognitive impairment. *Neuroinflammation.* 2019; 16:254. doi: 10.1186/s12974-019-1617-y.
37. Zappulli V., Friis K.P., Fitzpatrick Z. et al. Extracellular vesicles and intercellular communication within the nervous system. *J Clin Invest.* 2016 Apr 1;126(4):1198–207. doi: 10.1172/JCI81134.
38. Lee S.H., Shin S.M., Zhong P. et al. Reciprocal control of excitatory synapse numbers by Wnt and Wnt inhibitor PRR7 secreted on exosomes. *Nat Commun.* 2018 Aug 24;9(1):3434. doi: 10.1038/s41467-018-05858-2.
39. Sharma P., Mesci P., Carromeu C. et al. Exosomes regulate neurogenesis and circuit assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019 Aug 6;116(32):16086–16094. doi: 10.1073/pnas.1902513116.
40. Guitart K., Loers G., Buck F. et al. Improvement of neuronal cell survival by astrocyte-derived exosomes under hypoxic and ischemic conditions depends on prion protein. *Glia.* 2016 Jun;64(6):896–910. doi: 10.1002/glia.22963.
41. Drago F., Lombardi M., Prada I. et al. ATP Modifies the Proteome of Extracellular Vesicles Released by Microglia and Influences Their Action on Astrocytes. *Front Pharmacol.* 2017 Dec 13; 8:910. doi: 10.3389/fphar.2017.00910.
42. Rodríguez-Gómez J.A., Kavanagh E., Engskog-Vlachos P., Engskog M.K.R. et al. Microglia: Agents of the CNS Pro-Inflammatory Response. *Cells.* 2020 Jul 17;9(7):1717. doi: 10.3390/cells9071717.
43. Long X., Yao X., Jiang Q. et al. Astrocyte-derived exosomes enriched with miR-873a-5p inhibit neuroinflammation via microglia phenotype modulation after traumatic brain injury. *J Neuroinflammation.* 2020 Mar 19;17(1):89. doi: 10.1186/s12974-020-01761-0.
44. Lukiw W.J., Pogue A.I. Vesicular Transport of Encapsulated microRNA between Glial and Neuronal Cells. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 18;21(14):5078. doi: 10.3390/ijms21145078.

45. Iadecola C. The Neurovascular Unit Coming of Age: A Journey through Neurovascular Coupling in Health and Disease. *Neuron*. 2017 Sep 27;96(1):17–42. doi: 10.1016/j.neuron.2017.07.030
46. Greene C., Hanley N., Campbell M. Claudin-5: gatekeeper of neurological function. *Fluids Barriers CNS*. 2019 Jan 29;16(1):3. doi: 10.1186/s12987-019-0123-z.
47. O’Brown N.M., Megason S.G., Gu C. Suppression of transcytosis regulates zebrafish blood-brain barrier function. *Elife*. 2019 Aug 20;8: e47326. doi: 10.7554/eLife.47326.
48. Nitta T., Hata M., Gotoh S. et al. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *J. Cell Biol.* 2003 May 12;161(3):653–60. doi: 10.1083/jcb.200302070.
49. Tong L., Hill R.A., Damisah E.C. et al. Imaging and optogenetic modulation of vascular mural cells in the live brain. *Nat Protoc*. 2021 Jan;16(1):472–496. doi: 10.1038/s41596-020-00425-w
50. Attwell D., Buchan A.M., Charpak S. et al. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*. 2010 Nov 11;468(7321):232–43. doi: 10.1038/nature09613.
51. Lacoste B., Comin C.H., Ben-Zvi A. et al. Sensory-related neural activity regulates the structure of vascular networks in the cerebral cortex. *Neuron*. 2014 Sep 3; 83(5):1117–30. doi: 10.1016/j.neuron.2014.07.034.
52. Forró T., Bajkó Z., Bălaşa A., Bălaşa R. Dysfunction of the Neurovascular Unit in Ischemic Stroke: Highlights on microRNAs and Exosomes as Potential Biomarkers and Therapy. *Int J Mol Sci*. 2021 May 25;22(11):5621. doi: 10.3390/ijms22115621
53. Jin M., Zhang S., Wang M. et al. Exosomes in pathogenesis, diagnosis, and therapy of ischemic stroke. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 980548. doi: 10.3389/fbioe.2022.980548.
54. Xu B., Zhang Y., Du X.F. et al. Neurons secrete miR-132-containing exosomes to regulate brain vascular integrity. *Cell Res*. 2017 Jul;27(7):882–897. doi: 10.1038/cr.2017.62.
55. Xiao B., Chai Y., Lv S. et al. Endothelial cell-derived exosomes protect SH-SY5Y nerve cells against ischemia/reperfusion injury. *Int J Mol Med*. 2017 Oct;40(4):1201–1209. doi: 10.3892/ijmm.2017.3106.
56. Yue K.Y., Zhang P.R., Zheng M.H. et al. Neurons can upregulate Cav-1 to increase intake of endothelial cells-derived extracellular vesicles that attenuate apoptosis via miR-1290. *Cell Death Dis*. 2019 Nov 18;10(12):869. doi:10.1038/s41419-019-2100-5.
57. Zhang Y.Z., Liu F., Song C.G. et al. Exosomes derived from human umbilical vein endothelial cells promote neural stem cell expansion while maintain their stemness in culture. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Jan 1;495(1):892–898. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.11.092.
58. Yang J., Cao L.L., Wang X.P. et al. Neuronal extracellular vesicle derived miR-98 prevents salvageable neurons from microglial phagocytosis in acute ischemic stroke. *Cell Death Dis*. 2021 Jan 6;12(1):23. doi: 10.1038/s41419-020-03310-2.
59. Morel L., Regan M., Higashimori H. et al. Neuronal exosomal miRNA-dependent translational regulation of astroglial glutamate transporter GLT1. *J. Biol Chem*. 2013 Mar 8;288(10):7105–16. doi: 10.1074/jbc.M112.410944.
60. Chiang C.S., Fu S.J., Hsu C.L. et al. Neuronal Exosomes Secreted under Oxygen-Glucose Deprivation/Reperfusion Presenting Differentially Expressed miRNAs and Affecting Neuronal Survival and Neurite Outgrowth. *Neuromolecular Med*. 2021 Sep;23(3):404–415. doi: 10.1007/s12017-020-08641-z.
61. Marti H.J., Bernaudin M., Bellail A. et al. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia. *Am J Pathol*. 2000 Mar;156(3):965–76. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64964-4.
62. Chen F., Du Y., Esposito E. et al. Effects of Focal Cerebral Ischemia on Exosomal Versus Serum miR126. *Transl Stroke Res*. 2015 Dec;6(6):478–84. doi: 10.1007/s12975-015-0429-3.
63. Khatri R., McKinney A.M., Swenson B., Janardhan V. Blood-brain barrier, reperfusion injury, and hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Neurology*. 2012 Sep 25;79(13 Suppl 1): S52–7. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182697e70.
64. Li Y., Liu B., Zhao T. et al. Comparative study of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells and brain endothelial cells attenuating blood-brain barrier permeability via regulating Caveolin-1-dependent ZO-1 and Claudin-5 endocytosis in acute ischemic stroke. *J Nanobiotechnology*. 2023 Feb 28;21(1):70. doi: 10.1186/s12951-023-01828-z.
65. Hayakawa K., Esposito E., Wang X. et al. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke. *Nature*. 2016 Jul 28;535(7613):551–5. doi: 10.1038/nature18928.
66. Dave K.M., Venna V.R., Rao K.S. et al. Mitochondria-containing extracellular vesicles from mouse vs. human brain endothelial cells for ischemic stroke therapy. *J. Control Release*. 2024 Sep; 373:803–822. doi: 10.1016/j.jconrel.2024.07.065.
67. D’Souza A., Burch A., Dave K.M. et al. Microvesicles transfer mitochondria and increase mitochondrial function in brain endothelial cells. *J. Control Release*. 2021 Oct 10; 338:505–526. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.08.038.
68. Liebner S., Dijkhuizen R.M., Reiss Y. et al. Functional morphology of the blood-brain barrier in health and disease. *Acta Neuropathol*. 2018 Mar;135(3):311–336. doi: 10.1007/s00401-018-1815-1.
69. Taylor R.A., Sansing L.H. Microglial Responses after Ischemic Stroke, and Intracerebral Hemorrhage. *Clin. Dev. Immunol*. 2013;2013:746068. doi:10.1155/2013/746068.
70. Szalay G., Martinecz B., Lénárt N. et al. Microglia protect against brain injury and their selective elimination dysregulates neuronal network activity after stroke. *Nat Commun*. 2016 May 3; 7:11499. doi: 10.1038/ncomms11499.
71. Zhang L., Wei W., Ai X. et al. Extracellular vesicles from hypoxia-preconditioned microglia promote angiogenesis and repress apoptosis in stroke mice via the TGF- β /Smad2/3 pathway. *Cell Death Dis*. 2021 Nov 9;12(11):1068. doi: 10.1038/s41419-021-04363-7.
72. Zhang M., Wu Q., Tang M. et al. Exosomal Mir-3613-3p derived from oxygen-glucose deprivation-treated brain microvascular endothelial cell promotes microglial M1 polarization. *Cell Mol Biol Lett*. 2023 Mar 5;28(1):18. doi: 10.1186/s11658-023-00432-1.
73. Drago F., Lombardi M., Prada I. et al. ATP Modifies the Proteome of Extracellular Vesicles Released by Microglia and Influences Their Action on Astrocytes. *Front Pharmacol*. 2017 Dec 13; 8:910. doi: 10.3389/fphar.2017.00910.

74. Kawata K., Mitsuhashi M., Aldret R. A Preliminary Report on Brain-Derived Extracellular Vesicle as Novel Blood Biomarkers for Sport-Related Concussions. *Front Neurol.* 2018 Apr 12; 9:239. doi: 10.3389/fneur.2018.00239.
75. Garcia-Martin G., Alcover-Sanchez B., Wandosell F., Cubelos B. Pathways Involved in Remyelination after Cerebral Ischemia. *Curr Neuropharmacol.* 2022;20(4):751–765. doi: 10.2174/1570159X19666210610093658.
76. Hermann D.M., Xin W., Bähr M. et al. Emerging roles of extracellular vesicle-associated non-coding RNAs in hypoxia: Insights from cancer, myocardial infarction, and ischemic stroke. *Theranostics.* 2022 Jul 18;12(13):5776–5802. doi: 10.7150/thno.73931.
77. Kanninen K.M., Bister N., Koistinaho J., Malm T. Exosomes as new diagnostic tools in CNS diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Mar;1862(3):403–10. doi: 10.1016/j.bbdis.2015.09.020.
78. Simak J., Gelderman M.P., Yu H., et al. Circulating endothelial microparticles in acute ischemic stroke: a link to severity, lesion volume and outcome. *J. Thromb Haemost.* 2006 Jun;4(6):1296–302. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01911.x.
79. Jung K.H., Chu K., Lee S.T. et al. Circulating endothelial microparticles as a marker of cerebrovascular disease. *Ann Neurol.* 2009 Aug;66(2):191–9. doi: 10.1002/ana.21681.
80. Chiva-Blanch G., Suades R., Crespo J. et al. Microparticle Shedding from Neural Progenitor Cells and Vascular Compartment Cells Is Increased in Ischemic Stroke. *PLoS One.* 2016 Jan 27;11(1): e0148176. doi: 10.1371/journal.pone.0148176.
81. Agouni A., Parry A.S., Akhtar N. et al. There Is Selective Increase in Pro-thrombotic Circulating Extracellular Vesicles in Acute Ischemic Stroke and Transient Ischemic Attack: A Study of Patients from the Middle East and Southeast Asia. *Front Neurol.* 2019 Mar 19; 10:251. doi: 10.3389/fneur.2019.00251.
82. El-Gamal H., Parry A.S., Mir F.A. et al. Circulating microparticles as biomarkers of stroke: A focus on the value of endothelial- and platelet-derived microparticles. *J Cell Physiol.* 2019 Aug;234(10):16739–16754. doi: 10.1002/jcp.28499.
83. He Z., Tang Y., Qin C. Increased circulating leukocyte-derived microparticles in ischemic cerebrovascular disease. *Thromb Res.* 2017 Jun; 154:19–25. doi: 10.1016/j.thromres.2017.03.025.
84. Eyileten C., Jakubik D., Shahzadi A. et al. Diagnostic Performance of Circulating miRNAs and Extracellular Vesicles in Acute Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci.* 2022 Apr 20;23(9):4530. doi: 10.3390/ijms23094530.
85. Carandina A., Favero C., Sacco R.M. et al. The Role of Extracellular Vesicles in Ischemic Stroke Severity. *Biology (Basel).* 2022 Oct 11;11(10):1489. doi: 10.3390/biology11101489.
86. Datta A., Chen C.P., Sze S.K. Discovery of prognostic biomarker candidates of lacunar infarction by quantitative proteomics of microvesicles enriched plasma. *PLoS One.* 2014 Apr 21;9(4): e94663. doi: 10.1371/journal.pone.0094663.
87. Jödicke R.A., Huo S., Kränkel N. et al. The Dynamic of Extracellular Vesicles in Patients with Subacute Stroke: Results of the «Biomarkers and Perfusion-Training-Induced Changes After Stroke» (BAPTISE) Study. *Front Neurol.* 2021 Nov 8; 12:731013. doi: 10.3389/fneur.2021.731013.
88. Filipowicz W., Bhattacharyya S.N., Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* 2008 Feb;9(2):102–14. doi: 10.1038/nrg2290.
89. Zhou J., Chen L., Chen B. et al. Increased serum exosomal miR-134 expression in the acute ischemic stroke patients. *BMC Neurol.* 2018 Dec 4;18(1):198. doi: 10.1186/s12883-018-1196-z.
90. Ji Q., Ji Y., Peng J. et al. Increased Brain-Specific MiR-9 and MiR-124 in the Serum Exosomes of Acute Ischemic Stroke Patients. *PLoS One.* 2016 Sep 23;11(9): e0163645. doi: 10.1371/journal.pone.0163645.
91. Wang W., Li D.B., Li R.Y. et al. Diagnosis of Hyperacute and Acute Ischaemic Stroke: The Potential Utility of Exosomal MicroRNA-21-5p and MicroRNA-30a-5p. *Cerebrovasc Dis.* 2018;45(5-6):204–212. doi: 10.1159/000488365.
92. Chen Y., Song Y., Huang J. et al. Increased Circulating Exosomal miRNA-223 Is Associated with Acute Ischemic Stroke. *Front Neurol.* 2017 Feb 27; 8:57. doi: 10.3389/fneur.2017.00057.
93. Li D.B., Liu J.L., Wang W. et al. Plasma Exosomal miR-422a and miR-125b-2-3p Serve as Biomarkers for Ischemic Stroke. *Curr Neurovasc Res.* 2017;14(4):330–337. doi: 10.2174/1567202614666171005153434.
94. Jin M., Zhang S., Wang M. et al. Exosomes in pathogenesis, diagnosis, and therapy of ischemic stroke. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022 Dec 16; 10:980548. doi: 10.3389/fbioe.2022.980548.
95. Chen F., Du Y., Esposito E. et al. Effects of Focal Cerebral Ischemia on Exosomal Versus Serum miR126. *Transl Stroke Res.* 2015 Dec;6(6):478–84. doi: 10.1007/s12975-015-0429-3.
96. Li D.B., Liu J.L., Wang W. et al. Plasma Exosomal miR-422a and miR-125b-2-3p Serve as Biomarkers for Ischemic Stroke. *Curr Neurovasc Res.* 2017;14(4):330–337. doi: 10.2174/1567202614666171005153434.
97. Ollen-Bittle N., Roseborough A.D., Wang W. et al. Mechanisms and Biomarker Potential of Extracellular Vesicles in Stroke. *Biology (Basel).* 2022 Aug 18;11(8):1231. doi: 10.3390/biology11081231.
98. Wang J., Chen S., Zhang W., et al. Exosomes from miRNA-126-modified endothelial progenitor cells alleviate brain injury and promote functional recovery after stroke. *CNS Neurosci Ther.* 2020;26(12):1255–65. doi: 10.1111/cns.13455.
99. Zhu Z.H., Jia F., Ahmed W., et al. Neural stem cell-derived exosome as a nano-sized carrier for BDNF delivery to a rat model of ischemic stroke. *Neural Regen Res.* 2023;18(2):404–9. doi: 10.4103/1673-5374.346466.
100. Li P., Yin R., Chen Y., Chang J. et al. Engineered extracellular vesicles for ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *J. Nanobiotechnology.* 2023 Oct 31;21(1):396. doi: 10.1186/s12951-023-02114-8.