

## Exosomes: Innovations and Challenges in Regenerative Medicine

Amir Hossein Kheirkhah<sup>1</sup>, Fatemeh Kavakebian<sup>2</sup>, Tahereh Zarei Taher<sup>3</sup>, Negar Noorbakhsh<sup>4</sup>, Shima Ababzadeh<sup>5</sup>, Mahshid Saleh<sup>6</sup>, Maria Kavianpour<sup>7</sup>

1. Ph.D. Candidate, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran. ORCID ID: 0000-0002-7285-8554
2. Ph.D. Candidate, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran. ORCID ID: 0000-0001-6510-9814
3. Ph.D. Candidate, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3428-0835
4. Department of Medical Biology, University of Quebec in Trois-Rivieres, Trois-Rivieres, Quebec, Canada. ORCID ID: 0000-0003-0412-9357
5. Associate Professor, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran. ORCID ID: 0000-0002-3481-9714
6. Postdoc Researcher, Wisconsin National Primate Research Center, University of Wisconsin Graduate School, Madison, Wisconsin, USA. ORCID ID: 0000-0002-8926-8999
7. Assistant Professor, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran. Email: Kavianpour.maria@gmail.com. Phone: 02531971150. ORCID ID: 0000-0002-8047-8754

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Exosomes are small vesicles that carry molecules such as miRNA, mRNA, and proteins. They are released by various types of cells and play a vital role in intercellular communication, material transfer, and the regulation of cell function.

**Materials and Methods:** Our research involved searching the PubMed and Scopus databases, collecting data from various articles, and comparing them to write this article.

**Results:** Exosomes secreted by regenerative medicine cells are responsible for the healing and regeneration properties. Using cells in cell therapy triggers the recipient's immune system and poses significant risks. A new approach in cell therapy, called cell-free therapy, involves using exosomes instead of cells, reducing the risk of rejection of transplanted cells and is a more cost-effective approach.

**Conclusion:** Exosomes can change gene expression and accelerate tissue regeneration. They are widely used in tissue engineering and cell therapy and have the potential to be a future horizon in regenerative medicine.

**Keywords:** Cell- Based Therapy, Exosome, MicroRNAs, Regenerative medicine.

**Received:** Feb 15, 2024

**Accepted:** May 26, 2025

**How to cite the article:** Amir Hossein Kheirkhah, Fatemeh Kavakebian, Tahereh Zarei Taher, Negar Noorbakhsh, Shima Ababzadeh, Mahshid Saleh, Maria Kavianpour. Exosomes: Innovations and Challenges in Regenerative Medicine. SJKU 2025;30(5):141-155

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

## اگزوزومها: نوآوریها و چالشها در پزشکی بازساختی

امیر حسین خیرخواه<sup>۱</sup>، فاطمه کواکبیان<sup>۲</sup>، طاهره زارعی طاهر<sup>۳</sup>، نگار نوربخش<sup>۴</sup>، شیما آب‌آب‌زاده<sup>۵</sup>، مهشید صالح<sup>۶</sup>، ماریا کاویانپور<sup>۷</sup>

۱. دانشجوی دکتری، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران. کد ارکید: ۸۵۵۴-۷۲۸۵-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۲. دانشجوی دکتری، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران. کد ارکید: ۹۸۱۴-۶۵۱۰-۰۰۰۱-۰۰۰۰
۳. دانشجوی دکتری، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران. کد ارکید: ۰۸۳۵-۳۴۲۸-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۴. گروه زیست‌شناسی پزشکی، دانشگاه کبک در تروآ-ریویر، تروآ-ریویر، کبک، کانادا، کد ارکید: ۹۳۵۷-۴۱۲-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۵. دانشیار، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران. کد ارکید: ۹۷۱۴-۳۴۸۱-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۶. محقق پسادکتر، مرکز ملی تحقیقات پستانداران ویسکانسین، دانشکده تحصیلات تکمیلی دانشگاه ویسکانسین، مدیسون، ویسکانسین، ایالات متحده آمریکا. کد ارکید: ۸۹۹۹-۸۹۲۶-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۷. استادیار، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران. پست الکترونیک: Kavianpour.maria@gmail.com. تلفن: ۰۲۵-۳۱۹۷۱۱۵۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** اگزوزومها و زیکولهای کوچکی هستند که مولکولهایی مانند mRNA، miRNA و پروتئین‌ها را حمل می‌کنند. آن‌ها توسط انواع مختلفی از سلول‌ها آزاد می‌شوند و نقش حیاتی در ارتباطات بین سلولی، انتقال مواد و تنظیم عملکرد سلول ایفا می‌کنند.

**مواد و روش‌ها:** تحقیق حاضر شامل جستجو در مراکز داده PubMed و Scopus، جمع‌آوری داده‌ها از مقالات مختلف و مقایسه آن‌ها برای نوشتن این مقاله بود.

**یافته‌ها:** اگزوزوم‌های ترشح‌شده توسط سلول‌ها در پزشکی احیا کننده مسئول خواص درمانی و بازسازی هستند. استفاده از سلول‌ها در سلول درمانی باعث تحریک سیستم ایمنی گیرنده و خطرات قابل توجهی می‌شود. یک پروژه جدید در سلول درمانی، به نام درمان بدون سلول، شامل استفاده از اگزوزوم به جای سلول، کاهش خطر رد سلول‌های پیوندی است و رویکرد مقرون به صرفه تری است.

**نتیجه‌گیری:** اگزوزوم‌ها می‌توانند بیان ژن را تغییر داده و بازسازی بافت را تسریع کنند. آن‌ها به‌طور گسترده در پزشکی بازساختی و سلول درمانی استفاده می‌شوند و این پتانسیل را دارند که افق آینده در پزشکی بازساختی باشند.

**کلمات کلیدی:** اگزوزوم، پزشکی بازساختی، سلول‌درمانی، MicroRNAs.

وصول مقاله: ۱۴۰۲/۱۱/۲۶ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۴/۰۱/۳۱ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۵

## مقدمه

اگزوزوم‌ها در ابتدا به‌عنوان حاملی برای زیباله‌های سلولی در نظر گرفته می‌شدند که انواع مولکول‌های غیرضروری را از سلول‌ها خارج می‌کنند؛ اما در دو دهه گذشته، اگزوزوم‌ها به‌عنوان عناصر مهم ارتباطات بین سلولی شناخته شده‌اند. ارتباطات بین سلولی به‌وسیله اگزوزوم‌ها برای اولین بار توسط دو دانشمند به‌نام‌های Johnston و Pan در سال ۱۹۸۳ تعریف شد. آن‌ها دریافتند که در طول بلوغ رتیکولوسیت‌های گوسفند به اریتروسیت‌ها، گیرنده‌های ترانسفرین در نانوزیکول‌هایی با منشأ اندوزومی محصور می‌شوند (۱). در طول این سال‌ها، دانشمندان برای این نانوزیکول‌ها که اندازه‌ای بین ۳۰ تا ۱۰۰ نانومتر دارند، واژه اگزوزوم را در نظر گرفتند (۲). در حال حاضر اگزوزوم‌ها زیرمجموعه‌ای از وزیکول‌های خارج سلولی (Extracellular Vesicles, EVs) معرفی می‌شوند که از سایر وزیکول‌های خارج سلولی مثل اجسام آپوپتوزی و میکرووزیکول‌ها مجزا هستند. اگزوزوم‌ها معمولاً حمل‌کننده انواع مختلفی از مولکول‌ها شامل miRNA، mRNA و پروتئین‌های مختلف هستند که نقش اساسی در ارتباطات سلولی، انعقاد، انتقال مواد مختلف، القاء تمایز و القاء مهاجرت دارند و حتی در سلول‌های توموری برای پیشرفت تومور مؤثرند. محموله‌های اگزوزوم‌ها از طریق پینوسیتوز، اندوسیتوز یا ترکیب مستقیم با غشای پلاسمایی به درون سلول وارد می‌شوند (۳).

اگزوزوم‌ها به دلیل داشتن ویژگی‌هایی مثل پایداری در مایعات بدن (مایع سینوویال و خون)، امکان هدف‌گیری یک سلول یا بافت و انتقال آسان از میان موانع بیولوژیکی، به‌عنوان منظومه‌ای برای تحویل و انتقال مولکول‌های مختلف دارویی یا به‌عنوان بیومارکر برای تشخیص زودهنگام بیماری‌های مختلف مثل انواع سرطان استفاده می‌شوند. اگزوزوم‌ها بسته به نوع سلولی که از آن آزاد می‌شوند، اثرات متفاوتی بر سلول‌های هدف دارند. ازجمله این اثرات ارائه آنتی‌ژن، تنظیم پاسخ ایمنی، القاء مرگ برنامه‌ریزی شده

سلول و تنظیم ترشحات سلولی است. تأثیرگذاری اگزوزوم‌ها از طریق فرایندهای مختلف در بهبود و بازسازی بافت‌ها شناخته شده است و انواع سلول‌ها اعم از سلول‌های بنیادی و تمایز یافته آن‌ها را آزاد می‌کنند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal Stem Cells, MSC) بافت‌های مختلف بدن (مغز استخوان، بافت چربی و سلول‌های بنیادی خون‌ساز)، سلول‌های پیش‌ساز اندوتلیالی و سلول‌های سیستم ایمنی (دندریتیک سل‌ها و سلول‌های B و T) که در حوزه پزشکی بازساختی و سلول‌درمانی بسیار حائز اهمیت‌اند، اگزوزوم‌های مختلفی ترشح می‌کنند (۴).

به‌طور کلی مزایای استفاده از اگزوزوم‌ها در پزشکی بازساختی شامل موارد زیر است: ۱. خطرات مرتبط با درمان به‌وسیله اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های مختلف در مقایسه با سایر روش‌های سلول‌درمانی که در آن‌ها از خود سلول استفاده می‌شود، نسبتاً ناچیز است و بر این اساس، شاخه‌ای در حوزه سلول‌درمانی به‌نام درمان عاری از سلول به‌وجود آمده است که خطرات رد سلول‌های پیوند شده بر اثر واکنش سیستم ایمنی میزبان را کاهش می‌دهد (۵). ۲. به علت امکان ارتباط مستقیم اگزوزوم‌ها با سلول‌های هدف و توانایی هدف‌گیری، از آن‌ها به‌عنوان روشی ترجیحی نسبت به سایر روش‌ها استفاده می‌شود که سمیت کمتر و پاک‌سازی سریع‌تری در بدن دارند (۶). ۳. مطالعات پیش‌بالینی در داخل بدن نشان داده است که هدف‌گیری اگزوزوم‌ها به سلول‌های خاص می‌تواند غلظت مولکول‌های حمل‌شده را کاهش داده و همچنین موجب صرفه‌جویی در مواد و هزینه‌ها شود (۷). ما در این مقاله به بیورژنر اگزوزوم، مقایسه استفاده درمانی از اگزوزوم‌ها و سلول‌درمانی و کاربرد آن‌ها در مطالعات بالینی، دارورسانی با استفاده از اگزوزوم‌ها و همچنین چالش‌های موجود در این روش درمانی نوین می‌پردازیم. لازم به ذکر است باید به این نکته اشاره نمود که در این مطالعه، تلاش شده است منابع و مقالاتی را که پیش‌تر کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند و یا جدیدترین مطالعات در زمینه رویکردهای نوین استفاده از

آگزوزوم‌ها و دستاوردهای آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد که می‌تواند به درک عمیق‌تری از مسائل و چالش‌های موجود در این زمینه کمک کند.

### ساختار و بیوژنر آگزوزوم

سلول‌ها انواع مختلفی از EVs را ترشح می‌کنند که بر اساس اندازه، محتویات و مکانیسم‌های تشکیل آن‌ها متمایز می‌شوند. اجسام آپوتوزی (۸۰۰ تا ۵۰۰۰ نانومتر) و میکرووزیکول‌ها (۲۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر) مستقیماً از غشای پلاسمایی جوانه می‌زنند، درحالی‌که آگزوزوم‌ها (۳۰ تا ۱۵۰ نانومتر) از حباب‌های اندوسیتوز جوانه می‌زنند. به‌طور کلی، آگزوزوم‌ها از اندوزوم‌های تولیدشده از طریق اندوسیتوز غشای سیتوپلاسمی مشتق می‌شوند؛ به این صورت که در طول اندوسیتوز، وارونگی غشای پلاسمایی به تشکیل اندوزوم‌های اولیه منجر می‌شود؛ سپس این فرایند با بلوغ اندوزومی اولیه ادامه می‌یابد تا اندوزوم‌های دیررس یا اجسام چندوزیکولی ایجاد شوند که در آن‌ها غشای اندوزوم به سمت داخل مقعر است و وزیکول‌های داخل مجرای در حفره‌های اندامک وجود دارند (۸). تورفتگی غشای پلاسمایی سلول ساختار جام‌مانندی را تشکیل می‌دهد که پروتئین‌های سطح سلول و پروتئین‌های محلول مرتبط با محیط خارج سلولی را در خود محصور می‌کند. این پدیده به شکل‌گیری *de novo* دسته‌بندی اولیه اندوزوم‌ها منجر می‌شود. اجزای غشای آگزوزوم‌ها شامل قایق‌های لیپیدی است که خود حاوی اسفنگومیلین، کلسترول، سرامید و فسفاتیدیل سرین هستند و همچنین بیش از ۴ هزار پروتئین آگزوزومی تا به حال شناسایی شده است (۹). پروتئین‌های معمول در تمامی آگزوزوم‌ها شامل پروتئین‌های انتقال‌دهنده مانند آنکسین، Rab GTPase، پروتئین‌های مربوط به بیوژنر آگزوزوم‌ها مانند Alix و TSG101، اکتین، میوزین و کوفیلین هستند. علاوه بر این، تتراسپانین‌هایی مانند CD9، CD63، CD81، CD82 و CD151 نیز در این وزیکول‌ها وجود دارند. MHC‌های کلاس I و II نیز به‌عنوان

مولکول‌های شناسایی در سطح آگزوزوم‌ها مشاهده می‌شوند (۱۰). گاهی روی غشای آگزوزوم‌ها گلیکوپروتئین‌های مربوط به هدف‌گیری به لیزوزوم‌ها به نام Lamp1 یا Lamp2 و همچنین اینتگرین‌ها و پروتئین‌های شوک حرارتی مثل HSP90 و HSP70 وجود دارد (۱۱). معمولاً اینتگرین‌ها و تتراسپانین‌ها نقش چسبندگی و هدف‌گیری را ایفا می‌کنند و به این ترتیب، آگزوزوم‌ها می‌توانند به‌طور مؤثری به سلول‌های هدف متصل شده و محتویات خود را به آن‌ها منتقل کنند. این ویژگی‌ها، آگزوزوم‌ها را به‌عنوان ابزارهای مهم در ارتباطات بین سلولی و فرآیندهای بیولوژیکی مختلف، از جمله تنظیم پاسخ‌های ایمنی و انتقال سیگنال‌های سلولی، معرفی می‌کند.

### مزایای استفاده از آگزوزوم نسبت به سلول

استفاده از سلول در درمان مزایای مختلفی دارد؛ همچون: قابلیت پیوند طولانی‌مدت در بافت هدف، توانایی تمایز به انواع بافت‌های موردنظر، روش جداسازی آسان، توانایی تولید در مقیاس بالا و همچنین برای بعضی از سلول‌ها تصویب توسط سازمان غذا و داروی آمریکا و وجود دستورالعمل مشخص؛ اما این نوع درمان محدودیت‌هایی نیز به دنبال دارد که شامل عوارض تومورزایی، سمیت، ایمنی‌زایی و شرایط نگهداری و نگرانی‌های اخلاقی است (۱۲)؛ به‌همین دلیل، آگزوزوم‌درمانی به‌عنوان روش درمانی نوین در پزشکی بازساختی مطرح شده است که به دلیل اندازه کوچک آگزوزوم (در حد نانومتر)، خطر کمتر در القا پاسخ ایمنی، تومورزایی، پایداری آن برای نگهداری، قابلیت فیلتراسیون برای استریل کردن محصولات آگزوزومی، روش‌های مختلف برای تزریق و امکان بارگذاری دارو برای درمان هدفمند کارایی خواهد داشت. از طرف دیگر، آگزوزوم‌ها توانایی خودنوزایی ندارند و این موضوع نگرانی ایجاد تومور در بدن فرد زنده را برطرف می‌کند. محصولات آگزوزومی قابلیت لیوفیلیزه شدن دارند؛ برای مثال می‌توان از آگزوزوم‌های لیوفیلیزه مشتق از سلول‌های بنیادی ریه با روش

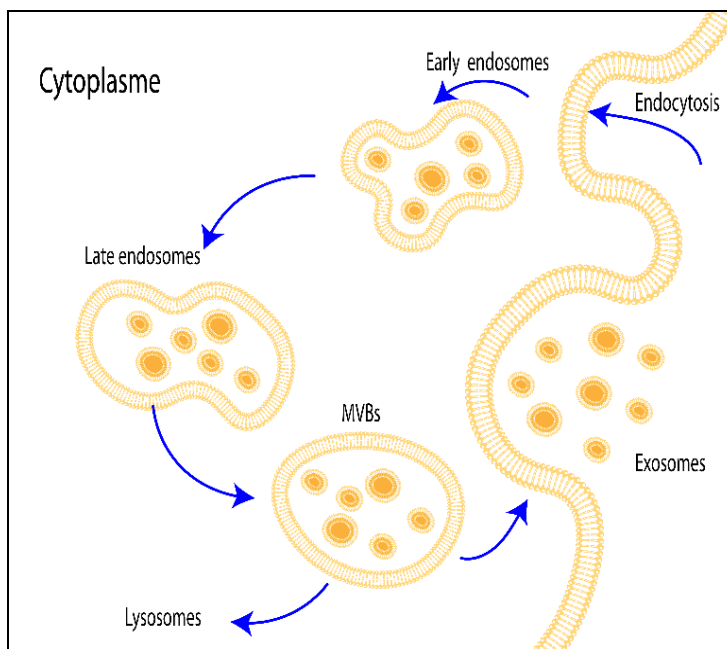
دارند و هزینه‌های مدیریت بالینی را افزایش می‌دهند. دارودرمانی یا سلول‌درمانی، به دلیل فرآیندهای تولید تحت نظر سازمان غذا و دارو و نظارت بر شرایط ایمنی‌زیستی بیمار، همچنین هزینه‌های بالا در هر درمان با چالش‌هایی مواجه است. آگزوزوم‌ها، به‌عنوان یک روش در حال ظهور، پتانسیل آن‌ها برای استفاده آلوتژنیک و قابلیت استفاده برای دامنه زیادی از افراد می‌تواند هزینه‌های هر دوز را کاهش دهد. آگزوزوم‌ها ممکن است جایگاهی در پزشکی هدفمند ایجاد کنند (به‌عنوان مثال، درمان هدفمند سرطان) که در آن مزیت‌های منحصر به فرد آن‌ها، پذیرش بالینی گسترده‌تر را نشان داده است. در نتیجه استفاده از آگزوزوم‌ها به‌عنوان یک درمان نوین در پزشکی می‌تواند مزایای اقتصادی و علمی بسیاری داشته باشد که در سال‌های اخیر توجه زیادی را جلب کرده‌اند و در مقایسه با روش‌های سنتی مانند سلول‌درمانی و دارودرمانی، ویژگی‌های خاصی از نظر هزینه و کارایی دارند. یکی از اصلی‌ترین جنبه‌های اقتصادی آگزوزوم‌ها، هزینه تولید آن‌ها است. فرآیند تولید آگزوزوم‌ها نسبت به سلول‌درمانی که شامل کشت و تکثیر سلول‌ها، پیوند آن‌ها و انجام فرآیندهای پیچیده پزشکی است، معمولاً ارزان‌تر است. آگزوزوم‌ها می‌توانند از منابع مختلفی استخراج شوند، مانند سلول‌های بنیادی یا حتی از سلول‌های خود بیمار که این امر تولید آن‌ها را مقرون به‌صرفه‌تر می‌کند. در حالی که تولید سلول‌های زنده برای درمان نیازمند تجهیزات پیشرفته و فرآیندهای پیچیده است، تولید آگزوزوم‌ها می‌تواند در مقیاس بزرگ‌تر و با هزینه‌های کمتری انجام شود. در مقایسه با سلول‌درمانی که معمولاً نیازمند تزریق‌های طولانی‌مدت و گاهی درمان‌های تکمیلی است، آگزوزوم‌ها می‌توانند در دفعات کمتری از درمان، مؤثر واقع شوند. این ویژگی ممکن است علاوه بر کاهش هزینه‌های درمانی، سبب بهبود رضایت بیمار نیز گردد، زیرا بیمار به تعداد کمتری از جلسات درمانی نیاز دارد. علاوه بر این، استفاده از آگزوزوم‌ها ممکن است مدت‌زمان درمان را کوتاه‌تر کند. این در حالی است که در روش‌های

استنشاق برای بیماری‌های ریوی استفاده کرد (۱۳). آگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی ریه با دومین نو ترکیب متصل به گیرنده SARS-CoV-2 به‌عنوان واکسن استنشاقی COVID-19 بررسی و مطالعه شده‌اند؛ علاوه بر این، از آگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های استرومایی مزانشیمی می‌توان در درمان سندرم طوفان سیتوکینی استفاده کرد که در بیماری COVID-19 شاهد آن هستیم (۱۴). در مقایسه با روش‌های سلول‌درمانی یا دارودرمانی، با توجه به عمده مزایای ذکر شده، آگزوزوم‌ها در درمان‌های نوین، با پتانسیل بیشتری وارد عمل شده و با توجه به هزینه‌های تولید و مقیاس‌پذیری در مقایسه با روش‌های مبنی بر سلول‌درمانی یا دارودرمانی، اثرات درمانی متعدد را نشان داده‌اند. آگزوزوم‌ها، وزیکول‌های خارج سلولی در مقیاس نانو که توسط سلول‌ها ترشح می‌شوند، به دلیل فرآیندهای تولید زیستی ساده، جایگزین بالقوه مقرون به‌صرفه برای سلول‌درمانی هستند. برخلاف سلول‌درمانی‌ها که نیازمند کشت، گسترش و نگهداری انجماد سلول‌های زنده هستند که اغلب برای بیماران خاص شخصی‌سازی می‌شوند، آگزوزوم‌ها را می‌توان به‌صورت انبوه از خطوط سلولی جاودانه یا منظومه‌های مهندسی زیستی تولید کرد. با توجه به اینکه روش‌های جداسازی فعلی برای آگزوزوم‌ها (مانند اولتراسانتریفیوژ) هزینه‌بر هستند، پیشرفت‌ها در کروماتوگرافی میل ترکیبی و پلت‌فرم‌های میکروچیپ‌ها، هزینه‌های جداسازی را کاهش می‌دهند. جهت‌گیری طبیعی آگزوزوم‌ها برای بافت‌های خاص و توانایی عبور از موانع بیولوژیکی (به‌عنوان مثال، سدخونی مغزی) پتانسیل درمانی را افزایش می‌دهد که این امر به‌طور بالقوه دوزهای مورد نیاز دارو را کاهش می‌دهد و اثرات خارج از هدف را در مقایسه با درمان‌های دارویی سیستمیک تقلیل می‌دهد. این تحویل هدفمند ممکن است با به حداقل رساندن عوارض جانبی و بهبود انطباق بیمار، هزینه‌های بلندمدت را کاهش دهد. درمان‌های سلولی، اغلب خطرات سندرم آزادسازی سیتوکین یا بیماری ردپیوند در مقابل میزبان را به همراه

سلول‌درمانی، پیوند سلول‌های زنده و فرآیندهای مربوط به آن ممکن است شامل پیچیدگی‌ها و خطرات بیشتری باشد که می‌تواند هزینه‌های درمان را افزایش دهد. از لحاظ کارایی، آگزوزوم‌ها می‌توانند نسبت به روش‌های سلول‌درمانی و دارودرمانی، مزایای خاصی ارائه دهند. داروها معمولاً اثرات جانبی و عوارض متعددی دارند که ممکن است نیاز به درمان‌های پشتیبان و هزینه‌های اضافی داشته باشند. در مقابل، آگزوزوم‌ها به‌طور طبیعی حاوی مولکول‌های بیولوژیکی هستند که می‌توانند به تنظیم فرآیندهای سلولی کمک کنند و به‌طور مؤثری در درمان بیماری‌های خاص نقش ایفا کنند. به‌عنوان مثال، آگزوزوم‌ها می‌توانند در درمان بیماری‌های خودایمنی، سرطانی و التهابی مؤثر باشند (۱۵). با توجه به اینکه آگزوزوم‌ها می‌توانند به‌طور مؤثری در بیماری‌های خاص و پیچیده مانند سرطان، بیماری‌های عصبی و بیماری‌های خودایمنی کاربرد داشته باشند، در آینده ممکن است جایگزین‌های مناسب‌تری برای روش‌های سلول‌درمانی و دارودرمانی به‌شمار آیند. در نهایت، استفاده از آگزوزوم‌ها به‌عنوان درمان می‌تواند از نظر اقتصادی در مقایسه با روش‌های سلول‌درمانی و دارودرمانی، مزایای قابل‌توجهی داشته باشد. در حال حاضر، آگزوزوم‌ها در مراحل تحقیقاتی و بالینی هستند و باید تحقیقاتی بیشتر برای بهبود فرآیندهای تولید و ارزیابی دقیق‌تر هزینه‌ها و کارایی آن‌ها انجام شود. با این حال، آگزوزوم‌ها نشان دادند که می‌توانند پتانسیل تبدیل شدن به یکی از روش‌های درمانی مؤثر در آینده را دارا باشند.

### دارورسانی با استفاده از آگزوزوم‌ها

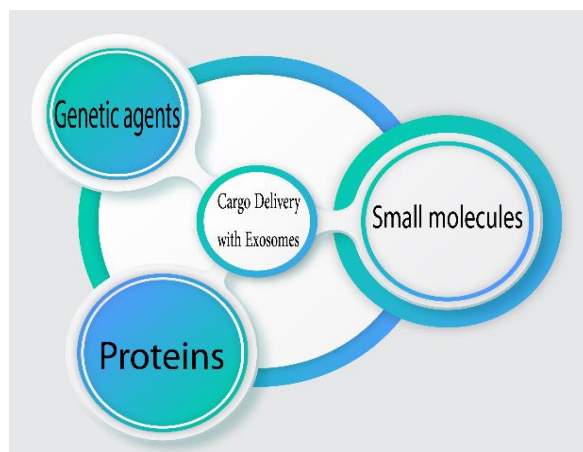
اگرچه استفاده از آگزوزوم‌ها به‌عنوان ابزار درمان بیماری‌ها گزارش شده است، خواص و عملکردهای زیستی جالب توجه آگزوزوم‌ها به مطالعات بیشتر در زمینه‌های علمی و بالینی منجر شده است؛ برای مثال، ویژگی‌های ذاتی آگزوزوم‌ها از جمله ایمنی‌زایی کم، پایداری و توانایی عبور از موانع زیستی باعث شده است که از آن‌ها به‌عنوان وسیله‌ای درمانی برای تحویل محموله هدف استفاده شود (۱۶). آگزوزوم‌ها در مقایسه با لیپوزوم‌های مصنوعی که ساختار دولایه‌ای لیپیدی مشابهی دارند، منشأ زیستی داشته و به‌همین دلیل قابلیت بارگذاری بیشتری برای مولکول‌های زیستی در ورود به سلول‌های گیرنده دارند و در ارائه عوامل درمانی پس از تزریق کارآمدتر هستند (۱۷). از جمله عوامل دارویی که آگزوزوم‌ها می‌توانند حمل کنند، مولکول‌های کوچک درمانی مانند پاکلیتاکسل، کورکومین و دوکسوروبیسین هستند (۱۸). در مطالعه‌ای، Sun و همکاران کورکومین را در آگزوزوم بارگذاری کردند و نشان دادند که کورکومین کپسوله‌شده با آگزوزوم توانست التهاب را کاهش داده و در نتیجه بقای بیشتر موش‌های مبتلا به شوک سپتیک ناشی از لیپوپلی‌ساکارید را افزایش دهد (۱۹). در مطالعه Kim و همکاران نیز آگزوزوم‌های مشتق از ماکروفاژها که حامل داروی پاکلیتاکسل بودند، ۵۰ برابر سمیت سلولی بیشتری برای سلول‌های سرطانی مقاوم به دارو نشان دادند و اثر ضدنئوپلاستیک قوی‌تری را در موش‌های دارای متاستاز ریوی (در مقایسه با گروه کنترل) ایجاد کردند (۲۰) (شکل ۲).



شکل ۱. مکانیسم ایجاد و ترشح اگزوزوم. محموله‌ها از طریق اندوسیتوز به صورت اندوزوم‌های اولیه دسته‌بندی می‌شوند. اندوزوم‌های اولیه به مسیر بلوغ اندوزومی متعهد هستند که به ایجاد اندوزوم‌های دیررس یا اجسام چندوزیکولی منجر می‌شود. در نهایت، اجسام چندوزیکولی با غشای پلاسمایی ترکیب می‌شوند تا اگزوزوم‌ها را آزاد کنند.

و توسط سلول‌های عصبی جذب شدند (۲۱). Cho و همکاران پروتئین تنظیم‌کننده سیگنال پروتئین غشایی آلفا (Signal Regulatory Protein alpha, SIRP $\alpha$ ) را برای درمان ضدتوموری در اگزوزوم‌ها بارگذاری کردند. در این مطالعه، فاگوسیتوز سلول‌های تومور و مهار رشد تومور افزایش یافت (۲۲) (شکل ۲).

مطالعات مختلفی تحویل مولکول‌های زیستی بزرگ مانند پروتئین‌ها (آنزیم‌ها، آنتی‌ژن‌ها و پروتئین‌های اسکلت سلولی) را با واسطه اگزوزوم‌ها بررسی کرده‌اند. برای درمان اختلالات التهابی و عصبی، Haney و همکاران از اگزوزوم‌های حاوی کاتالاز استفاده کردند که پس از تزریق داخل بینی به مغز موش مبتلا به بیماری پارکینسون وارد شده



شکل ۲. منظومه‌های تحویل پیشرفته با واسطه اگزوزوم شامل مولکول‌های کوچک، پروتئین‌ها و مواد ژنتیکی برای کاربردهای مختلف درمانی.

از طرف دیگر، اگزوزوم‌ها به این دلیل که قادر به محافظت از اسیدهای نوکلئیک و جلوگیری از تخریب آن‌ها هستند، حامل‌های ایده‌آلی برای اسیدهای نوکلئیک (مانند siRNA و miRNA) در کاربردهای ژن‌درمانی محسوب می‌شوند. Momen-Heravi و همکاران از اگزوزوم‌های مشتق‌شده از سلول B برای تحویل مهارکننده miRNA-155 به منظور کاهش تولید عامل نکروز تومور آلفا تحریک‌شده با لیوپلی ساکارید در ماکروفاژها استفاده کردند (۲۳). در مطالعه دیگری، Shabbir و همکاران دریافتند که اگزوزوم‌های مشتق‌شده از MSCها از اهداکنندگان نرمال و همچنین بیماران دارای زخم مزمن، به افزایش تکثیر و مهاجرت فیروبلاست‌ها برای بهبود زخم منجر می‌شود. این اگزوزوم‌ها مسیرهای مهم سیگنالینگ بهبود زخم مانند Akt، ERK و STAT3 را فعال کردند. آن‌ها همچنین بیان فاکتورهای رشد مختلف (عامل رشد هیپاتوسیتی، عامل رشد شبه انسولینی، عامل رشد عصبی، عامل مشتق از سلول استرومال) را القا کردند (۲۴). علاوه بر این، اگزوزوم‌های مشتق‌شده از سلول‌های بنیادی جنینی (۳) می‌توانند در رگ‌زایی، بقای کاردیومیوسیت‌ها و کاهش فیروز نقش داشته باشند که عملکرد قلب پس از انفارکتوس میوکارد را بهبود می‌بخشد. اگزوزوم‌های مشتق‌شده از (Embryonic Stem Cells, ESC) حاوی miRNA-290-295 برای ارتقا بقا و تکثیر در قلب هستند (۲۵)؛ علاوه بر این، مشاهده شده‌است که تحویل با واسطه اگزوزوم siRNA یا miRNA در مقایسه با روش‌های ترانسفکشن مرسوم کارآمدتر است و سمیت سلولی کمتری دارد (شکل ۲).

فناوری CRISPR/Cas9 به‌عنوان یک ابزار ویرایش ژنوم، توانسته‌است انقلابی در علم ژنتیک ایجاد کند. یکی از چالش‌های اصلی در استفاده از این فناوری، تحویل مؤثر اجزای آن به سلول‌های هدف است. اگزوزوم‌ها به‌عنوان حامل‌های طبیعی، پتانسیل بالایی برای این منظور دارند. دو استراتژی اصلی بارگذاری بررسی شده‌است: بارگذاری

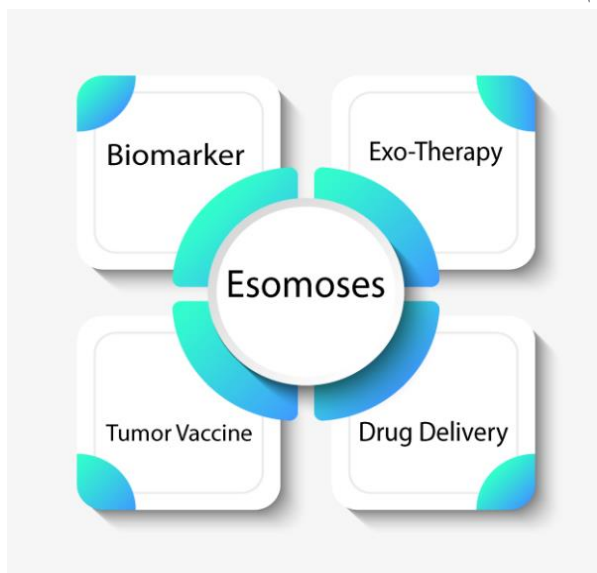
غیرسلولی و بارگذاری سلولی. بارگذاری غیرسلولی به‌طور مستقیم بار را به EVهای جداسازی‌شده وارد می‌کند، درحالی‌که بارگذاری سلولی شامل تولید EVهایی است که حاوی بار CRISPR/Cas9 از سلول‌های اهداکننده هستند. بارگذاری سلولی می‌تواند از طریق بسته‌بندی غیرفعال با استفاده از بیان بیش‌ازحد CRISPR/Cas9 یا بسته‌بندی فعال از طریق دیمریزه شدن پروتئین-پروتئین یا پروتئین-RNA انجام شود. این روش‌های بارگذاری در دستیابی به ویرایش ژن هم در آزمایشگاه و هم در بدن زنده نویدبخش بوده‌اند (۲۶). برای مثال، Kim و همکاران اگزوزوم‌های مشتق‌شده از تومور را با CRISPR/Cas9 در مقابل پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز-1 (PAPR-1) بارگذاری کردند تا از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری کنند. نتایج نشان داد که اگزوزوم‌ها به‌عنوان حامل، تحویل کارآمدی از پلاسمیدهای CRISPR/Cas9 را با هدف‌گیری سلول‌های سرطانی ارائه می‌دهند و اگزوزوم‌های بارگذاری شده اثر ضدتوموری پیشرفته را داخل بدن تسهیل میکنند (۲۷). Luo و همکاران گزارش دادند که CRISPR-dCas9-VP64 با واسطه اگزوزوم از طریق فعال کردن بیان NHF42 در سلول‌های ستاره‌ای کبد، فیروز کبدی را کاهش می‌دهد (۲۸). با این حال، نیاز به بهبود و استانداردسازی این روش‌ها وجود دارد، از جمله تصفیه EVها، افزایش کارایی بارگذاری و آزادسازی و بهبود هدف‌گذاری خاص بافت یا سلول، برای کاربرد مؤثر در درمان ژنی. با این وجود، پتانسیل EVها در درمان ژنی، همراه با ظرفیت آن‌ها برای عبور از موانع بیولوژیکی و فرار از فاگوسیتوز، آن‌ها را به‌عنوان یک کاندیدای امیدوارکننده برای تحویل CRISPR/Cas9 معرفی می‌کند.

### کاربرد اگزوزوم‌ها در پزشکی بازساختی

ترمیم بافت هدف اصلی در حوزه پزشکی بازساختی است که از سلول‌های بنیادی برای رسیدن به آن استفاده می‌شود؛ اما همچنین موانعی مثل کاهش قابلیت حیات سلولی و

سلول‌هاست. مشخص شده است که تزریق داخل مفصلی اگزوزوم‌های مشتق از MSCها توانسته است نواقص پوکی استخوان را در موش‌های صحرایی مدل، بهبود ببخشد (۳۱). استفاده از اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی بافت چربی نیز اثرات بهبوددهنده زیادی در درمان بیماری‌های دهان و دندان داشته و افق روشنی را برای درمان‌های دندان بدون نیاز به جراحی به‌رومی محققان گشوده است. اگزوزوم‌ها را همچنین می‌توان از MSCهای بافت‌های دندانی جدا کرد. از جمله این سلول‌ها سلول‌های بنیادی پالپ دندانی (Dental Pulp Stem Cells, DPSCs) هستند که از نوع سلول‌های چند توان بوده و قادرند مستقیماً در بازسازی پالپ دندان، استخوان، عضله، عصب، عروق و حتی کبد نقش داشته باشند (۳۲). تمایز ادنتوبلاستیک یک فرآیند تنظیم‌شده با چند ژن است که شامل فاکتورهای رشد و پروتئین‌های ماتریکس عاج و غیره است. در طول تمایز ادنتوژنیک و تشکیل عاج سوم، اگزوزوم‌های مشتق شده از سلول‌های بنیادی ادنتوژنیک تمایز سلول‌های بنیادی ادنتوژنیک را به ادنتوبلاست القا می‌کند (۳۴).

ظرفیت بازسازی پس از پیوند، رد ایمنی و نگرانی‌های اخلاقی بر سر راه آن وجود دارد. اگزوزوم‌ها دارای ویژگی‌هایی مانند اثرات پاراکراین در مسیرهای پیام‌رسانی و دخالت در واکنش‌های ایمنولوژیک، رگ‌زایی، بهبود بافت و سایر فرایندهای بیولوژیکی هستند. به‌طور کلی در مطالعات بالینی استفاده‌های متعددی از اگزوزوم‌ها صورت گرفته است (۲۹). می‌توان از اگزوزوم‌ها به‌عنوان بیومارکر برای تشخیص زودهنگام بیماری‌ها استفاده کرد و همین مکانیسم می‌تواند در ایجاد واکنش‌های ضدتومور با استفاده از اگزوزوم‌های جدا شده از سلول‌های توموری نقش داشته باشد. همچنین به‌دلیل اینکه اگزوزوم‌ها حاوی RNA و پروتئین سلول والد خود هستند، قادرند بدون نگرانی‌هایی که در ارتباط با سلول‌درمانی وجود دارد، اثرات آن سلول را تقلید کنند یا حامل دارویی درون خود را به سلول‌های هدف تحویل دهند (۳۰) (شکل ۳)؛ برای مثال، مطالعات بالینی روی حیوانات آزمایشگاهی تأثیر درمانی MSCها را در بهبود آسیب‌های غضروف نشان داده‌اند که علت اصلی این اثرات درمانی ترشح اگزوزوم‌های مختلف توسط این



شکل ۳. کاربردهای مختلف اگزوزوم‌ها در مطالعات بالینی

تعدیل سیستم ایمنی و افزایش یا مهار التهاب، آن‌ها را به‌عنوان انتخابی جالب توجه برای روش درمانی معرفی کرده

درباره نقش سلول‌ها و اگزوزوم‌های آن‌ها در تعدیل سیستم ایمنی نیز مطالعات نشان داده‌اند که توانایی اگزوزوم‌ها در

مطالعه بالینی بر روی بیماران مبتلا به سرطان سینه، اگزوزوم‌های استخراج‌شده از سلول‌های سرطانی به‌عنوان حامل‌های داروهای شیمی‌درمانی مورد استفاده قرار گرفتند و نتایج نشان دادند که این اگزوزوم‌ها تأثیر بیشتری بر روی سلول‌های سرطانی دارند و عوارض جانبی کمتری ایجاد می‌کنند. در زمینه بیماری‌های قلبی، مطالعه‌ای نشان داد که اگزوزوم‌های استخراج‌شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند به ترمیم بافت قلبی در بیماران مبتلا به نارسایی قلبی کمک کنند. همچنین، در بیماران مبتلا به لوپوس، اگزوزوم‌ها به‌عنوان درمانی برای تنظیم پاسخ ایمنی استفاده شدند و نتایج کاهش التهاب و بهبود علائم بیماری را نشان دادند. در نهایت، در مطالعه‌ای بر روی بیماران دیابتی نوع ۲، اگزوزوم‌ها به‌عنوان حامل‌هایی برای انتقال مولکول‌های درمانی به کار رفتند و به بهبود کنترل قند خون کمک کردند. این مطالعات نشان‌دهنده پتانسیل بالای اگزوزوم‌ها در درمان بیماری‌های مختلف و بهبود وضعیت سلامت بیماران هستند (۳۵). در جدول ۱ مطالعات کار آزمایشی بالینی جمع‌آوری شده‌است که در آن‌ها از اگزوزوم‌ها به‌عنوان عامل درمانی و ترمیم بافت استفاده شده‌است.

است. اگزوزوم‌ها قابلیت انتقال آنتی‌ژن‌های متفاوت، بارگذاری روی کمپلکس‌های MHC کلاس I و II و تحریک پاسخ ایمنی از طریق ارائه اپی‌توپ به‌وسیله آنتی‌ژن‌های ارائه‌شده سلول را دارند (۳۳). اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های T تنظیم‌کننده (Regulatory T Cells, Treg)، نقش تعدیل‌کننده و گاهی سرکوب‌کننده سیستم ایمنی را ایفا می‌کنند. سلول‌های TCD4+، CD25+ و Foxp3+ توانایی فعال‌سازی گیرنده‌های موجود روی سلول‌های T (T-cell Receptor, TCR) را دارند (۳۴). اگزوزوم‌های تولیدشده به‌وسیله این نوع سلول‌های T از نظر کمی از سایر سلول‌های T بیشتر است. اگزوزوم‌های حاصل از Treg می‌توانند آزادسازی سیتوکین‌های التهابی از قبیل اینترلوکین II و اینترفرون گاما  $\gamma$  را کاهش دهند. مشخص شده که محتوای اگزوزوم‌هایی که بین سلول‌های Treg و سلول‌های T افکتور (Effector T Cells, Teffs) جابه‌جا می‌شوند، شامل miRNAهایی نظیر Let-7d، Let-7b و miR155 است که نشان‌دهنده عملکرد تعدیل‌کننده و مهارکننده این اگزوزوم‌ها است (۳۴). مطالعات بالینی نشان‌دهنده پتانسیل اگزوزوم‌ها هستند، به‌عنوان مثال، در یک

جدول ۱. مطالعات بالینی اگزوزوم‌ها با هدف درمان بافت‌های مختلف بدن

کد مطالعه	بیماری	فاز مطالعه	سلول ترشح‌کننده اگزوزوم
NCT04313647	سالم	فاز یک	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05787288	بیماران COVID-19	فاز یک اولیه	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT04276987	بیماران COVID-19	فاز یک	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT04491240	بیماران COVID-19	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT04798716	بیماران COVID-19	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05216562	بیماران COVID-19	فاز دو و سه	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05523011	پسوریازیس	فاز یک	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05738629	بیماری خشکی چشم	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05402748	فیستول	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05969717	درماتیت آتوپیک	فاز یک اولیه	سلول‌های بنیادی القایی پرتوان
NCT05886205	صرع	فاز یک اولیه	سلول‌های بنیادی القایی پرتوان
NCT01159288	سرطان ریه سلول غیرکوچک	فاز دو	سلول‌های دندریتیک
NCT05475418	ترمیم زخم	-	بافت چربی

NCT05658094	ریزش مو	-	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05413148	رتینیت پیگمانتوزا	فاز دو و سه	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT03985696	لنفوم‌های سلول B غیرهوچکین	-	سلول‌های B توموری حاوی PDL-1
NCT04213248	خشکی چشم در بیماران مبتلابه cGVHD	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05261360	آسیب دژنراتیو مینیسک	فاز دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT04356300	سندرم اختلال عملکرد ارگان‌های متعدد	-	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05813379	جوان‌سازی پوست	فاز دو و سه	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05871463	سیروز کبدی	فاز دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05490173	نوزادان با وزن کم هنگام تولد	-	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05808400	سرفه مزمن پس از COVID-19	فاز یک اولیه	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05669144	انفارکتوس میوکارد	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05387278	سندرم دیسترس تنفسی مرتبط با COVID-19	فاز یک	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT06138210	سکته مغزی ایسکمیک حاد	فاز یک	سلول‌های بنیادی القایی پرتوان
NCT03608631	سرطان پانکراس متاستاتیک	فاز یک	سلول‌های استرومایی مزانشیمی حاوی KRAS G12D siRNA
NCT04173650	اپیدرمولیز بولوزا	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT05354141	سندرم دیسترس تنفسی	فاز سه	سلول‌های استرومایی مزانشیمی
NCT04998058	پیوند استخوان	فاز یک و دو	سلول‌های استرومایی مزانشیمی

### استفاده از اگزوزوم‌های گیاهی در درمان

اگزوزوم‌های مشتق از گیاه ( Plant-derived exosomes, PLDEs) وزیکول‌های خارج سلولی کوچکی هستند که پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها را در خود محصور می‌کنند و معمولاً در ارتباطات بین سلولی و انتقال مولکولی در گیاهان نقش دارند. PLDEs به دلیل فراوانی و دسترسی آسان به طور گسترده در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شوند. نقش‌های متنوع PLDEs که شامل حمل و نقل داروها، عمل به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص بیماری‌ها و نقش آن‌ها در درمان‌های مختلف است، نشان می‌دهد که نیاز به درک کامل همه مکانیسم‌های دخیل به‌منظور فراهم کردن شرایط بهینه برای استفاده درمانی آن‌ها وجود دارد. این بررسی بیوژنز، اجزا و عملکردهای PLDEs را خلاصه می‌کند و بر استفاده از آن‌ها به‌عنوان عوامل درمانی در درمان بیماری‌های التهابی تمرکز می‌کند (۱۵). همچنین

ایده‌های جدیدی را برای رویکردهای جدید بررسی می‌کند که در آن PLDEs می‌تواند به‌طور بالقوه به بیماران مبتلابه بیماری‌های التهابی در آینده کمک کند. استفاده از PLDEs برای درمان بیماری‌های التهابی توجه بسیاری را به خود جلب کرده است؛ بنابراین، در سال‌های اخیر، مطالعات بسیاری اثرات درمانی و مکانیسم اگزوزوم‌ها از منابع مختلف گیاهی را بر شرایط مختلف مرتبط با التهاب گزارش کرده‌اند (۳۶، ۱۵). کارآزمایی‌های بالینی زیادی با استفاده از PLDEs در درمان‌های سرطان وجود دارد، اما استفاده از آن‌ها به‌عنوان عوامل ضدالتهابی هنوز در مراحل ابتدایی است. استفاده از PLDEs پتانسیل بالایی در پزشکی دارد. همچنین با توجه به مطالعات اشاره شده است که در سال‌های اخیر، اگزوزوم‌های گیاهان توانایی بارگیری دارو برای هدف قرار دادن روده را دارند و پتانسیل زیادی برای درمان بیماری‌های روده دارند. این سیستم انتقال هدف اگزوزوم

مشتق شده از گیاه می‌تواند داروهای شیمیایی یا اسید نوکلئیک را بارگیری کند و آن‌ها را به‌طور پایدار و کارآمد به محل‌های التهابی روده برساند. آگزوزوم‌های گیاهی به‌طور طبیعی با لیپیدهای زیست فعال، پروتئین‌ها، اسیدهای ربیونوکلئیک اسید و سایر مولکول‌های فعال دارویی به‌عنوان نانو حامل‌های طبیعی پر می‌شوند که ویژگی‌های ساختاری و ترکیبی منحصر به فردی دارند. آن‌ها نه تنها می‌توانند عوامل مختلف نکروز تومور را با دقت بسته‌بندی کنند، بلکه می‌توانند فلوروفورها، عوامل هدف، داروهای مولکول کوچک، پروتئین‌ها یا سایر داروهای درمانی را نیز بسته‌بندی کنند (۳۶). در مقایسه با نانو ذرات مصنوعی، انتظار می‌رود که آگزوزوم‌های مشتق شده طبیعی به‌طور اقتصادی تولید شوند و امکان تولید در مقیاس بزرگ را داشته باشند. با توجه به این واقعیت که تحویل همزمان دارو توسط آگزوزوم‌ها ممکن است مزایای بیشتری در درمان سرطان داشته باشد که ممکن است ایده جدیدی برای تحویل دارو باشد. در عین حال، ثابت شده است که اصلاح سطح آگزوزوم‌ها برای بهبود توانایی هدف‌گیری و پایداری آن‌ها مفید است. به‌منظور ساخت کامل سیستم دارورسانی هدفمند توسط آگزوزوم‌های گیاهی و یافتن نانو حامل‌های کارآمدتر و اقتصادی‌تر، گیاهان بیشتری باید مورد مطالعه قرار گیرند. امروزه آگزوزوم‌های مشتق شده از گیاهان به‌عنوان یک حامل درمانی وارد مرحله رشد سریع شده‌اند و برخی از آن‌ها وارد مطالعات بالینی شده‌اند. با این حال، قبل از اینکه آن‌ها به یک سیستم دارورسانی بالغ برای استفاده بالینی تبدیل شوند، هنوز چالش‌های جدی زیادی وجود دارد. تحقیقات بیشتری در مورد انتخاب منابع گیاهی مناسب و فناوری‌های تصفیه برای تولید انبوه مورد نیاز است. در آینده نزدیک می‌توان انتظار داشت که دانشمندان بیشتری در این زمینه جدید شرکت کنند (۳۶، ۱۵).

## بحث

استفاده از این روش جدید درمانی به دلیل بی‌پاسخ ماندن چندین چالش اساسی، محدود مانده است. برای جداسازی و خالص‌سازی آگزوزوم‌ها پروتکل‌های استاندارد وجود ندارد و این موضوع یکی از محدودیت‌های مهم تجربی در تحقیقات آگزوزوم است. در حال حاضر، سه روش عمده اولتراسانتریفیوژ، فنون بر پایه اندازه و روش‌های تمایل ایمنی، روش‌های اصلی در این حوزه هستند (۳۷)؛ با این حال، هر یک از این روش‌ها محدودیت‌های خود را دارند؛ برای مثال، روش اولتراسانتریفیوژ نمونه‌ها را از سایر میکروویزیکول‌های با اندازه و چگالی مشابه جداسازی نمی‌کند و همچنین در روش تمایل ایمنی، توانایی خالص‌سازی محدود است؛ زیرا برای آگزوزوم‌ها مارکر اختصاصی وجود ندارد. برای بهبود جداسازی و خالص‌سازی آگزوزوم‌ها، می‌توان از فنون نوین مانند نانو تکنولوژی و میکروفلوئیدیک بهره برد. همچنین، بهینه‌سازی پروتکل‌های استاندارد برای جداسازی آگزوزوم‌ها می‌تواند به کاهش تنوع نتایج کمک کند. ترکیب روش‌های مختلف جداسازی، مانند اولتراسانتریفیوژ و کروماتوگرافی، می‌تواند به افزایش خلوص و کیفیت آگزوزوم‌ها منجر شود (۳۸). در نهایت، انجام تحقیقات بیشتر برای درک بهتر ویژگی‌ها و رفتار آگزوزوم‌ها و توسعه روش‌های جدید جداسازی ضروری است.

چالش مهم دیگر در کار با آگزوزوم‌ها شرایط نگهداری آن‌هاست. در حالی که انجماد نمونه‌ها رویکرد استاندارد برای نگهداری نمونه در تحقیقات است، به علت اینکه ممکن است چرخه‌های انجماد و ذوب باعث تشکیل توده‌های آگزوزومی شود، به یافتن روشی جدید نیاز است. خشک کردن انجمادی یا افزودن تثبیت‌کننده‌های سرمایی می‌تواند کیفیت آگزوزوم را برای ذخیره‌سازی و حمل و نقل بهبود بخشد؛ اما درباره اهمیت استفاده از این روش‌ها یا اثربخشی آن‌ها اطلاعات کمی وجود دارد (۳۹)؛ علاوه بر این، بین گروه‌های تحقیقاتی مختلف، تفاوت نام‌گذاری وجود دارد: «آگزوزوم» و «EVs» در حالی که همه آگزوزوم‌ها

مختلف را دستخوش تغییر قرار داده و به شکل بنیادی رفتارهای سلولی را تغییر دهند که این می‌تواند موجب تسریع در بازسازی بافت‌ها و ارگان‌های مختلف بدن شود. اگزوزوم‌ها امروزه در پزشکی بازساختی و حوزه سلول‌درمانی کاربرد فراوانی دارند و در پروژه سلول‌درمانی بدون استفاده از خود سلول‌ها، نقش اصلی را دارند و در نهایت انتظار می‌رود که درمان‌های بر پایه اگزوزوم آینده سلول‌درمانی و پزشکی بازساختی باشند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله وابستگی به هیچ سازمانی (با منافع مالی مستقیم یا غیرمستقیم) در موضوع مورد بحث در این مطالعه، ندارند. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

EVs هستند، همهٔ اگزوزوم نیستند. از آنجایی که ممکن است این دو اندازه مشابهی داشته باشند و از آنجایی که اگزوزوم‌ها نشانگرهای سطحی متنوعی دارند، تعیین هویت دقیق ساختار به صورت EVs یا اگزوزوم دشوار است (۴۰).

### نتیجه‌گیری

ویژگی‌های مطلوب اگزوزوم‌ها از جمله اینکه ترکیبات آن‌ها از جنس غشاست و اندازه‌ای در محدودهٔ نانو دارند و همچنین مقدار سمیت کم، پایداری مناسب در مایعات بدن و قابلیت مهندسی برای هدف‌گیری به بافتی خاص (حتی بافت عصبی مانند مغز) باعث شده است که آن‌ها به عنوان حامل‌های مواد درمانی، به ابزاری پرکاربرد در حوزه دارورسانی، ژن‌درمانی، پزشکی بازساختی و حتی در حوزه تشخیص بیماری‌ها تبدیل شوند. اگزوزوم‌ها با هدف قراردادن مسیرهای پیام‌رسانی می‌توانند بیان ژن‌های

### منابع

1. Pan BT, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell*. 1983;33(3):967-78.
2. Pan B-T, Johnstone RM. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell*. 1983;33(3):967-78.
3. Hu G, Drescher KM, Chen X. Exosomal miRNAs: biological properties and therapeutic potential. *Frontiers in genetics*. 2012;3:56.
4. Lamichhane TN, Sokic S, Schardt JS, Raiker RS, Lin JW, Jay SM. Emerging roles for extracellular vesicles in tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2015;21(1):45-54.
5. Urbanelli L, Buratta S, Sagini K, Ferrara G, Lanni M, Emiliani C. Exosome-based strategies for diagnosis and therapy. *Recent patents on CNS drug discovery*. 2015;10(1):10-27.
6. Lener T, Gimona M, Aigner L, Börger V, Buzas E, Camussi G, et al. Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials—an ISEV position paper. *Journal of extracellular vesicles*. 2015;4(1):30087.
7. Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual review of cell and developmental biology*. 2014;30:255-89.
8. Hu Q, Su H, Li J, Lyon C, Tang W, Wan M, Hu TY. Clinical applications of exosome membrane proteins. *Precis Clin Med*. 2020;3(1):54-66.
9. Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nature reviews immunology*. 2002;2(8):569-79.
10. Vabulas RM, Raychaudhuri S, Hayer-Hartl M, Hartl FU. Protein folding in the cytoplasm and the heat shock response. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2010;2(12):a004390.

11. Conde-Vancells J, Rodriguez-Suarez E, Embade N, Gil D, Matthiesen R, Valle M, et al. Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes. *Journal of proteome research*. 2008;7(12):5157-66.
12. Perocheau D, Touramanidou L, Gurung S, Gissen P, Baruteau J. Clinical applications for exosomes: Are we there yet? *Br J Pharmacol*. 2021;178(12):2375-92.
13. Popowski KD, López de Juan Abad B, George A, Silkstone D, Belcher E, Chung J, et al. Inhalable exosomes outperform liposomes as mRNA and protein drug carriers to the lung. *Extracell Vesicle*. 2022;1:100002.
14. Kheirkhah AH, Shahcheraghi SH, Lotfi M, Lotfi M, Raeisi S, Mirani Z. Mesenchymal Stem Cell Derived-Exosomes as Effective Factors in Reducing Cytokine Storm Symptoms of COVID-19. *Protein Pept Lett*. 2021;28(8):945-52.
15. Wei X, Li X, Zhang Y, Wang J, Shen S. Advances in the therapeutic applications of plant-derived exosomes in the treatment of inflammatory diseases. *Biomedicines*. 2023;11(6):1554.
16. Li T, Li X, Han G, Liang M, Yang Z, Zhang C, et al. The Therapeutic Potential and Clinical Significance of Exosomes as Carriers of Drug Delivery System. *Pharmaceutics*. 2022;15(1).
17. Sheykhhasan M, Heidari F, Eslami Farsani M, Azimzadeh M, Kalhor N, Ababzadeh S, Seyedbrahimi R. Dual role of Exosome in neurodegenerative diseases: a review study. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2023.
18. Zhang Y, Liu Q, Zhang X, Huang H, Tang S, Chai Y, et al. Recent advances in exosome-mediated nucleic acid delivery for cancer therapy. *J Nanobiotechnology*. 2022;20(1):279.
19. Sun D, Zhuang X, Xiang X, Liu Y, Zhang S, Liu C, et al. A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Mol Ther*. 2010;18(9):1606-14.
20. Kim MS, Haney MJ, Zhao Y, Mahajan V, Deygen I, Klyachko NL, et al. Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells. *Nanomedicine*. 2016;12(3):655-64.
21. Haney MJ, Klyachko NL, Zhao Y, Gupta R, Plotnikova EG, He Z, et al. Exosomes as drug delivery vehicles for Parkinson's disease therapy. *J Control Release*. 2015;207:18-30.
22. Cho E, Nam GH, Hong Y, Kim YK, Kim DH, Yang Y, Kim IS. Comparison of exosomes and ferritin protein nanocages for the delivery of membrane protein therapeutics. *J Control Release*. 2018;279:326-35.
23. Momen-Heravi F, Bala S, Bukong T, Szabo G. Exosome-mediated delivery of functionally active miRNA-155 inhibitor to macrophages. *Nanomedicine*. 2014;10(7):1517-27.
24. Shabbir A, Cox A, Rodriguez-Menocal L, Salgado M, Van Badiavas E. Mesenchymal Stem Cell Exosomes Induce Proliferation and Migration of Normal and Chronic Wound Fibroblasts, and Enhance Angiogenesis In Vitro. *Stem Cells Dev*. 2015;24(14):1635-47.
25. Mahindran E, Wan Kamarul Zaman WS, Ahmad Amin Noordin KB, Tan YF, Nordin F. Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles: Hype or Hope for Skeletal Muscle Anti-Frailty. *Int J Mol Sci*. 2023;24(9).
26. Ran FA, Hsu PD, Wright J, Agarwala V, Scott DA, Zhang F. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system. *Nat Protoc*. 2013;8(11):2281-308.
27. Kim SM, Yang Y, Oh SJ, Hong Y, Seo M, Jang M. Cancer-derived exosomes as a delivery platform of CRISPR/Cas9 confer cancer cell tropism-dependent targeting. *J Control Release*. 2017;266:8-16.
28. Luo N, Li J, Chen Y, Xu Y, Wei Y, Lu J, Dong R. Hepatic stellate cell reprogramming via exosome-mediated CRISPR/dCas9-VP64 delivery. *Drug Deliv*. 2021;28(1):10-8.

29. Verdi J, Ketabchi N, Noorbakhsh N, Saleh M, Ebrahimi-Barough S, Seyhoun I, Kavianpour M. Development and Clinical Application of Tumor-derived Exosomes in Patients with Cancer. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2022;17(1):91-102.
30. Sharma A, Johnson A. Exosome DNA: Critical regulator of tumor immunity and a diagnostic biomarker. *J Cell Physiol.* 2020;235(3):1921-32.
31. Zhang S, Chu W, Lai R, Lim S, Hui J, Toh W. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration. *Osteoarthritis and cartilage.* 2016;24(12):2135-40.
32. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2000;97(25):13625-30.
33. Dehghani L, Kheirkhah AH, Jalili A, Partan AS, Nikukar H, Sadeghian-Nodoushan F. Stem Cell Therapy and Its Products Such as Exosomes: Modern Regenerative Medicine Approach. Possibilities and Limitations in Current Translational Stem Cell Research: IntechOpen; 2023.
34. Yu D, Rao S, Tsai LM, Lee SK, He Y, Sutcliffe EL, et al. The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment. *Immunity.* 2009;31(3):457-68.
35. Robbins PD, Morelli AE. Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nature Reviews Immunology.* 2014;14(3):195-208.
36. Cai Y, Zhang L, Zhang Y, Lu R. Plant-derived exosomes as a drug-delivery approach for the treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer. *Pharmaceutics.* 2022;14(4):822.
37. Royo F, Théry C, Falcón-Pérez JM, Nieuwland R, Witwer KW. Methods for Separation and Characterization of Extracellular Vesicles: Results of a Worldwide Survey Performed by the ISEV Rigor and Standardization Subcommittee. *Cells.* 2020;9(9).
38. Sansone P, Savini C, Kurelac I, Chang Q, Amato LB, Strillacci A, et al. Packaging and transfer of mitochondrial DNA via exosomes regulate escape from dormancy in hormonal therapy-resistant breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(43):E9066-e75.
39. Karn V, Ahmed S, Tsai LW, Dubey R, Ojha S, Singh HN, et al. Extracellular Vesicle-Based Therapy for COVID-19: Promises, Challenges and Future Prospects. *Biomedicines.* 2021;9(10).
40. Garcia-Martin R, Brandao BB, Thomou T, Altindis E, Kahn CR. Tissue differences in the exosomal/small extracellular vesicle proteome and their potential as indicators of altered tissue metabolism. *Cell Rep.* 2022;38(3):110277.