

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

**Львівський національний університет ветеринарної медицини та
біотехнологій імені С.З. Гжицького**

Факультет харчових технологій та біотехнологій

Кафедра біотехнологій та радіології

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА на здобуття освітнього ступеня бакалавра

**Біотехнологічна модифікація екзосом для підвищення ефективності
інкапсуляції та специфічності доставки лікарських речовин**

Виконала: студентка 4 курсу,
1 групи, спеціальності
162 Біотехнології та біоінженерія

Грицак Є. А.

Керівник Штапенко О. В.

Рецензент Іскра Р. Я.

Роботу заслухано на засіданні кафедри біотехнології та радіології і
рекомендовано до захисту, протокол № __від 2026р.

Завідувач кафедри біотехнології та радіології Буцяк Василь Іванович

Львів – 2026

ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА МЕХАНІЗМИ ФУНКЦІОНУВАННЯ ЕКЗОСОМ.....	6
1.1 Історія відкриття та розвитку уявлень про екзосоми.....	6
1.2 Структурно-молекулярні особливості екзосом та їх біологічна характеристика.....	9
1.3 Біогенез екзосом та молекулярні механізми їх утворення.....	11
1.4 Біологічні функції екзосом і їх роль у міжклітинній комунікації: сучасні концепції й клінічні аспекти.....	15
РОЗДІЛ 2. ВИКОРИСТАННЯ ЕКЗОСОМ У СИСТЕМАХ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН.....	20
2.1. Екзосоми як природні нанотранспортні системи для цільової доставки біологічно активних речовин.....	20
2.2. Біотехнологічні стратегії інкапсуляції лікарських речовин у екзосоми як основа ефективної таргетної доставки.....	23
2.3. Критичні обмеження та виклики застосування екзосом у фармакології та біотехнології.....	26
РОЗДІЛ 3. МОДИФІКАЦІЯ ЕКЗОСОМ ДЛЯ ЕФЕКТИВНОЇ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН.....	31
3.1. Генетична інженерія клітин-продуцентів як інструмент програмування функціональних властивостей екзосом.....	31
3.2. Хімічні та фізичні методи модифікації поверхні екзосом.....	34
3.3. Молекулярні стратегії підвищення специфічності таргетної доставки лікарських засобів із використанням екзосом.....	37
3.4. Перспективи клінічного та терапевтичного застосування модифікованих екзосом у сучасній медицині.....	40
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	46

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота присвячена системному науковому аналізу сучасних підходів до біотехнологічної модифікації екзосом з метою підвищення ефективності інкапсуляції лікарських речовин та забезпечення їх високоспецифічної доставки до клітин-мішеней.

У роботі узагальнено сучасні уявлення про біогенез екзосом, їх молекулярний склад, фізико-хімічні властивості та роль у міжклітинній комунікації. Проаналізовано переваги екзосом як природних нанобіотранспортних систем у порівнянні з синтетичними платформами доставки, зокрема ліпосомами та полімерними наночастинками. Окрема увага приділена методам інкапсуляції лікарських речовин (електропорація, сонікація, пасивна інкубація, freeze–thaw метод), підходам до генетичної інженерії клітин-донорів, поверхневій модифікації екзосом, а також механізмам рецептор-опосередкованого таргетування.

Встановлено, що ефективність інкапсуляції визначається фізико-хімічними характеристиками активної речовини, параметрами завантаження та структурною стабільністю мембрани екзосом. Обґрунтовано перспективність комбінованих стратегій модифікації для підвищення біодоступності та зниження системної токсичності лікарських засобів.

Робота має теоретичне значення для розвитку нанобіотехнологій і практичну цінність у контексті створення інноваційних систем таргетної доставки для онкології, неврології та регенеративної медицини.

Ключові слова: екзосоми, біотехнологічна модифікація, інкапсуляція лікарських речовин, таргетна доставка, нанобіотранспортні системи, генетична інженерія, поверхнева модифікація, рецептор-опосередкований транспорт, біосумісність, наномедицина.

ВСТУП

Актуальність теми. Сучасна фармакологія та молекулярна медицина стикаються з фундаментальною проблемою – забезпеченням ефективної та безпечної доставки лікарських речовин до патологічно змінених клітин і тканин. Незважаючи на значний прогрес у створенні високоспецифічних фармакологічних агентів, включаючи малі інгібітори сигнальних шляхів, білкові препарати та нуклеїнові кислоти, їх терапевтична ефективність часто обмежується неспецифічним розподілом, швидкою біодеградацією та системною токсичністю.

Розвиток наномедицини сприяв появі різноманітних транспортних платформ, проте синтетичні носії не завжди забезпечують достатню біосумісність і низьку імуногенність. У цьому контексті екзосоми розглядаються як перспективні природні нанобіотранспортні системи, здатні до фізіологічної інтеграції в міжклітинні сигнальні мережі.

У працях сучасних дослідників започатковано вивчення механізмів біогенезу екзосом, їх молекулярної композиції та ролі у міжклітинній комунікації. Проте питання підвищення ефективності інкапсуляції фармакологічних агентів та контрольованої специфічної доставки залишаються недостатньо систематизованими, що зумовлює актуальність даної роботи. [17; 18]

Отже, необхідність теоретичного узагальнення сучасних підходів до біотехнологічної модифікації екзосом обумовлена потребою створення нових високоефективних систем таргетної доставки лікарських засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Робота виконана відповідно до сучасних наукових напрямів розвитку біотехнології, наномедицини та фармацевтичної інженерії, що передбачають створення інноваційних систем адресної доставки лікарських засобів. Тематика відповідає пріоритетним напрямам наукових досліджень у галузі біомедичних технологій та персоналізованої медицини.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є комплексний теоретичний аналіз сучасних біотехнологічних стратегій модифікації екзосом для підвищення ефективності інкапсуляції лікарських речовин та забезпечення їх специфічної доставки.

Для досягнення поставленої мети визначено такі завдання:

1. Проаналізувати сучасні концепції біогенезу та молекулярної організації екзосом.
2. Охарактеризувати фізико-хімічні властивості екзосом як транспортних платформ.
3. Розглянути методи ізоляції та очищення екзосом.
4. Узагальнити існуючі методи інкапсуляції лікарських речовин.
5. Дослідити фактори, що впливають на ефективність завантаження.
6. Проаналізувати підходи до поверхневої та генетичної модифікації екзосом.
7. Оцінити перспективи клінічного застосування модифікованих екзосом.

Об'єкт дослідження - екзосоми як природні позаклітинні везикули, що беруть участь у міжклітинній комунікації та можуть використовуватися як системи доставки біологічно активних молекул.

Предмет дослідження - біотехнологічні методи модифікації екзосом, спрямовані на підвищення ефективності інкапсуляції лікарських речовин та специфічності їх доставки.

Методи дослідження.

У роботі використано:

- системний аналіз сучасних наукових джерел для узагальнення теоретичних підходів;
- порівняльний метод для оцінки різних способів інкапсуляції;
- структурно-функціональний аналіз для визначення взаємозв'язку між складом екзосом та їх транспортними властивостями;

- метод логічного узагальнення для формування наукових висновків;
- бібліометричний аналіз сучасних публікацій у міжнародних наукових базах.

Застосування цих методів забезпечило комплексність і наукову обґрунтованість дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. У роботі вперше здійснено комплексну систематизацію сучасних стратегій біотехнологічної модифікації екзосом з позицій підвищення ефективності інкапсуляції та специфічності доставки лікарських засобів.

Обґрунтовано доцільність комбінованого використання фізичних та генетичних методів модифікації. Узагальнено фактори, що визначають ефективність завантаження та стабільність інкапсульованих молекул. Сформульовано концептуальні положення щодо оптимізації параметрів інженерії екзосом для підвищення їх терапевтичного потенціалу.

РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА МЕХАНІЗМИ ФУНКЦІОНУВАННЯ ЕКЗОСОМ

1.1 Історія відкриття та розвитку уявлень про екзосоми

Історія відкриття та дослідження екзосом є яскравим прикладом еволюції наукових уявлень у клітинній біології - від випадкових спостережень до формування окремого напрямку сучасної біомедицини. Перші передумови для відкриття екзосом з'явилися ще у середині ХХ століття. Зокрема, у 1946 році було описано наявність у плазмі крові дрібних субклітинних частинок, які брали участь у процесах коагуляції. На той момент ці структури не розглядалися як окремі функціональні одиниці, а трактувалися як залишки клітин або фрагменти мембран, що утворюються внаслідок фізіологічних процесів.

У подальші десятиліття, зокрема у 1960 - 1970-х роках, дослідники описували подібні мембранні частинки під назвою «platelet dust» (тромбоцитарний пил). Вважалося, що вони є результатом механічного руйнування клітин або побічним продуктом їх функціонування. Відсутність сучасних методів мікроскопії та молекулярного аналізу не дозволяла визначити їхню точну природу, тому вони не привертали значної уваги наукової спільноти. Водночас у 1970 році термін «exosome» вперше був використаний у зовсім іншому значенні - для позначення позаклітинних ДНК-фрагментів, що передаються між клітинами, однак це поняття не мало прямого зв'язку із сучасним розумінням екзосом як везикулярних структур.

Справжній прорив у дослідженні екзосом відбувся на початку 1980-х років, коли з розвитком електронної мікроскопії стало можливим більш детальне вивчення внутрішньоклітинних процесів. У 1983 році незалежні дослідницькі групи під керівництвом Harding, Stahl та Johnstone, вивчаючи процес дозрівання ретикулоцитів, виявили, що ці клітини здатні вивільняти

дрібні мембранні везикули в позаклітинний простір. Було встановлено, що ці везикули містять трансферинові рецептори, які видаляються з клітини під час її диференціації. Це відкриття стало принципово важливим, оскільки вперше продемонструвало механізм селективного видалення мембранних білків через везикулярний транспорт.

Подальші дослідження показали, що ці везикули формуються всередині клітини у складі мультивезикулярних тілець, які є різновидом пізніх ендосом. У процесі інвагінації мембрани всередину ендосоми утворюються внутрішньопросвітні везикули, які після злиття мультивезикулярного тільца з плазматичною мембраною вивільняються у позаклітинний простір. У 1987 році Роуз Джонстоун запропонувала термін «екзосоми» для позначення цих структур, що заклало основу для подальшого розвитку цього напрямку досліджень. На той час екзосоми розглядалися виключно як механізм клітинної «утилізації», тобто спосіб видалення непотрібних або застарілих білків.

Упродовж 1990-х років інтерес до екзосом залишався обмеженим, оскільки домінувала думка про їхню другорядну роль. Проте поступово з'являлися дані, які свідчили про їхню потенційну функціональну значущість. Було показано, що екзосоми можуть містити функціонально активні білки, включаючи ферменти та рецептори, що зберігають свою активність після вивільнення. Це поставило під сумнів уявлення про екзосоми як про «клітинне сміття» і стало передумовою для перегляду їхнього біологічного значення.

Переломним моментом у дослідженні екзосом стало відкриття їхньої ролі в імунній системі. У 1996 році було продемонстровано, що екзосоми, які продукуються В-лімфоцитами, можуть брати участь у презентації антигенів і активації Т-лімфоцитів. Це відкриття вперше довело, що екзосоми здатні виконувати активні біологічні функції та брати участь у міжклітинній комунікації. Воно стало основою для формування нової концепції, згідно з якою екзосоми є важливими медіаторами клітинної взаємодії.

На початку 2000-х років розвиток методів протеоміки та геноміки дозволив детально дослідити склад екзосом. Було встановлено, що їхній вміст формується селективно і залежить від типу клітини та її функціонального стану. Це означало, що екзосоми можуть відображати фізіологічний або патологічний стан клітини-донора, що має велике значення для діагностики захворювань.

Одним із найважливіших відкриттів у цій галузі стало встановлення здатності екзосом переносити нуклеїнові кислоти. У 2007 році було доведено, що екзосоми містять мікроРНК та матричні РНК, які можуть передаватися між клітинами і залишатися функціонально активними після переносу. Це відкриття мало фундаментальне значення, оскільки вперше було продемонстровано механізм горизонтальної передачі генетичної інформації між клітинами. Відтоді екзосоми почали розглядатися як елемент складної системи регуляції експресії генів.

У наступні роки, особливо після 2010 року, дослідження екзосом набули стрімкого розвитку. Було встановлено, що вони продукуються практично всіма типами клітин і присутні у всіх біологічних рідинах організму, включаючи кров, слину, сечу та спинномозкову рідину. Виявлено, що екзосоми відіграють важливу роль у розвитку різноманітних патологічних процесів, зокрема онкологічних захворювань, де вони беруть участь у формуванні метастазів, а також у нейродегенеративних процесах, де сприяють поширенню патологічних білків.

Сучасний етап розвитку досліджень екзосом характеризується їхнім активним використанням у біомедицині. Вони розглядаються як перспективні біомаркери для ранньої діагностики захворювань, а також як потенційні носії для таргетної доставки лікарських препаратів. Крім того, екзосоми досліджуються як інструмент клітинної терапії та регенеративної медицини.

1.2 Структурно-молекулярні особливості екзосом та їх біологічна характеристика

Екзосоми є нанорозмірними позаклітинними везикулами, які утворюються в еукаріотичних клітинах і відіграють критичну роль у міжклітинній комунікації, транспорті біологічно активних молекул та регуляції клітинної активності. Вони належать до ендосомального типу везикул, формуються всередині клітин у вигляді внутрішньопросвітних везикул мультивезикулярних тілець і виділяються у позаклітинний простір шляхом екзоцитозу. Розмір екзосом варіює від 30 до 150 нм, що робить їх найдрібнішими серед позаклітинних везикул і визначає їхню здатність проникати у вузькі міжклітинні простори, включаючи тканини з щільним клітинним щільником.

Сучасне визначення екзосом сформувалося завдяки багаторічним дослідженням їх морфології, походження та функцій. Перші свідчення про наявність дрібних субклітинних частинок у плазмі крові були зафіксовані ще у середині XX століття. У 1946 році дослідники виявили у крові дрібні частинки, що брали участь у процесах коагуляції, проте їхнє біологічне значення залишалося невідомим. У 1960 - 1970-х роках такі частинки описували як «тромбоцитарний пил» і вважали побічним продуктом клітинної активності, що не виконує суттєвої біологічної функції. Справжній прорив у розумінні природи цих структур став можливим з розвитком електронної мікроскопії високої роздільної здатності. У 1983 році Джонстоун та співавт. у дослідженні дозрівання ретикулоцитів встановили, що клітини здатні селективно вивільняти дрібні мембранні везикули, які містять трансферинові рецептори, що видаляються з клітини в процесі її дозрівання. Це спостереження стало першим доказом, що клітина може використовувати везикулярний транспорт для регуляції власного молекулярного складу. У 1987 році Джонстоун запропонувала термін «екзосоми» для цих структур, що

заклало основу для їхнього сучасного визначення як ендосомально утворених нановезикул з активними функціями у міжклітинній комунікації.

Структурно екзосоми мають складну організацію, яка забезпечує їхню стабільність, вибірккову взаємодію з клітинами-мішенями та функціональну активність. Основу оболонки екзосом складає ліпідний бішар, що включає фосфоліпіди, холестерин, сфінгомієлін та глікосфінголіпіди. Ліпідна асиметрія забезпечує специфічну конфігурацію мембрани, а наявність ліпідних рафтів концентрує сигнальні білки та рецептори, що необхідно для специфічного зв'язування з клітинами-реципієнтами. Крім того, ліпіди впливають на текучість мембрани, здатність до фузії та взаємодії з позаклітинним середовищем, а також на стабільність внутрішнього вмісту екзосом в умовах стресу та ферментативного впливу. [21; 24]

Поверхня екзосом багата на специфічні білки, серед яких ключову роль відіграють тетраспаніни **CD9**, **CD63** та **CD81**, що стабілізують мембрану та виконують роль маркерів для ідентифікації екзосом. Крім того, на мембрані присутні інтегрини, селектини, рецептори ростових факторів та молекули головного комплексу гістосумісності, що забезпечує вибірккову взаємодію з клітинами-мішенями і направлений транспорт сигнальних молекул. Наявність цих білків дозволяє екзосомам взаємодіяти із специфічними тканинами, визначати напрямок сигналізації та брати участь у регуляції клітинних процесів. Поверхневі білки також виконують роль у механізмах фузії екзосом з клітиною-реципієнтом, сприяючи переносу внутрішнього вмісту без руйнування мембрани клітини-мішені.

Внутрішній вміст екзосом надзвичайно функціонально насичений. Він містить білки, які беруть участь у клітинному метаболізмі, сигнальних шляхах, апоптозі та підтримці цитоскелету, а також ферменти, білки теплового шоку, молекули **ESCRT-комплексів**, необхідні для сортування білків та нуклеїнових кислот. Крім білків, екзосоми містять нуклеїнові кислоти - матричні РНК, мікроРНК та довгі некодуючі **РНК**, здатні

регулювати експресію генів у клітинах-реципієнтах. Доведено, що після переносу у клітину ці молекули зберігають свою функціональну активність, впливаючи на транскрипцію, метаболізм та клітинні сигнальні шляхи. Ліпіди внутрішнього вмісту також беруть участь у сигнальних процесах та модулюють клітинну взаємодію.

Екзосоми відрізняються від інших позаклітинних везикул як за розміром, так і за механізмом утворення. Мікровезикули формуються безпосередньо шляхом відшнуровування від плазматичної мембрани, мають більший розмір (100-1000 нм) і несуть інший набір білків та ліпідів. Апоптичні тільця з'являються при програмованій клітинній смерті і містять фрагменти органел та цитоплазми, відрізняючись від екзосом як за складом, так і за функцією. Класифікація позаклітинних везикул базується на розмірі, походженні та механізмах утворення, і екзосоми займають окрему нішу як нановезикули з високою специфічністю дії та ендосомальним походженням.

Функціонально екзосоми виконують численні ключові завдання. Вони забезпечують транспорт біомолекул, беруть участь у міжклітинній комунікації, регулюють клітинний метаболізм, проліферацію, диференціацію та апоптоз. Крім того, вони мають значення у патологічних процесах: екзосоми пухлинних клітин сприяють метастазуванню, поширенню сигналів росту та імунній модуляції; у нейродегенеративних процесах вони беруть участь у транспорті патологічних білків, таких як амілоїд або тау-білки; у запальних процесах екзосоми можуть стимулювати або пригнічувати активність імунних клітин.

1.3 Біогенез екзосом та молекулярні механізми їх утворення

Біогенез екзосом - це фундаментальний внутрішньоклітинний процес, що лежить в основі формування специфічних позаклітинних везикул, здатних переносити біологічно активні макромолекули між клітинами. Екзосоми утворюються за рахунок складної і високоспеціалізованої ендосомальної системи, яка забезпечує не лише їхнє формування, але і сортування білків,

нуклеїнових кислот і ліпідів у ці везикули, а також регуляцію їх подальшої секреції у позаклітинний простір.

Початковою ланкою біогенезу є **інвагінація (вгинання) плазматичної мембрани всередину клітини** з утворенням перших мембранних пухирців [8; 33]. Така інвагінація відбувається внаслідок активних процесів ендоцитозу, включаючи як клатрин-залежний, так і клатрин-незалежний механізм захвату мембранних компонентів. Ці пухирці, що виникають внаслідок інвагінації плазматичної мембрани, зливаються між собою та формують структури, відомі як **ранні ендосоми**, що представляють собою першу «стацію» внутрішньоклітинного трафіку. [9; 33]

Ранні ендосоми мають характерний склад білків, зокрема рецепторів, що були захоплені з поверхні клітини, а також молекули, що були націлені на сортування всередині. Ці ендосоми характеризуються активним метаболізмом мембранних компонентів і виконують первинну роль сортування: деякі мембранні білки можуть повернутися на плазматичну мембрану шляхом «швидкого» або «повільного» повернення, тоді як інші спрямовуються на подальше дозрівання у пізні ендосоми. Перехід від ранньої ендосоми до пізньої супроводжується змінами у білковому складі мембрани, зміненою експресією сигналів сортування, а також залученням специфічних молекулярних комплексів, що формують внутрішньопросвітні везикули в межах цих органел.

Ключовим етапом утворення екзосом є формування **внутрішньопросвітних везикул (intraluminal vesicles, ILVs)** у межах пізніх ендосом, які надалі накопичуються в органелах, званих **багатовезикулярними тільцями (multivesicular bodies, MVBs)**. Саме ці ILVs є прямими предтечами екзосом: після злиття MVBs з плазматичною мембраною вони вивільняються у позаклітинний простір як екзосоми. Формування ILVs забезпечується декількома взаємозалежними механізмами, до яких належать **ESCRT-залежні** та **ESCRT-незалежні** шляхи.

Молекулярна машина **ESCRT (endosomal sorting complex required for transport)** є найкраще вивченим механізмом, через який відбувається внутрішня інвагінація мембрани та формування **ILVs**. ESCRT-система складається з чотирьох основних підкомплексів: **ESCRT-0**, **ESCRT-I**, **ESCRT-II** і **ESCRT-III**, а також допоміжних білків-активаторів та АТФ-аз, серед яких **VPS4**. **ESCRT-0** комплекс (наприклад білки **Hrs** і **STAM**) відіграє роль у початковому зборі та кластеризації ubiquitin-мічених білків на мембрані пізньої ендосоми, визначаючи їх подальшу сортувальну долю. **ESCRT-I** та **ESCRT-II** беруть участь у ініціації вигинання мембрани. Всередину, тоді як **ESCRT-III** відповідає за фізичне утворення і відсікання **ILVs**. Важливо, що **ESCRT-III** формує спіральні структури, які стискають «шийку» вигинів мембрани, що призводить до відокремлення **ILV** у порожнину ендосоми, після чого АТФ-аза **VPS4** розчиняє **ESCRT-III**, готуючи комплекс до нового циклу.

Незважаючи на центральну роль **ESCRT-машини**, існують **ESCRT-незалежні механізми** формування **ILVs**. Ці механізми залучають специфічні лінійні ліпідні домени та білки, що формують мікродомени на мембранах. Одним із найважливіших шляхів є участь **сераміду**, який утворюється шляхом гідролізу сфінгомієліну нейтральною сфінгомієліназою 2 (**nSMase2**). Серамід має здатність формувати ліпідні платформи, що стимулюють вигин мембрани назовні, що сприяє утворенню **ILVs** незалежно від ESCRT-комплексів. Експериментальні дані, отримані при блокуванні **nSMase2**, показали зменшення кількості **ILVs** і секреції екзосом у кількох модельних системах, підтверджуючи важливість цього ліпід-опосередкованого шляху. Іншим ESCRT-незалежним механізмом є роль **тетраспанінів (CD63, CD81, CD9)**, які формують тетраспанін-збагачені мікродомени (**TEM**), що можуть ініціювати внутрішню інвагінацію мембрани та сприяти упаковці специфічних білків у майбутні **ILVs** шляхом утворення конусоподібних мікродоменів у мембрані.

Паралельно до механізмів формування **ILVs**, відбувається **селективне сортування білків, нуклеїнових кислот та ліпідів** у ці внутрішні везикули. Цей процес визначає майбутній біохімічний профіль екзосом та їхню функціональну здатність після секреції. Сортування білків у **ILVs** може бути опосередковане **ubiquitin-мітками**, які розпізнаються **ESCRT-комплексами**, або специфічними сигналами на білках, що визначають їх включення. Наприклад, білки сімейства **Rab-GTPаз** контролюють не лише транспорт і локалізацію **MVBs**, але і вибіркове включення певних білків і рецепторів у **ILVs**. **Rab27a і Rab27b**, які локалізуються на пізніх ендосомах, беруть участь у транспортуванні **MVBs** до плазматичної мембрани і впливають на кількість секретованих екзосом, попередньо визначаючи вагому частину білків, що включені до складу цих везикул. Крім того, **Rab11** та **Rab35** асоційовані з ранніми та рециркуляційними ендосомами і можуть модулювати сортування окремих класів білків, таких як флотиліни або інші маркери, у екзосоми.

Серед ліпідів, що беруть участь у процесі сортування, важливу роль відіграють **фосфатидилінозитоль-3-фосфат (PI3P)**, який концентрується на мембранах пізніх ендосом і залучає специфічні білки зі **FYVE-домена** для подальшого трафіку, та **фосфатидилсерин**, що може бути локалізований у **ILVs** і впливати на їхню здатність до фузії з мембранами клітини-реципієнта. Характерний розподіл цих ліпідів створює локальні мікродомени мембран, що сприяють селективному включенню певних компонентів і стабілізації **ILVs**.

Після збільшення кількості внутрішньопросвітних везикул **MVBs** накопичують **ILVs** та стають готовими до кінцевого етапу біогенезу - **секреції екзосом** у позаклітинний простір. Секреція передбачає транспортування **MVBs** до плазматичної мембрани, де відбувається **фузія мембранних бішарів MVBs** з плазматичною мембраною та вивільнення **ILVs** як екзосом. Цей механізм подібний до інших мембранних фузій та здійснюється за участю **SNARE-комплексів** - білків-медіаторів мембранної

фузії. SNARE-комплекси складаються з білків, що локалізуються на мембрані **MVBs (v-SNARE)** та білків на плазматичній мембрані (**t-SNARE**), які взаємодіють для створення енергетично сприятливого комплексу, що долає енергетичний бар'єр фузії.

Крім того, транспорт **MVBs** до ділянок плазматичної мембрани контролюється цитоскелетом: **мікротрубочки** та актиноміозинові структури сприяють цілеспрямованому переміщенню **MVBs**, що забезпечує локалізовану секрецію екзосом, наприклад у зонах клітинних контактів або синапсах. Ця локалізована секреція є важливою для забезпечення специфічної передачі сигналів, особливо у нервовій тканині та імунних клітинах.

Роль сигнальних шляхів у регуляції біогенезу та секреції екзосом також є важливою. Наприклад, **MAPK/ERK**, **PI3K/AKT**, та **Wnt/ β -catenin** сигнальні каскади можуть модулювати експресію білків ESCRT, активність nSMase2, або локалізацію Rab-GTPаз, що в кінцевому підсумку впливає на кількість і склад секретованих екзосом. Стимуляція або інгібування цих шляхів експериментально змінює профіль екзосом, що підтверджує їх участь у регуляції всього біогенетичного процесу.

Експериментальні дані підтримують детальність та важливість описаних механізмів. Наприклад, блокада компонентів ESCRT-машини, таких як Hrs або **TSG101**, призводить до зниження утворення **ILVs** та секреції екзосом, що свідчить про їх критичну роль у біогенезі. Інгібування нейтральної сфінгомієнази зменшує утворення **ILVs** і секрецію екзосом, що підтверджує участь сераміду як важливого фактору в ESCRT-незалежних механізмах. Крім того, нокаут або зменшення експресії **Rab27a/b** у модельних клітинних системах призводить до порушення транспорту **MVBs** до плазматичної мембрани і значного зменшення кількості виділених екзосом.

1.4 Біологічні функції екзосом і їх роль у міжклітинній комунікації: сучасні концепції й клінічні аспекти

Екзосоми - це дрібні позаклітинні везикули, що утворюються практично всіма еукаріотичними клітинами і виступають універсальними медіаторами міжклітинної комунікації, основна функція яких полягає в **транспорті біомолекул, молекулярній регуляції клітинних процесів та посередництві патологічних змін у тканинах й органах**. Ці наноструктури діаметром від ~30 до ~150 нм містять різноманітний набір біоактивних компонентів - білків, ліпідів, нуклеїнових кислот, ферментів і метаболітів - і здатні передавати функціонально значущу інформацію від донора до реципієнта, змінюючи поведінку останнього.

Екзосоми циркулюють у численних біологічних рідинах (крові, слині, сечі, плазмі, грудному молоці) та можуть долати фізіологічні бар'єри, що забезпечує їхню участь у локальному та системному міжклітинному діалозі. Через специфічні мембранні білки та рецептори вони можуть спрямовано взаємодіяти з клітинами-мішенями, зокрема через рецептор-опосередковану адгезію, ендоцитоз чи фузію мембран, що дозволяє доставляти їхній внутрішній вантаж прямо в цитоплазму реципієнтної клітини.

Важливо відзначити, що **склад екзосом не є випадковим**, а відображає тип і функціональний стан клітини-донора: клітини, що перебувають у стресі, запаленні чи патології, модифікують білковий і нуклеїново-ліпідний профіль екзосом, що надає їм здатність впливати на рецепторні клітини відповідно до контексту сигналізації.

Молекулярний «вантаж» екзосом включає комплекс білків (маркерів поверхні і сигнальних білків), серед яких численні транспортери, рецептори, ферменти та компоненти сигнальних каскадів. Дані про каталог білків екзосом зібрані у спеціальних базах даних, таких як **ExoCarta**, що демонструє широкий функціональний потенціал екзосомних вантажів. Сукупність білків часто включає хапальні та адгезивні молекули, які

сприяють взаємодії з рецепторами реципієнтних клітин, ферменти, що можуть модулювати метаболічні шляхи, а також сигнальні молекули, здатні змінювати поведінку тканин у цілому.

Ліпіди екзосом також мають істотну регуляторну і транспортувальну роль. Вони не лише визначають структуру мембрани, але й беруть участь у формуванні контактів з рецепторними ділянками клітин-реципієнтів і передачі сигналів, що впливають на метаболічні шляхи, що включають абсорбцію, клітинний метаболізм та реакції на стрес. Ліпідний склад екзосом включає холестерин, фосфатидилсерин, сфінгомієлін і інші біологічно активні ліпіди, що визначають їхню здатність до взаємодії з клітинними мембранами та внутрішньоклітинної інтеграції.

Ключовим аспектом функціональної активності екзосом є **транспорт біомолекул**. Екзосоми переносять різноманітні типи молекул, що виконують специфічні регуляторні функції у рецепторних клітинах. Серед цих молекул - різні **типи РНК** (мікроРНК, мРНК, довгі некодуючі РНК тощо), що можуть після доставки безпосередньо впливати на експресію генів у реципієнтних клітинах, змінюючи транскрипцію та трансляцію відповідних білків. Такі екзосомні РНК-мішені часто називають «екзосомним шліфом РНК» (**exosomal shuttle RNA**), що може регулювати метаболізм, проліферацію і диференціацію клітин-мішеней.

Наприклад, дані експериментальних досліджень показали, що екзосоми, що містять мікроРНК, здатні регулювати експресію ключових факторів росту та сигнальних білків у клітинах серцево-судинної системи після ішемічного ушкодження, що призводить до стимуляції ангіогенезу та ремоделювання тканини. Інший експеримент на моделях мишей показав, що екзосоми зі збільшеним вмістом певних мікроРНК можуть знижувати апоптоз кардіоміоцитів і сприяти відновленню пошкодженого міокарда. Такі дані підтверджують функціональний потенціал РНК-вантажів екзосом у регуляції складних клітинних процесів.

Екзосоми також транспортують **білки сигнальних шляхів**, включаючи прозапальні цитокіни, фактори росту, рецептори та ферменти, які можуть безпосередньо впливати на мішень-клітину. Вони здатні активувати каскади внутрішньоклітинних сигналів, таких як **NF-κB**, **PI3K/Akt** чи **MAPK/ERK**, що визначає зміни у клітинному циклі, проліферації чи апоптозі. У моделі запалення екзосоми, що містять **TNF-α**, здатні підсилювати прозапальний відповідь у ендотеліальних клітинах шляхом активації **NF-κB-залежних шляхів**, що веде до підвищення експресії адгезивних молекул та проліферації гладком'язових клітин.

Ліпіди екзосом також функціонують як сигнальні молекули. Наприклад, сфінгозин-1-фосфат, присутній у мембранах екзосом, активує специфічні рецептори на поверхні клітини-реципієнта, що сприяє проліферації та виживанню клітин та впливає на їхню міграцію. Це має значення, зокрема, у репаративних процесах й регенерації тканин після ушкодження.

Екзосоми беруть участь у **регуляції клітинних процесів**, таких як проліферація, диференціація, апоптоз, метаболізм та клітинна міграція. У фізіологічних умовах вони можуть передавати сигнали, що стимулюють ділення клітин, прискорюють регенерацію тканини або запобігають неконтрольованій апоптозі. Так, результати експериментального введення екзосом мезенхімальних стовбурових клітин у модельні культури показали підвищення синтезу колагену і активність трансформуючого фактору **β** (**TGF-β**), що сприяє відновленню дермального матриксу в пошкоджених зонах.

Важливу роль екзосоми відіграють у регуляції **імунної відповіді**. Вони можуть доставляти антигени, молекули адгезії або інші імунорегуляторні білки до Т-клітин, дендритних клітин або природних кілерів, модулюючи адаптивну імунну реакцію. Екзосоми, що містять комплекси основного комплексу гістосумісності (МНС), здатні стимулювати

або пригнічувати імунні реакції, залежно від контексту, сприяючи толерантності або активації імунної системи.

У контекстах патології екзосоми можуть мати як **сприятливі**, так і **патогенетичні наслідки**. Наприклад, у онкології пухлинні клітини виділяють екзосоми з мутованими білками та мікроРНК, що сприяють формуванню туморного мікрооточення, стимулюють ангиогенез, міграцію клітин та резистентність до апоптозу, а також перешкоджають ефективній імунній відповіді. У результаті, такі екзосоми сприяють метастазуванню та прогресії хвороби, що було продемонстровано в експериментальних моделях раку молочної залози і меланоми, де присутність екзосом підсилювала проліферацію пухлинних клітин і сприяла їхній інвазії.

Подібно, у метаболічних захворюваннях, таких як ожиріння та цукровий діабет типу 2, екзосоми з адипоцитів містять змінені профілі мікроРНК і білків, що можуть впливати на чутливість до інсуліну в м'язових та печінкових клітинах, сприяючи порушенню метаболічного гомеостазу.

У нейродегенеративних розладах екзосоми можуть переносити мішені патологічні білки, такі як **амілоїд β** або домени тау-білків, що сприяє їхньому поширенню між нейронами і потенційно підтримує прогресію хвороби Альцгеймера.

РОЗДІЛ 2. ВИКОРИСТАННЯ ЕКЗОСОМ У СИСТЕМАХ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

2.1. Екзосоми як природні нанотранспортні системи для цільової доставки біологічно активних речовин

Екзосоми у сучасній біомедицині розглядаються як високоефективні природні нанотранспортні системи, здатні забезпечувати селективну та біосумісну доставку широкого спектра біологічно активних молекул. Їхній інтерес як платформ для доставки лікарських речовин зумовлений поєднанням унікальних фізико-хімічних властивостей, здатністю до міжклітинної комунікації, природним походженням та високим рівнем інтеграції у фізіологічні процеси організму. На відміну від синтетичних наночастинок, екзосоми є еволюційно сформованими структурами, які виконують функцію транспорту молекулярної інформації між клітинами, що визначає їхню високу ефективність у біологічних системах.

Природні властивості екзосом формуються їхньою структурою, походженням і молекулярним складом. Екзосоми мають ліпідний бішар, який за складом нагадує плазматичну мембрану клітини, але характеризується підвищеним вмістом специфічних ліпідів, таких як сфінгомієлін, холестерин і глікосфінголіпіди. Ці компоненти забезпечують високу стабільність мембрани та її резистентність до дії ферментів і змін середовища. Важливою особливістю є наявність мембранних білків, включаючи тетраспаніни (**CD9, CD63, CD81**), інтегрини, адгезивні молекули та рецептори, що визначають здатність екзосом до специфічного розпізнавання клітин-мішеней.

Внутрішній вміст екзосом включає білки, мікроРНК, мРНК, ДНК-фрагменти та метаболіти, що дозволяє їм виступати як переносники складної біологічної інформації.

Однією з ключових характеристик екзосом як транспортних систем є їхня біосумісність. [22; 41]

Поняття біосумісності означає здатність матеріалу взаємодіяти з біологічними системами без викликання токсичних, імунних або запальних реакцій. Оскільки екзосоми є природними продуктами клітин, вони практично не розпізнаються організмом як чужорідні структури, що значно знижує ризик їхнього швидкого елімінування або активації імунної відповіді. Це дозволяє їм циркулювати в організмі тривалий час і ефективно доставляти терапевтичні агенти до клітин-мішеней.

Тісно пов'язаним із біосумісністю є поняття імуногенності. Імуногенність визначає здатність структури викликати імунну відповідь. Екзосоми характеризуються низькою імуногенністю, особливо якщо вони походять з аутологічних клітин, тобто клітин самого організму. [31; 22] Це робить їх значно безпечнішими у порівнянні з синтетичними носіями, такими як ліпосоми або полімерні наночастинки, які можуть викликати активацію комплементу, продукцію антитіл або розвиток запальних реакцій. Водночас екзосоми можуть бути модифіковані для регуляції імунної відповіді, що відкриває можливості для їх використання у вакцинології та імунотерапії. [21; 38]

Переваги екзосом перед синтетичними наночастинками є багатогранними.

По-перше, екзосоми мають природні механізми проникнення у клітини, що значно підвищує ефективність доставки. Вони здатні взаємодіяти з клітинною мембраною через рецепторно-опосередковані механізми або шляхом прямої фузії, що забезпечує швидке вивільнення вмісту у цитоплазму.

По-друге, екзосоми мають високу стабільність у фізіологічних умовах і здатні захищати свій вантаж від деградації ферментами, такими як нуклеази та протеази.

По-третє, вони мають природну здатність до таргетингу, що зумовлено специфічними білками поверхні, які визначають їхню взаємодію з певними типами клітин.

Особливо важливою властивістю екзосом є їхня здатність долати біологічні бар'єри. Одним із найскладніших бар'єрів є гематоенцефалічний бар'єр, який обмежує проникнення більшості лікарських засобів у центральну нервову систему. Екзосоми здатні проходити через цей бар'єр завдяки своїм розмірам, ліпідній природі та наявності специфічних білків, що взаємодіють із клітинами ендотелію. Це відкриває перспективи їх використання для лікування нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера або Паркінсона. Аналогічно, екзосоми здатні проходити через плацентарний бар'єр, що має значення для внутрішньоутробної доставки лікарських засобів або діагностичних маркерів.

Біосумісність екзосом також пов'язана з їхньою низькою цитотоксичністю. На відміну від багатьох синтетичних систем доставки, які можуть пошкоджувати клітинні мембрани або порушувати метаболічні процеси, екзосоми не викликають значних токсичних ефектів навіть при тривалому застосуванні. Це підтверджено численними експериментальними дослідженнями, в яких показано, що екзосоми не індукують апоптоз або некроз клітин у фізіологічних концентраціях.

Стабільність екзосом у біологічних рідинах є ще одним важливим фактором їхньої ефективності як транспортних систем. Ліпідний бішар захищає внутрішній вміст від деградації, що дозволяє екзосомам зберігати функціональну активність у крові, плазмі та інших середовищах. Дослідження показали, що екзосоми можуть залишатися стабільними

протягом тривалого часу навіть при зміні температури або рН, що робить їх перспективними для використання у фармакології та біотехнології.

З експериментальної точки зору, ефективність екзосом як систем доставки була продемонстрована у численних дослідженнях. Наприклад, у моделях онкологічних захворювань було показано, що екзосоми можуть використовуватися для доставки протипухлинних препаратів безпосередньо до пухлинних клітин, що підвищує ефективність лікування та знижує побічні ефекти. У нейробіологічних дослідженнях екзосоми використовувалися для доставки РНК у нейрони, що відкриває нові можливості для генної терапії.

Важливу роль у функціонуванні екзосом відіграють сигнальні шляхи, які регулюють їхню секрецію та взаємодію з клітинами. Серед них особливе значення мають шляхи **PI3K/Akt**, **MAPK**, **Wnt/β-катенін** та **NF-κB**, які контролюють процеси утворення, секреції та поглинання екзосом. Ці сигнальні каскади можуть змінювати склад екзосом і визначати їхню функціональну активність, що має значення як у фізіологічних, так і патологічних умовах.

2.2. Біотехнологічні стратегії інкапсуляції лікарських речовин у екзосоми як основа ефективної таргетної доставки

Однією з ключових умов практичного використання екзосом у фармакології та біотехнології є розробка ефективних методів інкапсуляції лікарських речовин у їхню структуру. Саме процес завантаження терапевтичних агентів визначає біодоступність, стабільність, специфічність доставки та загальну ефективність екзосом як нанотранспортних систем. Враховуючи складну будову екзосом, зокрема наявність ліпідного бішару, специфічних мембранних білків і внутрішнього молекулярного середовища, розробка методів інкапсуляції є складним технологічним завданням, що потребує глибокого розуміння фізико-хімічних і біологічних процесів.

Сучасні підходи до завантаження лікарських речовин у екзосоми умовно поділяються на два основні напрями: екзогенне (постсекреторне) та

ендогенне (пресекреторне) завантаження. Кожен із цих підходів має власні механістичні особливості, переваги та обмеження, що визначають їхню ефективність для різних типів терапевтичних агентів.

Екзогенне завантаження передбачає інкорпорацію лікарських речовин у вже ізольовані екзосоми після їхнього виділення з клітинного середовища. Цей підхід базується на фізичних і хімічних методах впливу на мембрану екзосом, які тимчасово порушують її цілісність або змінюють проникність, що дозволяє молекулам проникати всередину везикул. Одним із найпростіших методів є пасивна інкубація, при якій екзосоми змішуються з лікарською речовиною, і дифузія забезпечує проникнення гідрофобних молекул через ліпідний бішар. Цей метод характеризується мінімальним впливом на структуру екзосом, однак має обмежену ефективність, особливо для гідрофільних сполук.

Для підвищення ефективності завантаження широко застосовуються активні методи, зокрема електропорація, ультразвукова обробка (сонікація), цикли заморожування-розморожування, екструзія та використання поверхнево-активних речовин. Електропорація базується на створенні тимчасових пор у ліпідному бішарі під дією електричного поля, що дозволяє нуклеїновим кислотам, таким як **siRNA** або **miRNA**, проникати у внутрішній простір екзосом. Сонікація, у свою чергу, викликає механічні деформації мембрани, що також сприяє проникненню молекул, але може частково змінювати структурну організацію везикул.

Метод циклів заморожування та розморожування базується на повторному утворенні і руйнуванні кристалів льоду, що спричиняє тимчасове порушення цілісності мембрани. Екструзія полягає у продавлюванні екзосом через нанопористі мембрани, що сприяє їхньому ремоделюванню та включенню лікарських молекул. Хімічні методи, зокрема використання сапоніну або трансфекційних агентів, змінюють проникність мембрани шляхом взаємодії з ліпідним бішаром.

Загалом екзогенне завантаження характеризується високою технологічною доступністю, гнучкістю та можливістю масштабування. Однак його недоліками є потенційне пошкодження мембрани екзосом, зниження їхньої біологічної активності та обмежена ефективність для деяких типів молекул. [37; 20]

Ендогенне завантаження, на відміну від екзогенного, базується на використанні внутрішньоклітинних механізмів біогенезу екзосом. У цьому випадку клітини-донори модифікуються таким чином, щоб включати терапевтичні молекули у екзосоми під час їхнього формування. Це може досягатися шляхом генетичної інженерії, зокрема трансфекції клітин плазмідами або використання систем редагування геному, що дозволяє експресувати необхідні білки або РНК, які згодом сортуються у внутрішні везикули багатовезикулярних тілець. [22]

Іншим підходом є інкубація клітин із лікарськими речовинами, які потрапляють у клітину шляхом ендоцитозу і включаються у екзосоми під час їхнього формування. Такий підхід є особливо ефективним для гідрофобних препаратів, які здатні інтегруватися у мембранні структури. [20; 37]

Перевагами ендогенного завантаження є висока біологічна сумісність, збереження структурної цілісності екзосом та можливість селективного включення молекул. Крім того, цей підхід дозволяє використовувати природні механізми сортування, що підвищує специфічність доставки. Однак він є більш складним з технологічної точки зору, потребує модифікації клітин і характеризується нижчою продуктивністю.

Порівняльний аналіз ефективності завантаження показує, що вибір методу значною мірою залежить від типу лікарської речовини. Для малих гідрофобних молекул найбільш ефективним є пасивне екзогенне завантаження, оскільки вони легко дифундують через ліпідний бішар. Для гідрофільних молекул та нуклеїнових кислот більш ефективними є активні

методи, такі як електропорація або ендогенне завантаження через модифікацію клітин.

Дослідження показують, що активні методи екзогенного завантаження можуть забезпечувати вищий коефіцієнт інкапсуляції, однак вони можуть впливати на стабільність екзосом. Ендогенне завантаження, хоча і менш ефективне за кількістю інкапсульованого препарату, забезпечує більш фізіологічний розподіл молекул і кращу функціональну активність.

Експериментальні дані підтверджують ефективність різних методів. Наприклад, було показано, що екзосоми, завантажені куркуміном методом ко-інкубації, демонструють підвищену стабільність і біодоступність препарату *in vivo*, а також знижують запальні реакції у модельних організмах. У дослідженнях із використанням нуклеїнових кислот було встановлено, що електропорація дозволяє ефективно доставляти генетичний матеріал у клітини-мішені, що відкриває перспективи для генної терапії.

2.3. Критичні обмеження та виклики застосування екзосом у фармакології та біотехнології

Попри значний потенціал екзосом як природних нанотранспортних систем, їх практичне використання у фармакології та біотехнології супроводжується низкою суттєвих обмежень, які стримують широке впровадження цих структур у клінічну практику. Основні труднощі пов'язані з технологічною складністю їх виділення та очищення, недостатньою ефективністю інкапсуляції лікарських речовин, а також обмеженнями у масштабуванні виробництва, що у сукупності формує комплексну проблему стандартизації, відтворюваності та економічної доцільності використання екзосом. [17; 18]

Однією з найбільш значущих проблем є складність виділення та очищення екзосом із біологічних середовищ. Екзосоми присутні у різних біологічних рідинах - плазмі крові, сечі, слині, культуральних середовищах клітин - однак їх концентрація є відносно низькою, а розміри знаходяться у

нанодіапазоні, що ускладнює їх відокремлення від інших компонентів, зокрема білків, ліпопротеїнів та інших типів позаклітинних везикул. Важливою проблемою є також гетерогенність популяції екзосом, оскільки навіть у межах одного типу клітин вони можуть відрізнятися за розміром, складом і функціональними властивостями.

Таблиця 2.3.1

Короткий зміст та порівняння різних методів виділення екзосом

Метод	Переваги	Недоліки
Ультрацентрифугування	Отримання екзосом з високою концентрацією, придатною для великомасштабної ізоляції	Складна робота обладнання, низька ефективність виділення та можливі втрати екзосом
Фільтрація	Висока чистота екзосом, короткий час обробки, можливість фракціонування за розміром	Необхідність точного підбору розміру пор; швидкість залежить від концентрації зразка
Диференціальне центрифугування	Висока чистота та збереження структурної цілісності екзосом	Багатоетапний і трудомісткий процес

Центрифугування в градієнті щільності	Ефективне розділення екзосом за щільністю	Складність підготовки градієнтів, потреба в досвіді та точному контролі умов
Імуномагнітне розділення кульок	Висока специфічність, селективне виділення цільових екзосом	Висока вартість, складність процедури, можливий вплив на структуру екзосом
Розмірно-ексклюзійна хроматографія	Проста процедура, ефективне видалення білкових агрегатів та домішок	Можливе порушення мембрани та функціональних властивостей екзосом

Найбільш поширеним методом виділення екзосом є диференціальне ультрацентрифугування, яке базується на послідовному осадженні частинок залежно від їхньої маси та розміру. Незважаючи на свою популярність, цей метод має низку недоліків, включаючи тривалість процесу, потребу у спеціалізованому обладнанні та ризик коізоляції небажаних компонентів, таких як білкові агрегати або інші везикули. Альтернативні методи, такі як ультрафільтрація, імуноафінне виділення та хроматографія, дозволяють підвищити чистоту екзосом, однак часто супроводжуються зниженням виходу або підвищенням вартості процесу.

Імуноафінні методи, що базуються на використанні антитіл до специфічних маркерів екзосом (наприклад, **CD63**, **CD81**), забезпечують високу специфічність, проте їх застосування обмежене через високу вартість реагентів та складність масштабування. Хроматографічні методи, зокрема розмірно-ексклюзійна хроматографія, демонструють кращу відтворюваність, але потребують оптимізації для кожного типу біологічного матеріалу. Таким

чином, жоден із існуючих методів не є універсальним, що створює значні труднощі у стандартизації процесів отримання екзосом.

Другою критичною проблемою є низька ефективність інкапсуляції лікарських речовин у екзосоми. Незважаючи на розвиток численних методів завантаження, більшість із них характеризується обмеженою здатністю до включення терапевтичних агентів у достатній кількості. Це особливо актуально для гідрофільних молекул і великих біомолекул, таких як нуклеїнові кислоти, які важко проходять через ліпідний бішар екзосом.

Екзогенні методи завантаження, такі як електропорація або сонікація, хоча й підвищують ефективність інкапсуляції, можуть порушувати структурну цілісність екзосом, змінювати їхній білковий склад або викликати агрегацію везикул. Наприклад, у випадку електропорації було показано, що нуклеїнові кислоти можуть формувати агрегати, що знижує ефективність їх доставки у клітини-мішені. У свою чергу, пасивна інкубація забезпечує низький рівень завантаження, що обмежує її практичне застосування.

Ендогенні методи завантаження, засновані на модифікації клітин-донорів, дозволяють отримувати екзосоми з більш фізіологічним розподілом молекул, однак вони також мають обмеження. Зокрема, ефективність включення терапевтичних агентів залежить від клітинних механізмів сортування, які не завжди можна точно контролювати. Крім того, генетична модифікація клітин може змінювати їхню функціональну активність і викликати небажані побічні ефекти.

Ще одним важливим аспектом є нестабільність інкапсульованих молекул та можливість їх витоку з екзосом під час зберігання або транспортування. Це особливо актуально для РНК-молекул, які є чутливими до дії нуклеаз і можуть деградувати навіть за наявності захисної мембрани.

Третьою суттєвою проблемою є обмеження у масштабуванні виробництва екзосом. Для клінічного застосування необхідно отримувати великі кількості екзосом із стабільними характеристиками, що є складним

завданням з огляду на біологічну природу цих структур. Продукція екзосом залежить від типу клітин, умов культивування та багатьох інших факторів, що ускладнює контроль процесу.

Культивування клітин у великих масштабах потребує використання біореакторів, оптимізації поживних середовищ і контролю параметрів росту, що значно підвищує вартість виробництва. Крім того, при масштабуванні можуть змінюватися властивості екзосом, включаючи їхній розмір, склад і функціональну активність. Це створює труднощі у забезпеченні відтворюваності та якості продукту.

Стандартизація процесів виробництва екзосом є ще одним викликом. Відсутність єдиних протоколів виділення, очищення та зберігання ускладнює порівняння результатів різних досліджень і впровадження екзосом у клінічну практику. Міжнародні організації, такі як **ISEV (International Society for Extracellular Vesicles)**, намагаються розробити рекомендації щодо стандартизації, однак ці підходи ще перебувають на стадії розвитку.

Не менш важливим є питання безпеки та регуляторного контролю. Оскільки екзосоми є біологічними продуктами, їх використання потребує ретельної оцінки ризиків, включаючи можливість передачі патогенів або небажаних молекул. Це вимагає розробки строгих протоколів контролю якості та відповідності міжнародним стандартам.

Сукупність зазначених проблем свідчить про те, що, незважаючи на значний потенціал екзосом, їх використання у фармакології та біотехнології потребує подальших досліджень і технологічних удосконалень. Подолання цих викликів можливе шляхом інтеграції новітніх підходів, таких як нанобіотехнології, генетична інженерія та автоматизовані системи виробництва, що дозволить підвищити ефективність, безпечність і доступність екзосомних препаратів.

РОЗДІЛ 3. МОДИФІКАЦІЯ ЕКЗОСОМ ДЛЯ ЕФЕКТИВНОЇ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

3.1. Генетична інженерія клітин-продуцентів як інструмент програмування функціональних властивостей екзосом

Генетичні методи модифікації клітин-донорів екзосом є одним із найбільш перспективних напрямів сучасної біотехнології, що дозволяє цілеспрямовано змінювати молекулярний склад, функціональні властивості та таргетну специфічність екзосом. Оскільки екзосоми формуються внаслідок внутрішньоклітинних процесів, їхній вміст і поверхневі характеристики безпосередньо залежать від генетичного та метаболічного стану клітин-продуцентів. Це створює можливість керованого впливу на склад екзосом шляхом модифікації експресії певних генів, що відкриває широкі перспективи для створення індивідуалізованих систем доставки лікарських речовин.

Основою генетичної модифікації клітин є використання технологій трансфекції та трансдукції, які дозволяють вводити у клітини екзогенні нуклеїнові кислоти або змінювати експресію ендогенних генів. Найбільш поширеними є методи плазмідної трансфекції, вірусної трансдукції та редагування геному за допомогою систем **CRISPR/Cas**. Плазмідна трансфекція дозволяє тимчасово експресувати необхідні білки або РНК, які

можуть бути включені у екзосоми в процесі їхнього біогенезу. Вірусні вектори, зокрема лентівірусні та аденоасоційовані, забезпечують стабільну інтеграцію генетичного матеріалу у геном клітини, що дозволяє отримувати тривалу експресію та стабільне продукування модифікованих екзосом. [11; 12]

Особливу роль у сучасних підходах відіграє технологія **CRISPR/Cas9**, яка дозволяє здійснювати точкові зміни у геномі клітини, включаючи нокаут, нокаін або заміну генів. Це дає змогу не лише вводити нові функції, але й вимикати небажані гени, що можуть впливати на склад екзосом. Наприклад, шляхом редагування генів, що відповідають за сортування білків, можна підвищити селективність включення терапевтичних молекул у екзосоми.

Одним із ключових аспектів генетичної модифікації є контроль завантаження нуклеїнових кислот у екзосоми. Було встановлено, що клітини здатні селективно сортувати певні типи РНК у екзосоми за участю специфічних РНК-зв'язуючих білків, таких як **hnRNPA2B1**, **YBX1** та **Ago2**. Генетична модифікація клітин, спрямована на підвищення експресії цих білків або зміну їхньої специфічності, дозволяє ефективно завантажувати терапевтичні **miRNA**, **siRNA** або **mRNA** у екзосоми.

Крім внутрішнього вмісту, генетичні методи дозволяють модифікувати поверхню екзосом, що є критично важливим для забезпечення їхньої таргетної доставки. Це досягається шляхом експресії химерних білків, які локалізуються на мембрані екзосом і містять специфічні лігандні домени. Наприклад, білки родини тетраспанінів (**CD63**, **CD9**, **CD81**) або мембранні білки, такі як **Lamp2b**, можуть бути використані як платформи для експонування пептидів, антитіл або інших молекул, що забезпечують специфічне зв'язування з клітинами-мішенями. Такий підхід дозволяє створювати екзосоми з високою селективністю до пухлинних клітин, нейронів або інших типів тканин.

Важливим напрямом є також модифікація сигнальних шляхів клітин-донорів з метою регуляції процесів біогенезу та секреції екзосом. Відомо, що такі сигнальні каскади, як **PI3K/Akt**, **MAPK**, **Wnt** та **NF-κB**, впливають на утворення багатовезикулярних тілець і секрецію екзосом. Генетичне втручання у ці шляхи дозволяє змінювати кількість продукуємих екзосом, їхній склад та функціональні властивості. Наприклад, активація шляху **Rab GTPаз**, зокрема **Rab27a** та **Rab27b**, сприяє підвищенню секреції екзосом.

Експериментальні дослідження підтверджують ефективність генетичних методів модифікації клітин. У ряді робіт було показано, що екзосоми, отримані з генетично модифікованих клітин, можуть ефективно доставляти терапевтичні РНК у клітини-мішені, пригнічуючи експресію патологічних генів. Наприклад, використання екзосом для доставки **siRNA** проти онкогенів призводило до зниження проліферації пухлинних клітин у модельних системах. Аналогічно, екзосоми, модифіковані для експресії специфічних лігандів, демонстрували підвищену здатність до накопичення у цільових тканинах.

Разом з тим, генетична модифікація клітин-донорів супроводжується низкою викликів. Однією з основних проблем є потенційна нестабільність генетичних змін, особливо у випадку використання плазмідної трансфекції. Вірусні методи, хоча і забезпечують стабільну експресію, пов'язані з ризиком інтеграції у геном і можливими мутаціями. Крім того, генетичні зміни можуть впливати на фізіологічний стан клітин, що може призводити до зміни властивостей екзосом. [36; 45]

Ще одним важливим аспектом є безпека застосування генетично модифікованих екзосом. Оскільки вони можуть переносити біологічно активні молекули, існує ризик небажаного впливу на клітини-мішені, включаючи активацію онкогенних процесів або імунних реакцій. Це вимагає ретельного контролю складу екзосом та розробки стандартів їхньої оцінки.

З технологічної точки зору, генетична модифікація клітин-донорів є складним процесом, що потребує оптимізації умов трансфекції, відбору стабільних клітинних ліній та контролю експресії генів. Крім того, необхідно забезпечити відтворюваність результатів та масштабованість процесу, що є важливим для клінічного застосування.

У сучасних дослідженнях активно розробляються комбіновані підходи, які поєднують генетичну модифікацію клітин із фізико-хімічними методами завантаження екзосом. Це дозволяє досягти більш високої ефективності інкапсуляції та таргетної доставки. Наприклад, клітини можуть бути модифіковані для експресії специфічних рецепторів, а після виділення екзосоми додатково завантажуються лікарськими речовинами за допомогою електропорації.

3.2. Хімічні та фізичні методи модифікації поверхні екзосом

Хімічні та фізичні методи модифікації поверхні екзосом становлять один із ключових напрямів сучасної нанобіотехнології, спрямований на покращення їхніх транспортних характеристик, стабільності, біорозподілу та специфічності взаємодії з клітинами-мішенями. На відміну від генетичних підходів, що реалізуються на рівні клітин-продуцентів, фізико-хімічна модифікація здійснюється безпосередньо після виділення екзосом, що забезпечує більшу гнучкість у керуванні їхніми властивостями та дозволяє адаптувати екзосомні системи до конкретних терапевтичних завдань.

Поверхня екзосом представлена ліпідним бішаром, що містить широкий спектр білків, глікопротеїнів та ліпідів, які визначають їхню взаємодію з біологічним середовищем. Саме ця мембрана є основною мішенню для модифікації, оскільки зміна її складу або властивостей дозволяє контролювати фармакокінетичні характеристики екзосом, включаючи час циркуляції, проникність через бар'єри та здатність до клітинного поглинання.

Хімічні методи модифікації базуються на ковалентному або нековалентному зв'язуванні функціональних молекул із компонентами

мембрани екзосом. Одним із найбільш поширених підходів є використання реакцій «click chemistry», зокрема азид-алкінового циклоприєднання, що дозволяє швидко та селективно приєднувати різноманітні функціональні групи до поверхні екзосом. Цей метод характеризується високою ефективністю, специфічністю та мінімальним впливом на структурну цілісність екзосом.

Іншим важливим підходом є використання карбодіїмідної хімії, яка дозволяє утворювати амідні зв'язки між карбоксильними та аміногрупами білків і ліпідів мембрани. Це дає можливість приєднувати антитіла, пептиди або інші ліганди, що забезпечують специфічне розпізнавання клітин-мішеней. Наприклад, кон'югація екзосом із антитілами проти рецепторів пухлинних клітин дозволяє значно підвищити їхню селективність і ефективність доставки протипухлинних препаратів. [32; 24] [37]

Важливим напрямом є також модифікація поверхні екзосом за допомогою полімерів, зокрема поліетиленгліколю (PEG). Процес PEGілювання забезпечує формування гідрофільного шару на поверхні екзосом, що знижує їхню взаємодію з компонентами імунної системи та подовжує час циркуляції у крові. Це дозволяє уникнути швидкого кліренсу екзосом макрофагами та підвищити їхню біодоступність. Однак надмірне PEGілювання може знижувати здатність екзосом до взаємодії з клітинами-мішенями, що потребує оптимізації цього процесу.

Нековалентні методи модифікації включають електростатичні взаємодії, гідрофобні ефекти та вставку ліпід-мічених молекул у мембрану екзосом. Наприклад, використання амфіфільних молекул, що містять гідрофобні «якорі», дозволяє інтегрувати функціональні групи у ліпідний бішар без порушення його цілісності. Такий підхід широко застосовується для введення флуоресцентних міток, таргетних лігандів або терапевтичних молекул.

Фізичні методи модифікації поверхні екзосом включають застосування ультразвуку, екструзії, електричних полів та інших фізичних впливів, які змінюють структуру мембрани та сприяють інтеграції функціональних компонентів. Сонікація дозволяє тимчасово порушувати організацію ліпідного бішару, що полегшує включення молекул у мембрану. Екструзія, у свою чергу, сприяє формуванню гомогенних популяцій екзосом із модифікованими властивостями.

Особливе значення мають методи гібридизації екзосом із синтетичними наночастинками або ліпосомами. У результаті таких процесів утворюються гібридні везикули, які поєднують переваги природних і штучних систем доставки. Це дозволяє підвищити стабільність, збільшити ємність для інкапсуляції лікарських речовин і покращити контроль над їхнім вивільненням.

Значну увагу у сучасних дослідженнях приділяють модифікації екзосом для подолання біологічних бар'єрів і забезпечення таргетної доставки. Хімічне приєднання лігандів, що взаємодіють із рецепторами ендотеліальних клітин, дозволяє екзосомам проникати через гематоенцефалічний бар'єр. Аналогічно, модифікація поверхні екзосом пептидами, що розпізнають пухлинні клітини, сприяє їхньому накопиченню у пухлинній тканині.

Експериментальні дослідження демонструють, що модифіковані екзосоми мають значно покращені функціональні характеристики. Наприклад, PEGілювання дозволяє збільшити час циркуляції екзосом у крові у декілька разів, тоді як кон'югація з таргетними лігандами підвищує ефективність доставки лікарських речовин у клітини-мішені. У моделях онкологічних захворювань було показано, що модифіковані екзосоми забезпечують більш ефективне пригнічення росту пухлин у порівнянні з немодифікованими.

Разом з тим, фізико-хімічна модифікація екзосом супроводжується рядом викликів. Однією з основних проблем є можливість порушення структурної цілісності мембрани, що може впливати на стабільність і функціональність екзосом. Крім того, деякі методи можуть змінювати природний склад білків і ліпідів, що впливає на їхню біологічну активність.

Іншим важливим аспектом є контроль ступеня модифікації. Надмірна функціоналізація поверхні може призводити до агрегації екзосом або зміни їхніх фармакокінетичних властивостей. Тому необхідно оптимізувати умови модифікації з урахуванням типу екзосом і цільового застосування.

Також важливим є питання відтворюваності та стандартизації методів модифікації. Різні підходи можуть давати різні результати залежно від умов експерименту, що ускладнює їх порівняння та впровадження у клінічну практику.

3.3. Молекулярні стратегії підвищення специфічності таргетної доставки лікарських засобів із використанням екзосом

Однією з ключових переваг екзосом як систем доставки лікарських речовин є їхня природна здатність до міжклітинної комунікації, яка включає механізми селективного розпізнавання та взаємодії з клітинами-мішенями. Проте для досягнення високої ефективності терапії, особливо у випадку онкологічних, нейродегенеративних та запальних захворювань, необхідно суттєво підвищити специфічність таргетної доставки. Це досягається шляхом використання молекулярних стратегій, що включають модифікацію поверхні екзосом лігандами, антитілами та рецепторними білками, які забезпечують селективне зв'язування з певними типами клітин і тканин.

Молекулярні механізми таргетної доставки базуються на специфічних взаємодіях між лігандами, що знаходяться на поверхні екзосом, і рецепторами клітин-мішеней. У природних умовах екзосоми вже містять широкий спектр білків, таких як інтегрини, тетраспаніни та адгезивні молекули, які визначають їхній біорозподіл. Однак ці механізми є

недостатньо специфічними для терапевтичних цілей, що обумовлює необхідність їхнього штучного посилення.

Одним із найбільш ефективних підходів є використання пептидних лігандів, які мають високу афінність до специфічних рецепторів на поверхні клітин. Такі ліганди можуть бути інтегровані у мембрану екзосом шляхом генетичної модифікації клітин-донорів або фізико-хімічної кон'югації. Наприклад, пептиди, що розпізнають рецептори ендотеліальних клітин мозку, дозволяють екзосомам ефективно долати гематоенцефалічний бар'єр і доставляти лікарські речовини у центральну нервову систему. Аналогічно, використання пептидів, що зв'язуються з рецепторами пухлинних клітин, забезпечує селективне накопичення екзосом у пухлинній тканині. [37; 24]

Антитіла є ще одним потужним інструментом підвищення специфічності таргетної доставки. Вони характеризуються високою селективністю до антигенів, що експресуються на поверхні клітин-мішеней. Кон'югація екзосом із моноклональними антитілами дозволяє створювати високоспецифічні системи доставки, які здатні розпізнавати навіть незначні відмінності у молекулярному профілі клітин. Наприклад, екзосоми, модифіковані антитілами проти рецептора HER2, демонструють підвищену ефективність доставки лікарських препаратів у клітини раку молочної залози.

Важливим аспектом є також використання фрагментів антитіл, таких як Fab або scFv, які мають менший розмір і кращу проникність у тканини. Це дозволяє зменшити імуногенність і покращити фармакокінетичні характеристики екзосом. Крім того, такі фрагменти можуть бути легше інтегровані у мембрану екзосом.

Рецепторні білки та їхні ліганди відіграють ключову роль у забезпеченні таргетної доставки. Генетична модифікація клітин-донорів дозволяє експресувати на поверхні екзосом рецептори або ліганди, які специфічно взаємодіють із клітинами-мішенями. Наприклад, експресія білка Lamp2b, злитого з таргетним пептидом, дозволяє спрямовувати екзосоми до

певних тканин. Аналогічно, використання трансмембранних білків як платформ для експонування лігандів є ефективною стратегією підвищення специфічності.

Суттєву роль у таргетній доставці відіграють інтегрини, які визначають органоспецифічність екзосом. Було показано, що певні комбінації інтегринів асоційовані з накопиченням екзосом у конкретних органах, таких як легені, печінка або мозок. Це явище використовується для розробки екзосомних систем, здатних доставляти лікарські речовини до визначених тканин.

Окрім білкових взаємодій, важливу роль відіграють глікани та інші поверхневі молекули, які можуть впливати на розпізнавання екзосом клітинами. Модифікація глікозилювання поверхневих білків дозволяє змінювати їхню афінність до рецепторів і покращувати таргетну доставку.

Експериментальні дослідження підтверджують ефективність молекулярних стратегій таргетингу. У ряді робіт було показано, що модифіковані екзосоми мають значно вищу ефективність доставки лікарських речовин у порівнянні з немодифікованими. Наприклад, екзосоми, функціоналізовані пептидами **RVG (rabies virus glycoprotein)**, демонстрували високу ефективність доставки **siRNA** у нейрони, що відкриває перспективи для лікування нейродегенеративних захворювань.

У онкологічних моделях було показано, що таргетні екзосоми здатні селективно накопичуватися у пухлинній тканині, що дозволяє зменшити системну токсичність і підвищити ефективність терапії. Це особливо важливо для хіміотерапевтичних препаратів, які мають значні побічні ефекти.

Разом з тим, розробка таргетних екзосомних систем супроводжується рядом викликів. Однією з основних проблем є складність контролю щільності та орієнтації лігандів на поверхні екзосом, що впливає на ефективність зв'язування з клітинами-мішенями. Крім того, надмірна

функціоналізація може призводити до агрегації екзосом або зміни їхніх фізико-хімічних властивостей.

Іншим важливим аспектом є можливість імунної відповіді на модифіковані екзосомы, особливо у випадку використання чужорідних білків або антитіл. Це вимагає ретельного підбору компонентів і оцінки їхньої безпеки.

Також важливим є питання стабільності таргетних екзосом у біологічних середовищах. Ліганди можуть втрачати свою активність або відокремлюватися від поверхні екзосом, що знижує ефективність доставки. Тому необхідно розробляти стабільні методи кон'югації та зберігання.

У сучасній біомедицині активно досліджуються комбіновані підходи, які поєднують різні стратегії таргетингу, включаючи використання лігандів, антитіл і генетичної модифікації. Це дозволяє створювати багатофункціональні екзосомы з високою специфічністю та ефективністю.

3.4. Перспективи клінічного та терапевтичного застосування модифікованих екзосом у сучасній медицині

Модифіковані екзосомы сьогодні розглядаються як один із найперспективніших напрямів у біотехнології та сучасній медицині, що поєднує унікальні природні властивості міжклітинних везикул із можливістю точного контролю їхніх фармакологічних характеристик. Природні екзосомы мають високу біосумісність, здатність долати біологічні бар'єри та забезпечують захист інкапсульованих лікарських молекул від деградації у біологічних рідинах. Однак їхній потенціал значно розширюється через застосування різноманітних методів модифікації, включаючи генетичні, фізико-хімічні та таргетні підходи, що дозволяють створювати багатофункціональні, специфічні та стабільні системи доставки терапевтичних агентів.

Однією з головних перспектив є використання модифікованих екзосом для терапії онкологічних захворювань. Підвищена специфічність до

пухлинних клітин досягається шляхом інтеграції на поверхню екзосом антитіл, пептидних лігандів або рецепторних білків, що забезпечують селективне накопичення в пухлинній тканині та зменшують системну токсичність лікарських препаратів. Наприклад, експериментальні моделі показали, що екзосоми, модифіковані антитілами проти **HER2**, забезпечують ефективну доставку хіміотерапевтичних агентів у клітини раку молочної залози, зменшуючи пошкодження здорових тканин.

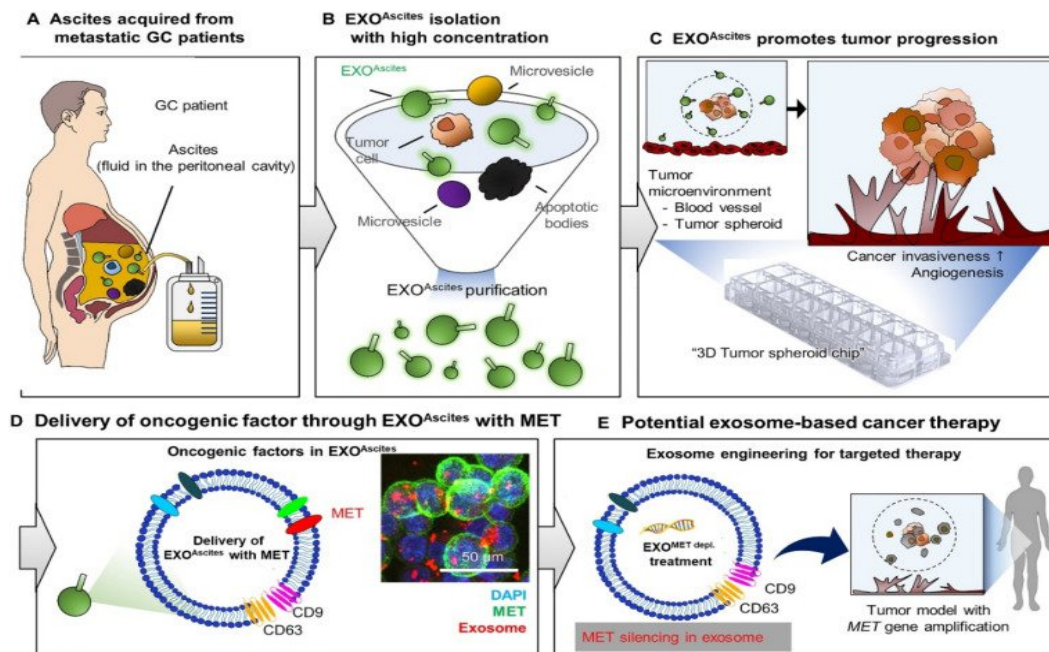


Рис. 3.4.1. Застосована екзосомна терапія як персоналізована медицина при раку шлунка.

Використання пептидів, таких як **RVG (rabies virus glycoprotein)**, забезпечує доставку терапевтичних молекул у клітини нервової системи через гематоенцефалічний бар'єр, що відкриває перспективи для лікування нейродегенеративних хвороб, таких як хвороба Альцгеймера та Паркінсона.

Модифікація екзосом також дозволяє реалізовувати персоналізовані підходи до терапії. Клітини-продуценти можна обирати або генетично модифікувати залежно від конкретних потреб пацієнта, наприклад для доставки малих молекул, нуклеїнових кислот (**siRNA, miRNA, mRNA**) або протеїнів. Ця стратегія забезпечує високий ступінь адаптації лікування до

молекулярного профілю захворювання, що особливо актуально для онкології та генетичних захворювань.

Біосумісність та низька імуногенність екзосом забезпечують їхню безпечність при системному застосуванні, а можливість таргетного направлення зменшує необхідність високих доз лікарських агентів, що підвищує ефективність терапії та зменшує побічні ефекти. Крім того, стабільність модифікованих екзосом у біологічних рідинах дозволяє застосовувати їх у різних фармакологічних режимах, включаючи внутрішньовенне введення, інгаляційні системи та місцеве застосування.

Сучасні дослідження демонструють також перспективу використання модифікованих екзосом у регенеративній медицині. Екзосоми, які містять сигнальні білки, **miRNA** або фактори росту, здатні стимулювати проліферацію та диференціацію клітин, зменшувати запальні процеси та сприяти регенерації тканин. Це відкриває перспективи для застосування у відновленні серцевого м'яза після інфаркту, лікуванні уражень печінки, шкіри та хрящової тканини.

Іншою важливою областю є імунотерапія. Модифіковані екзосоми можуть бути використані для доставлення антигенів або імуномодуючих агентів у специфічні клітини імунної системи, що дозволяє формувати таргетовану імунну відповідь. Цей підхід розглядається для лікування аутоімунних захворювань, онкологічних захворювань та вірусних інфекцій.

Однак застосування модифікованих екзосом у клінічній практиці супроводжується низкою викликів. Однією з основних проблем є масштабування виробництва, оскільки методи виділення та модифікації екзосом повинні бути стандартизовані для забезпечення високої реплікабельності та контролю якості. Крім того, необхідно враховувати стабільність екзосом при тривалому зберіганні, ефективність інкапсуляції лікарських агентів та контроль їхнього вивільнення у тканинах-мішенях. Важливим є також оцінювання потенційної імунної відповіді на

модифіковані екзосоми та безпечності використання різних хімічних чи генетичних модифікацій у людських пацієнтів.

Незважаючи на виклики, численні експериментальні дані свідчать про високу ефективність модифікованих екзосом. Дослідження на моделях тварин показали, що таргетні екзосоми значно підвищують ефективність доставки лікарських речовин, забезпечують їхню селективну акумуляцію у тканинах-мішенях та сприяють зниженню токсичності терапії. Крім того, комбінація різних методів модифікації дозволяє створювати багатофункціональні системи, що одночасно забезпечують доставку, захист та контроль над фармакокінетикою лікарських агентів.

Важливо відзначити потенціал модифікованих екзосом у комбінаційній терапії. Вони можуть поєднувати доставку хіміотерапевтичних препаратів, генетичних конструкцій та імуномодуючих агентів, що відкриває нові перспективи для комплексного лікування складних захворювань, включаючи резистентні форми раку, нейродегенеративні патології та системні запальні процеси.

Перспективи клінічного застосування модифікованих екзосом також пов'язані з розвитком персоналізованої медицини. Інтеграція молекулярного профілю пацієнта, характеристик пухлини або уражених тканин із можливостями модифікації екзосом дозволяє створювати індивідуальні терапевтичні системи, що максимально ефективно взаємодіють із цільовими клітинами та мінімізують побічні ефекти. Це сприяє підвищенню ефективності терапії та оптимізації фармакологічних схем лікування.

ВИСНОВКИ

У результаті виконаної кваліфікаційної роботи було здійснено комплексний теоретичний аналіз сучасних підходів до біотехнологічної модифікації екзосом з метою підвищення ефективності інкапсуляції лікарських речовин та забезпечення їх специфічної доставки до клітин-мішеней. Узагальнення наукових даних показало, що екзосоми є природними нанорозмірними позаклітинними везикулами, які відіграють ключову роль у міжклітинній комунікації, транспортуванні біологічно активних молекул та регуляції клітинних процесів. Їхні структурно-молекулярні особливості, зокрема наявність ліпідного бішару, специфічних мембранних білків і функціонально активного внутрішнього вмісту, забезпечують високу біосумісність, стабільність і здатність до вибіркової взаємодії з клітинами-реципієнтами.

Встановлено, що біогенез екзосом є складним багатоступеневим процесом, який відбувається за участю ендосомальної системи клітини та включає формування мультивезикулярних тілець і внутрішньопросвітних везикул, що надалі секретуються у позаклітинний простір. Важливу роль у цих процесах відіграють ESCRT-залежні та ESCRT-незалежні механізми, а також регуляторні білки та ліпіди, що визначають склад і функціональні властивості екзосом. Проаналізовано, що ефективність інкапсуляції лікарських речовин значною мірою залежить від фізико-хімічних характеристик активних сполук, обраного методу завантаження та стабільності мембрани екзосом. Розглянуті методи, такі як електропорація,

сонікація, пасивна інкубація та цикли заморожування-відтавання, мають різну ефективність і обмеження, що зумовлює необхідність оптимізації умов їх застосування.

Доведено, що підвищення ефективності таргетної доставки можливе за рахунок використання сучасних біотехнологічних підходів, зокрема генетичної модифікації клітин-продуцентів, хімічної та фізичної модифікації поверхні екзосом, а також комбінованих стратегій, які дозволяють покращити специфічність взаємодії з клітинами-мішенями та збільшити біодоступність лікарських засобів. Узагальнення наукових даних свідчить про значний потенціал екзосом як інноваційних систем доставки у різних галузях медицини, включаючи онкологію, неврологію та регенеративну медицину, де вони можуть забезпечувати більш ефективне та безпечне транспортування терапевтичних агентів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Краснопольський Ю. М., Пилипенко Д. М. Фармацевтична біотехнологія. Харків : Друкарня Мадрид, 2022. 151 с.
2. Краснопольський Ю. М., Пилипенко Д. М. Біотехнологія лікарських засобів. Харків : НТУ «ХПІ», 2020. 279 с.
3. Краснопольський Ю. М. Нанобіотехнології у фармації. Харків : Факт, 2019. 312 с.
4. Завражна О. М., Пасько О. О. Основи нанотехнологій. Суми : СумДПУ ім. А. С. Макаренка, 2016. 184 с.
5. Білоус Т. А. Біотехнологія. Київ : Ліра-К, 2018. 280 с.
6. Губський Ю. І. Біологічна хімія. Київ : Нова книга, 2017. 656 с.
7. Коваленко В. М. Фармакологія. Київ : ВСВ «Медицина», 2020. 512 с.
8. Шандра О. А. Основи молекулярної біології. Одеса : Астропринт, 2019. 300 с.
9. Слободян О. М. Клітинна біологія. Львів : Світ, 2018. 420 с.
10. Романюк С. І. Біофізика клітини. Київ : Вища школа, 2017. 350 с.
11. Маєвська Т. Г., Прохоренко С. М., Федік Ю. М. Екзосоми: молекулярні шляхи дії та фармакологічний потенціал // Українські медичні вісті. 2025. № 1. С. 45–52.
12. Матвєєнко М. С., Гладких Ф. В., Олексюк О. Б. Терапевтичний потенціал екзосом // Імунологічний журнал. 2024. № 7. С. 84–97.
13. Радченко В. В., Єльчанінова Т. І. Позаклітинні везикули у фізіології та патології // Український медичний журнал. 2024. № 1. С. 97–104.

14. Петренко О. В. Наночастинки у фармакології // Фармацевтичний журнал. 2021. № 3. С. 12–18.
15. Литвиненко І. М. Системи доставки лікарських засобів // Медична хімія. 2022. № 2. С. 33–40.
16. Кравченко Л. С. Біомедичні технології. Київ : КНУ, 2020. 210 с.
17. Демченко Н. І. Основи генетичної інженерії. Харків : ХНУ, 2019. 280 с.
18. Сидоренко В. П. Молекулярна генетика. Київ : Наукова думка, 2018. 350 с.
19. Олійник О. М. Біотехнологія клітин. Львів : ЛНУ, 2021. 260 с.
20. Ткаченко О. В. Фармацевтична технологія. Київ : Медицина, 2019. 400 с.
21. Бойко Н. В. Наномедицина: сучасні підходи. Львів : Сполом, 2020. 230 с.
22. Федоренко І. П. Біоматеріали у медицині. Київ : Академперіодика, 2021. 310 с.
23. Мельник А. С. Клітинні технології. Харків : Основа, 2020. 270 с.
24. Гнатюк В. І. Основи біоінженерії. Київ : Політехніка, 2019. 290 с.
25. Савчук Л. І. Біохімія клітини. Київ : Вища школа, 2017. 410 с.
26. Іваненко П. М. Фізико-хімічні методи дослідження. Київ : НУБіП, 2018. 300 с.
27. Марченко Т. О. Методи молекулярної біології. Харків : ХНУ, 2020. 280 с.
28. Баранов О. С. Біостатистика. Київ : Центр учбової літератури, 2019. 250 с.
29. Кузьменко І. В. Аналіз наукових даних. Київ : Ліра-К, 2021. 220 с.
30. Дорошенко М. П. Сучасні біотехнології. Київ : Академія, 2020. 330 с.
31. Левченко В. О. Імунологія. Київ : Медицина, 2018. 360 с.
32. Павленко Г. І. Фармацевтична хімія. Київ : Медицина, 2021. 420 с.
33. Яценко О. Л. Клітинні мембрани. Київ : Наукова думка, 2017. 300 с.
34. Бондаренко С. М. Біологія клітини. Харків : Фоліо, 2019. 340 с.
35. Гриценко І. О. Генетика людини. Київ : Вища школа, 2018. 380 с.
36. Назаренко В. М. Біомедична інженерія. Київ : КПІ, 2021. 260 с.

37. Чумак О. В. Технології доставки лікарських засобів. Київ : Ліра-К, 2022. 240 с.
38. Пономаренко А. І. Наночастинки у медицині. Харків : Основа, 2020. 300 с.
39. Данилюк С. П. Біотехнологічні процеси. Львів : Сполом, 2021. 310 с.
40. Колесник Ю. В. Клітинні сигнальні шляхи. Київ : Академія, 2020. 290 с.
41. Кравець О. І. Біоінформатика. Київ : Центр учбової літератури, 2021. 260 с.
42. Стеценко В. І. Основи наномедицини. Київ : Політехніка, 2022. 300 с.
43. Gurunathan S, Kang MH, Jeyaraj M, Qasim M, & Kim JH. Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. Cells. 2019; 8(4), 307.
URL:<https://doi.org/10.3390/cells8040307>.
44. Nitkin CR, Rajasingh J, Pisano C, Besner GE, Thébaud B, & Sampath V. Stem cell therapy for preventing neonatal diseases in the 21st century: Current understanding and challenges. Pediatric research. 2020; 87(2), 265–276.
U R L : <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0425-5>.
45. Villatoro AJ, Alcoholado C, Martín-Astorga MC, Fernández V, Cifuentes M, & Becerra J. Comparative analysis and characterization of soluble factors and exosomes from cultured adipose tissue and bone marrow mesenchymal stem cells in canine species. Veterinary immunology and immunopathology. 2019; 208, 6–15.
URL:<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.12.003>.