

**И.В. МАЙБОРОДИН<sup>1</sup>, А.И. ШЕВЕЛА<sup>1</sup>, В.В. МОРОЗОВ<sup>1</sup>,  
Т.В. МИХЕЕВА<sup>1</sup>, Н.Ф. ФИГУРЕНКО<sup>1</sup>, Р.В. МАСЛОВ<sup>1</sup>,  
В.И. МАЙБОРОДИНА<sup>2</sup>**



## **ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ ВЕЗИКУЛ (ЭКЗОСОМ) МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН<sup>1</sup>,  
Институт молекулярной патологии и патоморфологии  
Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины<sup>2</sup>,  
г. Новосибирск,  
Российская Федерация

Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) широко использовались для тканевой регенерации, в том числе и для восстановления костных дефектов. Однако недостатки применения МСК, включая ограниченный срок существования в тканях, стали препятствием для дальнейшей прямой трансплантации МСК.

Необходимо создание новых способов клеточной терапии, не имеющих недостатков прямого применения МСК, но с такой же эффективностью воздействия на регенерацию костной ткани.

Клетки влияют друг на друга и обмениваются функциональными белками и генетическим материалом через секрецию экзосом, которые также могут применяться для воздействия на регенерацию тканей. Экзосомы усиливают пролиферацию, миграцию и выступают в качестве индукторов дифференцирования МСК в определенном направлении, в том числе и остеогенном, что приводит к значительному ускорению репарации костных дефектов. Возможным механизмом оптимизации репарации тканей экзосомами является доставка микроРНК и различных регулирующих цитокинов. Действие экзосом в большей мере сходно с эффектами МСК. Определенные перспективы имеет создание экзосом с заранее заданными свойствами. Вместе с этим оценка терапевтического потенциала и использование в будущих клинических испытаниях секретируемых различными клетками экстрацеллюлярных везикул требуют их полной характеристики, стандартизации строго определенных условий хранения и получения, удаления ксеногенных и других, связанных с источником, веществ.

Применение экзосом имеет большой потенциал для репаративной медицины, в частности для ускорения регенерации костной ткани, и открывает новые пути медицинских исследований.

*Ключевые слова: регенерация костной ткани, мезенхимальные стромальные клетки, экзосомы, микро-везикулы, взаимодействие клеток*

Mesenchymal stem/stromal cells (MSC) have been widely used for tissue regeneration including the repair of bone defects. However, shortcomings of MSC application, including the limited term of existence in tissues, have become an obstacle for further direct transplantation of MSC.

There is a necessary to create new methods of cell therapy that do not have the disadvantages of the direct MSC application, but which influence the bone tissue regeneration with the same effectiveness.

Cells influence each other and exchange the functional proteins and genetic material through the secretion of exosomes which can be also applied for the impact on tissue regeneration. Exosomes strengthen proliferation, migration and act as the inductors of differentiation of MSC in the determined direction including osteogenic one that leads to the considerable acceleration of bone defect reparation. The delivery of microRNA and various regulating cytokines is a possible mechanism of optimization of tissue reparation by exosomes. The action of exosomes to a large extent is similar to effects of MSC. The creation of animals with preset properties has good prospects. However, the assessment of therapeutic potential and use in future clinical tests of the extracellular vesicles secreted by various cells, demands their total characteristic, standardization of strictly particular conditions of storage and receiving, removal xenogenic and others substances, bound to the source.

The application of exosomes has high potential for reparative medicine, in particular, for acceleration of bone tissue regeneration, and opens new paths of medical research.

*Keywords: regeneration of bone tissue, mesenchymal stromal cells, exosomes, microvesicles, cell interaction*

Novosti Khirurgii. 2019 Mar-Apr; Vol 27 (2): 196-203

The articles published under CC BY NC-ND license

**The influence of Extracellular Vesicles (Exosomes) of Mesenchymal Stromal Cells  
on Bone Tissue Regeneration**

**I.V. Maiborodin, A.I. Shevela, V.V. Morozov, T.V. Mikheeva,  
N.F. Figurenko, R.V. Maslov, V.I. Maiborodina**



## Введение

Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) широко использовались для тканевой регенерации, в том числе и для восстановления костных дефектов [1]. Однако недостатки их применения, включая ограниченный срок существования в тканях, стали препятствием для дальнейшей прямой трансплантации МСК с целью восстановления тканей [2].

Клетки влияют друг на друга и обмениваются функциональными белками и генетическим материалом через секрецию экзосом, которые могут применяться для воздействия на регенерацию тканей [3]. Изолирование экзосом из культуральной среды достигается центрифугированием при 120 000g в течение 3 часов, что уменьшает содержание экзосомальных микроРНК в оставшемся субстрате ниже предела обнаружения [4]. Внеклеточные экзосомы и микровезикулы секретируются различными типами клеток и участвуют в физиологических и патофизиологических процессах. Экзосомы опосредуют межклеточные связи и содержат сигнальные органоиды, которые передают определенную информацию от определенной клетки к клеткам-мишеням. В результате этих свойств экзосомы определенных типов клеточных элементов могут служить новыми инструментами для различных терапевтических подходов, включая терапию опухоли, вакцинацию, иммуномодуляторную и регенеративную терапию, адресную доставку лекарственных средств и т.п. [5]. Действие экзосом в большей мере сходно с эффектами МСК [6].

Экзосомы, являющиеся секретируемыми клетками нановезикулами, оказывают влияние на судьбы клеток, в частности, экзосомы выступают в качестве индукторов дифференцирования МСК в определенном направлении. Возможным механизмом ускорения репарации тканей экзосомами является доставка микроРНК. Проостеогенные экзосомы, изолированные из различных клеточных культур, вызывают соответственное дифференцирование нативных МСК. Кроме того, экзосомы могут также связываться с матричными белками, такими как коллаген типа I и фибронектин, расширяя их возможности как биоматериалов [3, 7, 8].

Паракриновые релизы, секретируемые костномозговыми МСК, играют главную роль в восстановлении поврежденных тканей, регулирующие цитокины являются критическим модулятором тканевой регенерации. Экзосомы содержат белки и нуклеиновые кислоты и рабо-

тают как дополнительный модулятор межклеточного взаимодействия в процессе репарации тканей [9].

Клиническая потребность в эффективной терапии костных повреждений остается широко востребованной. Однако текущие трактовки «золотого стандарта» применения ауто- и аллогенной костной трансплантации могут привести к различным осложнениям. В связи с этим целесообразно развитие новых методов лечения с более сильным остеогенным потенциалом и низким уровнем осложнений. Репарация кости с использованием МСК и тканевой инженерии является одной из наиболее широко исследуемых областей в регенеративной медицине. В последнее время для костной регенерации начали использоваться экзосомы, перемещающиеся между клетками и поставляющие различные вещества, такие как белки и РНК, и таким образом регулирующие клеточное дифференцирование, пролиферацию, взаимодействие и функционирование. Успешное течение процессов восстановления поврежденной кости требует перекрестных связей между различными клеточными группами, включая иммунокомпетентные клетки и МСК. Экзосомы являются медиаторами таких взаимодействий. Результаты использования экзосом в регенерации костных дефектов редко приводятся в научной литературе, также мало известно относительно основных механизмов такого действия. Однако уже продемонстрирована важная роль экзосом в остеогенезе *in vitro* и *in vivo*; экзосомы позволяют регулировать этот процесс и способствуют регенерации кости [7, 8, 10, 11, 12, 13].

При проведении литературного поиска в базах данных «PubMed» и «PubMed Health» по комбинации ключевых слов «bone» + «regeneration» + «exosome» было найдено только 17 источников, содержащих оригинальные данные об изменениях репарации кости; при замене «regeneration» на «reparation» или «fracture» было получено 0 и 7 ссылок на статьи соответственно. Крайне небольшое количество статей, описывающих результаты применения экзосом для воздействия на регенерацию костной ткани, отмечают и другие исследователи [12]. Все это послужило основанием для данной работы.

В связи с немногочисленностью литературных данных, посвященных применению экзосом для влияния на регенерацию костных тканей, была поставлена цель исследования: максимально полно собрать статьи по этой тематике и систематизировать их по разным направлениям перспективных исследований.

### Изменения репарации костных тканей при использовании экзосом, секретлируемых мезенхимальными стромальными клетками

Предполагается, что возможным механизмом изменения процессов восстановления целостности тканей при использовании экзосом является адресная доставка ими микроРНК. Не исключено, что экзосомы, секретлируемые клетками-предшественниками, уже начавшими дифференцирование, содержат микроРНК, способствующие инициации дифференцирования в этом же направлении нативных МСК [3].

Скорость консолидации перелома бедренной кости мышей CD9<sup>-/-</sup> (низкий уровень продукции экзосом) значительно меньше, чем у мышей дикого типа, из-за задержки формирования костной мозоли. Заживление костной ткани восстанавливалось после инъекции экзосом, выделенных из среды при культивировании МСК, но не после введения культуральной среды без везикул. Уровень цитокинов, связанных с регенерацией кости, моноцитарного хемотаксического протеина-1 и -3, фактора стромальной клетки-1 (CXCL12 или SDF-1: Stromal cell-derived factor-1) в экзосомах был ниже, чем в культуральной среде с этими везикулами или без них, в связи с этим сделано предположение об участии в репарации других компонентов экзосом, таких как микроРНК [9].

МСК могут синтезировать различные ростовые факторы, цитокины, экзосомы и микроРНК, которые влияют на дифференцировочный потенциал других МСК. Было найдено, что релизы, полученные из МСК пуповины человека, в концентрации 20 мкг/мл приводят к началу остеогенного дифференцирования МСК, выделенных из костного мозга человека. Появлялись отложения кальция, окрашиваемые ализариновым красным. Повысилась экспрессия генов, связанных с остеогенезом: щелочной фосфатазы, BMP2 (костный морфогенетический белок-2), остеокальцина, Osterix (транскрипционный фактор, специфически экспрессируется в развивающихся костях), коллагена-1 и RUNX2 (участвует в дифференцировании остеобластов). Остеогенный эффект был достигнут без добавления каких-либо веществ, индуцирующих этот процесс, в культуральную среду. Кроме того, факторы МСК пуповины в концентрации 10 мкг/мл, добавленные к культивируемым  $2 \times 10^5$  МСК костного мозга на матрице из гидроксиапатита и кальция трифосфата, способствовали эктопическому остеогенезу у голых мышей. Местное применение релизов МСК пуповины человека в концентрации 10 мкг/мл с 50 мкл 2% гидрогеля

гиалуроновой кислоты и  $1 \times 10^5$  МСК костного мозга крысы также значительно ускорило регенерацию критического размера дефекта костей свода черепа крыс в эксперименте через 4 и 8 недель, было отмечено более значительное восстановление и хрящевой и костной ткани, относительно контрольной группы. Эти результаты могут свидетельствовать, что секретлируемые МСК пуповины человека вещества могут иницировать остеогенез МСК костномозгового происхождения и способствовать репарации костной ткани [14].

Экзосомы, полученные из МСК жировой ткани, способствуют пролиферации и остеогенному дифференцированию первичной культуры остеобластов человека. Трофический эффект этих экзосом был выявлен после предварительного взаимодействия МСК в течение 3 дней с фактором некроза опухоли, что имитирует острую фазу воспаления при повреждении костных тканей [2].

Дефекты костных структур, вызванные травмой, тяжелой инфекцией, резекцией опухоли и отклонениями формирования скелета, являются общими остеопорозными заболеваниями и основными, до сих пор еще не решенными, проблемами в ортопедической хирургии. Экзосомы, секретлируемые мультипотентными МСК, происходящими из плюрипотентных МСК человека, имеют все преимущества плюрипотентных клеток, но без какой-либо иммуногенности. *In vitro* показано, что такие экзосомы усиливают пролиферацию клеток и увеличивают активность щелочной фосфатазы, повышают экспрессию микроРНК и белка, кодируемых генами, связанных с остеобластным дифференцированием мультипотентных МСК костномозгового происхождения, выделенных от кастрированных крыс-самок (изменение кальциевого обмена и развитие остеопороза). *In vivo* эти экзосомы выраженно стимулировали регенерацию кости и ангиогенез в критического размера дефектах костей свода черепа овариэктомизированных крыс. Эффект экзосом увеличивался с повышением их концентрации [15].

Экзосомы, продуцируемые индуцированными плюрипотентными МСК человека при дифференцировании их в мультипотентные МСК, были объединены с  $\beta$ -трикальция фосфатом для восстановления дефектов критического размера костей свода черепа крыс, что усилило остеогенез по сравнению с  $\beta$ -трикальция фосфатом без экзосом. *In vitro* такие экзосомы высвобождаются из  $\beta$ -трикальция фосфата и поглощаются мультипотентными МСК элементами костномозгового происхождения человека, что приводит к значительному усилению их

пролиферации, миграции и остеогенного дифференцирования [12].

Клинические и экспериментальные исследования продемонстрировали эффективность методов применения МСК в восстановлении не только костной, но и хрящевой ткани. Действие основанных на МСК методов терапии повреждений внутрисуставного хряща также связывают с внеклеточными везикулами/экзосомами. Остеохондральные дефекты были созданы на трохолеарных (вертлужных) впадинах бедренной кости взрослых крыс. Каждому животному в дефект вводили экзосомы, полученные из эмбриональных МСК человека, по 100 мкг сразу после операции и еженедельно в течение 12 недель, на контрлатеральной конечности использовали забуференный физиологический раствор. Применение экзосом показало улучшенную репарацию дефектов макроскопически и по гистологическим данным (исследование через 6 и 12 недель после хирургического вмешательства) относительно использования физиологического раствора. К 12-й неделе после начала введения экзосом в дефектах полностью восстановился хрящ и подлежащая кость со своими характерными особенностями: структура типичного гиалинового хряща с хорошей скользкой и гладкой поверхностью, полное сращение со смежной хрящевой тканью и формирование экстрацеллюлярного матрикса, сходного с интактным контролем аналогичного возраста. В контрлатеральных дефектах присутствовала только фиброзная ткань [13].

#### **Влияние экзосом, секретируемых различными клетками и структурами, на остеогенный потенциал мезенхимных стромальных клеток**

До настоящего времени активность богатой тромбоцитами плазмы и тромбоцитарного лизата связывали с различными ростовыми факторами. Вместе с этим тромбоциты содержат наноразмерные экзосомы, являющиеся одним из эффекторов активности тромбоцитарного лизата. В экзосомах было значительно выше содержание основного фактора роста фибробластов (bFGF), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB) и трансформирующего ростового фактора бета-1 (TGF- $\beta$ 1) по сравнению с непосредственно лизатом тромбоцитов. МСК костного мозга после взаимодействия с тремя концентрациями (0,6 мкг, 5 мкг и 50 мкг) экзосом из лизата тромбоцитов человека продемонстрировали значительное дозозависимое увеличение пролиферативных и миграционных

свойств относительно контроля. Кроме того, экзосомы изменили способность МСК к остеогенному дифференцированию и формированию минерализованного матрикса. Экзосомы могут представлять собой перспективную наносистему для доставки бесклеточных средств для регенерационной терапии [16].

Воспаление и регенерация при взаимодействии кости и имплантата в значительной степени зависят от межклеточного взаимодействия. Согласно общепринятому представлению моноциты/макрофаги управляют мультипотентными МСК и клетками-предшественниками посредством секреции растворимых факторов. Однако стимулированные липополисахаридом моноциты человека секретируют экзосомы, которые являются CD9+, CD63+, CD81+, Tsg101+ и Hsp70+ и содержат широкий спектр РНК разного размера, в том числе и микроРНК. Такие экзосомы взаимодействуют с МСК человека, которые поглощают большую часть экзосом в течение 24 часов после внесения в культуру. Через 72 часа в культуральной среде возросла экспрессия остеогенных маркеров RUNX2 и BMP2 по сравнению с контролем, при этом не было значительных различий в содержании остеокальцина. Моноциты управляют МСК через экзосомы, внедрение которых в МСК стимулирует их дифференцирование в остеогенном направлении, возможно, при переходе от травмы и воспаления к регенерации [17].

Ультрацентрифугированием были выделены экзосомы, секретируемые первичной культурой дендритных клеток человека. Данные структуры содержали остеопонтин и матриксную металлопротеиназу-9. Такие везикулы успешно поглощались костномозговыми МСК человека, но без влияния на их пролиферацию и остеогенное/хондрогенное дифференцирование. Но является важным то, что эти экзосомы значительно и дозозависимо способствовали выходу МСК из сосудистого русла и усилению их хемотаксической миграции [11].

#### **Перспективы использования экзосом для воздействия на повреждения костных тканей**

Определенные перспективы имеет создание экзосом с заранее заданными свойствами. Гипоксия индуцирует дифференцирование мультипотентных МСК в ангиогенном направлении [18, 19], аналогичными свойствами обладает фактор, индуцируемый гипоксией-1 (HIF-1) [20, 21], но он быстро разрушается при нормальных внешних условиях. Костномозговые МСК трансфицировали аденовирусом с трой-

ной точечной мутацией (аминокислоты 402, 564 и 803) в кодирующей последовательности для фактора, индуцируемого гипоксией-1. Такие мутантные МСК могут в течение длительного времени экспрессировать этот фактор. У неизмененных МСК, выделенных из костного мозга и подвергшихся воздействию экзосом, секретлируемых мутантными МСК, *in vitro* возрастает остеогенный потенциал. Кроме того, экзосомы таким образом измененных МСК активируют пролиферацию, миграцию и формирование трубок в культуре эндотелиоцитов пупочной вены человека. *In vivo*, по сравнению с экзосомами интактных МСК, везикулы модифицированных МСК, введенные в зону стероид-индуцированного аваскулярного некроза головки бедренной кости кроликов, заметно ускоряли регенерацию костной ткани и ангиогенез, что проявлялось увеличением трабекулярной реконструкции и капиллярной плотности [22].

### Заключение

Таким образом, на основании вышеизложенного можно заключить, что применение экзосом имеет большой потенциал для репаративной медицины, в частности для ускорения регенерации костной ткани, и открывает новые пути медицинских исследований. Однако, оценка терапевтического потенциала и использование в будущих клинических испытаниях секретлируемых различными клетками экстрацеллюлярных везикул требуют их полной характеристики, стандартизации строго определенных условий хранения и получения, удаления ксеногенных и других, связанных с источником веществ.

### Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов

Работа выполнена при финансовой поддержке ПФНИ ГАН на 2017-2020 гг. (VI.62.2.1, 0309-2016-0006) «Разработка технологий получения материалов для регенеративной медицины и развитие методов восстановления репродуктивного здоровья».

Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов авторы не получали.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Майборodin ИВ, Матвеева ВА, Колесников ИС, Дровосеков МН, Тодер МС, Шевела АИ. Регенерация поврежденной кости нижней челюсти крыс после использования аутологических стромальных стволовых клеток костномозгового происхождения, адсорбированных на фибриновом сгустке. *Морфология*. 2011;140(6):79-85. [https://elibrary.ru/download/elibrary\\_17112219\\_63292977.pdf](https://elibrary.ru/download/elibrary_17112219_63292977.pdf)
2. Lu Z, Chen Y, Dunstan C, Roohani-Esfahani S, Zreiqat H. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor-alpha preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2017 Nov;23(21-22):1212-20. doi: 10.1089/ten.tea.2016.0548
3. Takeda YS, Xu Q. Neuronal differentiation of human mesenchymal stem cells using exosomes derived from differentiating neuronal cells. *PLoS One*. 2015 Aug 6;10(8):e0135111. doi: 10.1371/journal.pone.0135111
4. Pachler K, Lener T, Streif D, Dunai ZA, Desgeorges A, Feichtner M, Öller M, Schallmoser K, Rohde E, Gimona M. A Good manufacturing practice-grade standard protocol for exclusively human mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles. *Cytotherapy*. 2017 Apr;19(4):458-72. doi: 10.1016/j.jcyt.2017.01.001
5. Lener T, Gimona M, Aigner L, Börger V, Buzas E, Camussi G, Chaput N, Chatterjee D, Court FA, Del Portillo HA, O'Driscoll L, Fais S, Falcon-Perez JM, Felderhoff-Mueser U, Fraile L, Gho YS, Görgens A, Gupta RC, Hendrix A, Hermann DM, Hill AF, Hochberg F, Horn PA, de Kleijn D, Kordelas L, Kramer BW, Krämer-Albers EM, Laner-Plamberger S, Laitinen S, Leonardi T, Lorenowicz MJ, Lim SK, Lötvall J, Maguire CA, Marcilla A, Nazarenko I, Ochiya T, Patel T, Pedersen S, Pocsfalvi G, Pluchino S, Quesenberry P, Reichl IG, Rivera FJ, Sanzenbacher R, Schallmoser K, Slaper-Cortenbach I, Strunk D, Tonn T, Vader P, van Balkom BW, Wauben M, Andaloussi SE, Théry C, Rohde E, Giebel B. Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials - an ISEV position paper. *J Extracell Vesicles*. 2015 Dec 31;4:30087. doi: 10.3402/jev.v4.30087
6. Doeppner TR, Herz, Görgens A, Schlechter J, Ludwig AK, Radtke S, de Miroschedji K, Horn PA, Giebel B, Hermann DM. Extracellular vesicles improve post-stroke neuroregeneration and prevent post-ischemic immunosuppression. *Stem Cells Transl Med*. 2015 Oct;4(10):1131-43. doi: 10.5966/sctm.2015-0078
7. Huang CC, Narayanan R, Alapati S, Ravindran S. Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: applications in dental pulp tissue regeneration. *Biomaterials*. 2016 Dec;111:103-15. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.09.029
8. Narayanan R, Huang CC, Ravindran S. Hijacking the cellular mail: exosome mediated differentiation of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Int*. 2016;2016:3808674. doi: 10.1155/2016/3808674
9. Furuta T, Miyaki S, Ishitobi H, Ogura T, Kato Y, Kamei N, Miyado K, Higashi Y, Ochi M. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model. *Stem Cells Transl Med*. 2016 Dec;5(12):1620-30. doi: 10.5966/sctm.2015-0285
10. Qin Y, Sun R, Wu C, Wang L, Zhang C. Exosome: a novel approach to stimulate bone regeneration through regulation of osteogenesis and angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016 May 19;17(5). pii: E712. doi: 10.3390/ijms17050712

11. Silva AM, Almeida MI, Teixeira JH, Maia AF, Calin GA, Barbosa MA, Santos SG. Dendritic cell-derived extracellular vesicles mediate mesenchymal stem/stromal cell recruitment. *Sci Rep*. 2017 May 10;7(1):1667. doi: 10.1038/s41598-017-01809-x

12. Zhang J, Liu X, Li H, Chen C, Hu B, Niu X, Li Q, Zhao B, Xie Z, Wang Y. Exosomes/tricalcium phosphate combination scaffolds can enhance bone regeneration by activating the PI3K/Akt signaling pathway. *Stem Cell Res Ther*. 2016 Sep 20;7(1):136. doi: 10.1186/s13287-016-0391-3

13. Zhang S, Chu WC, Lai RC, Lim SK, Hui JH, Toh WS. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016 Dec;24(12):2135-40. doi: 10.1016/j.joca.2016.06.022

14. Wang KX, Xu LL, Rui YF, Huang S, Lin SE, Xiong JH, Li YH, Lee WY, Li G. The effects of secretion factors from umbilical cord derived mesenchymal stem cells on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PLoS One*. 2015 Mar 23;10(3):e0120593. doi: 10.1371/journal.pone.0120593. eCollection 2015.

15. Qi X, Zhang J, Yuan H, Xu Z, Li Q, Niu X, Hu B, Wang Y, Li X. Exosomes secreted by human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells repair critical-sized bone defects through enhanced angiogenesis and osteogenesis in osteoporotic rats. *Int J Biol Sci*. 2016 May 25;12(7):836-49. doi: 10.7150/ijbs.14809. eCollection 2016.

16. Torreggiani E, Perut F, Roncuzzi L, Zini N, Baglio SR, Baldini N. Exosomes: novel effectors of human platelet lysate activity. *Eur Cell Mater*. 2014 Sep 22;28:137-51; discussion 151. doi: 10.22203/eCM.v028a11

17. Ekström K, Omar O, Granéli C, Wang X, Vazirani F, Thomsen P. Monocyte exosomes stimulate the osteogenic gene expression of mesenchymal stem cells. *PLoS One*. 2013 Sep 18;8(9):e75227. doi: 10.1371/journal.pone.0075227. eCollection 2013.

18. Namazi H, Mohit E, Namazi I, Rajabi S, Samadian A, Hajizadeh-Saffar E, Aghdami N, Baharvand H. Exosomes secreted by hypoxic cardiosphere-derived cells enhance tube formation and increase pro-angiogenic miRNA. *J Cell Biochem*. 2018 May;119(5):4150-60. doi: 10.1002/jcb.26621

19. Selvasandran K, Makhoul G, Jaiswal PK, Jurakhan R, Li L, Ridwan K, Cecere R. A tumor necrosis factor- and hypoxia-induced secretome therapy for myocardial repair. *Ann Thorac Surg*. 2018 Mar;105(3):715-23. doi: 10.1016/j.athoracsur.2017.09.005

20. Gonzalez-King H, Garcia NA, Ontoria-Oviedo I, Ciria M, Montero JA, Sepúlveda P. Hypoxia inducible factor-1 potentiates jagged 1-mediated angiogenesis by mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Stem Cells*. 2017 Jul;35(7):1747-59. doi: 10.1002/stem.2618

21. Hnatiuk AP, Ong SG, Olea FD, Locatelli P, Riegler J, Lee WH, Jen CH, De Lorenzi A, Giménez CS, Laguens R, Wu JC, Crottogini A. Allogeneic mesenchymal stromal cells overexpressing mutant human hypoxia-inducible factor 1- (hif1-) in an ovine model of acute myocardial infarction. *J Am Heart Assoc*. 2016 Jul 6;5(7). pii: e003714. doi: 10.1161/JAHA.116.003714

22. Li H, Liu D, Li C, Zhou S, Tian D, Xiao D, Zhang H, Gao F, Huang J. Exosomes secreted from mutant-HIF-1-modified bone-marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate early steroid-induced avascular necrosis of femoral head in rabbit. *Cell Biol Int*. 2017 Dec;41(12):1379-90. doi: 10.1002/cbin.10869

## REFERENCES

1. Maiborodin IV, Matveyeva VA, Kolesnikov IS, Drovoekov MN, Toder MS, Shevela AI. Regeneration of the damaged mandibular bone in rat after the injection of autologous mesenchymal stem cells of bone marrow origin adsorbed on the fibrin clot. *Morfologiya*. 2011;140(6):79-85. [https://elibrary.ru/download/elibrary\\_17112219\\_63292977.pdf](https://elibrary.ru/download/elibrary_17112219_63292977.pdf) (in Russ.)

2. Lu Z, Chen Y, Dunstan C, Roohani-Esfahani S, Zreiqat H. Priming adipose stem cells with tumor necrosis factor-alpha preconditioning potentiates their exosome efficacy for bone regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2017 Nov;23(21-22):1212-20. doi: 10.1089/ten.tea.2016.0548

3. Takeda YS, Xu Q. Neuronal differentiation of human mesenchymal stem cells using exosomes derived from differentiating neuronal cells. *PLoS One*. 2015 Aug 6;10(8):e0135111. doi: 10.1371/journal.pone.0135111

4. Pachler K, Lener T, Streif D, Dunai ZA, Desgeorges A, Feichtner M, Öller M, Schallmoser K, Rohde E, Gimona M. A Good manufacturing practice-grade standard protocol for exclusively human mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles. *Cytotherapy*. 2017 Apr;19(4):458-72. doi: 10.1016/j.jcyt.2017.01.001

5. Lener T, Gimona M, Aigner L, Börger V, Buzas E, Camussi G, Chaput N, Chatterjee D, Court FA, Del Portillo HA, O'Driscoll L, Fais S, Falcon-Perez JM, Felderhoff-Mueser U, Fraile L, Gho YS, Görgens A, Gupta RC, Hendrix A, Hermann DM, Hill AF, Hochberg F, Horn PA, de Kleijn D, Kordelas L, Kramer BW, Krämer-Albers EM, Laner-Plamberger S, Laitinen S, Leonardi T, Lorenowicz MJ, Lim SK, Lötvall J, Maguire CA, Marcilla A, Nazarenko I, Ochiya T, Patel T, Pedersen S, Pocsfalvi G, Pluchino S, Quesenberry P, Reischl IG, Rivera FJ, Sanzenbacher R, Schallmoser K, Slaper-Cortenbach I, Strunk D, Tonn T, Vader P, van Balkom BW, Wauben M, Andaloussi SE, Théry C, Rohde E, Giebel B. Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials - an ISEV position paper. *J Extracell Vesicles*. 2015 Dec 31;4:30087. doi: 10.3402/jev.v4.30087

6. Doepfner TR, Herz, Görgens A, Schlechter J, Ludwig AK, Radtke S, de Miroschedji K, Horn PA, Giebel B, Hermann DM. Extracellular vesicles improve post-stroke neuroregeneration and prevent post-ischemic immunosuppression. *Stem Cells Transl Med*. 2015 Oct;4(10):1131-43. doi: 10.5966/sctm.2015-0078

7. Huang CC, Narayanan R, Alapati S, Ravindran S. Exosomes as biomimetic tools for stem cell differentiation: applications in dental pulp tissue regeneration. *Biomaterials*. 2016 Dec;111:103-15. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.09.029

8. Narayanan R, Huang CC, Ravindran S. Hijacking the cellular mail: exosome mediated differentiation of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Int*. 2016;2016:3808674. doi: 10.1155/2016/3808674

9. Furuta T, Miyaki S, Ishitobi H, Ogura T, Kato Y, Kamei N, Miyado K, Higashi Y, Ochi M. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model. *Stem Cells Transl Med*. 2016 Dec;5(12):1620-30. doi: 10.5966/sctm.2015-0285

10. Qin Y, Sun R, Wu C, Wang L, Zhang C. Exosome: a novel approach to stimulate bone regeneration through regulation of osteogenesis and angiogenesis. *Int J Mol Sci*. 2016 May 19;17(5). pii: E712. doi: 10.3390/ijms17050712

11. Silva AM, Almeida MI, Teixeira JH, Maia

- AF, Calin GA, Barbosa MA, Santos SG. Dendritic cell-derived extracellular vesicles mediate mesenchymal stem/stromal cell recruitment. *Sci Rep.* 2017 May 10;7(1):1667. doi: 10.1038/s41598-017-01809-x
12. Zhang J, Liu X, Li H, Chen C, Hu B, Niu X, Li Q, Zhao B, Xie Z, Wang Y. Exosomes/tricalcium phosphate combination scaffolds can enhance bone regeneration by activating the PI3K/Akt signaling pathway. *Stem Cell Res Ther.* 2016 Sep 20;7(1):136. doi: 10.1186/s13287-016-0391-3
13. Zhang S, Chu WC, Lai RC, Lim SK, Hui JH, Toh WS. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration. *Osteoarthritis Cartilage.* 2016 Dec;24(12):2135-40. doi: 10.1016/j.joca.2016.06.022
14. Wang KX, Xu LL, Rui YF, Huang S, Lin SE, Xiong JH, Li YH, Lee WY, Li G. The effects of secretion factors from umbilical cord derived mesenchymal stem cells on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PLoS One.* 2015 Mar 23;10(3):e0120593. doi: 10.1371/journal.pone.0120593. eCollection 2015.
15. Qi X, Zhang J, Yuan H, Xu Z, Li Q, Niu X, Hu B, Wang Y, Li X. Exosomes secreted by human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells repair critical-sized bone defects through enhanced angiogenesis and osteogenesis in osteoporotic rats. *Int J Biol Sci.* 2016 May 25;12(7):836-49. doi: 10.7150/ijbs.14809. eCollection 2016.
16. Torreggiani E, Perut F, Roncuzzi L, Zini N, Baglio SR, Baldini N. Exosomes: novel effectors of human platelet lysate activity. *Eur Cell Mater.* 2014 Sep 22;28:137-51; discussion 151. doi: 10.22203/eCM.v028a11
17. Ekström K, Omar O, Granéli C, Wang X, Vaziriani F, Thomsen P. Monocyte exosomes stimulate the osteogenic gene expression of mesenchymal stem cells. *PLoS One.* 2013 Sep 18;8(9):e75227. doi: 10.1371/journal.pone.0075227. eCollection 2013.
18. Namazi H, Mohit E, Namazi I, Rajabi S, Samadian A, Hajizadeh-Saffar E, Aghdami N, Baharvand H. Exosomes secreted by hypoxic cardiosphere-derived cells enhance tube formation and increase pro-angiogenic miRNA. *J Cell Biochem.* 2018 May;119(5):4150-60. doi: 10.1002/jcb.26621
19. Selvasandran K, Makhoul G, Jaiswal PK, Jurakhan R, Li L, Ridwan K, Cecere R. A tumor necrosis factor- and hypoxia-induced secretome therapy for myocardial repair. *Ann Thorac Surg.* 2018 Mar;105(3):715-23. doi: 10.1016/j.athoracsur.2017.09.005
20. Gonzalez-King H, Garcia NA, Ontoria-Oviedo I, Ciria M, Montero JA, Sepúlveda P. Hypoxia inducible factor-1 potentiates jagged 1-mediated angiogenesis by mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Stem Cells.* 2017 Jul;35(7):1747-59. doi: 10.1002/stem.2618
21. Hnatiuk AP, Ong SG, Olea FD, Locatelli P, Riegler J, Lee WH, Jen CH, De Lorenzi A, Giménez CS, Laguens R, Wu JC, Crottogini A. Allogeneic mesenchymal stromal cells overexpressing mutant human hypoxia-inducible factor 1- (hif1-) in an ovine model of acute myocardial infarction. *J Am Heart Assoc.* 2016 Jul 6;5(7). pii: e003714. doi: 10.1161/JAHA.116.003714
22. Li H, Liu D, Li C, Zhou S, Tian D, Xiao D, Zhang H, Gao F, Huang J. Exosomes secreted from mutant-HIF-1-modified bone-marrow-derived mesenchymal stem cells attenuate early steroid-induced avascular necrosis of femoral head in rabbit. *Cell Biol Int.* 2017 Dec;41(12):1379-90. doi: 10.1002/cbin.10869

**Адрес для корреспонденции**

630090, Российская Федерация,  
г. Новосибирск,  
пр. акад. Лаврентьева, д. 8,  
Институт химической биологии  
и фундаментальной медицины СО РАН,  
Центр новых медицинских технологий,  
тел.: 8-913-753-0767,  
e-mail: imai@mail.ru,  
Майбородин Игорь Валентинович

**Сведения об авторах**

Майбородин Игорь Валентинович, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории стволовой клетки, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация.  
<http://orcid.org/0000-0002-8182-5084>  
Шевела Андрей Иванович, д.м.н., профессор, заведующий отделом «Центр новых медицинских технологий», Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация.  
<http://orcid.org/0000-0002-3164-9377>  
Морозов Виталий Валерьевич, заведующий лабораторией инвазивных медицинских технологий, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация.  
<https://orcid.org/0000-0002-9810-5593>  
Михеева Татьяна Владимировна, к.м.н., докторант лаборатории стволовой клетки, Институт химиче-

**Address for correspondence**

630090, The Russian Federation,  
Novosibirsk, Ac. Lavrentyev Ave., 8,  
Institute of Chemical Biology  
and Fundamental Medicine SB RAS,  
Center of New Medical Technologies,  
Tel.: 8-913-753-0767,  
e-mail: imai@mail.ru,  
Igor V. Maiborodin

**Information about the authors**

Maiborodin Igor V., MD, Professor, Chief Researcher of the Stem Cell Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.  
<http://orcid.org/0000-0002-8182-5084>  
Shevela Andrey I., MD, Professor, Head of the Center of Innovative Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.  
<http://orcid.org/0000-0002-3164-9377>  
Morozov Vitaly V., Head of the Laboratory of Invasive Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.  
<https://orcid.org/0000-0002-9810-5593>  
Mikheeva Tatiana V., PhD, Applicant for Doctor's Degree of the Stem Cell Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian

ской биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0003-2249-5174>

Фигуренко Николай Федорович, к.м.н., докторант лаборатории стволовой клетки, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0002-0430-8673>

Маслов Роман Владимирович, к.м.н., докторант лаборатории стволовой клетки, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0003-4472-859X>

Майбородина Виталина Игоревна, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории ультраструктурных основ патологии, Институт молекулярной патологии и патоморфологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, Российская Федерация.

<http://orcid.org/0000-0002-5169-6373>

Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0003-2249-5174>

Figurenko Nikolay F., PhD, Applicant for Doctor's Degree of the Stem Cell Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0002-0430-8673>

Maslov Roman V., PhD, Applicant for Doctor's Degree of the Stem Cell Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0003-4472-859X>

Maiborodina Vitalina I., MD, Leading Researcher of the Laboratory of Ultrastructural Basis of Pathology, Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0002-5169-6373>

#### Информация о статье

*Получена 11 июня 2018 г.*

*Принята в печать 11 февраля 2019 г.*

*Доступна на сайте 30 апреля 2019 г.*

#### Article history

*Arrived 11 June 2018*

*Accepted for publication 11 February 2019*

*Available online 30 April 2019*