لیزر در پزشکی 1402/ دوره بیستم / شماره (3-4) / صفحات 25-15.

مقاله مروری

اثرات اگزوزوم‌های منشأ گرفته از سلول‌های خونی بر ترمیم زخم‌های مزمن

علیرضا صادقی‌مقدم بیجاری[1]
مهدی علیجانیان زاده[2*]
هدی کشمیری نقاب[3*]
محمدحسن سهیلی‌فر[4]

1. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، ایران

2. استادیار بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، ایران

3. استادیار بیوفیزیک، گروه لیزر پزشکی، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، ایران

4.استادیار پزشکی مولکولی، گروه لیزر پزشکی، پژوهشکده یارا، سازمان جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، ایران

نویسنده مسئول: دکتر مهدی علیجانیان‌زاده- دکتر هدی کشمیری نقاب

پست الکترونیک:
alijanian@khu.ac.ir
hodakeshmiri@ut.ac.ir

چکیده

مقدمه: امروزه ترمیم زخم‌های حاد و مزمن مانند زخم پای دیابتی و زخم‌های تروماتیک، یکی از چالش‌های مورد بحث در علم پزشکی می‌باشد. تا به امروز جهت ترمیم زخم‌هایی که به درستی ترمیم نمی‌شوند، روش‌های درمانی متعددی ارائه شده‌اند که از جدیدترین آنها می‌توان به درمان به‌واسطه وزیکول‌های خارج سلولی، مشخصاً "اگزوزوم‌ها" اشاره نمود. اگزوزوم‌ها، وزیکول‌هایی با ابعاد نانواند که از طیف وسیعی از سلول‌ها ازجمله انواع سلول‌های خونی ترشح می‌شوند و به‌واسطه محموله‌هایی که دربردارند، می‌توانند اثراتی بر بافت‌های هدف خود بگذارند که در ترمیم زخم حائز اهمیت بوده و می‌توان از آنها به‌عنوان درمان زخم‌های مذکور بهره برد. این مقاله مروری است بر مهمترین تحقیقات انجام‌شده بر روی اگزوزوم‌هایی که از انواع سلول‌های خونی منشا گرفته‌اند و نیز بررسی نتایج آزمایشگاهی و بالینی که هرکدام از خود نشان داده‌اند.

روش: به‌منظور بررسی تحقیقات صورت‌گرفته، تمام مقالات با محوریت بکارگیری اگزوزوم‌های خونی به‌علاوه تعدادی از مقالات مرتبط با کلیات اگزوزوم در پایگاه‌های داده PubMedو google scholar در بازه زمانی 2005تا2024 انتخاب‌شده و مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج: برطبق یافته‌ها، اگزوزوم‌های حاصل از برخی سلول‌های خونی به‌ویژه ماکروفاژ و پلاکت توان مداخله در توسعه زخم را داشته و علی‌الخصوص در مراحل اولیه ترمیمی مانند مرحله هموستاز و التهاب نقش موثری نشان داده‌اند.

کلید واژه‌ها: اگزوزوم، سلول‌های خونی، ترمیم زخم

مقدمه

زخم‌ها به‌عنوان آسیب‌هایی نسبتاً رایج، مکرراً بر روی پوست افراد جامعه ایجاد می‌شوند و برای آنها ایجاد درد و نیز چالش‌های اجتماعی می‌کنند. بعضاً زخم‌ها به لحاظ وخامت از حد نرمال فراتر رفته و درمان آنها با تاخیر مواجه می‌شود که به آنها زخم‌های مزمن گفته می‌شود. لذا نیاز است یک روش درمانی موثر برای این مسئله ارائه شود (1). تاکنون روش‌های ترمیمی زیستی، فیزیکی و شیمیایی مختلفی نظیر لیزر، درمان به‌واسطه خلاء[1]، فراصوت[2]، پوست مهندسی زیستی‌شده[3] و نیز تزریق فاکتورهای رشد ارائه شده‌اند (2). همچنین سلول‌درمانی[4] به‌عنوان یکی از روش‌های مورد توجه در سال‌های اخیر اثرات جالب توجهی از خود نشان داده است. در میان سلول‌ها، سلول‌های بنیادی سهم عمده‌ای از این نوع درمان را به خود اختصاص داده و انواعی از این سلول‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. علت این توجه را می‌توان قابلیت تمایز آنها به سلول‌های مورد نیاز در محل بافت بیان نمود (3). سلول‌های خونی به‌ویژه پلاکت کاندیداهای دیگر در سلول‌درمانی بوده‌اند که این انتخاب با در نظر گرفتن نقش این سلول‌ها در فرایندهای ترمیمی صورت گرفته است (4). استفاده از این سلول‌ها اگرچه اثربخشی خود را نشان داده‌اند اما مسائلی از قبیل طول عمر کوتاه پس از الحاق به محل زخم، نیازمندی‌های رشد پیچیده و همچنین خطر ایجاد تومور در استفاده از سلول‌های بنیادی مانع از معرفی روش مذکور به‌عنوان درمان قطعی شده‌اند (5-7). در سوی دیگر، ازآنجاکه عمده اثر القایی این سلول‌ها به‌واسطه محتوی ترشحی آنها به خارج از سلول ایجاد می‌شود، پیشنهاد شده است که به جای بکارگیری مستقیم سلول‌ها، از وزیکول‌های خارج سلولی‌شان به‌صورت خالص شده استفاده شود (8).

اگزوزوم‌ها[5] یکی از برجسته‌ترین انواع وزیکول‌های خارج سلولی‌اند. این وزیکول‌ها تقریباً توسط تمام سلول‌های بدن موجودات زنده به‌منظور ایجاد ارتباطات بین‌سلولی ترشح می‌شوند. آنها به موجب اندازه کوچک‌تر (30- 150 نانومتر) و نیز نوع شکل‌گیری‌شان از سایر وزیکول‌های خارج سلولی متمایز می‌شوند (8). ساختار اگزوزوم‌ها متشکل است از یک غشا دولایه فسفولیپیدی در کنار انواعی از سایر لیپیدها نظیر کلسترول و فسفاتیدیل سرین. به‌علاوه انواع پروتئین‌های متعددی در تشکیل ساختارشان شرکت می‌کنند. پروتئین‌های اسکلت سلولی، کانال‌های غشایی و پروتئین‌های چسبندگی مثال‌هایی از این پروتئین‌ها هستند. همچنین اگزوزوم‌ها دربرگیرنده محموله‌های مختلفی از جنس پروتئین، نوکلوئیک اسیدند. محتوی پروتئینی‌ای که اگزوزوم‌ها حمل می‌کنند عبارت است از آنزیم‌ها (متالوپروتئینازهای ماتریکس)، پروتئین‌های سیگنالینگ (Wnt4/3)، پروتئین‌های شوک حرارتی (hsp70/72/90)[6] و فاکتورهای رشد (VEGF/TGFβ) (9،10). درکنار پروتئین‌ها، محموله‌های نوکلوئیک اسیدی با تغییر میزان بیان پروتئین‌های مختلف به شکل مستقیم و غیرمستقیم در توسعه ترمیم زخم ایجاد مداخله می‌کنند. miRNAها (miRNA-122 /miRNA let7c/miRNA-124) را می‌توان مهمترین این نوکلوئیک اسیدهای اگزوزومی معرفی نمود. این RNAهای کوتاه غیرکدشونده نقش کلیدی در مهار بیان پروتئین‌های مختلف ایفا می‌کنند(11).

ترشح اگزوزوم‌ها با فرورفتن غشا سلول به داخل و ایجاد اندوزوم اولیه آغاز خواهد شد. در ادامه این وزیکول‌ها با تشکیل یک ساختار چند وزیکولی[7] (MVB) بالغ‌شده و محتوی لازم را جذب می‌کنند. اگرچه تعداد زیادی‌شان به لیزوزوم فرستاده‌شده و بازیافت می‌شوند اما وزیکول‌های بالغ ثانویه به‌صورت اگزوزوم به خارج سلول آزاد می شوند.(12)

یکی از چالش‌های پیش رو درباره اگزوزوم‌ها را می‌توان استخراج آنها دانست از آنجا که ابعادی بسیار کوچک داشته و با روش‌های ساده و معمول قابل تخلیص نمی‌باشند. بااین‌حال، روش‌های رایجی که برای استخراج اگزوزوم‌ها استفاده شده‌اند عبارتند از اولترا سانتریفیوژ[8]، اولترافیلتراسیون[9]، روش رسوبی و روش‌های جداسازی بر پایه خواص ایمونولوژیک(13). استفاده از اگزوزوم‌ها در زمینه‌های مختلف به‌ویژه در ترمیم زخم اثرات

1. vacuum therapy
2. ultrasound therapy
3. bioengineered skin
4. cell therapy
5. exosome

6. heat shock proteins
7. multivesicular body
8. ultracentrifuge
9 ultrafiltration

قابل توجهی از خود به نمایش گذاشته است. تحقیقات متعددی نشان داده‌اند که اگزوزوم‌های استخراج‌شده از سلول‌های مختلف مانند سلول‌های بنیادی مزانشیمی[14] (MSCs) می‌توانند موجب بهبود سریع‌تر زخم‌های حاد و مزمن شوند(14). این نانو وزیکول‌ها نقش خود در ترمیم زخم را به‌واسطه تحریک فرآیندهای مختلف که عبارتند از ترشح ماتریکس خارج سلولی، ازدیاد تکثیر و مهاجرت سلولی، القا رگزایی و تنظیم مراحل التهابی در محل ایجاد زخم ایفا می‌کنند(15).

اگرچه در سال‌های اخیر، اگزوزوم‌های حاصل از سلول‌های بنیادی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند و بررسی‌های متعددی فوائد اگزوزوم‌های حاصل از آنها را اشکار ساخته اما ترشح اگزوزوم صرفاً محدود به آنها نیست بلکه طیف گسترده‌ای از سلول‌ها ازجمله فیبروبلاست‌ها، کراتینوسایت‌ها، سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های ایمنی، اگزوزوم‌های خاص خود را ترشح و به‌واسطه آنها اثرات القایی منحصربه‌خود را ایجاد می‌کنند(16). به‌علاوه سلول‌های خونی نظیر گلبول‌های سفید و قرمز، پلاکت‌ها و ماکروفاژها نیز اگزوزوم‌های ویژه را ترشح می‌کنند که هر کدام می‌توانند بر ترمیم پوست به‌ویژه در تنظیم فاز التهابی اثر مثبت بگذارند(17). در این بررسی سعی بر آن است تا مروری بر مهمترین سلول‌های خونی ترشح‌کننده اگزوزوم انجام شود و نیز ترکیبات مختلف اگزوزومی و نیز عملکردهای آنها که باعث ترمیم زخم می‌شوند به‌طور مجزا مورد بررسی قرار گیرند.

روش تحقیق

براساس پیشینه بیان‌شده، در این تحقیق تمامی مقالات اعم از پژوهشی و مروری با عناوین مرتبط با بکار گیری اگزوزوم‌های خارج سلولی (یا به‌عبارت کلی وزیکول‌های خارج سلولی) منشا گرفته از انواع سلول‌های خونی با هدف بهبود زخم از میان منابع استخراج و مورد مطالعه قرار گرفتند. مقالات از پایگاه‌های داده PubMedو google scholar دریافت‌شده و صرفاً محدودیت زمانی در بازه سال‌های 2005 تا 2024 میلادی اعمال گردیده است. مقالات تکراری و مطالب غیرمرتبط در مقالات حذف‌شده و یافته‌های مورد هدف طبقه‌بندی شدند.

انواع سلول‌های خونی

خون حدود 7 درصد وزن بدن را به خود اختصاص می‌دهد و در هر دقیقه تقریباً 5 لیتر خون توسط قلب به سراسر بدن پمپ می‌شود. لذا می‌توان خون را بخش مهمی از بدن دانست. خون متشکل است از پلاسما و سلول‌های خونی که در پلاسما شناورند. سلول‌های خونی عبارتند از گلبول‌های قرمز، پلاکت، گلبول‌های سفید، ماستوسیت‌ها، سلول‌های دندریتی و الیگودندریتی (18). همه این سلول‌ها به مانند سایر سلول‌ها، چه در شرایط فیزیولوژیک و چه پاتولوژیک، اگزوزوم‌های خاص خود را ترشح می‌کنند (19).

پلاکت‌ها

پلاکت‌ها گروهی از سلول‌های خونی هستند که فاقد هسته‌اند. این سلول‌ها در روزهای اولیه پس از ایجاد زخم نقش موثری در ترمیم آن ایفا می‌کنند. در واقع پلاکت‌ها جزو اولین سلول‌هایی هستند که در محل ایجاد زخم حاضرشده، پاسخ ترمیمی می‌دهند.

با این حال اثرات آنها محدود به مراحل اولیه نمی باشد بلکه پلاکت‌ها بر تمام مراحل ترمیم زخم که عبارتند از هموستازی، التهاب، ازدیاد سلولی و بازآرایی ماتریکسی اثر گذارند. پلاکت‌ها در هر مرحله بسته‌های ترشحی‌ای را به خارج از خود آزاد می‌کنند که ازجمله مهمترین آنها گرانول‌های آلفا، گرانول‌های چگال[2]، گرانول‌های لیزوزومی، میکرو وزیکول‌ها و اگزوزوم‌ها می‌باشند و هر کدام به‌عنوان ذخایر خارج سلولی برای رهاسازی فوری یا تاخیری فاکتورهای رشد، سایتوکاین‌ها، پروتئین‌های چسبندگی و سایر مولکول‌های سیگنالینگ عمل می‌کنند (15). اگرچه این مواد به‌خودی‌خود قابلیت ترشح‌شدن دارند اما ترشح در قالب‌های وزیکولی می‌تواند آنها را در غلظت بالاتر و کارایی بیشتر عرضه کند (20).

یکی از معیارهای مهم در ترمیم زخم، افزایش تکثیر و ازدیاد سلولی است. بررسی‌ها نشان داده‌اند که اگزوزوم‌های پلاکتی توانایی خوبی در افزایش تکثیر سلول‌های مختلفی ازجمله فیبروبلاست، سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های بنیادی مزانشیمی دارند. در مقایسه با سلول‌های معمولی، آنهایی که با این اگزوزوم‌ها تیمار

[1]. Mesenchymal stem cells

[2] . dense granules

شوند در یک بازه (24-48) ساعته اختلاف مشهودی در توان تکثیر خود به نمایش می‌گذارند (20).

رگزایی یکی دیگر از صفات مورد بررسی در توان‌سنجی ترمیم زخم است. تشکیل تیوب‌های عروقی جدید متشکل از سلول‌های اندوتلیال پوستی اهمیت ویژه دارد. در مشاهدات همچنین اگزوزوم‌های پلاکتی باعث ایجاد این عروق با نرخی بالاتر از سلول‌های معمولی شده‌اند. سلول‌های اندوتلیال پوست انسان در اثر 5 روز تیمار اگزوزومی مجراهای عروقی طویل‌تری نسبت به حالت معمول تشکیل داده‌اند. بررسی‌های بالینی بر روی پوست 11 داوطلب، با گذشت 30 روز زخم‌های ایجادشده بر روی پوست همه افراد در نتیجه تیمار این اگزوزوم‌ها تماماً بسته‌شده بدون آن که اثر زخم[1] از خود به جای بگذارد (20).

ازآنجاکه گونه‌های فعال اکسیژن[2] (ROSs) مانع رشد و تکثیر سلول‌های پوستی می‌شوند تولید و حضورشان در موقعیت زخم یکی از موانعی است که باعث کندی روند ترمیم می‌شود. لذا ضروری است تا طی فرایندی خنثی شوند. اگزوزوم‌های پلاکتی به‌ویژه زمانی که با یک هیدروژل بر روی زخم اعمال شوند توانایی آن را دارند تا این اثر این مواد را کاهش دهند (21).

از دیگر اثرات اگزوزوم‌های پلاکتی می‌تواند به تبدیل فرم پیش‌التهابی (M1) به ضدالتهابی (M2) ماکروفاژها اشاره نمود. ماکروفاژها یکی از عناصر کلیدی ترمیم زخم در تمامی مراحل آن به‌شمار می‌روند. تبدیل فرم M1به M2آنها به درستی نقش مهمی در ایجاد مرحله هموستاز و التهاب صحیح دارد. ارزیابی این ویژگی در یکی از تحقیقات نشانگر این امر است که ماکروفاژها تحت اثر این رده از اگزوزوم‌ها به نسبت حالت عادی با نرخ بالاتری به فرم M2تبدیل شده‌اند (21).

پلاسمای غنی از پلاکت(PRP)

امروزه با توجه به این امر که پلاکت‌ها به‌واسطه محتوای ترشحی خود عمده اثر خود را القا می‌کنند، روشی نوین ابداع شده است مبنی بر آن که به جای بکارگیری مستقیم این سلول‌ها در محل زخم، پلاسمایی که پلاکت‌ها در آن اگزوزوم‌های خود را ترشح کرد اند بوسیله سانتریفیوژکردن از آنها جداسازی‌کرده و یک پلاسمای غنی‌شده از محتوی پلاکتی[3] (PRP) برای اعمال بر روی زخم‌ها تهیه شود (22). با توجه به آمارها اگر چه استفاده از این روش نسبت به درمان روتین زخم در کلینیک‌ها یک افزایش جزئی در قیمت داشته که این هزینه به مراحل آماده‌سازی آن برمی‌گردد اما استفاده از PRP باعث کاهشی چشمگیر در طول مدت بستری بیماران و افزایش احتمال ترمیم شده است (23).

اگزوزوم‌های PRPدر بررسی‌های آزمایشگاهی و بالینی صلاحیت ترمیمی خود را به نمایش گذاشته‌اند. در یک تحقیق، PRP اگزوزوم‌ها به همراه یک هیدروژل مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن است که ترکیب اخیر باعث افزایش تکثیر و مهاجرت سلول‌ها می‌شود. در اثر این اگزوزوم‌ها بیان فاکتورهای رشد EGF، VEGF، IGF-1 و TGF-β1مشخصاً افزایش داشته‌اند که در مجموع نشانگر القا فرآیندهای ترمیمی در پوست‌اند (24).

مطالعه‌برروی‌مسیرهای‌سیگنایینگ‌نشان‌داده‌اندکه‌اگزوزوم‌های ناشی از PRP عمدتاً باعث فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ YAP[4] می‌شوند. بدین ترتیب که تحت اثر TGFβ، پروتئین Rho GTPase فعال‌شده، پروتئین‌های سیگنالینگی مختلفی را در پایین دست خود فعال می‌کند که نهایتاً منجربه دفسفریلاسیون YAP می‌شوند. دفسفریلاسیون موجب انتقال YAP به درون هسته و اثرگذاری آن بر ژن‌های مرتبط با تکثیر سلولی در فیبروبلاست خواهد شد. علاوه‌بر مسیر YAP، این اگزوزوم‌ها می‌توانند مسیرPI3K/Akt و Erk1/2 را نیز فعال کنند. این مسیرها جزو مکانیسم‌های زیربنایی در تکثیر سلول‌های اندوتلیال و فرایند رگزایی به‌شمار می‌روند (25).

همچنین اثر ترکیب ژل با PRP-EXOها در مورد تبدیل فرم ماکروفاژی هم بررسی شده است. در این بررسی فاکتورهای پیش‌التهابی و ضدالتهابی ماکروفاژها در حالت معمول و نیز در اثر تحریک اگزوزومی مورد بررسی قرارگرفته و مشاهده شده است که سایتوکاین‌های پیش‌التهابی نظیر IL-1β وTNF-α در مقادیر بیشتری نسبت به حالت تحریک شده بیان می‌شوند. در مقابل سایتوکاین‌های ضدالتهابی به‌ویژه IL-4 و IL-10 در نمونه تحریک‌شده به‌واسطه اگزوزوم بیان بالاتری داشته‌اند. این شواهد

1. scar
2. reactive oxygen species
3. Platelet-rich plasma
4. YES-associated protein

بیانگر ان است که اگزوزوم‌های PRP ترکیب‌شده با ژل توانسته‌اند ماکروفاژها را ملزم به تغییر فاز دهند (24).

ماکروفاژها

ماکروفاژها سلول‌هایی خونی با چند عملکردند که اولین خط سیستم ایمنی بدن انسان را در مقابل پاتوژن‌ها ایجاد می‌کنند. آنها با انجام عمل ذره‌خواری[1] موجب حذف این ذرات میکروبی می‌شوند. برحسب نیاز بافتی، ماکروفاژها از فرم تمایزنیافته M0 به دو فرم پیش التهابی M1 و ضدالتهابی M2 مشاهده می‌شوند. تبدیل فرم ماکروفاژی برا اثر القا سایر سلول‌ها انجام می‌شود. به‌عنوان مثال، تحت اثر TNF-α و IL-12، این سلول به فرم پیش‌التهابی درمی‌آیند درحالی‌که IL-10، IL-4 وIL-13 آنها را به سمت فرم ضدالتهابی سوق می‌دهد. ماکروفاژها نه تنها از اگزوزوم‌های سایر سلول‌ها اثر می‌گیرند بلکه خود نیز به میزان فراوانی اگزوزوم در خون ترشح می‌کنند که برحسب فرم آنها محتوی متفاوتی را دربردارد. به‌طور مثال اگزوزوم‌های M1، miR326 بیشتری‌نسبت‌به‌فرمM2دارنددرحالی‌که‌اگزوزوم‌های M2، miR365 بیشتری را شامل می شوند. ماکروفاژها به‌واسطه این اگزوزوم‌ها می‌توانند بیان متالوپروتئینازهای ماتریکسی (MMP) و نیز آنزیم‌ها و سایتوکاین‌های التهابی را تغییر دهند که به‌صورت شفاف در ترمیم زخم‌ها اهمیت ویژه دارد (26,27).

جدول1. تفاوت‌های ماکروفاژهای M1 و M2 (28)

تیپ ماکروفاژی	مارکرها	فاکتورهای ترشحی	القا توسط
پیش التهابی(M1)	iNOS CD86 CD68 MHC II	TNF-α IL-6 IL-1β MCP-1 IL-12 IL-23	IFN γ LPS
ضد التهابی(M2)	Arg-1 CD163 CD206 CD301	IL-10 TGF-β MCP-1 IL-12	IL-4 IL-13

مطالعه اثر اگزوزوم ها بر روی ترمیم زخم نشان داده است که اگزوزوم‌های منشا گرفته از ماکروفاژ M2توانایی آن را دارند که رگزایی را در بافت آسیب‌دیده افزایش دهن. بررسی‌ها بر روی آنها ثابت کرده‌اند که تیمار سلول‌های اندوتلیال بند ناف انسان[2] (HUVEC) با اگزوزوم‌های M2 موجب بهبود صفات مرتبط با رگزایی شامل تکثیر، مهاجرت و تشکیل تیوب این سلول‌ها می‌شود.VEGF که عمومی‌ترین فاکتور برای سنجش رگزایی شناخته می‌شود پس از افزودن این وزیکول‌ها به میزان قابل توجهی افزایش داشته است. برطبق نتایج حاصله، آنها این اثر را به‌واسطه فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ Akt/mTOR ایجاد می‌کنند. اگزوزوم های M2 غنی از miR-21 اند که می‌تواند بیان PTEN را مهارکرده در پی آن Akt/mTOR تحریک‌شده نهایتاً منجربه افزایش نرخ رگزایی خواهد شد. همچنین اعمال این اگزوزوم بر روی پوست موش نیز موثر واقع‌شده بدین ترتیب که طی 15روز پس از ایجاد زخم کاملاً زخم را بسته و اثر زخمی به مراتب کوچک‌تری از خود به جای گذاشته است (29,30).

این اگزوزوم‌ها همچنین اثرات ضدالتهاب نیز از خود نشان داده‌اند. همان‌طورکه پیشتر بیان شد فاکتور و سایتوکاین‌های مختلف در ایجاد و خاتمه فاز التهابی دخیل‌اند. اندازه‌گیری برخی از فاکتورهای پیش‌التهابی نظیر TNF-a و IL-6و مقایسه مقادیر درحالت عادی و حالت تیمار با اگزوزوم M2، کاهش قابل توجه آنها تحت اثر تیمار را آشکار ساخت که موید این فرض است که اگزوزوم‌های M2 با اثر بر فاز التهابی موجب ترمیم زخم می‌شوند(30).

جالب است که اگزوزوم‌های M2، نه تنها بر سایر سلول‌ها اثر گذاشته بلکه خود ماکروفاژها را نیز آماج اثر خود قرار می‌دهند. اگزوزوم‌های ماکروفاژی M2 قابلیت آن را دارند که ماکروفاژها را از فاز التهابی به فاز ضدالتهابی گذار داده و به نوعی ایجاد اثر خود تنظیمی مثبت را القا نمایند(31).

علاوه‌بر استفاده از اگزوزوم‌ها به تنهایی امروزه بحث بر آن است که اولاً با ترکیب این وزیکول‌ها با سایر روش‌های درمانی، اثر بخشی آنها را افزایش دهند و ثانیاً با استفاده از تثبیت آنها بر روی مواد خاص، نیمه عمر و پایداری آنها در بافت را افزایش دهند.

در یکی از تحقیقات اخیر، اثر اگزوزوم‌های ماکروفاژی که بر روی یک ساختار ریز سوزنی[3] تثبیت شده‌اند بررسی شده است.

1. matrix metalloproteinase

2. human umbilical vein endothelial cell
3. micro needle

این تثبیت باعث آزادسازی تدریجی اگزوزوم‌ها به بافت آسیب‌دیده و اثر دیرپا تر آنها خواهد شد. همچنین برطبق اطلاعات پیشین، ایجاد یک شوک حرارتی خفیف می‌تواند تکثیر سلول‌های اندوتلیال را تحریک کند لذا در این بررسی از یک بستر هیدروژل پلی دوپامینی حساس به نور در ناحیه زخم استفاده شد که در اثر تابش لیزر 808 نانومتری ایجاد یک شوک حرارتی خفیف در ناحیه زخم می‌کند (تقریباً 40 درجه سانتیگراد). ترکیب اگزوزوم‌های تثبیت‌شده بر روی ریز سوزن‌ها به همراه شوک حرارتی نسبت به حالت عادی (کنترل) و نیز بکارگیری مجزای هر کدام از این روش‌ها اثرات ترمیمی بیشتری را از خود به نمایش گذاشته است که نشان‌دهنده موثربودن این نوع از درمان ترکیبی در باز ساخت پوست است (32) .

یکی از موضوعات مورد توجه درباره درمان به‌واسطه اگزوزوم، بارگذاری سایر مواد دارویی درون اگزوزوم‌ها و استفاده از صفات مطلوب اگزوزوم‌ها در دارورسانی و نیز ترکیب اثر محتوی طبیعی اگزوزومی در کنار داروی بارگذاری‌شده به‌صورت مصنوعی می‌باشد.

کورکومین[1]، ماده موثره‌ای که از زردچوبه استخراج می‌شود، چه در گذشته و چه در پزشکی امروز به‌عنوان درمان بیماری‌های مختلفی نظیر دیابت استفاده می‌شود. اثرات آن شامل خواص ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدسرطانی است. کورکومین توانایی آن را دارد که التهاب را در بیماری‌ها کاهش دهد (33). پیشنهاد شده است که بارگذاری کورکومین بر روی اگزوزوم‌ها می‌تواند هم‌افزایی مثبتی در ترمیم زخم ایجاد کند. اگزوزوم‌های ماکروفاژی که کورکومین درون آنها بارگذاری شود می‌توانند باعث کاهش التهاب و ازبین‌بردن ROS ها در بافت آسیب‌دیده شوند و همزمان تکثیر و مهاجرت سلولی را در آن افزایش دهند. به‌طورکلی می‌توان بیان نمود که روش‌های درمانی دیگر می‌توانند نقش مکمل را در بهبود عملکرد این اگزوزوم‌ها داشته باشند (34).

گلبول های قرمز

گلبول های قرمز خونی یا "اریتروسیت‌ها"[2] را می‌توان به‌عنوان اصلی‌ترین و پرتعدادترین سلول‌های خون در نظر گرفت. از این جهت سهم عمده‌ای از اگزوزوم‌های خونی را به خود اختصاص خواهند داد. عمده مطالعات بر روی اگزوزوم‌های اریتروسیتی، بر روی خون‌های ذخیره‌ای در بانک خون انجام شده است. بررسی این سلول‌ها نشان‌دهنده ان است که با گذر زمان پس از آغاز ذخیره‌سازی، اندازه اریتروسیت‌ها و نیز عملکرد غشایی‌شان کاهش می‌یابد. در کنار دلایلی نظیر افزایش تولید ROSها، یکی از علل اصلی این امر، ترشح مکرر اگزوزوم‌ها در نظر گرفته می‌شود. همان‌گونه‌که انتظار می‌رود در شرایط پاتولوژیک، ترشح این وزیکول‌ها به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (35).

در کنار اجزای عمومی که در انواع اگزوزوم‌ها وجود دارند، اگزوزوم‌های اریتروسیتی حاوی اجزای اختصاصی‌ای نیز هستند ازجمله پروتئین غشایی BAND3، آنزیم انیدراز کربنیک و هموگلوبین‌های تغییریافته (19). miRNA ها نوکلئوتیدهای تک‌رشته‌ای کوتاه غیرکدشونده‌اند که سلول‌ها برای القا یا مهار بیان ژن‌های مختلف آنها را ترشح می‌کنند. در اگزوزوم‌های گلبول قرمز بالغ بر 78 نوع miRNA مختلف شناسایی شده است که به لحاظ تعداد، سهم عمده‌ای از آنها را miR125-b-5p، miR4454 و miR451a به خود اختصاص می‌دهند. نقش این miRها در تنظیم پاسخ ایمنی و تحریک ماکروفاژها و سلول‌های دندریتی بیان شده است (36).

اثرات این وزیکول‌ها بر ترمیم زخم در دو بخش قابل بررسی است:

الف) هموستاز و ایجاد لخته پس از ایجاد زخم

ب) ایجاد و القا پاسخ ایمنی در فاز التهابی

پس از ایجاد زخم بر روی پوست نخستین مرحله از ترمیم، ایجاد لخته به‌منظور جلوگیری از خونریزی است. یکی از اصلی‌ترین فرآیندها در ایجاد لخته تبدیل فیبرینوژن به فیبرین است که این فرایند توسط آنزیمی بنام ترومبین انجام می‌شود (37). تحقیقات نشان داده‌اند که اگزوزوم‌های گلبول قرمز می‌توانند باعث افزایش و فعال‌سازی این آنزیم شوند. گلبول‌های قرمز با افزایش تولید ترومبین فعال و متعاقباً تولید فیبرین نامحلول

[1] .Curcumin

[2] Erythrocytes

در ایجاد لخته در محل خونریزی مشارکت‌کرده و باعث ایجا هموستاز موثر می‌شوند (19).

دومین مرحله پس از هموستاز، التهاب و فراخوانی سیستم ایمنی به محل آسیب‌دیده است. اگزوزوم‌ها در مقابل سیستم ایمنی هم نقش در ایجاد التهاب و هم نقش در تعدیل آن را دارند. آنها سایتوکاین‌های IL-13 ، IL-10 ، IL-5 و IL-1Ra را دربردارند که همگی موجب گذار از مرحله التهاب می‌شوند. ازطرفی آنها موجب افزایش زنده‌مانی وتکثیر لنفوسیت‌هایB وT و نیز منوسیت‌ها می‌شوند. در این اگزوزوم‌ها میزان INFY ، IL-17 و IL-9 به‌طور چشمگیری افزایش‌یافته که موجب توسعه لنفوسیت‌های T helper1/9/17 می‌شود.

به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که آنها به طرز جالب توجهی با ایجاد اثرات دوگانه بر سیستم ایمنی به تنظیم پاسخ آن کمک می‌کنند و در پی آن ترمیم زخم مناسب را میسر می‌سازند (38).

اگزوزوم‌های سایر سلول‌های خونی

علاوه‌بر سلول‌هایی که پیشتر مورد بحث قرار گرفتند انواع دیگری از سلول‌های خونی نیز اگزوزوم‌های منحصر به فردی به داخل جریان خون ترشح می‌کنند که کمتر به اثرات آنها بر روی ترمیم زخم پرداخته شده است ولی نوید بخش آنند که بتوان از آنها در فرآیندهای ترمیمی استفاده نمود.

به‌عنوان مثال، سلول‌های دندریتی، گروهی از سلول‌های ایمنی موجود در خونند که از مغز استخوان منشأ گرفته و در ایمنی ذاتی نقش دارند. این سلول‌ها ارائه‌کننده‌های آنتی‌ژن به سلول‌های لنفوسیت T هستند. آنها به دو طریق مستقیم و غیرمستقیم باعث فعال‌سازی لنفوسیت‌های T در شرایط التهابی می‌شوند. در روش مستقیم، سلول‌های دندریتی کمپلکس‌های پپتیدی MHC II را بیان می‌کنند که به سلول‌های T بچسبند و در روش غیرمستقیم MHC II های ترشحی به دندریت سل‌های دیگر منتقل می‌شوند. این سلول‌ها با انتقال MHC II به دندریت سل‌های غیرفعال دیگر به‌واسطه اگزوزوم‌ها، باعث فعالیت آنها و متعاقباً فعال‌سازی بیشتر لنفوسیت‌های Tمی‌شوند (39،40). این اگزوزوم‌ها با فعال‌سازی لنفوسیت‌های T و تبدیل ماکروفاژها به فرم ضدالتهابی توانسته‌اند فاز التهابی را متعادل‌نموده و زخم ایجادشده در پی سکته میوکاردی را بهبود ببخشند (41,42).

نوتروفیل‌ها، دیگر سلول‌های ایمنی هستند که به‌عنوان یکی از ابتدایی‌ترین سلول‌ها در مقابل پاتوژن‌ها عمل‌کرده و آنها را حذف می‌کنند. بررسی‌ها نشان‌دهنده‌اند که اگزوزوم‌های این سلول‌ها محتویاتی دربردارند که اثرات آنتی‌باکتریال داشته لذا می‌توان در پاکسازی بافت آسیب‌دیده حائز اهمیت باشند. همچنین این اگزوزوم‌ها در صورت بارگذاری فاکتورهای رشد، علاوه‌بر اثر آنتی‌باکتریال می‌توانند به‌طور مستقیم بر ترمیم زخم اثر گذارند (43,44).

برای لنفوسیت‌های T/B، ماستوسیت‌ها و سایر سلول‌های خونی نیز اگزوزوم‌هایی شناسایی‌شده که هر کدام در مقابله با بیماری‌های مختلفی نقش داشته‌اند. ازآنجاکه این سلول‌ها عموماً مرتبط با پیشبرد مراحل ایمنی‌زایی و التهابی‌اند، همگی توانایی آن را دارند که اثرات ترمیمی بر زخم را از خود نشان دهند که این امر مستلزم انجام تحقیقات بیشتر بر روی اثرات آنهاست (45).

بحث و نتیجه‌گیری

بر پایه نتایج تحقیقات مختلف، سلول‌های خونی مختلف به‌ویژه سلول‌های ایمنی در پاسخ به آسیب‌های پاتولوژیک و حتی در شرایط عادی فیزیولوژیک به‌طور متداوم اگزوزوم‌هایی به محیط خود ترشح می‌کنند. نتایج کار آزمایی‌های آزمایشگاهی و بالینی برخی از این اگزوزوم‌ها ازجمله اگزوزوم‌های پلاکتی و ماکروفاژی حاکی از آن بوده که این سلول‌ها می‌توانند به‌عنوان رده‌های مورد اطمینان تولیدکننده اگزوزوم در نظر گرفته شوند و از اگزوزوم‌های آنها به‌عنوان درمان ناهنجاری‌های پوستی، مشخصاً زخم‌های پوستی استفاده شود. این اگزوزوم‌ها بر روی مسیرهای مختلف سیگنالینگی مانند Akt اثر گذاشته و در فرآیندهای ترمیمی مداخله می‌کنند. نتایج بررسی‌ها بر روی این رده از اگزوزوم‌ها این‌گونه اظهار می‌نمایند که اگزوزوم‌های خونی عموماً اثراتی مرتبط با مراحل ابتدایی ترمیم زخم،مشخصاً ایجاد هموستازی و التهاب شرکت دارند که این را می‌توان مرتبط با نقش خود این سلول‌ها دانست. درنتیجه بکارگیری آنها در مراحل ابتدایی پس از ایجاد زخم می‌توانند نتایج بهتری را بدنبال داشته باشند. با این حال عملکردشان صرفاً منحصر به هموستازی و التهاب نبوده بلکه تکثیر سلول‌های مختلف نظیر سلول‌های اندوتلیال نیز از این اگزوزوم‌ها تاثیر می‌گیرد.

علیرغم مزایا، کاربرد اگزوزوم‌ها همچنان با چالش‌هایی همراه است که ازجمله آنها می‌توان به نحوه جداسازی آنها و نیز مقدار بازده اگزوزومی ناشی از سلول‌ها اشاره نمود. روش‌های مورد استفاده در استخراج اگزوزوم‌ها اگرچه در ابعاد تحقیقاتی نسبتاً موفق ظاهر شده‌اند اما کاربردی‌بودن آنها برای تهیه اگزوزوم در ابعاد تجاری و استفاده بالینی مورد ابهام است.

میزان و کیفیت ترمیم یک درمان در مقایسه با حالت معمول شاخصه‌ای مهم در بیان کارآمدی آن برای کاربردهای بالینی به‌شمار می‌رود. اگرچه اگزوزوم‌های خونی به تنهایی در امر ترمیم زخم توانا ظاهر شده‌اند اما برخی تحقیقات نشانگر این است که استفاده آنها در ترکیب با سایر داروها و روش‌های درمانی می‌تواند اثر بخشی آنها را ارتقاء داده موجب بهبود سریع‌تر زخم‌ها شود. درمان اگزوزومی و سایر روش‌های درمانی می‌توانند در کنار هم نقش مکمل ایفاکرده و درمانی جامع‌تر ارائه دهند.

اثر بخشی اگزوزوم‌های ماکروفاژی، پلاکتی و اریتروسیتی در مورد ترمیم زخم تا حدود مطلوبی مورد بررسی قرار گرفته است بااین‌حال همچنان اطلاعات موجود درباره آنها جای بحث دارد. ازطرفی بیشتر اگزوزوم‌های خونی مانند اگزوزوم‌های لنفوسیتی همچنان بررسی نشده باقی مانده‌اند و نیاز است تا در تحقیقات آینده به اثرات آنها پرداخته شود.

References

1. Lv H, Liu H, Sun T, Wang H, Zhang X, Xu W. Exosome derived from stem cell: A promising therapeutics for wound healing. Front Pharmacol. 2022;13:957771.

2. George Broughton II, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. Plast Reconstr Surg. 2006;117(7S):1e-S.

3. Mester A, Opincariu D, Benedek I, Benedek I. Stem cell therapy in wound healing. Journal of interdisciplinary medicine. 2017;2(s4):20-4.

4. Oneto P, Etulain J. PRP in wound healing applications. Platelets. 2021;32(2):189-99.

5. Duscher D, Barrera J, Wong VW, Maan ZN, Whittam AJ, Januszyk M, et al. Stem cells in wound healing: the future of regenerative medicine? A mini-review. Gerontology. 2016;62(2):216-25.

6. Wong VW, Sorkin M, Gurtner GC. Enabling stem cell therapies for tissue repair: current and future challenges. Biotechnol Adv. 2013;31(5):744-51.

7. Shi A, Li J, Qiu X, Sabbah M, Boroumand S, Huang TCT, et al. TGF-β loaded exosome enhances ischemic wound healing in vitro and in vivo. Theranostics. 2021;11(13):6616.

8. Ludwig N, Whiteside TL, Reichert TE. Challenges in exosome isolation and analysis in health and disease. Int J Mol Sci. 2019;20(19):4684.

9. Rani S, Ritter T. The exosome-A naturally secreted nanoparticle and its application to wound healing. Advanced materials. 2016;28(27):5542-52.

10. Roefs MT, Sluijter JPG, Vader P. Extracellular vesicle-associated proteins in tissue repair. Trends Cell Biol. 2020;30(12):990-1013.

11. Zhang J, Li S, Li L, Li M, Guo C, Yao J, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. Genomics Proteomics Bioinformatics. 2015;13(1):17-24.

12. Yue B, Yang H, Wang J, Ru W, Wu J, Huang Y, et al. Exosome biogenesis, secretion and function of exosomal miRNAs in skeletal muscle myogenesis. Cell Prolif. 2020;53(7):e12857.

13. Ludwig N, Whiteside TL, Reichert TE. Challenges in exosome isolation and analysis in health and disease. Int J Mol Sci. 2019;20(19):4684.

14. Hettich BF, Ben-Yehuda Greenwald M, Werner S, Leroux J. Exosomes for wound healing: purification optimization and identification of bioactive components. Advanced Science. 2020;7(23):2002596.

15. Golchin A, Hosseinzadeh S, Ardeshirylajimi A. The exosomes released from different cell types and their effects in wound healing. J Cell Biochem. 2018;119(7):5043-52.

16. Stunova A, Vistejnova L. Dermal fibroblasts—A heterogeneous population with regulatory function in wound healing. Cytokine Growth Factor Rev. 2018;39:137-50.

17. Danesh A, Inglis HC, Jackman RP, Wu S, Deng X, Muench MO, et al. Exosomes from red blood cell units bind to monocytes and induce proinflammatory cytokines, boosting T-cell responses in vitro. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2014;123(5):687-96.

18. Bagido RA, Alzahrani M, Arif M. White blood cell types classification using deep learning models. International Journal of Computer Science & Network Security. 2021;21(9):223-9.

19. Thangaraju K, Neerukonda SN, Katneni U, Buehler PW. Extracellular vesicles from red blood cells and their evolving roles in health, coagulopathy and therapy. Int J Mol Sci. 2020;22(1):153.

20. Johnson J, Law SQK, Shojaee M, Hall AS, Bhuiyan S, Lim MBL, et al. First-in-human clinical trial of allogeneic, platelet-derived extracellular vesicles as a potential therapeutic for delayed wound healing. J Extracell Vesicles. 2023;12(7):12332.

21. Hao PC, Burnouf T, Chiang CW, Jheng PR, Szunerits S, Yang JC, et al. Enhanced diabetic wound healing using platelet-derived extracellular vesicles and reduced graphene oxide in polymer-coordinated hydrogels. J Nanobiotechnology. 2023;21(1):318.

22. Lovisolo F, Carton F, Gino S, Migliario M, Renò F. Platelet rich plasma-derived microvesicles increased in vitro wound healing. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020;24(18):9658-64.

23. Verma R, Kumar S, Garg P, Verma YK. Platelet-rich plasma: a comparative and economical therapy for wound healing and tissue regeneration. Cell Tissue Bank. 2023;24(2):285-306.

24. Bakadia BM, Ahmed AAQ, Lamboni L, Shi Z, Mukole BM, Zheng R, et al. Engineering homologous platelet-rich plasma, platelet-rich plasma-derived exosomes, and mesenchymal stem cell-derived exosomes-based dual-crosslinked hydrogels as bioactive diabetic wound dressings. Bioact Mater. 2023;28:74-94.

25. Guo SC, Tao SC, Yin WJ, Qi X, Yuan T, Zhang CQ. Exosomes derived from platelet-rich plasma promote the re-epithelization of chronic cutaneous wounds via activation of YAP in a diabetic rat model. Theranostics. 2017;7(1):81.

26. Shan X, Zhang C, Mai C, Hu X, Cheng N, Chen W, et al. The biogenesis, biological functions, and applications of macrophage-derived exosomes. Front Mol Biosci. 2021;8:715461.

27. Wang S, Yang Y, Li S, Chen H, Zhao Y, Mu J. Recent advances in macrophage-derived exosomes as delivery vehicles. Nano TransMed. 2022;1(2-4):e9130013.

28. Song Y, Hu J, Ma C, Liu H, Li Z, Yang Y. Macrophage-Derived Exosomes as Advanced Therapeutics for Inflammation: Current Progress and Future Perspectives. Int J Nanomedicine. 2024;1597-627.

29. Lyu L, Cai Y, Zhang G, Jing Z, Liang J, Zhang R, et al. Exosomes derived from M2 macrophages induce angiogenesis to promote wound healing. Front Mol Biosci. 2022;9:1008802.

30. Li M, Wang T, Tian HE, Wei G, Zhao L, Shi Y. Macrophage-derived exosomes accelerate wound healing through their anti-inflammation effects in a diabetic rat model. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2019;47(1):3793-803.

31. Kim H, Wang SY, Kwak G, Yang Y, Kwon IC, Kim SH. Exosome-guided phenotypic switch of M1 to M2 macrophages for cutaneous wound healing. Advanced science. 2019;6(20):1900513.

32. Zeng J, Sun Z, Zeng F, Gu C, Chen X. M2 macrophage-derived exosome-encapsulated microneedles with mild photothermal therapy for accelerated diabetic wound healing. Mater Today Bio. 2023;20:100649.

33. Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, Ramirez-Tortosa Mc. Curcumin and health. Molecules. 2016;21(3):264.

34. Li D, Zhang C, Gao Z, Xia N, Wu C, Liu C, et al. Curcumin-loaded macrophage-derived exosomes effectively improve wound healing. Mol Pharm. 2023;20(9):4453-67.

35. Kuo WP, Tigges JC, Toxavidis V, Ghiran I. Red blood cells: a source of extracellular vesicles. Extracellular Vesicles: Methods and Protocols. 2017;15-22.

36. Huang H, Zhu J, Fan L, Lin Q, Fu D, Wei B, et al. MicroRNA profiling of exosomes derived from red blood cell units: implications in transfusion-related immunomodulation. Biomed Res Int. 2019;2019.

37. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. New fundamentals in hemostasis. Physiol Rev. 2013;93(1):327-58.

38. Danesh A, Inglis HC, Jackman RP, Wu S, Deng X, Muench MO, et al. Exosomes from red blood cell units bind to monocytes and induce proinflammatory cytokines, boosting T-cell responses in vitro. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2014;123(5):687-96.

39. Collin M, Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update. Immunology. 2018;154(1):3-20.

40. Hazrati A, Soudi S, Malekpour K, Mahmoudi M, Rahimi A, Hashemi SM, et al. Immune cells-derived exosomes function as a double-edged sword: role in disease progression and their therapeutic applications. Biomark Res. 2022;10(1):30.

41. Zhang Y, Cai Z, Shen Y, Lu Q, Gao W, Zhong X, et al. Hydrogel-load exosomes derived from dendritic cells improve cardiac function via Treg cells and the polarization of macrophages following myocardial infarction. J Nanobiotechnology. 2021;19:1-16.

42. Liu H, Gao W, Yuan J, Wu C, Yao K, Zhang L, et al. Exosomes derived from dendritic cells improve cardiac function via activation of CD4+ T lymphocytes after myocardial infarction. J Mol Cell Cardiol. 2016;91:123-33.

43. Timár CI, Lőrincz ÁM, Csépányi-Kömi R, Vályi-Nagy A, Nagy G, Buzás EI, et al. Antibacterial effect of microvesicles released from human neutrophilic granulocytes. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2013;121(3):510-8.

44. Yu Y, Jin H, Li L, Zhang X, Zheng C, Gao X, et al. An injectable, activated neutrophil-derived exosome mimetics/extracellular matrix hybrid hydrogel with antibacterial activity and wound healing promotion effect for diabetic wound therapy. J Nanobiotechnology. 2023;21(1):308.

45. Wu R, Gao W, Yao K, Ge J. Roles of exosomes derived from immune cells in cardiovascular diseases. Front Immunol. 2019;10:648.