

July 2021

بیماری های عروق و کاربرد سلول های بنیادی در آنژیوژنز

استاد راهنما: دکتر مهران عمویی

نام و نام خانوادگی: سمیرا سعداله زاده

فهرست مطالب

چکیده

.....	۷	
مقدمه	و	کلیات

.....	۸	
اهمیت و ضرورت این تحقیق		

.....	۸	
آترواسکلروزیس		

.....	۸	
عوامل	موثر	در ایجاد آترواسکلروزیس
.....	۹	
مکانیسم		آترواسکلروزیس

.....	۱۰	
بیماری‌های قلبی و عروقی ناشی از آترواسکلروزیس		
.....	۱۳	
اثر پیری بر تصلب شرایین		

.....	۱۴	
پاتولوژی پیری عروق زودرس و نرمال		
.....	۱۵	
پیری سلولی در تصلب شرایین		

.....	۱۶	
کوتاه شدگی تلومرها		

.....	۱۸	
آسیب به DNA		

.....	۱۸	
-------	----	-------

مکانیسم	داروهای	ترومبولیتیک	
۲۰			
داروهای	فیبرونولیتیک	با	منشا
زیستی			
۲۲			
فعال	کننده‌های	پلاسمینوژن	باقتی
			۲۳
استرپتوکیناز			
	۲۴		
اوروکیناز			
	۲۴		
آنی			استرپلاز
	۲۴		
لانوتپلاز			
	۲۵		
پروروکیناز			
	۲۵		
داروهای	گشاد	کننده	عروق
			خونی
			۲۵
مکانیسم	عمل	گشاد	کننده‌های
			عروق
			۲۶
درمان‌های	مبتی	بر	نانوداروها
۲۹			
آنژیوژنز	درمانی	در	بیماری‌های
			قلبی
			عروقی
			۳۰

درمان	با	فاکتورهای	رشد
.....			
..... ۳۰			
درمان‌های مبتنی بر سلول			
.....			
..... ۳۱			
درمان با بیومتریال‌های پلیمری			
.....			
..... ۳۳			
بیماری‌های شریان‌های محیطی			
.....			
..... ۳۴			
مدیریت و درمان بیماری‌های شریان‌ها محیطی			
..... ۳۵			
استفاده از روش‌های مبتنی بر ابزارهای مکانیکی			
..... ۳۵			
آنژیوژنز			
.....			
..... ۳۶			
فاکتورهای رشد آنژیوژنیک			
.....			
..... ۳۶ ..			
درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی			
..... ۳۷			
بیماری دیابت ملیتوس			
.....			
..... ۳۷			
آنژیوژنز			
.....			
..... ۳۸			
آنژیوژنز	در	رتینوپاتی	دیابتی
.....			
..... ۳۹ ..			

آنژیوژنز	در	نفروپاتی	دیابتی	۴۰ ...
ترمیم			زخم	۴۰ ...
نقص	در	آنژیوژنز	در	دیابت
۴۳				
دیابت	و	آنژیوژنز		زخم
۴۴				
سلول‌های				بنیادی
۴۷				
تقسیم‌بندی	سلول‌های	بنیادی	بر	اساس
			توان	تمایز
				۴۹
				سلول‌های بنیادی همه توان
				۴۹ ...
				سلول‌های بنیادی پر توان
				۴۹
				سلول‌های بنیادی چند توان
				۵۰ ...
				سلول‌های بنیادی تک توان
				۵۰
				انواع سلول‌های بنیادی بر اساس منشاء
				۵۰
				کاربردهای بالینی سلول‌های بنیادی
				۵۱

سلول‌های بنیادی مزانشیمی

.....
۵۳ ..

آنژیوژنز در سلول‌های بنیادی

.....
۵۷

مسیر PI3K/Akt، آنژیوژنز و مسیرهای نیتریک اکسید

.....
۶۱

آنژیوژنز القا شده با وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی

.....
۶۳

فهرست اشکال

شکل ۱: مقایسه عروق سالم و عروق دارای پلاک در آترواسکلروزیس

.....
۹

شکل ۲: شروع و پیشبرد آترواسکلروزیس

.....
۱۱

شکل ۳: پیشرفت ضایعات آترواسکلروزیس: تولید و مرگ سلولی

.....
۱۲

شکل ۴: عارضه آتروما، تخریب و ترمیم

.....
۱۳

شکل ۵: اثر سن و جنسیت بر درجه آترواسکالروزیس در آئورت انسان	۱۵
شکل ۶: فرآیندهای مرتبط با پیری که موجب القاء تصلب شرایین می‌شود	۱۶
شکل ۷: مدل سازی پیری سلولی زودرس در تصلب شرایین	۲۰
شکل ۸: شماتیکی از نحوه از بین رفتن فیبرین‌ها	۲۱
شکل ۹: مکانیسم عمل داروهای گشاد کننده عروق در ماهیچه‌های صاف	۲۸
شکل ۱۰: تنظیم آنژیوژنز در زخم های پوستی	۴۳
شکل ۱۱: اختلال در مکانیسم‌های مولکولی که رگ‌زایی را در دیابت مختل می‌کند	۴۶
شکل ۱۲: آنژیوژنز در ایسکمی اندام حاد	۴۷
شکل ۱۳: تقسیم متقارن و نامتقارن در سلول‌های بنیادی	۴۸
شکل ۱۴: منابع و خواص سلول‌های بنیادی پرتوان انسانی	۵۰
شکل ۱۵: تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های تخصصی مختلف	۵۴
شکل ۱۶: فعالیت پاراکرین سلول‌های استرومایی مزانشیمی	۵۵
شکل ۱۷: بهبود زخم پوستی توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی	۵۹
شکل ۱۸: تداخل بین ناهنجاری‌های رگ زایی در بافت‌های مختلف و ایجاد عوارض مزمن دیابتی	۶۱
شکل ۵: مکانیسم آنژیوژنز القا شده توسط سلول‌های بنیادی EPCs، CDCs و CD34 ⁺ در بیماری ایسکمی	۶۳
شکل ۲۰: تولید و آزاد سازی وزیکول‌های خارج سلولی	۶۴

شکل ۲۱: سازوکار آنژیوژنز

... ۶۶

شکل ۲۲: مکانیسم آنژیوژنز القا شده

..... ۶۷

چکیده

تصلب شریان‌ها یا آترواسکلروزیس به تشکیل پلاک درون رگ‌های قلبی گفته می‌شود که موجب انسداد رگ‌ها و بیماری عروق کرونر قلبی می‌شود. رسوب LDL در دیواره داخلی سرخرگ‌ها و به دنبال آن ایجاد پلاک‌های فیبری-چربی (آتروم) منجر به انسداد عروق در آترواسکلروزیس می‌شود. بالا بودن فشار خون، بالا بودن کلسترول خون، دیابت، سیگار کشیدن، افزایش سن، جنسیت، سوابق خانوادگی و اختلالات ژنتیکی، چاقی، استرس، افت استروژن پس از یائسگی، مصرف زیاد مواد کربوهیدراتی و چربی‌های غیر اشباع و مصرف الکل از جمله عوامل موثر در ایجاد آترواسکلروزیس

هستند. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که افزایش سن و جنسیت از جمله عوامل موثر در ایجاد تصلب شریان‌ها می‌باشد. تاکنون مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از ترکیبات دارویی، نانوداروها، سلول‌های بنیادی و ترکیبات القاء کننده آنژیوژنز برای درمان این بیماری مورد بررسی قرار گرفته‌اند. هدف از این پژوهش بررسی عوامل ایجاد آترواسکلروزیس و راه‌های پیشگیری و درمان آن می‌باشد.

مقدمه و کلیات

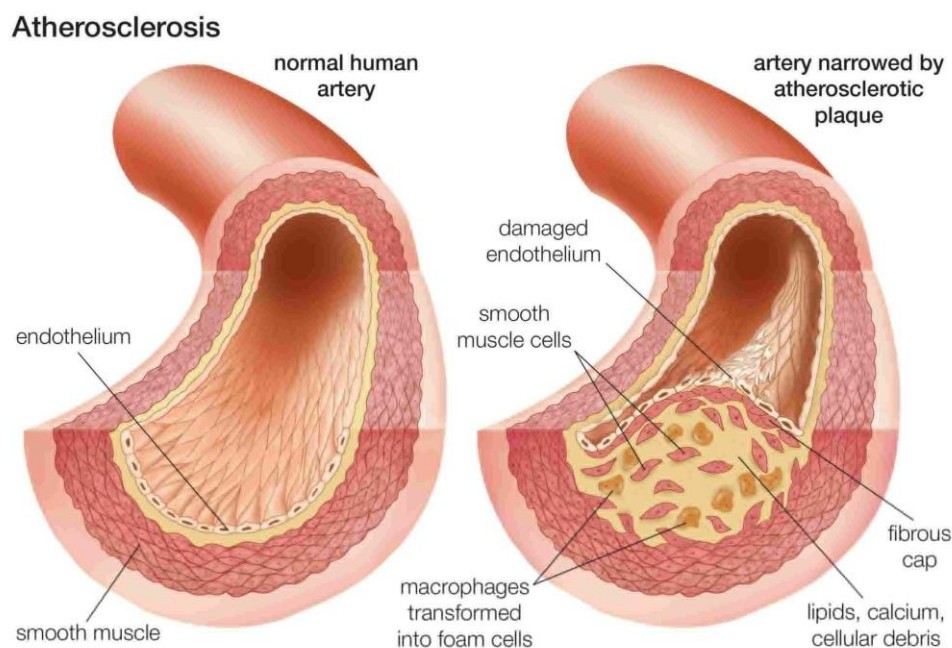
اهمیت و ضرورت این تحقیق

گسترده‌گی بیماری‌های مربوط به عروق خونی و خطر بالای این بیماری‌ها برای سلامت افراد منجر به آن شده است که نیاز به پژوهشی جامع در زمینه شناخت این بیماری‌ها و راه‌های مختلف درمان آن‌ها احساس شود. از این رو هدف اصلی این پژوهش مطالعه جامع بر روی این بیماری‌ها و راه‌های درمانی موجود برای بهبود سلامت بیماران و بررسی روش‌های نوین که در آینده بیشتر مورد استفاده قرار خواهد گرفت می‌باشد.

آترواسکلروزیس

کلمه آترواسکلروز از واژه یونانی اسکروز به معنای انباشت چربی گرفته شده است. تصلب شریان‌ها یا آترواسکلروزیس به تشکیل پلاک، درون رگ‌های قلبی گفته می‌شود که موجب انسداد رگ‌ها و بیماری عروق کرونر قلبی می‌شود. رسوب LDL¹ در دیواره داخلی سرخرگ‌ها و به دنبال آن ایجاد پلاک‌های فیبری-چربی (آتروم) منجر به انسداد عروق در آترواسکلروزیس می‌شود (شکل ۱). آترواسکلروزیس از زمان قدیم به عنوان علت اصلی بیماری‌های ایسکمی قلبی و مغزی شناخته می‌شود. به دنبال ایجاد پلاک در سرخرگ‌ها، لخته خون و در نتیجه سکته قلبی یا مغزی رخ می‌دهد. در واقع این فرآیند با جدایی اندوتلیوم موجود بر روی پلاک‌ها و ایجاد شکاف در آن‌ها موجب ورود پلاک‌ها به جریان خون و ایجاد لخته در رگ‌ها می‌شود. در اثر ایجاد لخته سندرم‌های حاد کرونری، کاهش فضای لومن رگ‌ها و رخداد آمبولی؛ سکته حاد قلبی، آنژین و مرگ و میر ناگهانی اتفاق می‌افتد. در ایجاد آترواسکلروزیس مجموعه‌ای از عوامل ژنتیکی، محیطی، عادات غذایی، سبک زندگی و استرس دخالت دارد. سرعت گسترش این بیماری در مراحل ابتدایی بالا بوده و به تدریج متوقف می‌شود.

بر اساس برخی گزارش‌ها سطوح بالای کلسترول در دوران بارداری می‌تواند منجر به ایجاد پلاک چربی در جنین شود. این عارضه به صورت آترواسکلروزیس در سه ماهه اول در آنورت و در سه ماهه دوم بارداری در عروق کرونر جنین دیده می‌شود.



شکل ۱: مقایسه عروق سالم و عروق دارای پلاک در آترواسکلروزیس.

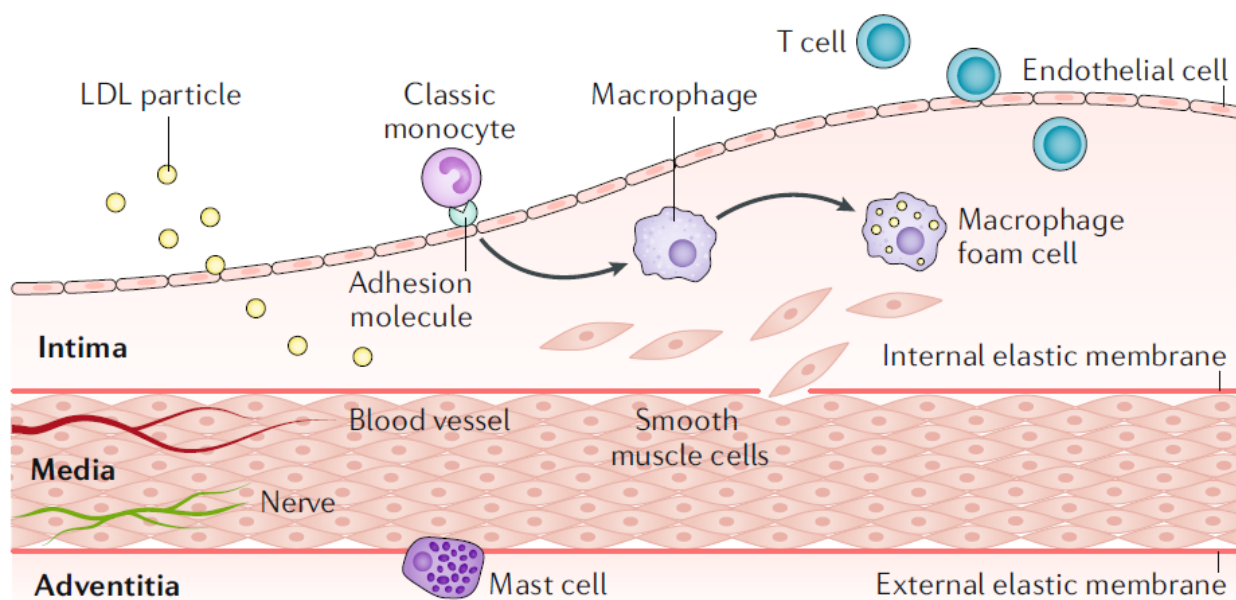
¹ Low density lipoprotein

عوامل موثر در ایجاد آترواسکلروزیس

عوامل دخیل در ایجاد آترواسکلروزیس را به دو نوع اصلی و فرعی تقسیم می‌کنند. از جمله عوامل اصلی می‌توان به بالا بودن فشار خون، بالا بودن کلسترول خون، دیابت، استعمال دخانیات، افزایش سن، جنسیت، سوابق خانوادگی و اختلالات ژنتیکی اشاره کرد. چاقی، استرس، افت استروژن پس از یائسگی، مصرف زیاد مواد کربوهیدراتی و چربی‌های غیر اشباع و مصرف الکل از جمله عوامل فرعی موثر در ایجاد آترواسکلروزیس هستند. علاوه بر این موارد بالا بودن اسیدآمینه هموسیستئین نیز موجب آسیب به عروق و آتروژنز می‌شود.

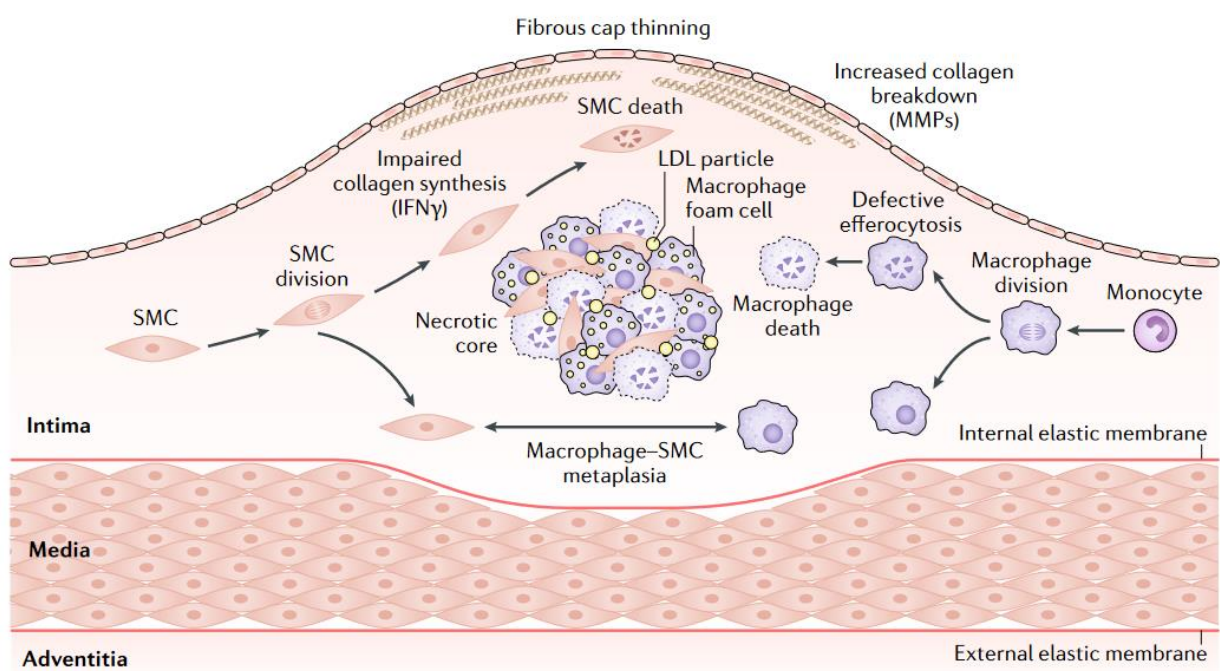
مکانیسم آترواسکلروزیس

دیواره یک سرخرگ طبیعی ساختار سه لایه دارد که بیرونی‌ترین لایه (Adventitia) شامل پایانه‌های عصبی، ماست سل‌ها، عروق ریز و عروق ریز تغذیه کننده لایه بیرونی می‌باشد. لایه میانی شامل سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، الاستین، کلاژن و سایر ماکرومولکول‌ها است و داخلی‌ترین لایه intima نام دارد که با آنتی اکسیدان‌های پلاسمایی محافظت می‌شود. پلاک‌ها، در داخلی‌ترین لایه (Intima) تشکیل می‌شوند. در مراحل ابتدایی شروع ضایعه، ذرات لیپوپروتئینی با چگالی پایین (LDL) در داخلی‌ترین لایه تجمع می‌یابند. ذرات تحت تغییرات اکسیداتیو قرار می‌گیرند که می‌تواند آن‌ها را به صورت پیش التهابی و ایمونوژن درآورد. سپس مونوسیت‌ها به لایه Intima وارد می‌شوند و در جریان خون به گردش درمی‌آیند و به مولکول‌های اتصال‌یابی شده با سلول‌های اندوتلیال فعال متصل می‌شوند. کموکین‌ها سیتوکین‌هایی هستند که مهاجرت مونوسیت‌های متصل به درون دیواره سرخرگ را باعث می‌شوند. مونوسیت‌ها در Intima به ماکروفاژها تبدیل شده و ویژگی‌های جمعیت-های مونوسیت-ماکروفاژی با خاصیت پیش التهابی کمتر را در خود ایجاد می‌کنند. لنفوسیت‌های T اگرچه از نظر تعداد نسبت به مونوسیت‌ها فراوانی کمتری دارند با این حال داخل Intima شده و عملکرد سلول‌های ایمنی ذاتی و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف و سلول‌های اندوتلیالی را تنظیم می‌کنند. سلول‌های ماهیچه‌ای صاف در محیط غشاء می‌توانند در پاسخ به حد واسطه‌هایی که توسط لوکوسیت-های در حال انباشت آزاد می‌شود به داخل Intima مهاجرت کنند (شکل ۲) (Libby, Buring et al. 2019).

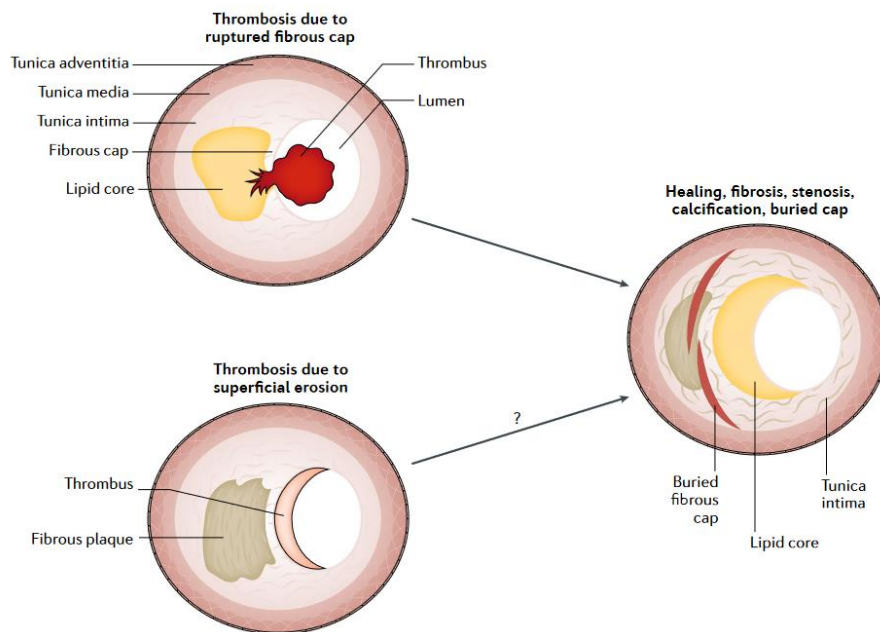


شکل ۲: شروع و پیشبرد آترواسکلروزیس. (Libby, Buring et al. 2019).

در طی تکامل پلاک‌ها سلول‌های ماهیچه‌ای صاف مولکول‌های ماتریس خارج سلولی از قبیل کلاژن، الاستین، پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوآمینوگلیکان‌ها را تولید می‌کنند که در ضخیم کردن لایه Intima نقش دارند. اگرچه مولکول‌های حد واسط مانند γ -IFN می‌توانند عملکرد سلول‌های ماهیچه‌ای صاف را در ساخت کلاژن تخریب کنند و در نتیجه قابلیت این سلول‌ها در ترمیم و حفظ درپوش فیبری که روی هسته نکروتیک قرار می‌گیرد را کاهش دهند. علاوه بر این در ماکروفاژهای فعال شده تولید خانواده آنزیمی متالوپروتئیناز ماتریسی افزایش می‌یابد که این آنزیم کلاژنی را که درپوش فیبری را محکم کرده است تجزیه می‌کند. تضعیف ساختار درپوش فیبری حساسیت پلاک‌ها نسبت به پارگی را افزایش می‌دهد. سلول‌های ماهیچه‌ای صاف و ماکروفاژها در ضایعات در حال پیشرفت توانایی تقسیم دارند. با پیشرفت ضایعات این سلول‌ها تحت مرگ سلولی قرار می‌گیرند. بقایای سلول‌های مرده تجمع یافته و هسته نکروتیک غنی از لیپید را ایجاد می‌کنند. (شکل ۳، شکل ۴) (Libby, Buring et al. 2019).



شکل ۳: پیشرفت ضایعات آترواسکلروزیس. (Libby, Buring et al. 2019).



شکل ۴: عارضه آتروما (Libby, Buring et al. 2019).

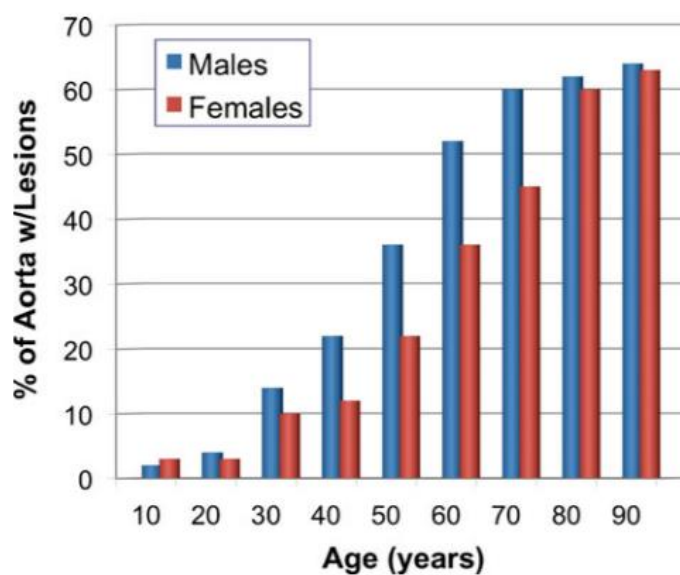
بیماری‌های قلبی و عروقی ناشی از آترواسکلروزیس

بیماری‌های قلبی عروقی یکی از معضلات سلامتی و اقتصادی مهم با نرخ مرگ و میر بالا می باشد. سازمان بهداشت جهانی، بیماری‌های قلبی عروقی را به عنوان اولین عامل مرگ در دنیا معرفی کرده است. در سال ۲۰۰۸، ۳۲/۸ مرگ‌ها در ایالات متحده مربوط به این بیماری بودند (Members, Roger et al. 2012). این بیماری به صورت تدریجی پیش می‌رود و با افزایش سن، حادث می‌شود. بسته به اندام‌های تحت تاثیر، بیماری‌های قلبی عروقی می‌توانند به صورت بیماری عروق کرونر، بیماری عروق مغزی، بیماری شریان‌های محیطی و بیماری آترواسکلروزیس آئورتی (قفسه سینه یا شکمی) باشند. بیماری‌های قلبی عروقی معمولاً با باریک شدن و انسداد عروق خونی مشخص می‌شود و در اثر تصلب شراین یا آترواسکلروزیس ایجاد می‌شود (Libby and Theroux 2005, Jawad and Arora 2008). گزینه‌های درمانی برای این بیماری، عمدتاً بر مبنای بازسازی مسیرهای جریان خون است. در مراحل ابتدایی، درمان بر اساس اصلاح الگوی زندگی است. اما با پیشرفت بیماری، ممکن است درمان‌های دارویی یا مداخلات جراحی به منظور بهبود جریان خون در بافت‌ها مورد نیاز باشد. در دارودرمانی از داروهایی استفاده می‌شود که با کاهش ضربان قلب، به کم کردن نیاز قلب به اکسیژن کمک کنند و یا با اتساع عضلات صاف عروقی، باعث تقویت جریان خون در عروق شوند. در موارد حاد یا انسداد کامل عروقی، در صورتی که یک یا تعداد کمی از عروق درگیر باشند از استنت‌های عروقی استفاده می‌شود و در صورت انسداد چندین رگ، جراحی انجام می‌شود. علی‌رغم وجود گزینه‌های درمانی مختلف برای بیماران قلبی عروقی، جراحی برای تعدادی از بیماران

حاد به دلیل داشتن سایر فاکتورهای خطر برای جراحی، امکان پذیر نیست (McFalls, Ward et al. 2004).

اثر پیری بر تصلب شرایین

عوامل خطر برای تصلب شرایین شامل فشار خون بالا، دیابت، LDL و کلسترول بالا و مصرف سیگار است. هرچند شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش سن نیز یک عامل خطر مهم برای تصلب شرایین است و هنگامی که سایر عوامل خطر کنترل شده باشند، افزایش سن به عنوان یک عامل مستقل عمل می‌کند (شکل ۵). پیری زودرس عروق می‌تواند با عوامل خطر قلبی عروقی پیشرفت کند و پیری سلولی نیز در بیماران دارای تصلب شرایین دیده می‌شود. بنابراین تصلب شرایین حاصل پیری سلول و همچنین پیری موجود زنده می‌باشد.

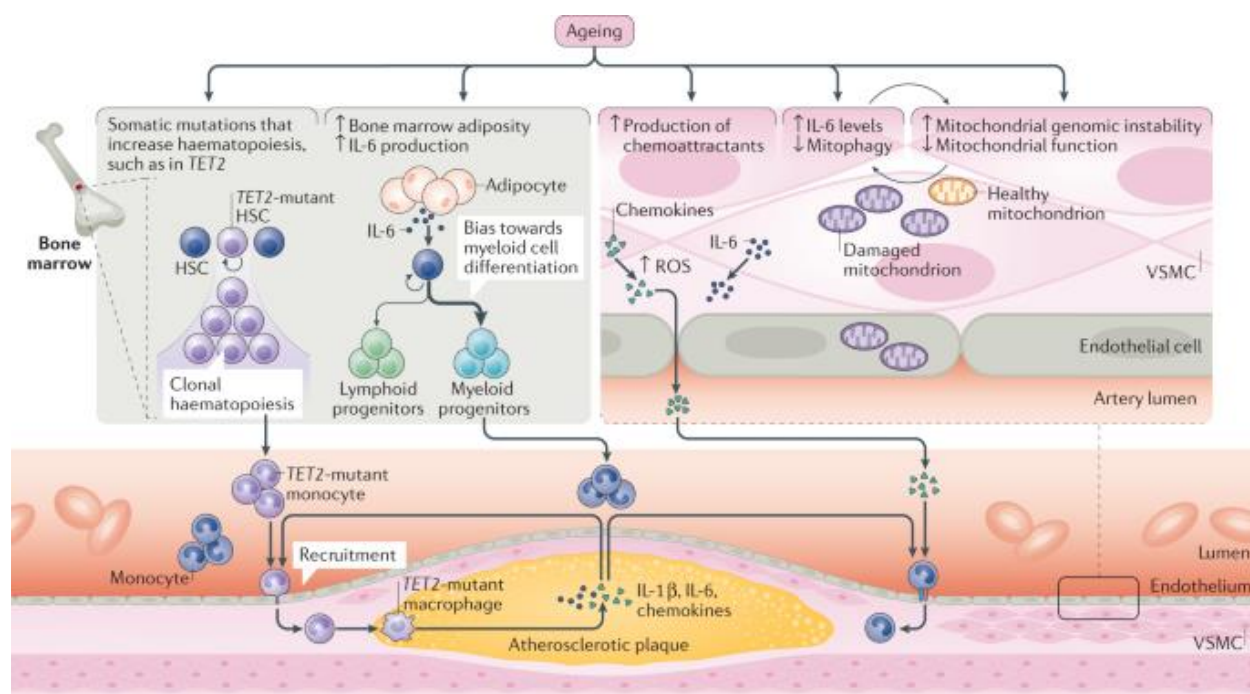


شکل ۵: اثر سن و جنسیت بر درجه آترواسکلروزیس در آنورت انسان. نتایج نشان داده شده مطالعات کالبد شکافی ناحیه آنورت انسان را که دارای ضایعات آترواسکلروتیک برآمده از نظر سن و جنسیت فرد است، نشان می‌دهد (Toma and McCaffrey 2012).

پاتولوژی پیری عروقی زودرس و نرمال

پیری عروقی حتی در غیاب تصلب شرایین منجر به ضخیم شدن دیواره داخلی عروق و از دست دادن تدریجی قابلیت ارتجاعی عروقی شده که در نهایت باعث سختی عروق می‌شود. عروق پیر مشخصه‌های پاتولوژیکی دارند که بسیاری از آن‌ها در تصلب شرایین نیز دیده می‌شوند. به عنوان مثال در عروق پیر کاهش تعداد سلول‌های ماهیچه‌ای صاف داخلی، افزایش ذخیره کلاژن، تخریب لایه‌های الاستین که منجر به اتساع عروق و افزایش سایز لومن می‌شود، دیده شده است. افزایش

کلاژن و کاهش محتوای الاستینی، تا حدی با افزایش وابسته به پیری پروتئین‌های گلیکوزیله، فعالیت آنزیم‌های متالوپروتئیناز ماتریکسی و محرک‌های تغذیه‌ای مانند سیگنالینگ آنژیوتانسین II تقویت می‌شود و موجب اختلال در ارتجاعیت عروق و در نتیجه سفتی عروقی و افزایش فشار خون می‌شود. فشار خون بالا می‌تواند تولید کلاژن، افزایش سختی رگ و نقص در عملکرد سلول‌های اندوتلیال را بیشتر تحریک کند. علاوه بر تغییر در ترکیب سلولی و ماتریکس عروق پیر سطوح بالاتری از مولکول‌های پیش التهابی و افزایش جذب لیپوپروتئین‌های پلاسمایی را نشان می‌دهند. این پیامدها می‌تواند ناشی از افزایش مولکول‌های اتصال لکوسیت‌ها (گلبول‌های سفید) به سلول‌های اندوتلیال در عروق پیر باشد که مهاجرت لکوسیت‌ها به دنبال افزایش جذب لیپوپروتئین‌های آتروژنیک و ایجاد التهاب را القا می‌کنند. فرآیندهای ذکر شده اتفاقات کلیدی در ایجاد تصلب شرایین هستند (شکل ۶) (Julie et al. 2012).



شکل ۶: فرآیندهای مرتبط با پیری که موجب القاء تصلب شرایین می‌شود. (Julie et al. 2012).

از آنجایی که تصلب شرایین باعث تغییرات پاتولوژیک همراه با پیری عروقی می‌شود و پیری عروقی تصلب شرایین را القاء می‌کند، در اینجا چالش "مرغ و تخم‌مرغ" مطرح می‌شود که آیا پیری زیستی منجر به تصلب شرایین می‌شود یا تصلب شرایین، پیری عروق و پیری سلولی را پیش می‌برد (Julie et al. 2012).

پیری سلولی در تصلب شرایین

پیری سلولی به عنوان از دست دادن توانایی تقسیم سلولی به طور برگشت ناپذیر تعریف می شود. دو نوع پیری سلولی وجود دارد که عبارتند از پیری در همانندسازی و پیری زودرس القایی با استرس. پیری در همانندسازی با اتمام طول عمر رونویسی در طول زمان رخ میدهد که با کوتاه شدگی تلومرها در انتهای کروموزوم ها همراه است که در پی آن، پاسخ به آسیب های DNA القا می شود. برخلاف پیری در همانندسازی، پیری زودرس القایی با استرس توسط محرک هایی مانند عوامل اکسیدکننده و اشعه ایجاد می شوند که آبشار پیری داخل سلولی را به صورت زودرس فعال می کنند. در حالی که پیری زودرس القایی با استرس با پیری سلولی در بسیاری از ویژگی های ریخت شناسی و مولکولی اشتراک دارند، کوتاه شدگی تلومری در پیری زودرس القایی با استرس دیده نمی شود.

علاوه بر تغییر در سطح بیان تنظیم کننده های چرخه سلولی، پیری سلولی با نشانگرهای اختصاصی از جمله بتاگالاکتوزیداز بتای همراه با پیری که نوعی آنزیم لیزوزومی است که در پیری انواع مختلفی از سلول های انسانی دیده می شود، مورد شناسایی قرار می گیرد. افزایش تعداد سلول های ماهیچه ای صاف، سلول های اندوتلیال و مونوسیت ها (نوعی گلبول سفید) و ماکروفاژهای دارای بتاگالاکتوزیداز بتای همراه با پیری در عروق پیر و پلاک های موجود در تصلب شرایین نسبت به عروق جوان تر و شرایط طبیعی، این ایده را که تصلب شرایین با پیری سلولی زودرس همراه است، تقویت می کند.

تغییرات مشخصی در انواع مختلف سلولی از جمله سلول های ماهیچه ای صاف، سلول های اندوتلیال و سلول های التهابی در افراد مسن نسبت به افراد جوان وجود دارد. سلول های پیر زودرس و طبیعی شاخصه های متعددی دارند که می توان به تغییر در توانایی تکثیر، وجود نشانگرهای پیری سلولی، تمایل بیشتر به مرگ سلولی، آسیب های بیشتر در DNA، کوتاه شدن تلومرها و اختلال در عملکرد اشاره کرد. همه این مشخصه ها در سلول های عروق دارای تصلب نیز می توانند دیده شوند (Julie et al. 2012).

کوتاه شدگی تلومرها

طول تلومرها در بیشتر بافت های یک فرد در هنگام تولد مشابه است اما با هر بار تقسیم سلول و همانندسازی DNA در سلول هایی که فاقد فعالیت بالای آنزیم تلومراز هستند، طول تلومرها کوتاه می شود. اختلال در عملکرد پروتئین های دخیل در حفظ تلومرها نیز در سرعت بخشیدن به کوتاه شدن تلومرها نقش دارند. بنابراین از طول تلومرها می توان برای ردیابی تاریخچه همانندسازی بافت و سن زیستی آن استفاده کرد. تلومرهای کوتاه شده در تصلب شرایین در سلول های ماهیچه ای صاف و سلول های اندوتلیال مشاهده می شوند. علاوه بر این، تلومرهای لکوسیتی نیز در افراد دارای تصلب شرایین نسبت به افراد سالم کوتاهتر است (Julie et al. 2012).

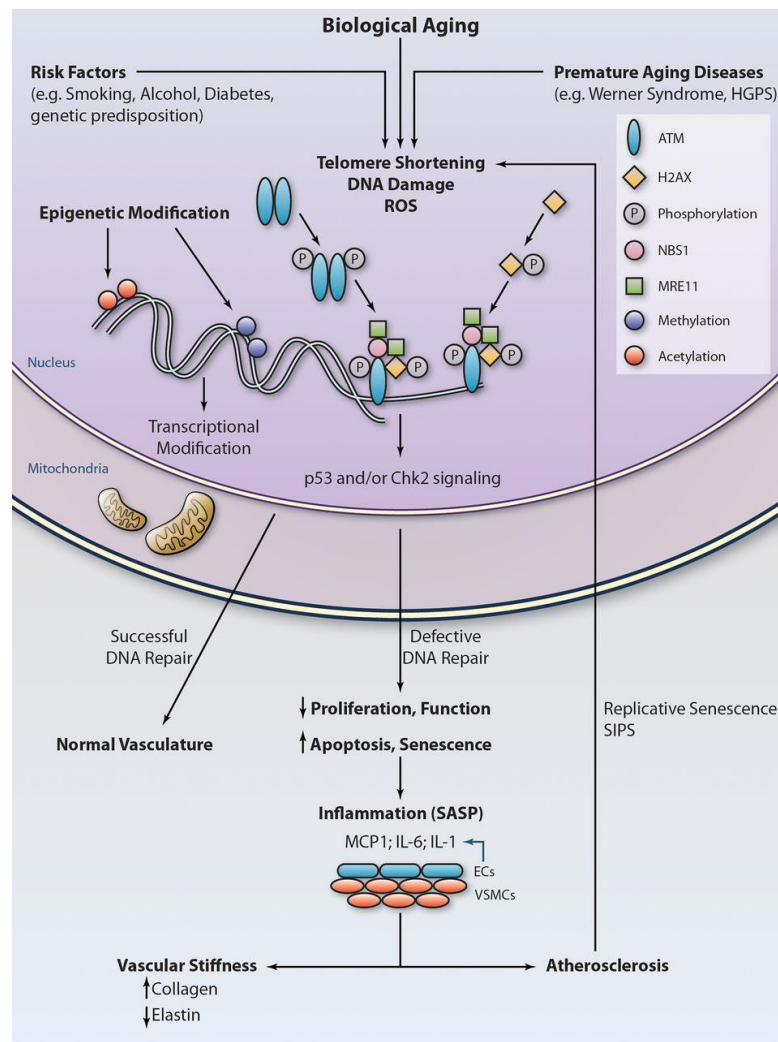
تا کنون مطالعات زیادی در زمینه ارتباط طول تلومر با بیماری های مختلف انجام شده است. معمولاً طول تلومر در بیماری های قلبی عروقی به ندرت به مقادیر بحرانی می رسد که سلول ها عملکرد صحیح خود را از دست بدهند (Julie et al. 2012).

آسیب به DNA

علاوه بر کوتاه شدن تلومرها، سلول های ماهیچه ای صاف، سلول های اندوتلیال و ماکروفاژها در افراد دارای تصلب شرایین و سالمندان، حاوی آسیب های بیشتری به DNA هم در هسته و هم در میتوکندری نسبت به افراد جوان و افراد فاقد بیماری های عروقی می باشند. تجمع آسیب DNA در سلول ها می تواند انعکاس دهنده وجود محرک های آسیب زای مداوم و یا وجود نقص در فرآیند ترمیم آسیب به DNA باشد. مانند کوتاه شدن تلومرها، آسیب به DNA نیز می تواند منجر به پیری سلول و مرگ سلولی شود. آسیب های DNA شامل شکاف یک یا دو رشته، حذف قطعاتی از DNA، تغییرات نوکلئوتیدی و تراوش DNA از هسته هستند. شناسایی و سیگنال دهی آسیب ها توسط پروتئین های حسگر مختلف از جمله P-ATM¹ و γ -H2AX² انجام می شود (شکل ۷). این دو پروتئین با ایجاد پلاک ها در تصلب شرایین افزایش می یابند. بنابراین از این دو پروتئین به عنوان نشانگر در شناسایی آسیب به DNA و پاسخ به آسیب استفاده می شود. افزایش این دو پروتئین منجر به القای آبخار کینازی درون سلولی شده که در نهایت، گروه وسیعی از پروتئین های تاثیرگذار شرکت کننده در فرآیند ترمیم DNA شامل P53 و Chk2 را فعال می کنند. در شرایط عادی، پاسخ سلول نسبت به آسیب DNA شامل توقف موقتی رشد سلول و ترمیم آسیب است اما در شرایطی که گستردگی آسیب زیاد باشد و یا نقصی در آبخار ترمیم وجود داشته باشد، پیری سلول و مرگ سلولی رخ می دهد (Mahmoudi et al. 2008).

1 - Phosphorylated forms of ataxia telangiectasia mutated

2 - Histone 2A protein X



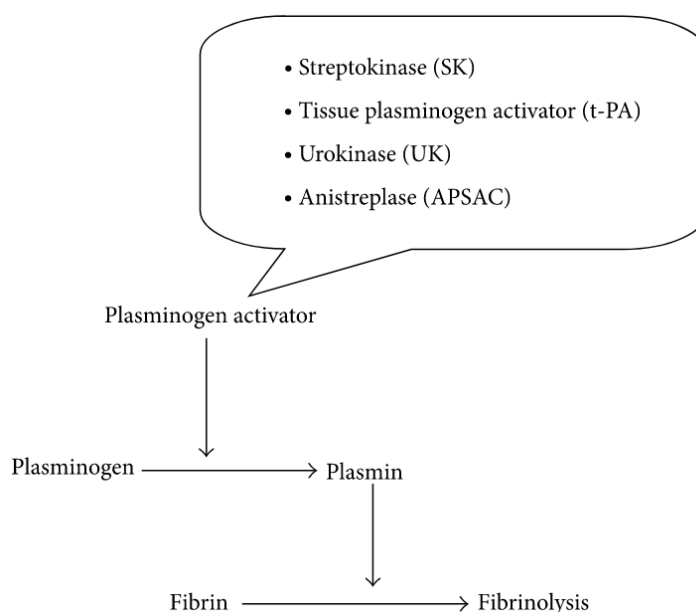
شکل ۷: مدل سازی پیری سلولی زودرس در تصلب شرایین (Mahmoudi et al. 2008).

تصلب شرایین در آسیب به DNA میتوکندریایی نیز با حذف قطعه ۴۹۷۷ گزارش شده که منجر به اختلال در عملکرد میتوکندری شده است. هرچند به طور کلی عملکرد میتوکندری با افزایش سن به تدریج کاهش می یابد، استرس اکسیداتیو می تواند این فرآیند را سرعت ببخشد (Boto et al. 2005).

مکانیسم داروهای ترومبولیتیک

هموستاز (قطع خون ریزی) و ترومبوز (ایجاد لخته در عروق سالم) در نتیجه پاسخ یکپارچه و تعاملی عوامل انعقادی، عروق خونی و پلاکت ها ایجاد می شوند. در طی ترومبوز، پروترومبین در گردش خون توسط پلاکت های فعال به شکل فعال ترومبین تبدیل می شود. ترومبین فعال سپس فیبرینوژن را با تشکیل ماتریس فیبرین به فیبرین تبدیل می کند. (Baig and Bodle 2020). داروهای ترومبولیتیک با کاتالیز تشکیل پلاسمین سرین پروتئاز به سرعت ترومبوز را از بین می برند. نمایش

شماتیک از بین رفتن فیبرین‌ها در شکل ۸ نشان داده شده است. چندین نوع داروی ترومبولیتیک معمولاً در سراسر جهان به منظور از بین بردن ترومبوز استفاده می‌شود. در این بین ترکیباتی از قبیل استرپتوکیناز (SK)، فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (t-PA)^۱، اوروکیناز و آنیسترپلاز موجب فعال شدن پلاسمینوژن و تبدیل آن به پلاسمین می‌شود. در ادامه پلاسمین موجب از بین رفتن فیبرین می‌شود (Ali, Salim Hossain et al. 2014).



شکل ۸: شماتیکی از نحوه از بین رفتن فیبرین‌ها. همانطور که در شکل مشخص است داروهای ترومبولیتیک منجر به فعال شدن پلاسمینوژن و تولید پلاسمین فعال و در ادامه از بین رفتن فیبرین خواهند شد. در این بین ترکیباتی از قبیل استرپتوکیناز، فعال کننده پلاسمینوژن بافتی، اوروکیناز و آنیسترپلاز موجب فعال شدن پلاسمینوژن و تبدیل آن به پلاسمین می‌شود. در ادامه پلاسمین موجب از بین رفتن فیبرین می‌شود.

(Ali, Salim Hossain et al. 2014)

داروهای فیبرینولیتیک با منشا زیستی

از آنجایی که استفاده از داروهای ترومبولیتیک با منشا شیمیایی، با عوارضی مانند واکنش‌های حساسیت‌زا و واکنش‌های عمومی می‌تواند همراه باشد، توسعه منابع زیستی ترکیبات فیبرینولیتیک در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. به عنوان مثال در پژوهش نادری و همکاران، ترکیبات زیستی اسانس چاشنی‌های گیاهی مختلف به روش GC/MS آنالیز شده و سپس

¹ Tissue Plasminogen Activator

فعالیت فیبرینولیتیک اسانس ها در حضور و عدم حضور استرپتوکیناز بررسی شد. در این روش (GC/MS) از یک دستگاه که شامل دو بخش هست استفاده می شود. یک بخش شامل کروماتوگراف گازی و بخش دیگر طیف سنج جرمی می باشد. یکی از کاربردهای این دستگاه در شناسایی مواد مجهول در ترکیبات است. در قسمت GC مولکول های مختلف ترکیب از هم جدا می شوند و داخل ستون قرار میگیرند سپس قسمت MS آن ها را یونیزه میکند و هر مولکول را به تفکیک آشکار میکند، در واقع شناسایی توسط طیف جرمی متفاوت مولکول های یونیزه شده صورت میگیرد. نتایج GC/MS نشان داد که کاروکرول، لینالول و تیمول در آویشن شیرازی، آر-تورمرون، آلفا-تورمرون، زینجی برن و آر-کورکومین در زردچوبه، سینامالدئید در دارچین و هگزیل بوتیرات، اتیل دکانات و اکتیل استات در گلپر، بیشترین سهم را در میان ترکیبات موجود در اسانس ها به خود اختصاص داده اند. برای سنجش فعالیت فیبرینولیتیک اسانس ها، از محلول فیبرینوژن استریل انسانی نشان دار شده با فلوئورسین ایزوتیوسیانات (FITC) استفاده شد. سپس به منظور ایجاد لخته نشان دار، محلول کلسیم کلرید به کمپلکس فیبرینوژن-FITC افزوده شد و در نهایت اثر رقت های مختلف اسانس ها بر میزان ایجاد لخته با افزایش فلورسنس محیط در غیاب و حضور استرپتوکیناز بررسی شد. نتایج این پژوهش تایید کننده بیشترین اثر فیبرینولیتیک در اسانس آویشن شیرازی بود. فعالیت فیبرینولیتیک اسانس آویشن شیرازی و افزایش فلورسنس ناشی از تخریب لخته به صورت وابسته به دوز و مستقل از زمان بود در حالی که فعالیت فیبرینولیتیک اسانس زردچوبه هم وابسته به دوز و هم وابسته به زمان بود. فعالیت فیبرینولیتیک زردچوبه را می توان به دو ترکیب کورکومین و زینجی برن نسبت داد که در پژوهش های پیشین نیز اثر فیبرینولیتیک آن ها گزارش شده است. در این مطالعه اثر فیبرینولیتیک اسانس دارچین نسبت به اسانس آویشن شیرازی و زردچوبه به میزان کمتری مشاهده شده است که این امر به تاثیر جوشاندن و تبخیر بر از بین رفتن اثرات دارویی سینامالدئید نسبت داده شده است. در مورد اسانس گلپر که دارای مقادیر زیادی استرهای خطی و هگزیل بوتیرات است، هیچ گونه اثر فیبرینولیتیک در محیط های پلاسمایی حاوی لخته مشاهده نشد.

فعال کننده های پلاسمینوژن بافتی

فعال کننده پلاسمینوژن بافتی یک سرین پروتئاز است که از یک زنجیره اسید آمینه ای ۵۲۷ واحدی تشکیل شده است که وزن مولکولی آن حدود ۷۰ کیلو دالتون است. این ترکیب به طور طبیعی در سلول های اندوتلیال یافت می شود. t-PA به فیبرین در سطح لخته متصل می شود و پلاسمینوژن متصل به فیبرین را فعال می کند. در ادامه پلاسمین از پلاسمینوژن مرتبط با فیبرین جدا می شود و مولکول های فیبرین توسط پلاسمین از هم جدا شده و لخته از بین می رود. به طور معمول، 2α -آنتی پلاسمین در گردش، پلاسمین را غیرفعال می کند، اما دوزهای درمانی t-PA منجر به تشکیل پلاسمین کافی می شود که با این کار اثر غلظت های محدود گردش خون 2α -آنتی پلاسمین را از بین ببرد. در حال

حاضر t-PA انسانی با عنوان تجاری آلتپلاز^۱ با استفاده از فناوری DNA نو ترکیب تولید می‌شود. رتپلاز^۲ یکی دیگر از داروهای نو ترکیب t-PA است که چندین توالی آمینواسیدی از ساختار آن حذف شده است. تنکتپلاز^۳ (TNK-tPA) شکل دیگر جهش یافته t-PA است که نیمه عمر طولانی‌تری نسبت به سایر ترکیبات دارد. (Ali, Salim Hossain et al. 2014).

این داروها را می‌توان در دو زیر گروه قرار داد که شامل:

عوامل اختصاصی به فیبرین: این عوامل بیشتر برای تبدیل به حضور فیبرین نیاز دارند، با این حال در مقادیر بسیار کمتر می‌توانند در غیاب فیبرین نیز این کار را انجام دهند. از این جمله داروها می‌توان به آلتپلاز، رتپلاز (فعال کننده نو ترکیب پلاسمینوژن) و تنکتپلاز اشاره کرد.

عوامل اختصاصی غیر فیبرینی: اینها برای تبدیل نیازی به حضور فیبرین ندارند، به همین دلیل است که می‌توانند این کار را به صورت سیستماتیک در عدم حضور فیبرین نیز انجام دهند. از جمله این ترکیبات می‌توان به استرپتوکیناز اشاره کرد (Baig and Bodle 2020).

استرپتوکیناز^۴

استرپتوکیناز پروتئینی با جرم مولی ۴۷ کیلو دالتون و ۴۱۴ آمینواسید است که توسط سویه‌های مختلف استرپتوکوک h-همولیتیک تولید می‌شود. این پروتئین حداکثر فعالیت خود را در pH تقریبی ۷/۵ داشته و pH ایزوالکتریک آن ۴/۷ است. این پروتئین پلی پپتیدی تک زنجیره‌ای است که با پلاسمینوژن پیش فعال کننده ترکیب می‌شود. این کمپلکس آنزیمی باعث تغییر پلاسمینوژن غیر فعال به پلاسمین فعال و بنابراین، ایجاد فعالیت فیبرینولیتیک می‌شود (Banerjee, Chisti et al. 2004).

اوروکیناز^۵

اوروکیناز آنزیمی انسانی است که توسط کلیه تولید شده و به طور مستقیم پلاسمینوژن را به پلاسمین فعال تبدیل می‌کند. وزن مولکولی اوروکیناز ۵۴۰۰ دالتون است که شامل سه دومین ساختاری است. این دومین‌ها شامل دومین سرین پروتئازی، دومین کرینگل و دومین فاکتور رشد با پروتئین ۴۱۱ آمینواسیدی است. به طور طبیعی بازدارنده‌های موجود در پلاسمین مانع از عملکرد پلاسمین می‌شوند. با این حال، عدم وجود مهار کننده‌های اوروکیناز و کمپلکس استرپتوکیناز-پیش فعال کننده امکان استفاده بالینی از آن‌ها را داده است. پلاسمینی که در داخل ترومبوز توسط این فعال کننده‌ها ایجاد می‌شود آن را از آنتی پلاسمین‌های پلاسما محافظت می‌کند، که به آن امکان می‌دهد که ترومبوز را از بین ببرد (Ali, Salim Hossain et al. 2014).

¹ Alteplase

² Reteplase

³ Tenecteplase

⁴ Streptokinase

⁵ Urokinase

آنی استریپلاز^۱

آنی استریپلاز (کمپلکس فعال کننده پلاسمینوژن استریپتوکیناز؛ APSAC) شامل مجموعه‌ای از استریپتوکیناز باکتریایی است که برای محافظت از جایگاه فعال آنزیم هیدروکسیل خود را از دست داده است. این ترکیب هنگامی که تجویز می‌شود، گروه آسیل به طور خود به خود هیدرولیز می‌شود و کمپلکس فعال کننده استریپتوکیناز فعال شده را آزاد می‌کند. این محصول (که اخیراً در ایالات متحده مصرف آن متوقف شده است) امکان تزریق سریع داخل وریدی، اثربخشی بیشتر بر لخته (یعنی فعالیت بیشتر روی پلاسمینوژن مرتبط با لخته‌ها نسبت به پلاسمینوژن آزاد در خون) و فعالیت ترومبولیتیک بیشتر را فراهم می‌کند (Ali, Salim Hossain et al. 2014).

لانوتپلاز^۲

لانوتپلاز به مانند تنکتپلاز، یک فعال کننده پلاسمینوژن بافتی نو ترکیب است که به صورت یک دوز واحد تجویز می‌شود. هیچ مطالعه واضحی وجود ندارد که تنکتپلاز و لانوتپلاز را در اثربخشی یا عوارض جانبی آن‌ها مقایسه کند.

پروروکیناز

پروروکیناز یک پیش‌ساز نسبتاً غیرفعال است که برای فعال شدن تبدیل آن به اوروکیناز ضروری است. نیاز به چنین تبدیلی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی ویژه فیبرین پرو اوروکیناز را فراهم می‌کند. این ترکیب عاملی جدیدتر است که در حال حاضر در مرحله آزمایشات بالینی قرار دارد (Baig and Bodle 2020).

داروهای گشاد کننده عروق خونی

داروهای گشاد کننده عروق در تنظیم فشار خون بالا، آنژین، نارسایی قلبی، بیماری‌های کلیوی حاد، سکته قلبی و موارد دیگر مفید هستند. امروزه گروه‌های مختلفی از گشاد کننده‌های عروق در درمان‌های بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرد که هر کدام با اثرات مختلف بر روی عروق کرونر و عروق محیطی (شریان‌ها و وریدها) عملکرد خود را نشان می‌دهند. ترکیبات گشاد کننده عروق بیشتر بر شریان‌های بدن انسان تأثیر می‌گذارد، با این حال برخی از گشاد کننده‌های عروق مانند نیتروگلیسیرین، می‌توانند عمدتاً بر سیستم وریدی بدن نیز تأثیر بگذارند. تاکنون چندین گشاد کننده عروق مختلف توسعه و مورد استفاده قرار گرفته است، که در زیر ذکر به این موارد اشاره شده است.

۱- گشاد کننده‌های عروق مستقیم

۲- مسدود کننده های کانال کلسیم

۳- آنتاگونیست سیستم رنین-آنژیوتانسین-آلدوسترون

¹ Annie Streplas

² Lanoteplase

- ۴- آگونیست گیرنده بتا ۲
- ۵- آنتاگونیست گیرنده آلفا-۱ پس سیناپسی
- ۶- آگونیست گیرنده آلفا-۲ با اثر مرکزی
- ۷- آنتاگونیست گیرنده اندوتلین
- ۸- مهار کننده‌های فسفودی استراز (Hariri and Patel 2020).

مکانیسم عمل گشاد کننده‌های عروق

به طور کلی، گشاد کننده‌های عروق، با گشاد کردن رگ‌ها یا جلوگیری از انقباض عروق خونی موجب جریان خون بیشتر در اندام‌های مختلف بدن می‌شوند. بسیاری از گشاد کننده‌های عروق به گیرنده‌های سلول‌های اندوتلیال عروق خونی متصل می‌شوند که این عمل موجب آزاد شدن یون کلسیم می‌شود. کلسیم آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NO synthase) را فعال کرده و آرژنین را به NO (نیتریک اکسید) تبدیل می‌کند. این ترکیب از طریق انتشار سلول‌های اندوتلیال را ترک کرده و وارد سلول‌های ماهیچه‌ای صاف عروقی می‌شود. NO موجب فعال شدن GTP^۱ و تبدیل آن به cGMP^۲ می‌شود. سپس cGMP فسفاتاز، زنجیره میوزین-سبک را تحریک می‌کند، که این کار منجر به حذف یک فسفات از رشته‌های میوزین و اکتین می‌شود. دفسفوریلاسیون رشته‌های میوزین و اکتین باعث استراحت ماهیچه‌های صاف عروقی می‌شود (شکل ۹).

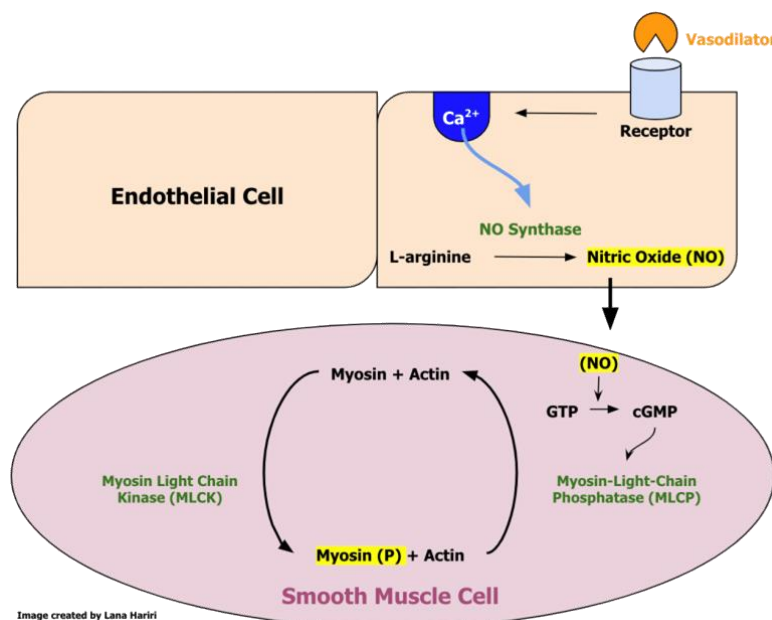
در زیر به مکانیسم‌های اختصاصی عمل هر یک از گروه‌های مختلف ترکیبات گشاد کننده عروق اشاره شده است:

- مهار کننده‌های ACE^۳: جلوگیری از تبدیل آنژیوتانسین I به آنژیوتانسین II.
- مسدود کننده‌های گیرنده آنژیوتانسین: از اتصال آنژیوتانسین II به گیرنده آن جلوگیری می‌کنند.
- نیترات: مقدار NO (نیتریک اکسید) را در سلول‌های عضله صاف عروقی افزایش داده و باعث گشاد شدن عروق می‌شود. نیترات‌ها وریدها را بیش از شریان‌ها گشاد می‌کنند.
- مسدود کننده‌های کانال کلسیم: کانال‌های کلسیم را در ماهیچه‌های قلبی و صاف مسدود کرده و باعث کاهش انقباض و گشاد شدن عروق می‌شوند. دو دسته از این داروها وجود دارد که شامل: دی هیدروپیریدین‌ها (روی عضلات صاف عروقی عمل می‌کنند) و غیر دی هیدروپیریدین‌ها (روی قلب عمل می‌کنند).
- ماینوکسیدیل: به طور مستقیم ماهیچه صاف شریانی را شل می‌کند و اثری بر وریدها ندارد. cAMP حلقوی ممکن است واسطه ایجاد اثرات این ترکیب دارویی باشد.
- هیدرالازین: مکانیسم دقیق آن هنوز ناشناخته است.

¹ Guanosine Nucleotide-binding Protein

² Cyclic guanosine monophosphate

³ Angiotensin-converting enzyme inhibitor



شکل ۹: مکانیسم عمل داروهای گشاد کننده عروق در ماهیچه‌های صاف. (Hariri and Patel 2020).

داروهای گشاد کننده عروق را می‌توان به روش‌های مختلفی از جمله زیر زبانی، IV (تزریق مستقیم در ورید)، خوراکی تجویز کرد. بسته به شرایط بالینی، برخی از روش‌های تجویز می‌تواند مفیدتر از بقیه باشد. به عنوان مثال، در شرایط انفارکتوس حاد میوکارد، بیماران به احتمال زیاد از نیتروگلیسرین زیر زبانی سود خواهند برد، زیرا بسیار سریع‌تر از طریق زیر زبانی جذب می‌شود و به بیمار اجازه می‌دهد احساس راحتی بیشتری داشته باشد و اغلب درد قفسه سینه را کاهش می‌دهد. گشاد کننده‌های نیتروژنی مانند نیتروپروساید و نیتروگلیسرین اغلب در موارد اورژانسی فشار خون بالا استفاده می‌شوند. در چنین شرایطی تجویز نیتروپروساید سدیم از طریق وریدی صورت می‌گیرد. این دارو در عرض یک دقیقه یا کمتر شروع به کاهش فشار خون می‌کند و این عوارض ظرف ۱۰ دقیقه پس از قطع ناپدید می‌شوند. در طول تجویز این دارو نظارت بالینی مکرر ضروری است. مشابه نیتروپروساید، نیتروگلیسرین را نیز می‌توان در شرایط خاص به صورت داخل وریدی استفاده کرد. فشارخون شدید هنگام زایمان باید با لابتالول/هیدرالازین وریدی یا نیفدیپین خوراکی درمان شود تا از خونریزی داخل جمجمه یا اکلامپسی جلوگیری شود. مسدود کننده‌های کانال کلسیم از قبیل کلودیپین و نیکاردیپین می‌توانند به صورت داخل وریدی در مواقع ضروری فشار خون بالا مورد استفاده قرار گیرند در حالی که آملودیپین و نیفدیپین فرمول‌های خوراکی دارند که در درمان معمول فشار خون استفاده می‌شوند (Hariri and Patel 2020).

درمان‌های مبتنی بر نانوداروها

رویکردهای نانوپزشکی انقلابی در درمان سرطان و بیماری‌های عروقی ایجاد کرده است. محدودیت‌های حذف عوامل بیماری‌زا غیر اختصاصی سریع، توزیع بیولوژیکی ضعیف و عوارض جانبی مضر مرتبط با تجویز مستقیم سیستمیک داروها را می‌توان با بسته بندی مواد داخل نانو محصولات با زمان گردش خون طولانی برطرف کرد. در این داروها سطح ترکیبات بیشتر با لیگاندها اصلاح می‌شود تا به طور فعال اجزای سلولی/مولکولی بیماری را هدف قرار دهد. به عنوان مثال، در زمینه انحلال سریع لخته خون در موارد ترومبوز، داروهای ضد انعقاد خوراکی یا داخل وریدی (هپارین) عوارض جانبی شدیدی از انعقاد سیستمیک و خونریزی را نشان داده‌اند. داروهای فیبرینولیتیک مانند کینازهای مختلف (به عنوان مثال، استرپتوکیناز) و فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (t-PA)، هنگامی که مستقیماً از طریق داخل وریدی یا داخل شریانی تجویز می‌شوند، سریع در پلاسما غیرفعال می‌شوند و در بازه های زمانی معقولی در جریان خون باقی نمی‌مانند. توزیع سیستمیک چنین داروهایی همچنین منجر به عوارض جانبی ناخواسته انعقادی شده است. برای حل این مسائل، تمرکز تحقیقات قابل توجهی بر روی دارورسانی محلی جهت افزایش بازده درمان و زمان بقا دارو در بدن صورت گرفته است. در یک استراتژی موازی برای تحویل انتخابی ترکیب دارویی، عوامل مختلف درمانی و تشخیصی به طور مستقیم با لیگاندها و آنتی‌بادی‌هایی ترکیب شده‌اند که اجزای سلولی/مولکولی بیماری عروقی را هدف گرفته و به آن‌ها متصل می‌شوند. تکنیک‌های مهندسی ژنتیک همچنین منجر به توسعه داروهای خاصی شده است که نسبت به مولکول‌های مشابه در گردش سیستمیک، میل بیشتری به مولکول‌های مرتبط با لخته دارند. یک نمونه برجسته t-PA نو ترکیب است که نسبت به فیبرین سیستمیک میل بیشتری به فیبرین مرتبط با لخته دارد. این استراتژی‌ها در واقع اثر درمانی را در مقایسه با دارو درمانی معمولی بهبود بخشیده‌اند، اما در بسیاری از موارد هنوز از نظر حفظ غلظت مطلوب دارو و عملکرد پایدار، نامناسب هستند. با بسته‌بندی غلظت‌های بهینه ترکیبات دارویی در نانوذرات می‌توان با مهندسی زیستی به بازده بالایی در درمان دست یافت. تاکنون مطالعات متعددی در جهت استفاده از حامل‌های لیپوزومی، میسل‌ها، نانوسفرها، صفحات نانو و نانوکپسول‌ها پلیمری، نانوساختارهای حساس به اولتراسوند، نانوسفرها و صفحات نانو طلا، نانوساختارهای دندریمر، نانوساختارهای حساس به مغناطیس، ذرات رادیولیبیل شده، کوانتوم دات‌ها و برخی ساختارهای دیگر صورت گرفته است (Gupta 2011).

آنژیوژنز درمانی در بیماری‌های قلبی عروقی

آنژیوژنز (رگ زایی) درمانی با هدف تحریک و تقویت رشد رگ‌های خونی جدید از رگ‌های موجود به منظور تأمین مجدد جریان خون به بافت‌های ایسکمیک آسیب دیده، انجام می‌شود. هدف از آنژیوژنز درمانی، القاء، تقویت و کنترل پاسخ آنژیوژنز میزبان به منظور بازسازی عروق بافت‌های ایسکمیک است و معمولاً شامل رساندن فاکتورهای رشد یا سلول‌های بنیادی/پیشرو به بافت آسیب دیده است. فاکتورهای رشد به شکل پروتئین‌ها یا ژن‌های کد کننده پروتئین های هدف تحویل داده می‌شوند.

فاکتورهای رشد رایج مورد استفاده در این رویکرد، VEGF¹ (فاکتور رشد اندوتلیال عروقی) و FGF² (فاکتور رشد فیبروبلاست) هستند که رفتار آنژیوژنیک در سلول‌ها و بافت‌های ایسکمیک را هدایت می‌کنند. سلول‌های تحویل داده شده در ایجاد منابع عروقی دخالت دارند و به عنوان واحدهای سازنده عروق خونی جدید عمل می‌کنند (Miller and Horvath 2020).

درمان با فاکتورهای رشد

فاکتورهای رشد متنوعی از جمله VEGF، bFGF، فاکتور رشد هپاتوسیتی (HGF)، PDGF، ANG-1 و فاکتور رشد شبه انسولینی (IGF-1) برای آنژیوژنز درمانی استفاده می‌شوند. از میان این فاکتورها، VEGF و bFGF بیشترین سهم مطالعات را به خود اختصاص داده‌اند و آزمایش‌های بالینی انسانی را گذرانده‌اند. VEGF مهم‌ترین تنظیم‌کننده آنژیوژنز فیزیولوژیک طی رشد، ترمیم و پاسخ به کمبود اکسیژن است به طوری که بیان آن در شرایط کمبود اکسیژن توسط فاکتورهای رونویسی الفاشونده با هایپوکسی تا ۳۰ برابر افزایش می‌یابد و در واقع مهم‌ترین فاکتور آنژیوژنیک القایی در این شرایط محسوب می‌شود. اگرچه در صورتی که این فاکتور به تنهایی تجویز شود، منجر به ایجاد مویرگ‌های ناپایدار و دارای نشتی می‌شود. PDGF-B با بکارگیری سلول‌های مزانشیمی پیشرو به تثبیت عروق خونی نوظهور کمک می‌کند. تحقیقات نشان داده است که تجویز هم زمان VEGF و PDGF می‌تواند منجر به تشکیل عروق بالغ شود. bFGF از اولین فاکتورهای آنژیوژنیک شناخته شده است که هم ویژگی آنژیوژنیک و هم ویژگی آرتیوژنیک دارد. گیرنده‌های FGF در سطح هر دو نوع سلول اندوتلیال و ماهیچه‌ای بیان می‌شوند و ایجاد شبکه عروق خونی بالغ را تسهیل می‌کند. خانواده HGF³، با اتصال به گیرنده‌های c-MET موجود در سطح سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های عضلات صاف عروقی و سلول‌های بنیادی خون ساز، پاسخ آنژیوژنیک را القا می‌کنند (Losordo and Dimmeler 2004).

تا امروز، مطالعات زیادی به ارزیابی پیش بالینی و بالینی ایمنی و کارایی فاکتورهای رشد در القای آنژیوژنز در بیماری‌های ایسکمی قلبی و بیماری‌های عروق محیطی پرداخته‌اند. داده‌های پیش بالینی نشان می‌دهد که تجویز VEGF و bFGF در نهایت منجر به رشد عروقی ناپایدار می‌شود. به نظر می‌رسد که محدودیت پاسخ‌های بالینی به فاکتورهای رشد به چند دلیل برمی‌گردد. تحویل فاکتورهای رشد به دلیل انتشار سریع، پایداری زیستی ضعیف و نیمه عمر کوتاه در شرایط in-vivo محدود است. علاوه بر آن، معمولاً نیاز به تجویز دوزهای فوق فیزیولوژیک یا تزریق‌های چند باره است که می‌تواند منجر به تشکیل کنترل نشده و بیش از حد عروق در نقاط نامطلوب شود (Deveza, Choi et al. 2012).

درمان‌های مبتنی بر سلول

¹ Vascular endothelial growth factor

² Fibroblast growth factor

³ Hepatocyte growth factor

درمان‌های مبتنی بر سلول برای آنژیوژنز به صورت گسترده‌ای تحت مطالعه قرار گرفته‌اند. این رویکردها به طور مستقیم در تشکیل عروق جدید یا ترشح سیگنال‌های پاراکرین دخالت دارند. سلول‌ها به دلیل داشتن محتوای متنوع سیتوکینی می‌توانند به عنوان عوامل آزاد کننده پاراکرین در پاسخ به افت اکسیژن عمل می‌کنند. مهاجرت سلول‌ها و پاسخ آن‌ها به شرایط محیطی باعث بیشتر شدن ترشح پاراکرین می‌شود. بیشترین سلول‌های مطالعه شده برای آنژیوژنز درمانی، سلول‌های پیش ساز اندوتلیال (EPC) و سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان (BMMSC) هستند. البته باید در نظر داشت که در مطالعات مختلف از روش‌های متفاوت برای جداسازی جمعیت‌های سلولی استفاده می‌شود (Leeper, Hunter et al. 2010). این جمعیت‌های سلولی می‌توانند به سلول‌های اندوتلیال، پری‌سیت‌ها¹ (سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی در اطراف عروق) یا سلول‌های ماهیچه‌ای صاف تمایز یابند و به عنوان واحدهای ساختاری آنژیوژنز عمل کنند و یا حتی ممکن است بتوانند رشد عروق را با مکانیسم‌های پاراکرین تقویت کنند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان نیز اگرچه توانایی تمایز به سلول‌های عروقی را دارند، بیشتر با ترشح فاکتورهای پروآنژیوژنیک در آنژیوژنز نقش دارند. سلول‌های بنیادی مشتق شده از آدیپوزها (ADSC) نیز پتانسیل تمایزی و خاصیت ترشح پاراکرینی مشابهی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان دارند. در مقایسه با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان، سلول‌های بنیادی مشتق شده از آدیپوزها فراوانی بیشتری دارند و جداسازی آن‌ها آسان‌تر است. اگرچه نیاز به مطالعات بیشتر برای کاربردهای بالینی دارند (Deveza, Choi et al. 2012).

مزایای اصلی درمان با سلول‌های بنیادی اوتولوگ² به ایمنی زایی و اخلاق زیستی بر می‌گردد. از آن جایی که این سلول‌ها مجدداً به همان بیمار پیوند زده می‌شود که از او جمع‌آوری شده است، مشکل پس زدن سیستم ایمنی که در ایمپلنت‌های آلورژنیک دیده می‌شود، وجود ندارد. هم‌چنین، به دلیل اینکه سلول‌های پیشرو از بافت‌های بزرگسالان گرفته می‌شود، نگرانی‌های اخلاقی نیز وجود ندارد. علاوه بر آن، مانند سلول‌های بنیادی بزرگسالان، پتانسیل تمایز در این سلول‌های پیشرو محدود است و خطر ایجاد بافت‌های نابجا و تومورزایی کمتر می‌شود. از طرف دیگر، درمان‌های مبتنی بر سلول‌ها هنوز هم محدودیت‌های متعددی دارد. معمولاً جمعیت‌های سلولی هنگام جداسازی هتروژن³ هستند که منجر به ایجاد پاسخ‌های متنوع در آن‌ها می‌شود. فراهم سازی تعداد زیاد سلول جهت پیوند، نیاز به توسعه سلولی در ex-vivo است که نیازمند صرف هزینه و زمان زیاد است. علاوه بر آن، کارایی پیوند سلولی پایین است و احتمال القای پاسخ‌های التهابی وجود دارد (Fadini, Agostini et al. 2010).

درمان با بیومتریال‌های پلیمری

¹ Pericytes

² Autolog

³ Heterogeneity

بیومتریال‌های^۱ پلیمری به عنوان مخازن تحویل دارو جهت رهاسازی کنترل شده سیگنال‌های زیستی در شرایط زمانی و مکانی تنظیم شده عمل می‌کنند. در شرایط ایده آل، این سیستم‌ها فاکتورهای رشد در مقادیر فیزیولوژیک طی چند روز تا چند هفته آزاد می‌کنند و به این ترتیب به مشکل نیمه عمر کوتاه پروتئین‌ها و انتشار سریع آن‌ها کمک می‌کنند. بیومتریال‌های پلیمری با به تعویق انداختن آزادسازی فاکتورهای رشد و یا با رهاسازی عوامل زیستی در پاسخ به شرایط محیطی از جمله تغییرات pH و یا فعالیت‌های متالوپروتئینازهای ماتریکس سلولی در آنژیوژنز جهت درمان بیماری‌های قلبی عروقی نقش دارند. از پلیمرهای زیستی رایج در این زمینه می‌توان به پلی لاکتیک کوگلیکولیک اسید (PLGA)، پلی اتیلن گلیکول (PEG)، آلزینات و ژلاتین اشاره کرد. بسیاری از سیستم‌های ابتدایی در آنژیوژنز درمانی از PLGA به عنوان پلیمر پایه جهت رهاسازی کنترل شده VEGF استفاده کرده‌اند. PLGA به دلیل تجزیه پذیری زیستی و قابلیت آزادسازی تحت کنترل، محبوبیت زیادی دارد. اگرچه، هنگامی که تجزیه می‌شود، اسیدیته موضعی بالا می‌رود که منجر به ایجاد التهاب می‌شود. PEG پلیمر زیست سازگار دیگری است که به صورت طبیعی خنثی می‌باشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی و مکانیکی قابل تنظیمی دارد. از این پلیمر برای ساخت هیدروژل‌های پاسخگو به سلول جهت رهاسازی VEGF استفاده شده است. آلزینات و ژلاتین از پلیمرهای طبیعی هستند که می‌توانند با سلول‌ها در شرایط in-vivo ارتباط برقرار کنند و به کنترل رهاسازی داروها کمک کنند. اگرچه، ترکیبات جداسازی شده از طبیعت و ویژگی‌های شیمیایی آن‌ها نسبت به ترکیبات سنتتیک، قابلیت تنظیم کمتری دارد (Zisch, Lutolf et al. 2003, Lin and Anseth 2009).

بیماری‌های شریان‌های محیطی

بیماری‌های شریان‌های محیطی یا PAD^۲ به نقص جریان خون در اندام‌ها به دلیل آترواسکلروز اشاره دارد. به طور معمول، علائم بیماری‌های شریان‌های محیطی به نیازمندی‌های متابولیک بافت‌های ایسکمیک در هنگام ورزش، و اندازه و محل عروق آسیب دیده بستگی دارد. شیوع بیماری‌های شریان‌های محیطی در جمعیت‌های زیر ۷۰ سال بین ۳ تا ۱۰ درصد و در جمعیت‌های بالای ۷۰ سال، بین ۱۵ تا ۲۰ درصد است. اگرچه نزدیک به ۴۰ درصد بیماران PAD بدون علامت هستند، یک سوم بیماران PAD، انسداد کامل شریان اصلی پا را به عنوان اولین تظاهرات بیماری نشان می‌دهند (Abdulhannan, Russell et al. 2012).

بیماری‌های شریان‌های محیطی از هر عارضه‌ای که منجر به تنگی یا انسداد شریان‌های اندام‌های تحتانی شود، ناشی می‌شود که در این بین، آرترواسکلروز یا تصلب شرایین رایج‌ترین عارضه می‌باشد. تصلب شرایین یک فرایند پیچیده است که شامل اختلال عملکرد اندوتلیال، اختلالات چربی، فعال شدن پلاکت‌ها، ترومبوز، استرس اکسیداتیو، فعال‌سازی عضلات صاف عروقی، متابولیسم تغییر یافته ماتریکس و عوامل ژنتیکی است. همچنین، نقش التهاب در تمام مراحل توسعه تصلب شرایین

¹ Biometric

² - Peripheral arterial disease

به طور گسترده‌ای شناخته شده است. در حالی که تا کنون چندین نشانگر زیستی بالقوه در این فرآیند شناسایی شده‌اند، پاتوفیزیولوژی پیچیده و در هم آمیخته تشکیل پلاک موفقیت عوامل تنظیم کننده دارویی را محدود کرده است. توسعه تصلب شرایین از سال‌های نوجوانی در اثر اختلال در عملکرد اندوتلیال و تشکیل رگه‌های چربی به عنوان ضایعه انتهایی در داخل عروق آغاز می‌شود. این رگه‌ها تا ایجاد آترومای فیبروپولیفراتیو پیش می‌روند و ضایعه پیشرفته نهایی شامل یک هسته لیپیدی نکروتیک پوشیده شده از یک درپوش الیافی است که ممکن است نازک و پاره شود (Abdulhannan, Russell et al. 2012).

عوامل خطر برای تصلب شرایین شامل نژاد، جنسیت مذکر، افزایش سن، کشیدن سیگار، دیابت ملیتوس، فشار خون بالا، اختلالات چربی خون، غلظت خون، بالا بودن هوموسیستوین خون، التهاب سیستمیک و نارسایی مزمن کلیه می‌باشد (McFalls, Ward et al. 2004).

بیماری در حدود ۲۵ درصد بیماران که لنگش متناوب^۱ (درد در قسمت پایینی پا که در زمان راه رفتن رخ می‌دهد و معمولاً بعد از استراحت چند دقیقه‌ای از بین می‌رود) دارند، در اولین سال ظهور علائم به میزان ۷ تا ۹ درصد و پس از آن، هر سال، ۲ تا ۳ درصد پیشرفت می‌کند. اگرچه قطع عضو پدیده نادری است که تنها در ۱ تا ۳ درصد موارد بسیار حاد طی ۵ سال مورد نیاز است، در اندام‌هایی که زخم ایجاد می‌شود به دلیل نارسایی عروقی که بدون بازسازی شبکه عروقی تحت درمان بوده‌اند، خطر قطع عضو در ۶ ماه، ۱۹ درصد و در ۱ سال، ۲۳ درصد است (Formiga, Pelacho et al. 2010).

مدیریت و درمان بیماری‌های شریان‌های محیطی

مدیریت بیماری‌های شریان‌های محیطی شامل اصلاح سبک زندگی، اصلاح عوامل خطر (کنترل چربی، کنترل فشار خون، کنترل دیابت، کاهش پلاکت) و دارو درمانی است. (Abdulhannan, Russell et al. 2012).

استفاده از روش‌های مبتنی بر ابزارهای مکانیکی

انتخاب مناسب‌ترین روش درمانی ایسکمی به میزان شدت ایسکمی بافتی وابسته است. در موارد شدید ایسکمی عروقی استفاده از جراحی عروق ضروری می‌باشد. علاوه بر این در بیماران مبتلا به ایسکمی حاد در اندام‌های تحتانی بدن از دستگاه‌های مختلف ترومبوکتومی به صورت مجزا و یا همراه با تجویز دارویی استفاده می‌شود. (Theodoridis, Davos et al. 2018).

آنژیوپلاستی

¹ Intermittent claudication (IC)

یکی از رویکردهای دیگر برای درمان بیماران PAD بازسازی شبکه عروقی با آنژیوپلاستی است. فاکتورهای رشد آنژیوژنیک متعددی رشد عروق خونی را القا می‌کنند و می‌توانند به عنوان پروتئین نوترکیب یا DNA آزاد از طریق تزریق درون سرخرگی یا درون ماهیچه‌ای برای القای ایجاد جریان کولترال تجویز شوند. فاکتورهای آنژیوژنیک شامل VEGF، FGF، HGF و فاکتور HIF-1 α در مطالعات فاز ۱ و ۲ در بیماران حاد ایسکمی اندامی استفاده شده‌اند. همچنین پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز اتولوگ بر اساس این فرضیه که سلول‌های پیش‌رو مشتق شده از مغز استخوان تشکیل عروق خونی جدید را از طریق اثر پاراکرینی تقویت می‌کنند منجر به پیشرفت‌های زیادی در مطالعات مربوط به ایسکمی اندامی شده است.

فاکتورهای رشد آنژیوژنیک

منظور از فاکتورهای رشد آنژیوژنیک تمامی ترکیباتی است که تحت شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک تولید شده و پتانسیل القا آنژیوپلاستی را دارند. در بیماران PAD این فاکتورها توسط حامل‌های نانوذره‌ای مستقیماً به بافت هدف فرستاده می‌شوند تا آنژیوپلاستی را القا کنند. فاکتورهای رشد منجر به القا رشد، تکثیر و بلوغ سلولی می‌شوند. مسیر تحویل این فاکتورها به بافت‌ها به صورت درون ماهیچه‌ای، سرخرگی و زیر پوستی است.

درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی

به دلیل فقدان هماهنگی و مزایای مشخص درمان بیماران PAD با فاکتورهای رشد آنژیوژنیک، سلول درمانی به عنوان رویکرد درمانی جایگزین شناخته شده است. توانایی سلول‌های بنیادی در خودسازی و تمایز به سلول‌های تخصصی اندام‌ها و اثر پاراکرین آن‌ها از طریق رهاسازی فاکتورهای رشد پروآنژیوژنیک یا سیتوکینین می‌تواند منجر به پیشبرد نئوواسکولاریزاسیون^۱ (ترمیم بیش از حد زخم) هنگام تجویز در بیماران PAD شود. برخی انواع سلول‌های بنیادی که در این روش استفاده می‌شوند شامل سلول‌های تک هسته‌ای مغز استخوان (MNC)، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی تثبیت شده بر G-CSF، سلول‌های پیش‌رو اندوتلیال مشتق شده از مغز استخوان با گیرنده VEGF، سلول‌های پیش‌رو اندوتلیال CD-34+ و سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. مکانیسم دقیق القا آنژیوپلاستی توسط سلول‌های بنیادی هنوز هم تحت بررسی است.

از آنجایی که سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی در اطراف عروق اندوتلیال هستند، به آن‌ها سلول‌های پریسیست^۲ نیز اطلاق می‌شود. پریسیست‌ها از اندام‌های مختلف انسانی جداسازی می‌شوند و CD146، NG2، گیرنده‌های PDGF نوع ۱ را بیان می‌کنند و سلول‌های میوژنیک^۳ را می‌سازند. منشأ سلول‌های

¹ Neovascularization

² Pericytes

³ Myogenic cells

بنیادی مزانشیمی در گزارش‌های مختلف، سلول‌های مزودرمی و سلول‌های نورو اپیتلیال معرفی شده است (Rameshwar, Moore et al. 2018).

بیماری دیابت ملیتوس

دیابت ملیتوس، بیماری متابولیک و شایع در جهان است. علت بیماری دیابت ملیتوس ناشناخته است و علل مختلفی را برای آن گزارش شده است. مشکل اساسی در این بیماری، کاهش تولید انسولین است یا مقاومت بافتی به اثرات انسولین است که در نهایت باعث افزایش قند خون یا هیپرگلیسمی می‌شود. دیابت ملیتوس به دو نوع تقسیم می‌شود که در نوع یک، نقص در ترشح انسولین و در نوع دو نقص در عملکرد انسولین دیده می‌شود (Shiva, Maboudi et al. 2016).

دیابت نوع دو، بیماری مزمنی است که به علت مشکلاتی که در عروق کوچک (رتینوپاتی^۱، نفروپاتی^۲ و نوروپاتی^۳) و عروق بزرگ (بیماری‌های کرونر قلب، بیماری‌های عروق محیطی و سکت) ایجاد می‌کند، به عنوان یکی از عوامل اصلی مرگ و میر و بیماری در جهان در نظر گرفته می‌شود. دیابت نوع دو در گذشته به عنوان هشتمین عامل مرگ و میر در جهان شناخته می‌شد در حالی که امروزه این بیماری را پنجمین عامل مرگ و میر در پی ایجاد عفونت‌ها، بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و ترومای ناشی از عوارض بیماری می‌دانند. دیابت یک بیماری چند فاکتوری است که علاوه بر استعداد ژنتیکی، عوامل محیطی مانند تغذیه ضعیف، کاهش فعالیت فیزیکی و چاقی نیز در بروز آن نقش دارند. تخمین زده می‌شود که جمعیت بزرگسال مبتلا به دیابت نوع دو در جهان به ۷/۸ درصد برسد. پیشرفت شرایط اقتصادی و اجتماعی جوامع بشری که با افزایش نرخ چاقی همراه است، منجر به افزایش شیوع دیابت نوع دو می‌شود (Aguiree, Brown et al. 2013).

آنژیوزنز^۴

رگ‌زایی یا آنژیوزنز، به معنای تولید رگ‌های خونی جدید است. سلول‌های اندوتلیال، مسئول اصلی فرآیندهای آنژیوزنز هستند. آنژیوزنز فیزیولوژیک در فرآیندهایی از قبیل بارداری، رشد جنینی، ترمیم زخم‌ها و قاعدگی دخالت دارد. با این وجود، اختلال در آنژیوزنز فیزیولوژیک در اثر بیماری‌های مختلفی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی، اختلالات ناشی از دیابت، بیماری‌های چشمی و التهابات مزمن ایجاد می‌شود. اختلال در آنژیوزنز فیزیولوژیک در افراد دیابتی می‌تواند منجر به واسکولوپاتی دیابتی (پای دیابتی) شود که در نهایت به نفروپاتی و نوروپاتی می‌انجامد.

آنژیوزنز شامل چند مرحله است. مرحله اول، پروتئولیز ماتریکس خارج سلولی از طریق سیستم‌های پروتئولیزی از جمله سیستم پلاسمینوژن/پلاسمین و سیستم‌های متالوپروتئیناز ماتریکسی است. مرحله بعد، شامل مهاجرت سلول‌های اندوتلیال به سمت محرک‌های آنژیوزنی و در نتیجه، تکثیر

1 - Retinopathy

2 - Nephropathy

3 - Neuropathy

4 - Angiogenesis

سلول‌های اندوتلیال جهت فراهم آوری تعداد کافی از سلول‌هاست. در نهایت، رگ‌ها با ساختارهای سه بعدی ایجاد می‌شوند و بلوغ رگ‌های خونی همراه با تشکیل لومن رخ می‌دهد. آنژیوژنز طبیعی به وجود تعادل بین فاکتورهای آنژیوژنیک مانند فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF^۱) و فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF2^۲) و فاکتورهای ضدآنژیوژنز مانند آنژوستاتین، اندوستاتین و ترومبوسپوندين‌ها بستگی دارد (Goodwin 2007).

آنژیوژنز ناکافی با محدودیت ورودی سلول‌های التهابی و تامین ضعیف اکسیژن و مواد غذایی در فضای زخم، نقش مهمی در شکست فرآیند ترمیم زخم دارد. در مطالعه‌ای، تجویز موضعی گلوکز زیاد در زخم موش‌های غیردیابتی منجر به مهار آنژیوژنز طبیعی شد که نشان دهنده نقش مستقیم سطوح بالای گلوکز در کاهش آنژیوژنز در افراد دیابتی است. در پژوهشی روی بیست بیمار که تحت جراحی عروق کرونر قرار گرفته بودند، افزایش بیان VEGF در میوکاردیوم بیماران دیابتی در مقایسه با بیماران غیردیابتی و کاهش بیان گیرنده‌های نوع ۱ و نوع ۲ VEGF، نشان دهنده ارتباط بین اختلالات قلبی عروقی بیماران دیابتی با بی‌نظمی نئوواسکولاریزاسیون^۳ است (Tahergerabi and Khazaei).

آنژیوژنز در رتینوپاتی دیابتی

رتینوپاتی‌های دیابتی با میکروانوریسم^۴ (برآمدگی‌های ریز) آغاز می‌شود. سپس به تغییرات اگزوداتیو (نشت لپوپروتئین‌ها و خون) می‌انجامد که منجر به ادم ماکولا، تغییرات ایسکمیک (انفارکتوس لایه عصب-فیبر) و گشادی ونول‌ها (رگ‌های بسیار باریک-سیاهرگچه‌ها) می‌شود. در نهایت، تغییرات پرولیفراتیو عروق غیرطبیعی روی صفحه بینایی و شبکه چشم، تکثیر فیبروبلاست و خونریزی زجاجیه رخ می‌دهد. درمان با داروهای ضد VEGF نشان می‌دهد که VEGF با سازوکارهای مختلفی در ایجاد ادم ماکولا در افراد دیابتی نقش دارد (Tahergerabi and Khazaei, 2012).

در سال‌های اخیر به دنبال کنترل بهتر سطح چربی، قند، فشار خون در افراد، منجر به کاهش قابل ملاحظه‌ای در رتینوپاتی دیابتی و اختلالات بینایی شده است (Klein and Klein 2010). نتایج یک مطالعه اپیدمیولوژیک نشان داده است که شیوع سالانه رتینوپاتی دیابتی و اختلالات بینایی در بیماران مبتلا به دیابت نوع یک بین سال‌های ۱۹۸۰ تا ۲۰۰۷ به ترتیب، ۷۷ درصد و ۵۷ درصد کاهش داشته است (Klein, Lee et al. 2010).

آنژیوژنز در نفروپاتی دیابتی

1 - Vascular endothelial growth factor

2 - Fibroblast growth factor

3 - Neovascularization

4 - Micro-aneurysms

در دیابت نوع دو، افزایش تعداد سلول‌های اندوتلیال گلوامروولی به علت عدم تعادل در تکثیر سلولی و آپوپتوز منجر به آسیب‌های گلوامروولی می‌شود. افزایش بیان VEGF در سطوح بالای گلوکز در مراحل ابتدایی دیابت، مسئول اصلی این فرآیند است. علاوه بر این، مقادیر زیاد گلوکز با تحریک رونویسی $TGF-\beta$ در سلول‌های عضلات صاف عروقی می‌تواند باعث تکثیر سلول‌های اندوتلیال شود. همچنین، افزایش گیرنده‌های $TGF-\beta 1$ و $TGF-\beta 2$ علاوه بر VEGF در بافت‌های گلوامروولی و بافت قشر کلیه در مدل‌های نفروپاتی دیابتی انسانی و حیوانی مشاهده شده است.

ترمیم زخم

فرآیند التیام زخم در حالت طبیعی شامل ۵ مرحله است: هموستاز^۱ (قطع خونریزی)، التهاب و دبریدمان^۲ (حذف یک بخش از بافت مرده زخم برای تسریع در ترمیم زخم)، تکثیر، اپیتلیالیزاسیون (در این مرحله تعداد فیبروبلاست‌ها کاهش می‌یابد و تولید کلاژن به تعادل می‌رسد) و بازسازی.

در مدل‌های زخم‌های پوستی که با شکاف در پشت موش ایجاد می‌کنند، نقص در ترمیم زخم با کاهش آنژیوژنز، تاخیر در شکل‌گیری نسج التیامی، محتوای کلاژنی کاهش یافته، کاهش در تعداد و چگالی شریانی، از دست رفتن عروق و کاهش سطح مقطع دیواره عروق جدید همراه است. زخم‌های مزمن بهبود نیافته دیابتی در نقاطی مانند مفاصل متاتارسوفالانژیال (مفصل بین کف پا و انگشتان پا)، مچ پا و انگشتان پا دیده می‌شوند. پای دیابتی شاخصه مراحل انتهایی دیابت نیست و حتی در بیمارانی که به تازگی دیابت در آنها تشخیص داده شده است نیز اتفاق می‌افتد. زخم پای دیابتی علت ۸۴٪ از موارد قطع قسمت‌های پایینی پا می‌باشد (Tahergorabi and Khazaei 2012).

آنژیوژنز از اجزای اصلی فرآیند ترمیم زخم است. پیش از ایجاد زخم، عروق خونی به اندازه کافی قابلیت انتشار دارند و می‌توانند مواد غذایی و اکسیژن کافی را به بافت‌ها برسانند. مقادیر کافی از فاکتورهای پروآنژیوژنیک^۳ مانند VEGF و FGF و فاکتورهای ضدآنژیوژن مانند Ang-1 و PEDF^۴، در حدی بیان می‌شوند که عملکرد شبکه عروقی را در حد تعادل حفظ کنند. با ایجاد جراحت در اثر حمله به بافت، هموستاز قطع شده و حالت هایپوکسی ایجاد می‌شود. هایپوکسی، فعال‌کننده مهم سلول‌های اندوتلیال عروق ناحیه آسیب دیده و مجاور است. در محیط هایپوکسیک، سیستم ایمنی ذاتی لکوسیت‌ها را به محل آسیب جذب کرده و نوتروفیل‌ها، به عنوان اولین سلول‌های پاسخ دهنده در فاز حاد التهاب عمل می‌کنند. به دنبال هجوم نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها خود را به بافت آسیب دیده می‌رسانند و در این مرحله، فاز تکثیر در فرآیند ترمیم زخم به اوج خود می‌رسد. در این فاز، ماکروفاژها، مویرگ‌های جدید در حال تشکیل و بافت همبند ضعیف و نابالغ که همراه با تورم است، بافت گرانوله^۵ را ایجاد می‌کنند. یکی از مشخصه‌های مهم در مرحله تکثیر در ترمیم زخم، آنژیوژنز قوی است. به

1 - Hemostasis

2 -Debridement

3 - Proangiogenic factors

4 - Pigment epithelium derived factor

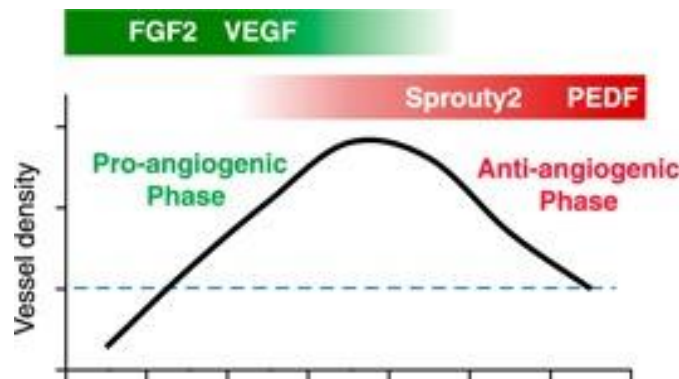
5 - Granulation tissue

دنبال شیب اکسیژنی که در جراحی به وجود می‌آید، فاکتورهای پروآنژیوژنیک متعددی در زخم تولید می‌شوند. این فاکتورها که مهمترین آن‌ها VEGF است، مویرگ‌ها را به تشکیل حلقه‌ها و شاخه‌های نابالغ تحریک می‌کنند. تحقیقات مختلف نشان داده است که VEGF از مهمترین فاکتورهای آنژیوژنز هستند که به دنبال شرایط هایپوکسی تولید می‌شوند. هایپوکسی ایجاد شده در اثر جراحی، فاکتور قابل القا در هایپوکسی^۱ یا HIF-1^۱ را فعال می‌کند. HIF-1 یک فعال کننده رونویسی است که با افزایش بیان ژن های هدف از جمله VEGF-A، آنژیوژنز را جلو می‌برد. VEGF-A به عنوان ایزوفرم اصلی در زخم، به گیرنده های خود در سطح سلول های اندوتلیال متصل شده و رشد رگ ها را هدایت می‌کند. VEGF و سایر فاکتورهای پروآنژیوژنیک، رشد عروق را از اطراف زخم به سمت اعماق زخم و مناطق کم اکسیژن تر هدایت می‌کنند (Okonkwo and DiPietro 2017). یکی از رخدادهای مهم در رگ‌زایی زخم ها، ایجاد شبکه‌ای سازمان نیافته از عروق خونی با پرفیوژن ضعیف است که با یک بستر مویرگی ناقص با جوانه های انتهایی کور همراه است. تعداد این مویرگ‌های ناقص در زخم در مقایسه با پوست سالم بسیار بیشتر است و در روز هفتم تا دهم پس از ایجاد زخم به حداکثر خود می‌رسد. به دنبال این پدیده، فاکتورهای پروآنژیوژنیک جای خود را به فاکتورهای ضد آنژیوژنز می‌دهند و عروق ایجاد شده با کمک مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، شروع به از بین رفتن می‌کنند. در واقع مرحله تکثیر، متضاد مرحله بلوغ است چرا که در مرحله بلوغ، عروق خونی بالغ و مناسب که قابلیت تبدیل به عروقی که قبل از ایجاد زخم وجود داشته‌اند را دارند، غربال و انتخاب می‌شوند. هم زمان با فرآیند تصفیه مویرگی، عروق خونی توسط پریسیت‌ها^۲ تثبیت می‌شوند. پریسیت‌ها برای تثبیت و بلوغ بسترهای عروقی تازه ایجاد شده، اهمیت دارند. پریسیت‌ها در زخم‌ها در پاسخ به فاکتورهای مختلف به ویژه فاکتورهای رشد مشتق شده از پلاکت‌ها^۳ یا PDGF فعالیت می‌کنند. هنگامی که پریسیت‌ها به زخم در حال بهبود راه می‌یابند، با سلول‌های اندوتلیال و غشای پایه ارتباط برقرار می‌کنند. مویرگ‌های پوشیده شده با پریست در بستر زخم در برابر عوامل ضد آنژیوژنز که در مرحله بازسازی ترمیم زخم تولید می‌شوند، مقاوم هستند. شکل (۱۰) تنظیم آنژیوژنز در زخم‌های پوستی را نشان می‌دهد.

1 - hypoxia-inducible factor-1

2 - Pericytes

3 - Platelet derived growth factor



شکل ۱۰: تنظیم آنژیوژنز در زخم های پوستی. در طول فرآیند ترمیم زخم های پوستی در بزرگسالان، تعداد مویرگ ها تا حد بسیار بالاتر از بافت های عادی به سرعت افزایش می یابد. در فاز ضدآنژیوژنیک، بیشتر عرق تازه ایجادشده از بین رفته و چگالی عروقی در نهایت به مقدار مشابه آن در پوست سالم می رسد. نوارهای بالای گراف، برخی سیگنال های مهم پروآنژیوژنیک (سبز) و ضدآنژیوژنیک (قرمز) را نشان می دهد. خط های تیره آبی رنگ نشان دهنده چگالی عروقی در بافت های طبیعی هستند.

نقص در آنژیوژنز در دیابت

همانطور که در قسمت های قبل توضیح داده شد، فرآیند ترمیم زخم در شرایط طبیعی، بر مبنای تعادل بین رشد و تکثیر عروق و بلوغ و تثبیت عروق صورت می گیرد. بیماری دیابت این تعادل را به طرز قابل توجهی به هم زده و در ترمیم صحیح زخم، احیای بافت و بازسازی سیستم عروقی سالم، اختلال ایجاد می کند. اختلال در یکپارچگی عروق از ویژگی های دیابت است. افزایش قند خون در دیابت و به ویژه در دیابت نوع دو در پیشرفت بیماری های عروقی نقش دارد. افزایش سطح قند خون در افراد دیابتی عامل بسیاری از اختلالات در عروق کوچک و درشت می باشد که تاثیر زیادی بر آنژیوژنز دارد (Altabas 2015). باید توجه داشت که اگرچه زخم های دیابتی دچار نقص در آنژیوژنز هستند، خود بیماری دیابت بسته به فرآیند بیماری زایی می تواند منجر به کاهش یا افزایش آنژیوژنز شود. تحقیقات مختلف نشان داده است که تغییرات مرتبط به دیابت در پاسخ به آنژیوژنز، وابسته به بافت/اندام است. به عنوان مثال در رتینوپاتی دیابتی با ایجاد آنژیوژنز بیش از حد، میکروآنوریسم، خونریزی و ادم عروقی رخ می دهد. همراه با افزایش رشد مویرگی، یکی از تغییرات عروقی شاخص در رتینوپاتی دیابتی، از دست رفتن پوشش پریسیتی در شبکه مویرگی شبکه است که منجر به ادم عروقی و نشت خون می شود. مویرگ های آسیب دیده در پاسخ به این پدیده دچار کمبود اکسیژن و افزایش بیان بیش از حد فاکتور رونویسی HIF-1 و به دنبال آن افزایش بیان VEGF-A می شود. VEGF-A فاکتور شناخته شده ای برای افزایش نفوذپذیری عروقی است. این شرایط به تشکیل یک شبکه عروقی جدید و اضافی همراه با نشتی منجر می شود (Kota, Meher et al. 2012). افزایش سطح VEGF-A در پلاسما با شدت رتینوپاتی دیابتی در ارتباط است. در نفروپاتی دیابتی نیز افزایش آنژیوژنز منجر به آسیب به سیستم فیلتراسیون گلومرولی (حذف مواد زائد و مایع اضافی از

خون) می‌شود. کلیه دیابتی در مراحل اولیه نفروپاتی دیابتی، مقادیر زیادی از VEGF-A ترشح می‌کند که باعث افزایش نفوذپذیری عروق و مهار مرگ سلولی می‌شود (McGinn, Saad et al. 2003).

دیابت و آنژیوژنز زخم

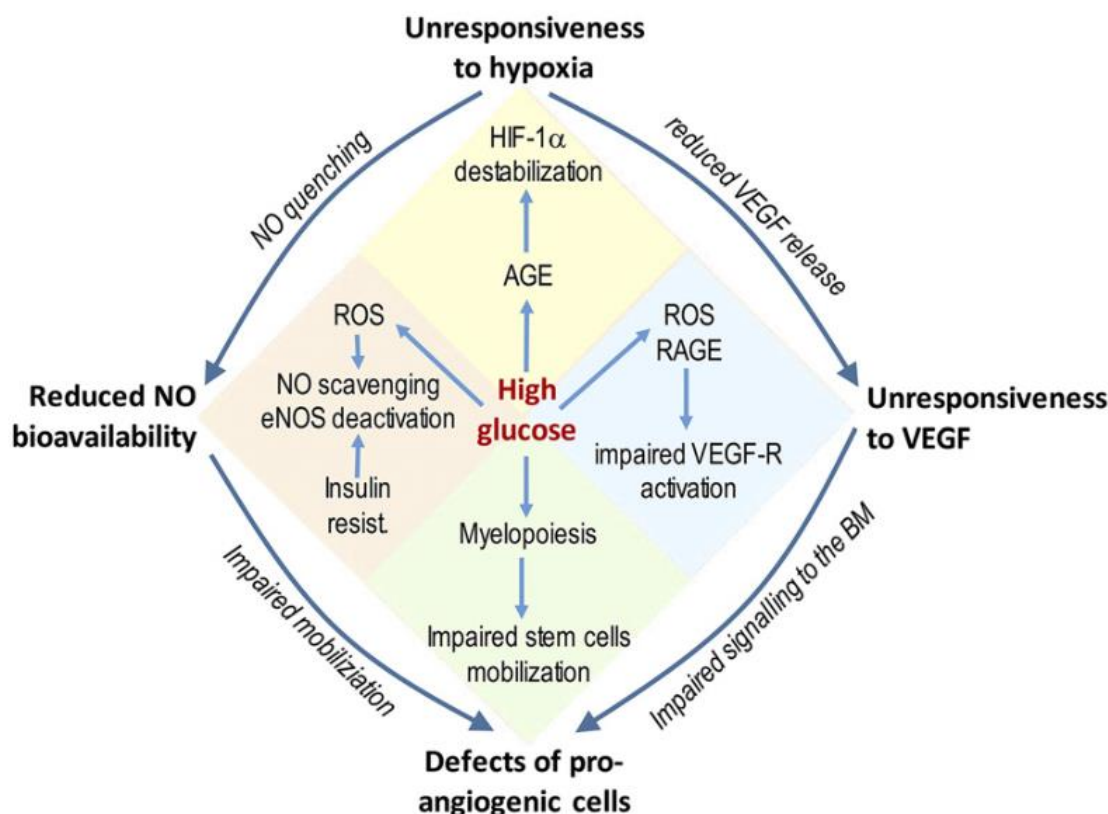
در زخم‌های دیابتی به علت آنژیوژنز ناکافی، چگالی عروق و مویرگ‌ها پایین است. بسته شدن زخم در زخم‌های دیابتی تاخیر دارد و زخم‌های مزمن التیام نیافته در این بیماران شایع است. ارتباط بین آنژیوژنز ناقص و فرآیند ترمیم زخم در بیماران دیابتی در مطالعات زیادی بررسی شده است (Okonkwo and DiPietro 2017).

مطالعات نشان داده است که عملکرد ماکروفاژها که به عنوان سلول‌های پراهمیت سیستم ایمنی ذاتی برای ترمیم زخم‌ها هستند، در زخم‌های دیابتی تغییر می‌کند. یکی از مدل‌های حیوانی دیابت که در مطالعات ترمیم زخم به صورت گسترده استفاده می‌شود، موش db/db¹ است. موش db/db یک مدل ژنتیکی از چاقی، دیابت و دیس لیپیدمی² (اختلالات چربی خون) است که از جهش در ژن گیرنده لپتین حاصل شده است و به طور قابل ملاحظه‌ای در ترمیم زخم تاخیر نشان می‌دهند (Michaelis, Churgin et al. 2007). در این راستا، Khanna و همکاران در مطالعه پژوهشی خود نشان داده‌اند که ماکروفاژهای موجود در محل زخم در موش‌های db/db، کاهش می‌یابد و در نتیجه بار التهابی در زخم زیاد می‌شود (Khanna, Biswas et al. 2010). از آن جایی که ماکروفاژها منبع مهمی از VEGF و سایر واسطه‌های پروآنژیوژنیک در زخم‌ها هستند، کمبود ماکروفاژ با کاهش آنژیوژنز در زخم‌های دیابتی در ارتباط است (شکل ۱۱). در یکی از اولین مطالعاتی که به بررسی آنژیوژنز در زخم‌های پوستی دیابتی پرداخته شد، نشان داده شد که سطوح پروتئین VEGF-A و mRNA مربوطه در زخم‌های موش‌های db/db نسبت به نمونه‌های سالم، کمتر بوده است (Seitz, Schürmann et al. 2010). در مطالعه Galiano و همکاران نیز مشخص شد که بسته شدن زخم‌های موش‌های db/db در نمونه‌های تحت درمان با VEGF-A نسبت به موش‌های درمان نشده با سرعت بیشتری رخ می‌دهد (Michaelis, Churgin et al. 2007).

علاوه بر محرک‌های پروآنژیوژنیک، تغییرات مرتبط با دیابت در فاکتورهای ضدآنژیوژنز و فاکتورهای بلوغ مویرگ‌ها در زخم‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال، در یک مطالعه مشخص شده است که سطوح سرمی فاکتور ضدآنژیوژنز PDEF در بیماران دارای زخم پای دیابتی در مقایسه با افراد غیردیابتی و افراد دیابتی فاقد زخم‌های پای دیابتی بیشتر است. این نتایج نشان دهنده این است که سطوح افزایش یافته PDEF منجر به اثر منفی بر فرآیند التیام زخم می‌شود (Qi, Yang et al. 2015).

1 - db/db mouse

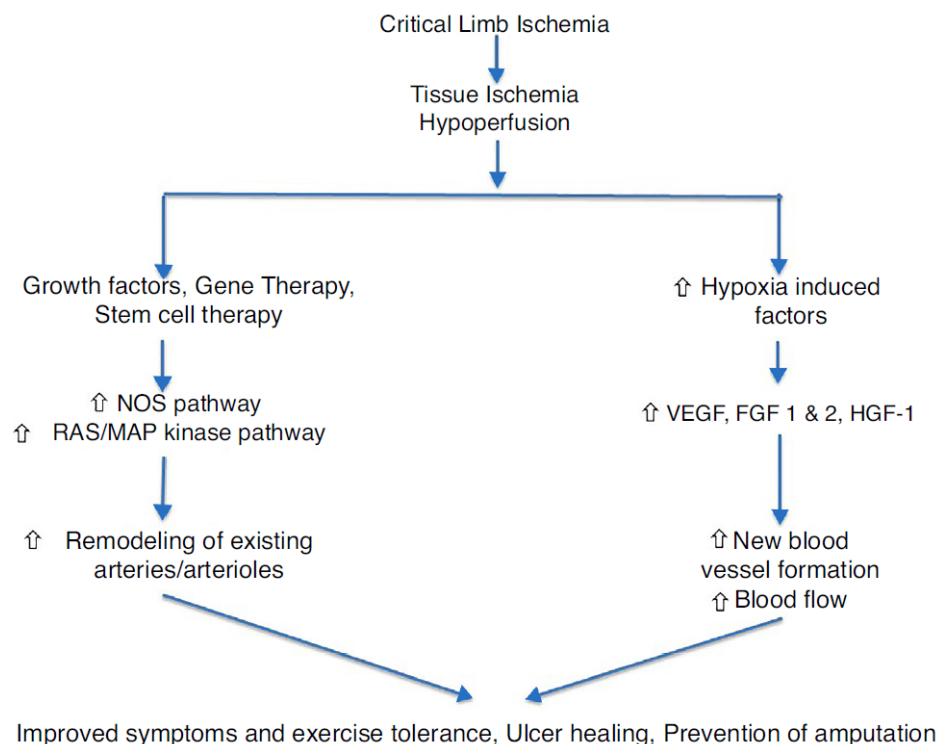
2 - Dyslipidemia



شکل ۱۱: اختلال در مکانیسم‌های مولکولی که رگ‌زایی را در دیابت مختل می‌کند. eNOS: سنتز NO ایتالیایی، HIF: فاکتور القا کننده هیپوکسی، ROS: گونه‌های اکسیژن فعال. (Seitz, Schürmann et al. 2010).

یکی از مسیرهای بلوغ رگ‌ها که در نقص‌های دیده شده در آنژیوژنز در زخم‌های دیابتی نقش دارد، مجموعه Ang1/Ang2/Tie2 است. در زخم‌های دیابتی نسبت Ang1 به Ang2 کاهش می‌یابد که نشان دهنده اختلال در توسعه عروق و بلوغ آن‌ها در زخم‌های دیابتی است. در مطالعات مربوط به بررسی نقش Ang1 به عنوان فاکتور بلوغ عروقی در موش‌های دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین، مشخص شده است که استفاده موضعی از آنتی بادی‌های خنثی کننده Ang1 در پوست زخمی، بلوغ رگ‌های خونی که از دوران نوزادی تشکیل شده‌اند را کاهش می‌دهد (Okonkwo and DiPietro 2017). مطالعه دیگری نشان داده است که تیمار زخم‌ها با استفاده از Ang1 در موش‌های دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین و دارای پیوند مغز استخوان، منجر به افزایش سلول‌های اندوتلیال پروژنیاتور (EPCs^۱) و افزایش تشکیل رگ‌های جدید پس از هفت روز بعد از ایجاد زخم شده است (شکل ۱۲) (Balaji, Han et al. 2015).

1 - Endothelial progenitor cells



شکل ۱۲: آنژیوژنز در ایسکمی اندام حاد: نتیجه و مکانیسم. افزایش فاکتورهای القا هیپوکسی با افزایش تشکیل عروق جدید و افزایش جریان خون موجب بروز علائم بهبود یافته، بهبود زخم و جلوگیری از قطع عضو می‌شود. فاکتورهای رشد، ژن درمانی و درمان‌ها سلول‌های بنیادی موجب فعال شدن مسیر NOS و Ras/MAP کیناز و بازآرایی شریان‌های اندام و در نتیجه بهبود اندام می‌شود. (Balaji, Han et al. 2015).

سلول‌های بنیادی^۱

سلول‌های بنیادی سلول‌های طبیعی هستند که توانایی تکثیر، تولید و تمایز به انواع سلول‌های بدنی^۲ در محیط آزمایشگاهی و همچنین در بدن موجودات زنده را دارند معمولاً در تعریف این سلول‌ها دو شاخص لحاظ می‌شود (Mansouri 2018):

۱- قابلیت خود تجدیدی^۳ به معنای توانایی در انجام تقسیم‌های میتوز جهت حفظ جمعیت سلولی

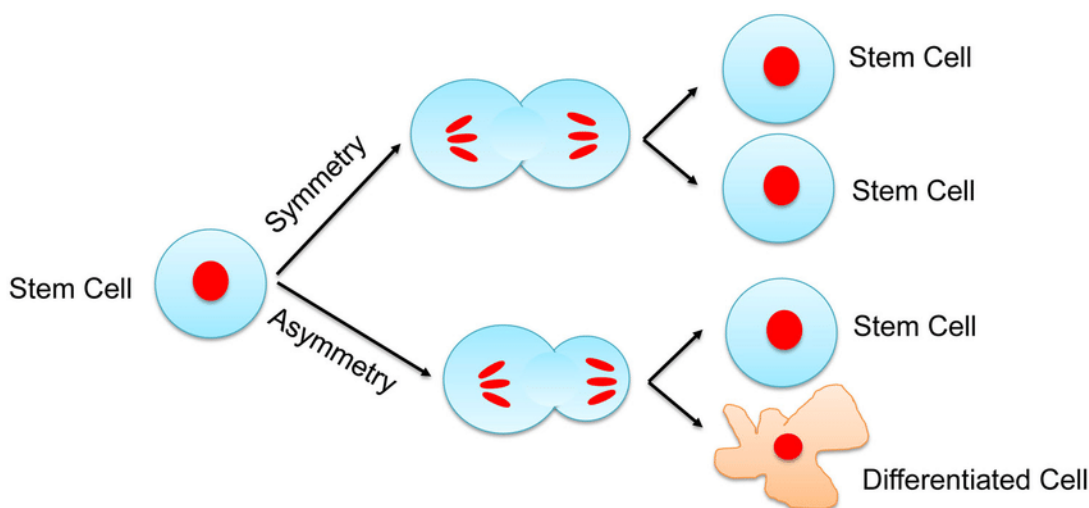
۲- توانایی تمایز به سلول‌های مختلف

^۱- Stem cells

^۲- Somatic

^۳- Self renew

سلول‌های بنیادی به عنوان اجداد انواع سلول‌های بالغ^۱ موجود در بدن شناخته می‌شوند که طی تقسیم سلولی نامتقارن^۲ می‌توانند یک سلول مادری متشابه با سلول اولیه و یک سلول دختر با توان تمایز به انواع سلول‌ها را تولید کنند. علاوه بر این سلول‌های بنیادی می‌توانند تقسیم سلولی متقارن^۳ داشته باشند. به این معنی که طی تقسیم سلولی دو سلول دختری که هر دو قابلیت تمایز دارند به وجود می‌آید (شکل ۱۳) (Januschke and Näthke 2014).



شکل ۱۳: تقسیم متقارن و نامتقارن در سلول‌های بنیادی. (Januschke and Näthke 2014)

تقسیم‌بندی سلول‌های بنیادی بر اساس توان تمایز^۴

سلول‌های بنیادی بر اساس توانمندی تمایز به انواع زیر تقسیم بندی می‌شوند (Sheykhhasan and Ghiasi 2016).

سلول‌های بنیادی همه توان

سلول‌های بنیادی همه توان^۵ می‌توانند یک موجود زنده و کامل را تولید کنند یعنی قابلیت تمایز به انواع سلول‌های رویانی^۶ و خارج رویانی^۷ را دارند. سلول‌های حاصل از چند تقسیم ابتدایی تخم لقاح یافته، همه توان محسوب می‌شوند.

¹-Adult stem cells

²-Asymmetric cell division

³-Symmetric cell division

⁴-Potency

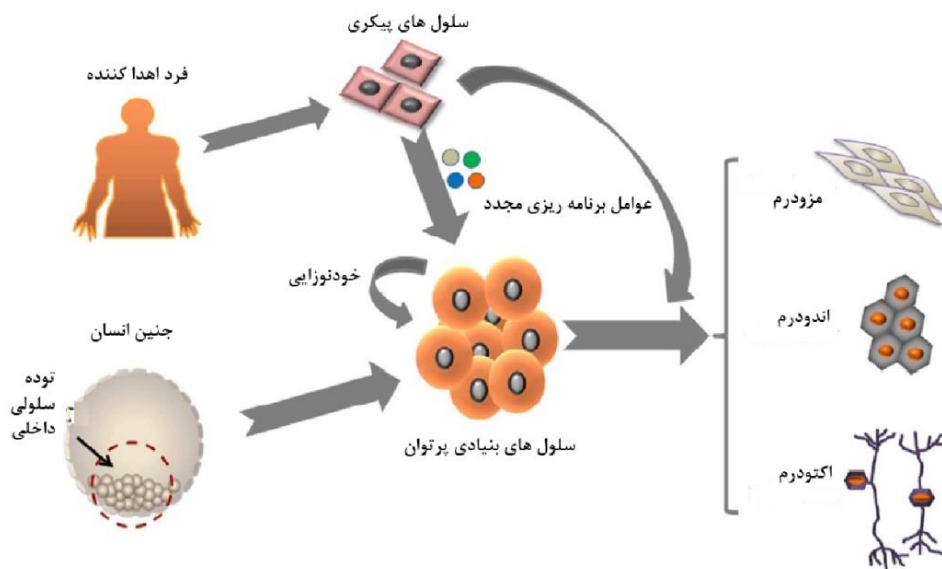
⁵-Totipotent

⁶-Embryonic

⁷-Extra embryonic

سلول‌های بنیادی پرتوان^۱

این سلول‌های بنیادی قادر به ایجاد هر نوع سلول در بدن هستند و می‌توانند تحت تاثیر عوامل رشد مختلف در محیط کشت به سلول‌هایی با عملکردهای اختصاصی مانند سلول‌های ماهیچه قلب، سلول‌های تولید کننده انسولین، پانکراس و دیگر سلول‌ها تبدیل شوند. به این قابلیت، پرتوانی اطلاق می‌شود. سلول‌های بنیادی پرتوان در واقع فرزندان سلول‌های همه توان هستند که تقریباً قابلیت تمایز به انواع سلول‌های رویانی را دارند (شکل ۱۴).



شکل ۱۴: منابع و خواص سلول‌های بنیادی پرتوان انسانی، قادر به ایجاد هر نوع سلول در بدن هستند و می‌توانند تحت تاثیر عوامل رشد مختلف در محیط کشت به سلول‌هایی با عملکردهای اختصاصی مانند سلول‌های ماهیچه قلب، سلول‌های تولید کننده انسولین، پانکراس و دیگر سلول‌ها تبدیل شوند (Zhao, Wang et al. 2006)

سلول‌های بنیادی چند توان^۲

سلول‌های بنیادی چند توان تنها قادر به تمایز به سلول‌های مشتق شده از لایه زیایی هستند که خود از آن منشأ گرفته‌اند.

سلول‌های بنیادی تک توان^۳

سلول‌های بنیادی تک توان تنها قابلیت تولید سلول‌هایی کاملاً مشابه خودشان را دارند.

¹-Pluripotent

²-Multipotent

³-Unipotent

انواع سلول‌های بنیادی بر اساس منشاء

به طور عمده در پستانداران دو نوع سلول بنیادی وجود دارد که عبارت است از سلول‌های بنیادی جنینی^۱ و سلول‌های بنیادی بالغ. سلول‌های بنیادی جنینی از توده‌ی سلولی داخلی بلاستوسیت^۲ جدا می‌شود در حالی که سلول‌های بنیادی بالغ وجود دارند و به عنوان سیستم تامینی بدن در نظر گرفته می‌شوند. سلول‌های بنیادی جنینی خود به دو نوع تقسیم می‌شوند:

۱- سلول‌های بنیادی اختصاصی جنینی: این سلول‌ها از بافت‌های جنین‌های سقط شده به دست می‌آیند و نامیرا می‌باشند، در عین حال توان تقسیم بالایی داشته و چند توان محسوب می‌شوند.

۲- سلول‌های بنیادی جنینی خارج رویانی: این سلول‌ها از پرده‌های خارج رویانی حاصل شده و قابل افتراق از سلول‌های بنیادی بالغ نمی‌باشند. این نوع سلول‌ها بعد از تولد قابل دسترسی بوده و دارای سطوح بالایی از تقسیم سلولی و پرتوانی می‌باشد. سلول‌های بنیادی چند توان در مایع آمنیوتیک نیز یافت می‌شوند و قادر به تمایز به سلول‌های چربی، استخوانی، عضلانی، کبدی و عصبی می‌باشند. سلول‌های بنیادی در جنین در حال تکامل قابلیت تمایز به سلول‌های اختصاصی مشتق شده از سه لایه زیای اصلی (اکتودرم، اندودرم و مزودرم) هستند که این نیز ناشی از قابلیت پرتوانی سلول‌های بنیادی می‌باشد. سلول‌های حاصل می‌توانند در تجدید و جایگزینی اندام‌های تجدیدپذیر مانند پوست، بافت‌های گوارشی و خون شرکت کنند (Zhao, Wang et al. 2006).

سلول‌های بنیادی بالغ به نام سلول‌های بنیادی بدنی نیز نامیده می‌شوند و در حفظ و ترمیم بافت‌ها شرکت دارند این سلول‌ها هم در بالغین و هم در کودکان وجود دارد. سلول‌های بنیادی بالغ پرتوان، نادر بوده و به تعداد کمی در خون بند ناف و برخی بافت‌های دیگر موجود می‌باشند (SAMUEL 2011). مغز استخوان منبع غنی از سلول‌های بنیادی بالغ است و تاکنون در مطالعات مرتبط با درمان بیماری‌های مختلف مانند آسیب‌های طناب نخاعی، سیروز کبدی، ایسکمی اندام و در مراحل انتهایی از کار افتادگی قلب استفاده شده‌اند. اغلب سلول‌های بنیادی بالغ چند توان هستند و معمولاً بر اساس بافتی که از آن منشاء می‌گیرند نامگذاری می‌شوند. مثلاً سلول بنیادی مزانشیمی حاصل از بافت چربی.

کاربردهای بالینی سلول‌های بنیادی

پیوند سلول‌های بنیادی خون ساز^۳ قدیمی‌ترین و دسترسی پذیرترین رویکرد درمانی با استفاده از سلول‌های بنیادی است. منشاء سلول‌های بنیادی در کاربردهای بالینی، مغز استخوان، خون محیطی و خون بند ناف است. در برخی مواقع از سلول‌های خود بیمار استفاده می‌شود اگر چه امروزه پیوند سلول‌های بنیادی غیرخودی یک رویکرد رایج در درمان نقص‌های مغز استخوان و بدخیمی‌های هماتولوژیک از جمله لوسمی محسوب می‌شود. دو مزیت اصلی در درمان با سلول‌های بنیادی خون

¹ -Fetal stem cells

² -Inner cell mass

³ - Hematopoietic

ساز این است که اولاً نیاز به پخش سلول‌ها در محیط کشت نمی‌باشد و ثانیاً نیاز به بازسازی بافت‌های چند سلولی قبل از پیوند وجود ندارد. (Watt and Driskell 2010).

یافته‌های بالینی در ده سال اخیر نشان می‌دهند که پیوند سلول‌های بنیادی در درمان بیماری‌های تخریب‌کننده اعصاب^۱ می‌تواند کاربرد زیادی داشته باشد. آزمایش‌های بالینی در زمینه پیوند بافت مغز از جنینی سقط شده به بیماران مبتلا به پارکینسون و هانتینگتون انجام شده است.

به طور کلی استراتژی پیوند سلول‌های بنیادی برای درمان بیماری‌های ژنتیکی با جابجایی نورو ن‌های ناکارآمد امکان‌پذیر است. تحقیقات نشان می‌دهد که مغز پستانداران دارای سلول‌های بنیادی عصبی است که نورو ن‌های جدید را در طول بزرگسالی در فرآیندی به نام نورو ن‌زایی بزرگسالان^۲ تولید می‌کند. (Ahmadian-Moghadam, Sadat-Shirazi et al. 2020).

سلول‌های بنیادی عصبی یا سلول‌های پیشرو^۳ می‌توانند انواع سلول‌های عصبی را تولید کرده و منبع مناسبی برای درمان‌های سلولی در بسیاری از بیماری‌های صعب‌العلاج سیستم عصبی مرکزی را فراهم کنند علاوه بر این، خود تجدید پذیری و چند توانی سلول‌های بنیادی باعث شده است که قابلیت زیادی برای تبدیل به سلول‌های بنیادی عصبی و سلول‌های پیشرو داشته باشد و گزینه‌ی مناسبی برای درمان بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی باشند. تاکنون استفاده از پیوند سلول‌های بنیادی در مدل‌های حیوانی برای بررسی قابلیت درمان بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی از جمله آلزایمر، اسکروز جانبی آمیوتروفیک، آسیب‌های مغزی، اختلالات دمی‌لینه شدن^۴، آتاکسی فردریش^۵ هانتینگتون، پارکینسون و آسیب‌های طناب نخاعی انجام شده است.

در حالی‌که درمان‌های مبتنی بر سلول‌های بنیادی خون ساز به طور گسترده در دسترس هستند، روش‌های درمانی شامل اپیدرم کشت شده و قرنیه قابل دسترسی نیستند و در کشورهایی که کشت‌های گرافت اپیتلیال موجود می‌باشد، تعداد بیماران متقاضی کم و هزینه درمان زیاد است (Watt and Driskell 2010).

علی‌رغم پتانسیل درمانی سلول‌های بنیادی عصبی، مشکلات ایمنی، دسترسی پذیری محدود و دشواری‌های دستیابی به سلول‌های بنیادی مشتق شده از مغز کاربرد این سلول‌ها را محدود کرده است علاوه بر آن سلول‌های بنیادی عصبی در شرایط آزمایشگاهی عملکرد بسیار خوبی دارند در حالی‌که قادر به ایفای نقش خود در بافت‌های عصبی بالغ نیستند. در سیستم عصبی مرکزی، برخلاف بافت‌ها که تحت بازسازی مداوم سلولی قرار می‌گیرند، مغز قادر به ترمیم و دستیابی به اطلاعات جدید نمی‌باشد (Ahmadian-Moghadam, Sadat-Shirazi et al. 2020).

1- Neurodegenerative diseases

2 - adult neurogenesis

3 - progenitor cells

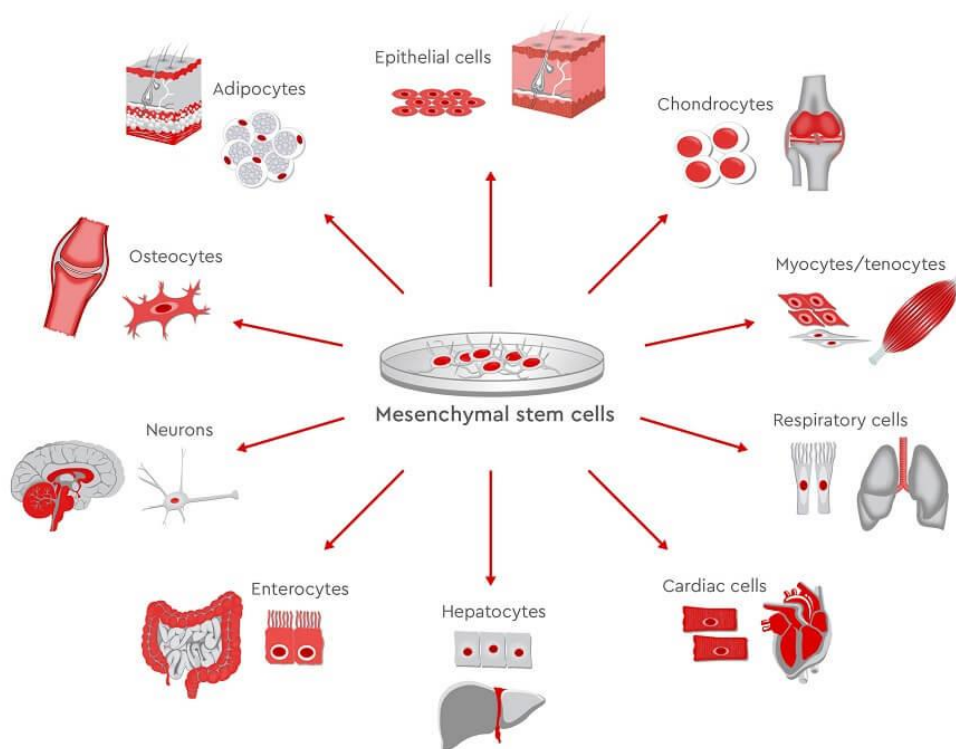
4 - demyelinating disorders

5 - Friedreich Ataxia

پیچیدگی بافت‌های عصبی و پیچیدگی ساختاری و تکاملی فرایندهای موثر بر بازسازی و ترمیم سلول‌ها باعث شده است که علی‌رغم وجود اطلاعات زیاد در زمینه نوروژنایی بزرگسالان، هیچ پیشرفت قابل توجهی در درمان اختلالات عصبی به وجود نیامده است.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی

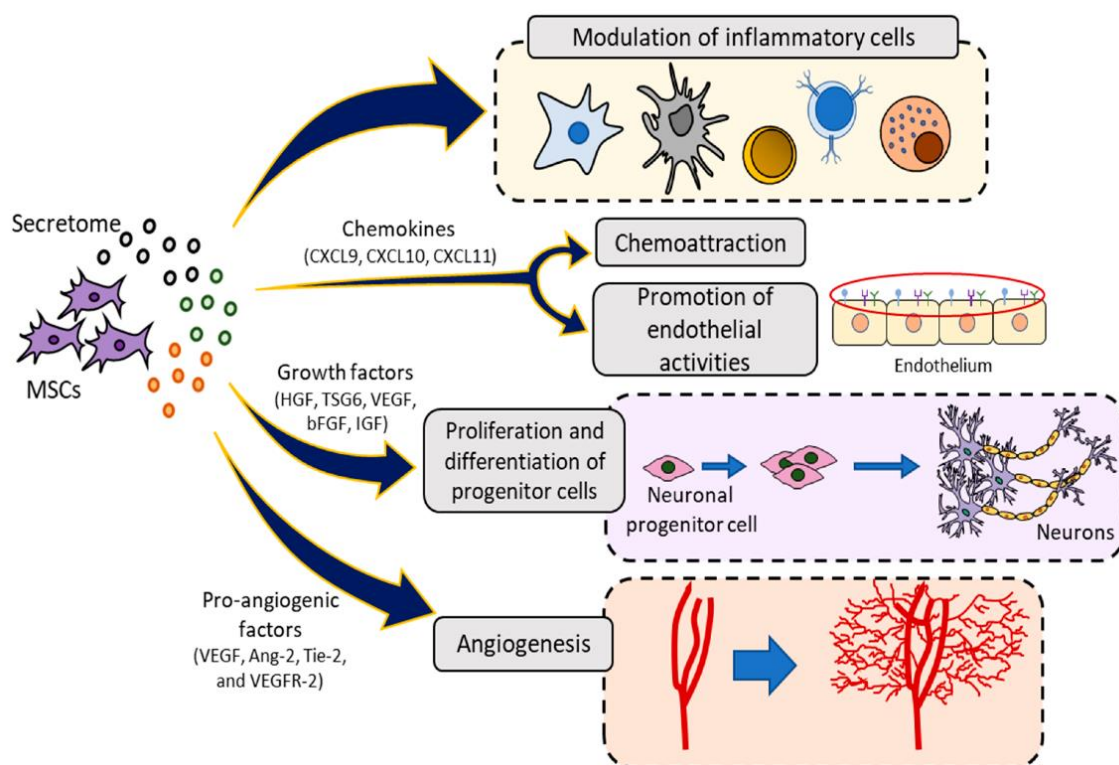
سلول‌های بنیادی مزانشیمی در کشت به صورت هتروژن (غیر یک نواخت) هستند و در بسیاری از بافت‌های جنینی و بالغ یافت می‌شوند. این هتروژنیسته در شرایط *in vivo* نیز دیده می‌شود چرا که مغز استخوان دارای سلول‌هایی با عملکرد هم پوشان با سلول‌های بنیادی مزانشیمی هستند (شکل ۱۵).



شکل ۱۵: تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به سلول‌های تخصصی مختلف.

مغز استخوان بزرگسالان منبع اصلی سلول مزانشیمی است. فراوانی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بسته به منشأ آن‌ها متفاوت است. برای مثال فراوانی این سلول‌ها در خون بند ناف، کم ولی در مغز استخوان بزرگسالان و بافت‌های چربی زیاد است. مانند سایر سلول‌های بنیادی، این سلول‌ها نیز با قابلیت تمایز به سلول‌های مختلف طی چند دودمان ویژگی چند توانی دارند به عنوان مثال، سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند فیبروبلاست‌ها، سلول‌های چربی کندوروسیت‌ها، سلول‌های استخوان ساز و غضروف‌ها را بسازند. کارآمدی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی به یک نوع سلول خاص به

منبع آناتومیک آن سلول بنیادی بستگی دارد. طبق مطالعات پیشین هر مجموعه‌ای از سلول‌های بنیادی مزانشیمی ژن‌هایی را بیان می‌کنند که در قابلیت ایجاد سلول‌های تخصصی نقش دارند به عنوان مثال، در مطالعه‌ی Sacchetti و همکاران، جمعیت‌های سلولی بیان‌کننده‌ی CD146، قابلیت تولید سلول‌های استخوان ساز و فیبروبلاست‌ها را نشان دادند و پیشنهاد کردند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی CD146(+) می‌توانند پیشروهای استخوانی^۱ باشند. علاوه بر این با پیوند سلول‌های بیان‌کننده CD146 می‌توان ریز محیط حمایت‌کننده‌ای از سلول‌های خون ساز ساخت (شکل ۱۶) (Sacchetti, Funari et al. 2007).



شکل ۱۶: فعالیت پاراکرین سلولهای استرومایی مزانشیمی. فاکتورهای ترشح شده از MSC می‌توانند به طور مستقیم در فرآیندهای مختلف سلولی از جمله تعدیل سیستم ایمنی، جاذبه شیمیایی، تکثیر سلول‌های پیش‌ساز، رگزایی و تمایز ترشح شوند، تمامی این فاکتورها برای عملکرد صحیح سلول‌های بنیادی مزانشیمی در بدن ضروری هستند. (Sacchetti, Funari et al. 2007).

با این تفاسیر، مشخص می‌شود که اگر بتوان نشانگرهای خاص را برای انتخاب زیر مجموعه‌های مختلف از سلول‌های بنیادی به کار برد می‌توان از مزایای این سلول‌ها در امور بالینی بهره گرفت و برای درمان بیماری‌های خاص، زیر مجموعه‌های مشخصی از سلول‌های بنیادی مزانشیمی را استفاده

¹ - Osteoprogenitors

کرد. این سلول‌های بنیادی می‌توانند نشانگر های عصبی مانند گانگلیوزید عصبی (GD2) را بیان کنند.

روش‌های شناسایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی نشان داده‌اند که این سلول‌ها از نظر ریخت شناسی متقارن بوده و ظاهری شبیه فیبروبلاستوئید دارند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از نظر فنوتیپی، می‌توان بر اساس نشانگرهای مختلف مانند CD44، CD29، CD105، CD73 و CD166 شناسایی کرد.

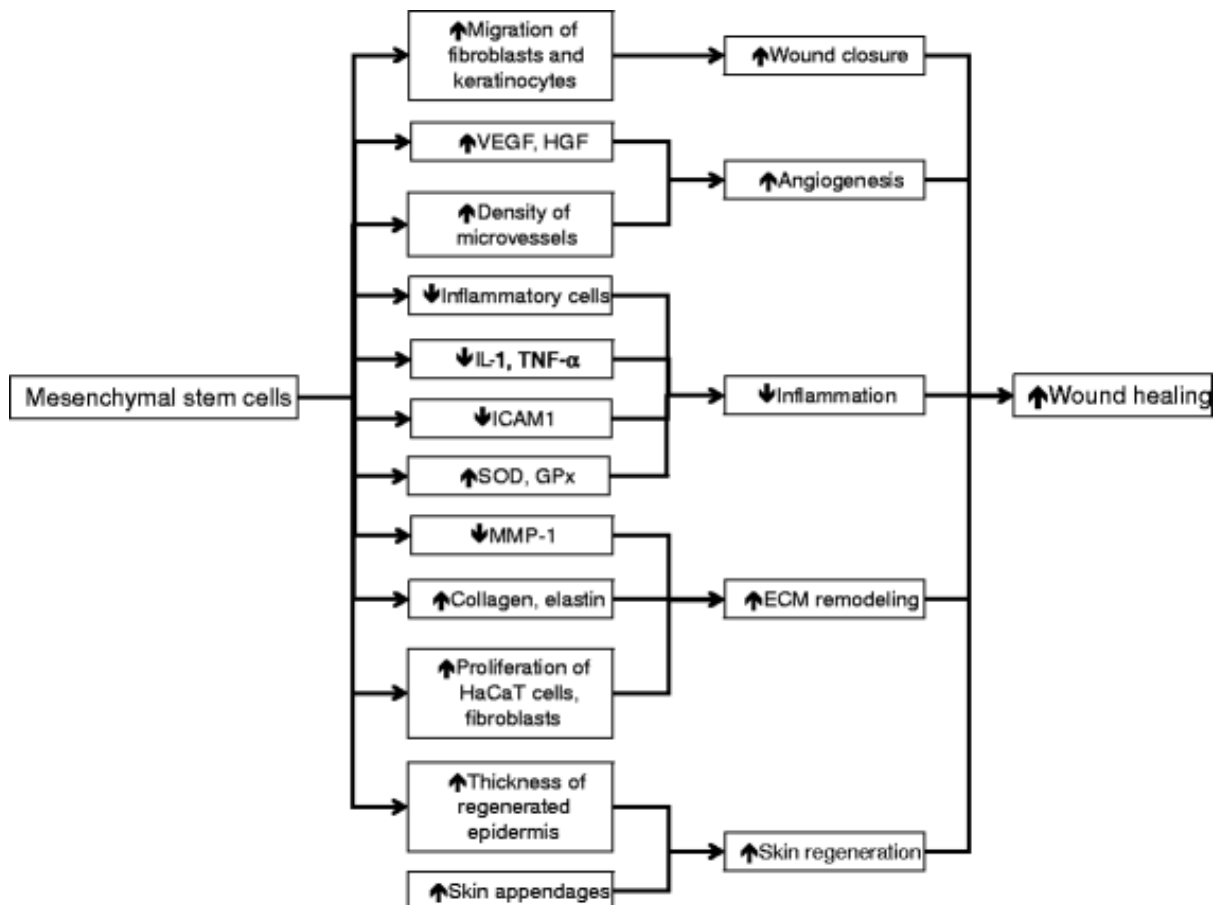
آنژیوژنز در سلول‌های بنیادی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی فرآیند رگزایی را در طی روند ترمیم زخم تقویت می‌کنند. به عنوان مثال، بررسی‌ها نشان داده است که درمان زخم موش با سلول‌های بنیادی مزانشیمی بند ناف انسان موجب افزایش سطح فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) (یکی از قویترین فاکتورهای رگزایی)، تراکم ریز رگ‌ها و گردش خون زخم پوستی می‌شود (Liu, Yu et al. 2014). داده‌های حاصل از مطالعه سلول‌های بنیادی مشتق شده از آدیپوزیت (سلول‌های چربی) موش در زخم‌های موش صحرایی حاکی از آن است که سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند از طریق تمایز مستقیم به سلول‌های اندوتلیال عروقی در رگزایی ترمیم زخم شرکت کنند. این یافته با نتایج سایر مطالعات مطابقت دارد (Cao, Sun et al. 2005, Lu, Mizuno et al. 2008). سلول‌های بنیادی مزانشیمی به طور قابل توجهی سطح بالاتری از سیتوکین‌های پیش رگزایی VEGF و فاکتور رشد سلول‌های کبدی را ترشح می‌کنند (Nie, Yang et al. 2011). مطالعه Schlosser و همکاران نشان داد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان موش تزریقی باعث کاهش مقاومت عروق شریانی و افزایش تراکم مویرگی عملکردی در عروق پوست موش در حال بهبودی از ایسکمی می‌شوند. یافته اصلی در این مطالعه سیتوکین‌های پیش رگزایی مانند VEGF توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی بود (Schlosser, Dennler et al. 2012).

با استفاده از مطالعات متعدد، نقش پیش رگزایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی به خوبی مشخص شده است. انتظار می‌رود تلاش برای به حداکثر رساندن این ظرفیت، نقش مفید سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) را در بهبود زخم افزایش دهد. استفاده از داربست هیدروژل می‌تواند موجب افزایش رساندن سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان موش به زخم‌های موش شود. Rustad و همکارانش در مطالعه‌ای دریافته‌اند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی کشت شده در هیدروژل‌ها به میزان قابل توجهی موجب افزایش سطح VEGF و سرعت ترمیم زخم می‌شوند که در نتیجه آن موجب بهبود ساختار پوست (با بازگشت بیشتر فولیکول‌های مو و غدد چربی) در مقایسه با تزریق موضعی سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌شوند (Rustad, Wong et al. 2012).

علاوه بر این، محققان افزایش متوسطی در تعداد ریز رگ‌ها در زخم‌های تحت درمان با سلول‌های بنیادی مزانشیمی تزریقی مشاهده کردند، با این حال بررسی‌ها نشان داده است که همراهی سلول‌های بنیادی مزانشیمی با داربست هیدروژل، نوواسکولاریزاسیون (ترمیم بیش از حد زخم) را به میزان

بیشتری افزایش می‌دهد. همچنین بررسی‌ها نشان داده است که سطح MMP-9، که پیش از این به نقش بالقوه آن در پیش رگ زایی پی برده شده بود، در زخم‌های درمان شده با MSC همراه با داربست به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد (شکل ۱۷) (Lee, Ayoub et al. 2016).

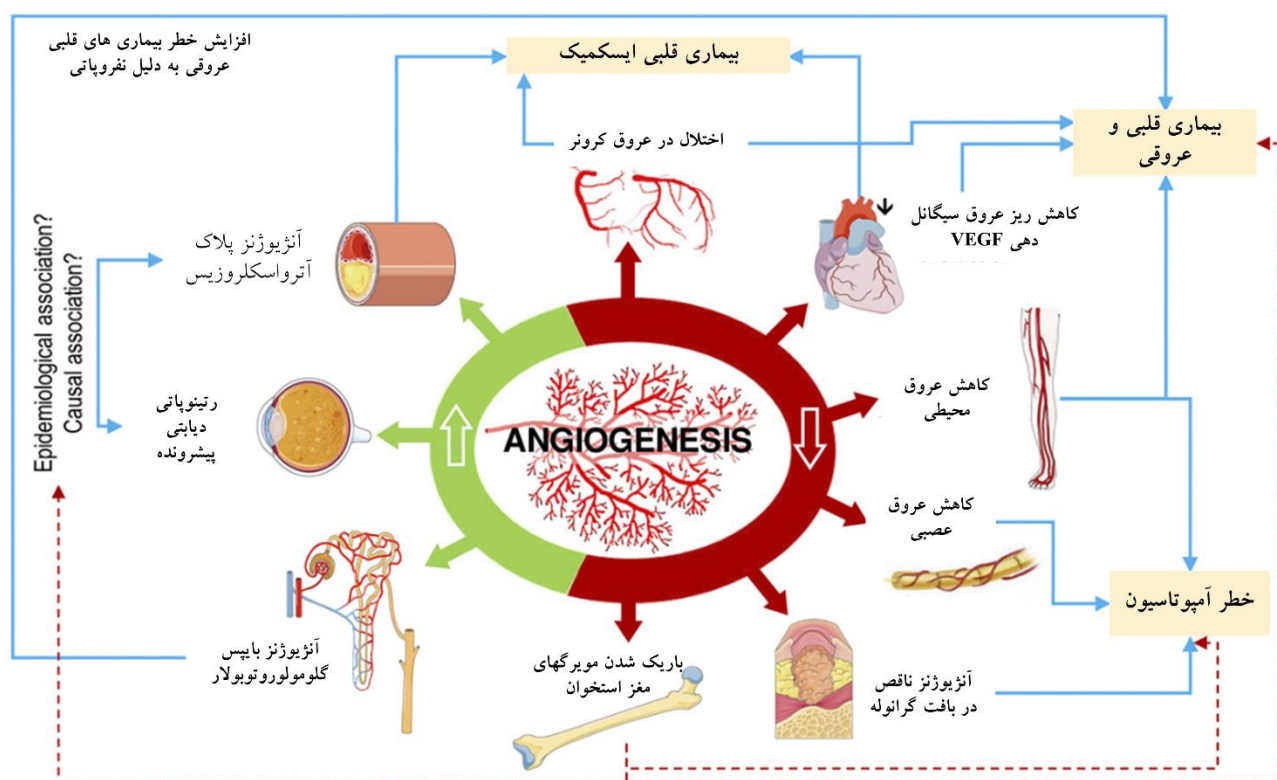


شکل ۱۷: بهبود زخم پوستی توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی. این روند شامل تسریع در بسته شدن زخم، افزایش رگ‌زایی، کاهش التهاب زخم، تنظیم مثبت بازسازی ماتریس خارج سلول (ECM) و تقویت بازسازی و بهبود عملکرد طبیعی پوست است. این اثرات از طریق سیگنالینگ پاراکرین ایجاد می‌شوند (Lee, Ayoub et al. 2016).

در مطالعه ای، Tian و همکاران نشان داد که 14S,21R-dihydroxydocosa-4Z,7Z,10Z,12E,16Z,19Z-هگزانونیک اسید (14S,21R-diHDHA) باعث القا ترشح VEGF توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی موش می‌شود. 14S,21R-diHDHA یک واسطه جدید لیپیدی درون‌زا است که از اسید دوکوزاهگزانونیک مشتق شده است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این ترکیب می‌تواند باعث بهبودی زخم و رگ‌زایی شود. به نظر می‌رسد 14S,21R-diHDHA و MSC اثر هم‌افزایی برای تقویت رگ‌زایی در ترمیم زخم داشته باشند (Lu, Tian et al. 2010, Tian, Lu et al. 2011). 14S,21R-diHDHA همچنین عملکرد پاراکرین سلول‌های بنیادی مزانشیمی را افزایش داده

و منجر به افزایش قابل توجه ترمیم زخم موش، تسریع مجدد اپیتلیالیزاسیون (ترمیم زخم در اثر رشد اپیتلیوم) ، ایجاد بافت جدید و تشکیل عروق می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است که زخم‌های پوستی موش‌های دیابتی در اثر استفاده از 14S,21R-diHDHA کاهش می‌یابد. بنابراین ، 14S,21R-diHDHA می‌تواند به عنوان پایه‌ای برای توسعه استراتژی‌های درمان زخم‌های مزمن مورد استفاده قرار گیرد (Tian, Lu et al. 2011).

در مطالعاتی دیگر اصلاح ژنتیکی سلول‌های بنیادی مزانشیمی نیز بررسی شده است. در مطالعه‌ای که توسط Song و همکاران انجام شد، نتایج نشان داد که معرفی v-myc به سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از سلول‌های چربی انسان با استفاده از سیستم انتقال ژن و پیروسی منجر به افزایش ترشح VEGF در MSC و تشکیل عروق خونی می‌شود (Song, Lee et al. 2012). محققان همچنین از ژن *Akt1* در سلول‌های بنیادی مزانشیمی استفاده کردند که بیان آن باعث افزایش بقای MSC و توانایی ترمیم بافت می‌شود. فسفوریلاسیون سازنده فعال در *Akt1* بیشتر باعث افزایش ترشح VEGF توسط MS-v-myc و تسریع بسته شدن زخم موش، کاهش التهاب زخم و بهبود سلول‌های اپیدرمی می‌شود (Mangi, Noiseux et al. 2003, Song, Lee et al. 2012) (شکل ۱۸).



شکل ۱۸: تداخل بین ناهنجاری‌های رگ زایی در بافت‌های مختلف و ایجاد عوارض مزمن دیابتی. (Mangi, Noiseux et al. 2003, Song, Lee et al. 2012).

مسیر PI3K/Akt، آنژیوژنز و مسیرهای نیتریک اکسید

مسیر PI3K/Akt یک مسیر حیاتی است که در تنظیم تکثیر سلولی، تمایز، آپوپتوز و مهاجرت سلول‌ها نقش دارد. این مسیر نقش کلیدی در فیزیولوژی و پاتوفیزیولوژی بسیاری از انواع سلول‌ها دارا می‌باشد. به محض فعال سازی این مسیر سیگنال دهی از طریق Akt به سوبستراهای مختلف انجام می‌شود. کاهش یا افزایش غیرطبیعی فعالیت این مسیر موجب ایجاد بیماری‌های متعددی از جمله دیابت، سکت، سرطان و بیماری‌های تحلیل برنده عصبی می‌شود. فعال سازی PI3K به وسیله گیرنده‌های فاکتورهای رشد تیروزین کینازی مانند گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین-۱، گیرنده c-kit و گیرنده فاکتور رشد اندوتلیال عروقی انجام می‌شود. آنزیم کلیدی مسیر PI3K، فسفاتیدیل اینوزیتول-۳،۴،۵ بیس فسفات را به فسفاتیدیل-اینوزیتول ۳،۴،۵-تری فسفات تبدیل می‌کند که این ترکیب نیز به Akt و PDK-1 متصل می‌شود. این فرآیند موجب می‌شود که PDK-1، Akt را فسفریله کند. Akt در واقع پروتئین هدف اولیه در پایین دست مسیر PI3K می‌باشد. فعال سازی Akt منجر به آشناری از پاسخ‌های تنظیمی برای عملکردهای سلولی می‌شود.

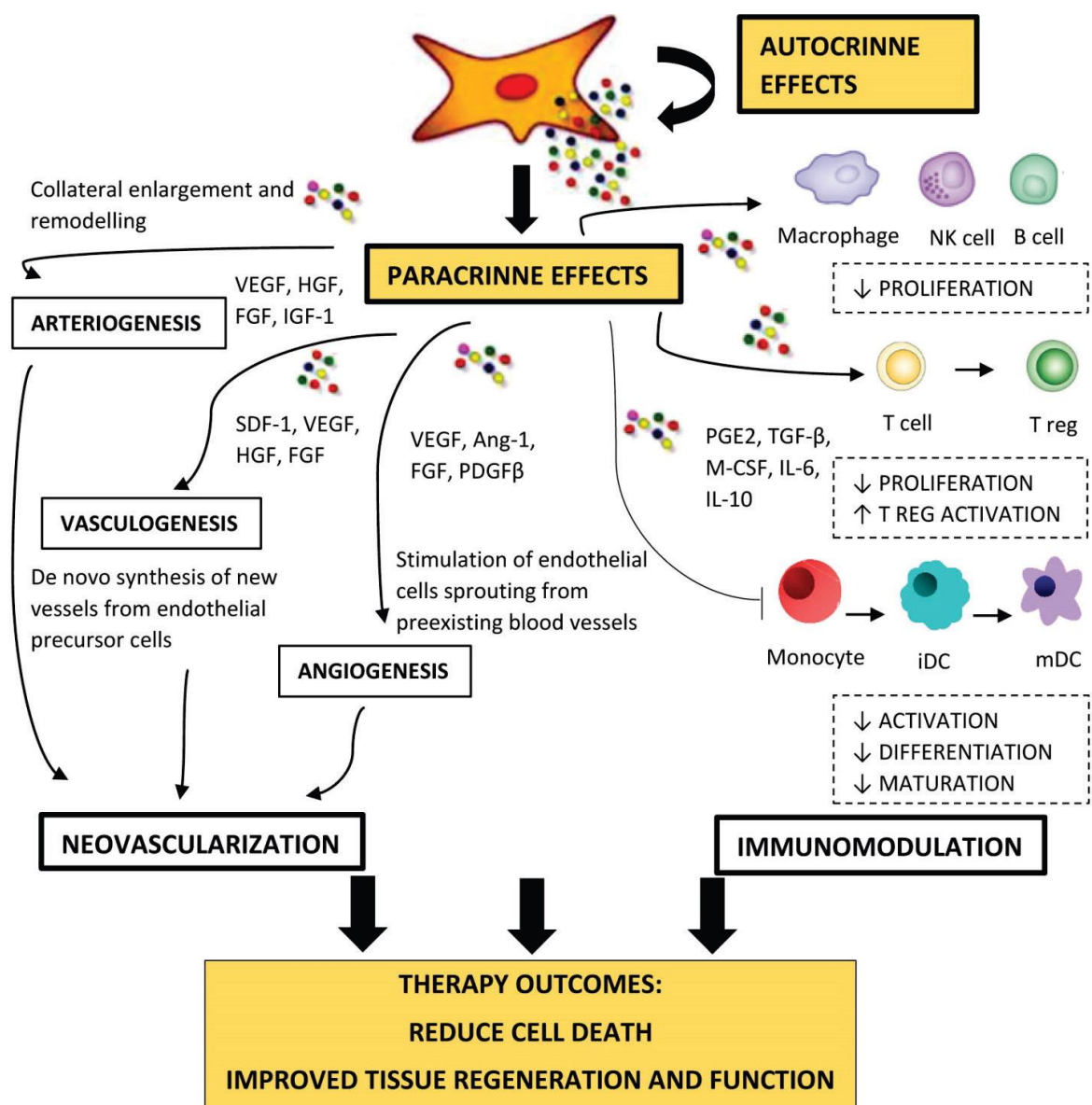
آنژیوژنز در بافت‌های ایسکمی فرآیند پیچیده‌ای است و شامل افزایش موضعی فاکتورهای رشدی می‌شود که قادر به پیشبرد رشد عروق خونی جدید و ترمیم بافت و بازسازی فعالیت سلولی هستند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند به رشد رگ‌ها کمک کنند. این سلول‌ها، پریسیت‌ها و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف را برای بلوغ رگ‌های تازه ساخته شده به کار می‌گیرند. علاوه بر این سلول‌های بنیادی مزانشیمی، خود نیز می‌توانند به سلول‌های اندوتلیال تمایز یافته و میزان رگزایی را افزایش دهد.

مسیر PI3K/Akt با تنظیم مسیر سیگنال دهی نیتریک اکسید با فرآیند آنژیوژنز همراه می‌شود. در مسیر PI3K گروهی از فاکتورهای آنژیوژنیک از قبیل VEGF ترشح می‌شود. VEGF برای مهاجرت سلول‌های اندوتلیال مورد نیاز بوده و اجازه ساخته شدن به ساختارهای شبه مویرگی به طریق وابسته PI3K/Akt را می‌دهد.

نیتریک اکسید از اندوتلیوم ترشح می‌شود و به عنوان میانجی‌گر اصلی در تنوس (Muscle Tonus) ماهیچه‌های صاف عمل می‌کند و موجب گشادی عروق از طریق فعالیت نیتریک اکسید سنتاز نوع اندوتلیالی می‌شود. نیتریک اکسید می‌تواند به عنوان مولکول سیگنال دهنده سلولی، فاکتور آنژیوژنیک شرکت کننده در شروع، پیشبرد و تثبیت عروق خونی جدید همراه با VEGF، فاکتور رشد فیروبلست، آنژیوپوتین، اینتگرین‌های مختلف و غیره عمل کند.

کاهش دسترسی زیستی نیتریک اکسید شاخصه نقص عملکرد اندوتلیالی است که می‌تواند ناشی از کاهش بیان نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی، نقص در فعالیت نیتریک اکسید یا غیرفعال شدن سریع نیتریک اکسید توسط استرس اکسیداتیو باشد. استاتین‌ها قادر به افزایش بیان نیتریک اکسید سنتاز نوع اندوتلیالی با مهار ایزوپرنیلاسیون Rho GTPase هستند. علاوه بر این استاتین‌ها می‌توانند

فسفریلاسیون و فعال سازی نیتریک اکسید سنتاز نوع اندوتلیالی از طریق مسیر PI3K/Akt را به سرعت القا کنند (Samakova, Gazova et al. 2019).

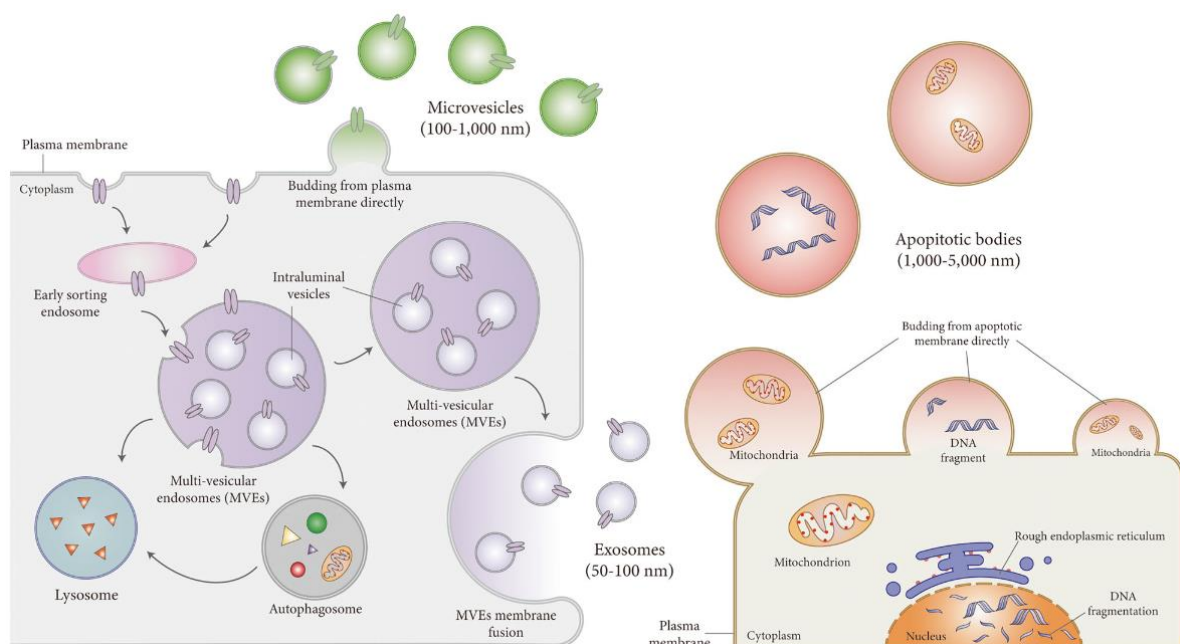


شکل ۱۹: مکانیسم اصلی سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسان در درمان بافت‌های ایسکمیک. (Samakova, Gazova et al. 2019).

آنژیوژنز القا شده با وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی

MicroRNA های مرتبط با آنژیوژنز و پروتئین‌های موجود در وزیکول‌های خارج سلولی مشتق شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سایر سلول‌های بنیادی پتانسیل درمان بیماری‌های ایسکمیک با فعال

سازی مستقیم یا غیر مستقیم مسیرهای سیگنال دهی مرتبط با آنژیوژنز در سلول‌های هدف را دارند. بر اساس پژوهش‌های جدید بسیاری از miRNA ها از جمله miRNA-31، miRNA-21-5p، miRNA-125a، miRNA-126، miRNA-130a، miRNA-132، miRNA-146a، miRNA-181-5p، miRNA-296 و 210 آنژیوژنز در بیماری‌های ایسکمیک را القا می‌کند (Bian, Ma et al. 2019).



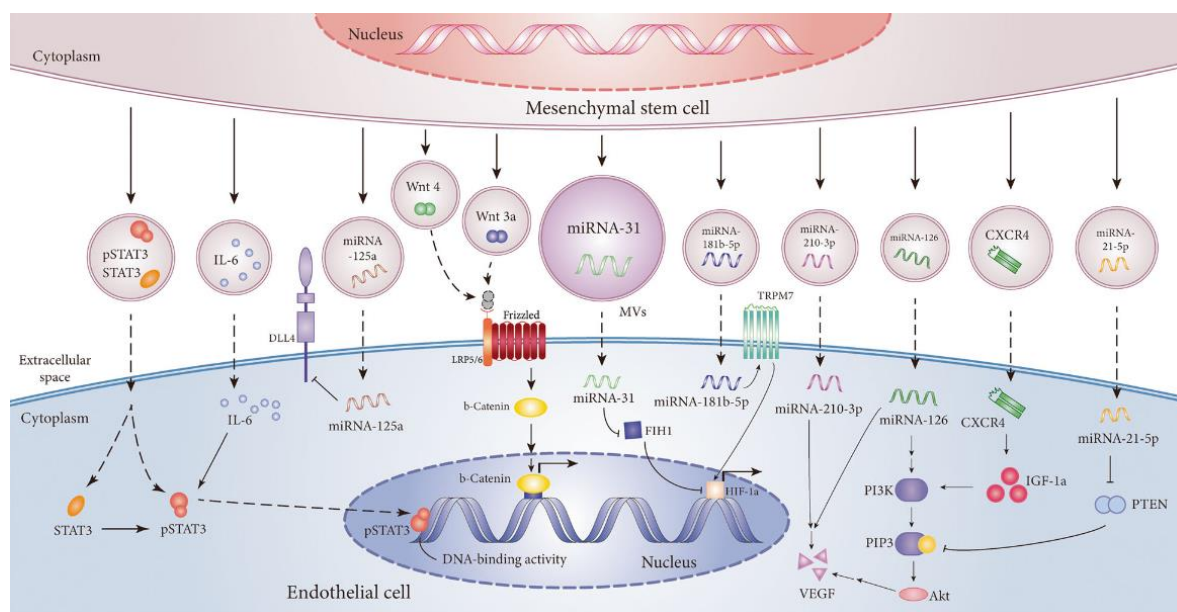
شکل ۲۰: تولید و آزادسازی وزیکول‌های خارج سلولی. سلول‌های سالم میکرووزیکول و آگزوزوم تولید می‌کنند. آگزوزوم‌ها در طی ۳ مرحله تولید می‌شوند (Bian, Ma et al. 2019).

VEGF به عنوان حد واسط اصلی آنژیوژنز متداول‌ترین جز پروتئینی در وزیکول‌های خارج سلولی است. شناسایی سایر پروتئین‌های عملکردی خاص و miRNA ها که نقش مهمی در آنژیوژنز دارند نیاز به تحقیقات بیشتری دارد (Bian, Ma et al. 2019).

وزیکول‌های خارج سلولی تولید شده توسط سلول‌های بنیادی مزایای زیادی در بافت‌های ایسکمیک دارند. اولین مزیت آن‌ها این است که این وزیکول‌ها می‌توانند به صورت کارآمدتری به سلول‌های هدف سیگنال رسانی کنند زیرا پوسته دولایه لیپیدی آن‌ها می‌تواند از تجزیه پروتئولیتیک آن‌ها جلوگیری کند. دانشمندان در تلاش هستند که از توانایی وزیکول‌های خارج سلولی برای انتقال ترکیبات دارویی به سلول‌های مورد نظر بهره بگیرند. به عنوان مثال siRNA (Small interfering RNA) از جمله ساختارهایی بوده است که از طریق وزیکول‌های خارج سلولی به سلول‌های هدف تحویل داده شده است. دومین مزیت وزیکول‌های خارج سلولی این است که این ساختارها حاوی اجزای تنظیمی از جمله miRNA ها، mRNA و پروتئین‌ها هستند. این مولکول‌ها می‌توانند به صورت همزمان عمل کنند تا اثر شدیدی بر ویژگی‌های سلول‌های گیرنده داشته باشند. MiR-210-3p و پروتئین

VEGF به عنوان اجزای موثر مغز استخوان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی و وزیکول‌های خارج سلولی عملکرد یکسانی برای ایجاد عروق خونی جدید دارند (Bian, Ma et al. 2019).

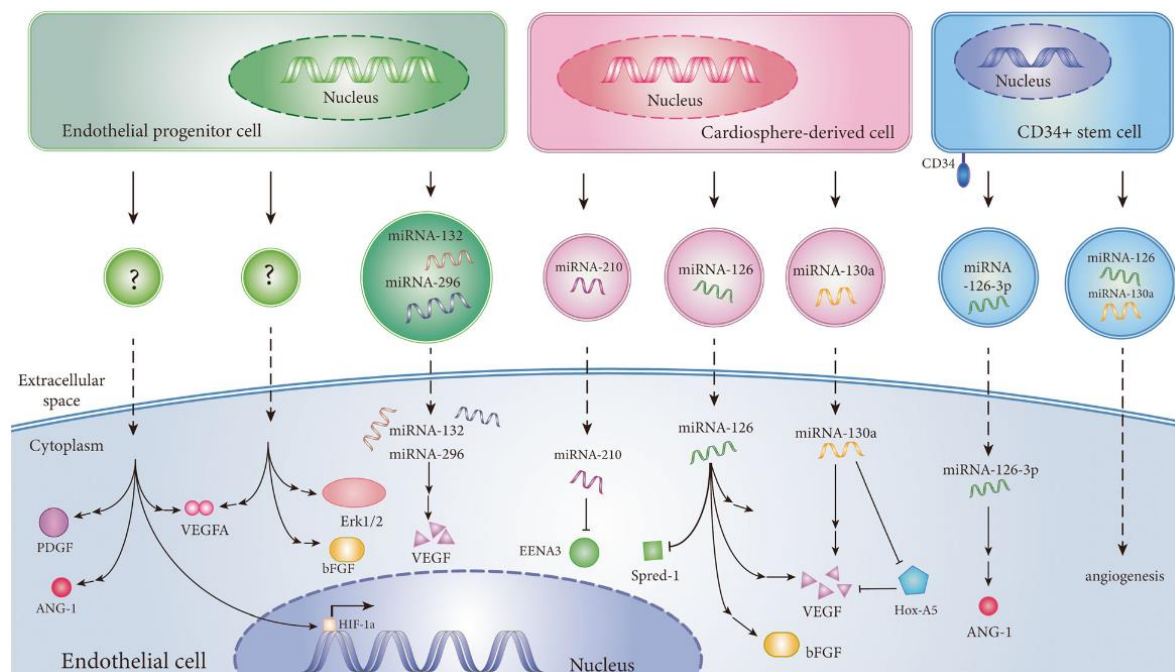
تاکنون تلاش‌های زیادی برای درمان بیماری‌های ایسکمیک با وزیکول‌های خارج سلولی انجام شده است. اگر چه محدودیت‌های زیادی در این راستا وجود دارد. اولین مشکل در این حوزه این است که وزیکول‌های خارج سلولی پیوند شده در بافت آسیب دیده ممکن است تنها اثر کوتاه مدتی داشته باشند که این امر به علت نیمه عمر کم و حذف سریع آن‌ها توسط سیستم ایمنی ذاتی است. بنابراین حفظ و پایداری وزیکول‌های خارج سلولی در طول زمان چالش اصلی در کاربردهای بالینی آن‌ها است. Zhang و همکارانش دریافتند که هیدروژل‌های کیتوزانی بقا آگروزوم‌ها در شرایط In-vivo را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهند و پایداری miRNA و پروتئین‌های موجود در آگروزوم‌ها را بیشتر می‌کنند. علاوه بر آن آنژیوژنز در نقاط ایسکمیک تقویت می‌شود. محدودیت دیگر این است که برداشت وزیکول‌های خارج سلولی نیاز به تقویت دارد. برداشت سلولی تعداد زیادی از وزیکول‌های خارج سلولی توسط سلول‌های هدف، می‌تواند کارایی آنژیوژنز را بهبود بخشد. مشخص شده است که کارآمدی برداشت وزیکول‌های خارج سلولی به اسیدیته داخل سلولی مرتبط است. در نهایت روش‌های تجویز وزیکول‌های خارج سلولی بایستی به درستی انتخاب شود. در مطالعات اخیر مشخص شده است که عملکرد آنژیوژنیک وزیکول‌های خارج سلولی تحت تاثیر تزریق داخل عضلانی یا تزریق موضعی در بافت ایسکمیک است (Bian, Ma et al. 2019).



شکل ۲۱: سازوکار آنژیوژنز القا شده وزیکول‌های خارج سلولی مشتق شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در بیماری‌های ایسکمیک. وزیکول‌های خارج سلولی از سلول‌های BM-MSCs-ADSCs، UC-MSCs و PMC-MSCs نقش مهمی در رگ‌زایی در بیماری‌های ایسکمیک دارند. وزیکول‌های خارج سلولی مشتق شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی غنی از مولکول‌های ناقل خاص از جمله پروتئین‌ها (Wnt 4، Wnt 3a، IL-6، pSTAT3 و CXCR4) و miRNA (miRNA-31، miRNA-126، miRNA-210، miRNA-181b، miRNA-125a و miRNA-21) هستند. این

پروتئین‌ها و miRNA ها مسیرهای سیگنالی را برای تنظیم بیان فاکتورهای آنژیوژنز در سلول‌های اندوتلیال فعال می‌کنند (Bian, Ma et al. 2019).

IL-6, interleukin-6; FIH1, hypoxia-inducible factor 1-alpha inhibitor; HIF-1 α , hypoxia-inducible factor-1 α ; VEGF, vascular endothelial growth factor; PTEN, phosphatase and tensin homolog.



شکل ۲۲: مکانیسم آنژیوژنز القا شده توسط سلول‌های بنیادی EPCs، CDCs و CD34⁺ در بیماری ایسکمی. وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از EPC آنژیوژنز را از طریق افزایش بیان فاکتورهای رونویسی مرتبط القا می‌کنند. وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از CDCs با miR-21، miR-126 و miR-130a غنی شده‌اند که بیان پروتئین‌های آنژیوژنیک در سلول‌های اندوتلیال را القا می‌کنند. وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی CD34⁺، miR-126 و miR-130 برای القا آنژیوژنز به درون سلول‌های اندوتلیال منتقل می‌کنند (Bian, Ma et al. 2019).

واژه نامه

در این مطالعه از موتورهای جستجوگر مختلف از جمله PubMed، Google Scholar و Scopus جهت دستیابی به مقالات منتشر شده در زمینه بیماری‌های مربوط به عروق، آنژیوژنز و سلول‌های بنیادی استفاده شد. جمع آوری داده‌ها بدون در نظر گرفتن محدوده زمانی و با استفاده از کلمات کلیدی از قبیل آنژیوژنز، سلول‌های بنیادی، دیابت، داروهای ترومبولیتیک، داروهای گشاد کننده عروق،

ایسکمی، آترواسکلروزیس، آرتریواسکلروزیس و روش‌های درمان زخم دیابتی به صورت تکی و ترکیبی انجام گرفت. مستندات در کتابخانه EndNote نسخه X8 ذخیره شدند.

منابع

- Abdulhannan, P., D. Russell and S. Homer-Vanniasinkam (2012). "Peripheral arterial disease: a literature review." *British medical bulletin* **104**(1): 21-39.
- Aguiree, F., A. Brown, N. H. Cho, G. Dahlquist, S. Dodd, T. Dunning, M. Hirst, C. Hwang, D. Magliano and C. Patterson (2013). "IDF diabetes atlas."
- Ahmadian-Moghadam, H., M.-S. Sadat-Shirazi and M.-R. Zarrindast (2020). "Therapeutic potential of stem cells for treatment of neurodegenerative diseases." *Biotechnology letters* **42**(7): 1073-1101.
- Ali, M., M. Salim Hossain, M. Islam, S. I. Arman, G. Sarwar Raju, P. Dasgupta and T. F. Noshin (2014). "Aspect of thrombolytic therapy: a review." *The Scientific World Journal* **2014**.
- Altabas, V. (2015). "Diabetes, endothelial dysfunction, and vascular repair: what should a diabetologist keep his eye on?" *International journal of endocrinology* **2015**.
- Baig, M. U. and J. Bodle (2020). "Thrombolytic therapy." *StatPearls [Internet]*.
- Balaji, S., N. Han, C. Moles, A. F. Shaaban, P. L. Bollyky, T. M. Crombleholme and S. G. Keswani (2015). "Angiopoietin-1 improves endothelial progenitor cell-dependent neovascularization in diabetic wounds." *Surgery* **158**(3): 846-856.
- Banerjee, A., Y. Chisti and U. Banerjee (2004). "Streptokinase—a clinically useful thrombolytic agent." *Biotechnology advances* **22**(4): 287-307.
- Bian, X., K. Ma, C. Zhang and X. Fu (2019). "Therapeutic angiogenesis using stem cell-derived extracellular vesicles: an emerging approach for treatment of ischemic diseases." *Stem cell research & therapy* **10**(1): 1-18.
- Cao, Y., Z. Sun, L. Liao, Y. Meng, Q. Han and R. C. Zhao (2005). "Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo." *Biochemical and biophysical research communications* **332**(2): 370-379.
- Cooper, M. E., D. Vranes, S. Youssef, S. A. Stacker, A. J. Cox, B. Rizkalla, D. J. Casley, L. A. Bach, D. J. Kelly and R. E. Gilbert (1999). "Increased renal expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 in experimental diabetes." *Diabetes* **48**(11): 2229-2239.
- Deveza, L., J. Choi and F. Yang (2012). "Therapeutic angiogenesis for treating cardiovascular diseases." *Theranostics* **2**(8): 801.
- Fadini, G. P., C. Agostini and A. Avogaro (2010). "Autologous stem cell therapy for peripheral arterial disease: meta-analysis and systematic review of the literature." *Atherosclerosis* **209**(1): 10-17.
- Formiga, F. R., B. Pelacho, E. Garbayo, G. Abizanda, J. J. Gavira, T. Simon-Yarza, M. Mazo, E. Tamayo, C. Jauquicoa and C. Ortiz-de-Solorzano (2010). "Sustained release of VEGF through PLGA microparticles improves vasculogenesis and tissue remodeling in an acute myocardial ischemia-reperfusion model." *Journal of Controlled Release* **147**(1): 30-37.
- Goodwin, A. M. (2007). "In vitro assays of angiogenesis for assessment of angiogenic and anti-angiogenic agents." *Microvascular research* **74**(2-3): 172-183.
- Gupta, A. S. (2011). "Nanomedicine approaches in vascular disease: a review." *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* **7**(6): 763-779.
- Hariri, L. and J. Patel (2020). "Vasodilators."
- Januschke, J. and I. Näthke (2014). *Stem cell decisions: a twist of fate or a niche market?* Seminars in cell & developmental biology, Elsevier.
- Jawad, E. and R. Arora (2008). "Chronic stable angina pectoris." *Disease-a-Month* **54**(9): 671-689.

Khanna, S., S. Biswas, Y. Shang, E. Collard, A. Azad, C. Kauh, V. Bhasker, G. M. Gordillo, C. K. Sen and S. Roy (2010). "Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice." PloS one **5**(3): e9539.

Kim, H., K. Choi, O.-K. Kweon and W. H. Kim (2012). "Enhanced wound healing effect of canine adipose-derived mesenchymal stem cells with low-level laser therapy in athymic mice." Journal of dermatological science **68**(3): 149-156.

Klein, R. and B. E. Klein (2010). "Are individuals with diabetes seeing better?: a long-term epidemiological perspective." Diabetes **59**(8): 1853-1860.

Klein, R., K. E. Lee, R. E. Gangnon and B. E. Klein (2010). "The 25-year incidence of visual impairment in type 1 diabetes mellitus: the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy." Ophthalmology **117**(1): 63-70.

Kota, S. K., L. K. Meher, S. Jammula, S. K. Kota, S. Krishna and K. D. Modi (2012). "Aberrant angiogenesis: The gateway to diabetic complications." Indian journal of endocrinology and metabolism **16**(6): 918.

Lee, D. E., N. Ayoub and D. K. Agrawal (2016). "Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: novel methods to increase cell delivery and therapeutic efficacy." Stem cell research & therapy **7**(1): 1-8.

Leeper, N. J., A. L. Hunter and J. P. Cooke (2010). "Stem cell therapy for vascular regeneration: adult, embryonic, and induced pluripotent stem cells." Circulation **122**(5): 517-526.

Libby, P., J. Buring, L. Badimon, G. Hansson, J. Deanfield, M. Bittencourt and L. Tokgözoğlu (2019). "Lewis EF." Atherosclerosis. Nature reviews Disease primers **5**(1): 56.

Libby, P. and P. Theroux (2005). "Pathophysiology of coronary artery disease." Circulation **111**(25): 3481-3488.

Lin, C.-C. and K. S. Anseth (2009). "PEG hydrogels for the controlled release of biomolecules in regenerative medicine." Pharmaceutical research **26**(3): 631-643.

Liu, L., Y. Yu, Y. Hou, J. Chai, H. Duan, W. Chu, H. Zhang, Q. Hu and J. Du (2014). "Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats." PloS one **9**(2): e88348.

Losordo, D. W. and S. Dimmeler (2004). "Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for ischemic disease: part I: angiogenic cytokines." Circulation **109**(21): 2487-2491.

Lu, F., H. Mizuno, C. A. Uysal, X. Cai, R. Ogawa and H. Hyakusoku (2008). "Improved viability of random pattern skin flaps through the use of adipose-derived stem cells." Plastic and reconstructive surgery **121**(1): 50-58.

Lu, Y., H. Tian and S. Hong (2010). "Novel 14, 21-dihydroxy-docosaheptaenoic acids: structures, formation pathways, and enhancement of wound healing." Journal of lipid research **51**(5): 923-932.

Mangi, A. A., N. Noiseux, D. Kong, H. He, M. Rezvani, J. S. Ingwall and V. J. Dzau (2003). "Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts." Nature medicine **9**(9): 1195-1201.

Mansouri, F. (2018). "A Review of Stem Cell Technology." Alborz University Medical Journal **7**(3): 181-189.

McFalls, E. O., H. B. Ward, T. E. Moritz, S. Goldman, W. C. Krupski, F. Littooy, G. Pierpont, S. Santilli, J. Rapp and B. Hattler (2004). "Coronary-artery revascularization before elective major vascular surgery." New England Journal of Medicine **351**(27): 2795-2804.

McGinn, S., S. Saad, P. Poronnik and C. Pollock (2003). "High glucose-mediated effects on endothelial cell proliferation occur via p38 MAP kinase." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism **285**(4): E708-E717.

Members, W. G., V. L. Roger, A. S. Go, D. M. Lloyd-Jones, E. J. Benjamin, J. D. Berry, W. B. Borden, D. M. Bravata, S. Dai and E. S. Ford (2012). "Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association." Circulation **125**(1): e2-e220.

Michaels, J., S. S. Churgin, K. M. Blechman, M. R. Greives, S. Aarabi, R. D. Galiano and G. C. Gurtner (2007). "db/db mice exhibit severe wound-healing impairments compared with other murine diabetic strains in a silicone-splinted excisional wound model." Wound repair and regeneration **15**(5): 665-670.

Miller, J. G. and K. A. Horvath (2020). Transmyocardial Laser Revascularization. Cardiac Surgery, Springer: 261-267.

Nie, C., D. Yang, J. Xu, Z. Si, X. Jin and J. Zhang (2011). "Locally administered adipose-derived stem cells accelerate wound healing through differentiation and vasculogenesis." Cell transplantation **20**(2): 205-216.

Okonkwo, U. A. and L. A. DiPietro (2017). "Diabetes and wound angiogenesis." International journal of molecular sciences **18**(7): 1419.

Qi, W., C. Yang, Z. Dai, D. Che, J. Feng, Y. Mao, R. Cheng, Z. Wang, X. He and T. Zhou (2015). "High Levels of Pigment Epithelium-Derived Factor in Diabetes Impair Wound Healing Through Suppression of Wnt Signaling." Diabetes **64**(4): 1407-1419.

Rameshwar, P., C. A. Moore, N. N. Shah and C. P. Smith (2018). "An Update on the Therapeutic Potential of Stem Cells." Somatic Stem Cells: 3-27.

Rustad, K. C., V. W. Wong, M. Sorkin, J. P. Glotzbach, M. R. Major, J. Rajadas, M. T. Longaker and G. C. Gurtner (2012). "Enhancement of mesenchymal stem cell angiogenic capacity and stemness by a biomimetic hydrogel scaffold." Biomaterials **33**(1): 80-90.

Sacchetti, B., A. Funari, S. Michienzi, S. Di Cesare, S. Piersanti, I. Saggio, E. Tagliafico, S. Ferrari, P. G. Robey and M. Riminucci (2007). "Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment." Cell **131**(2): 324-336.

Samakova, A., A. Gazova, N. Sabova, S. Valaskova, M. Jurikova and J. Kyselovic (2019). "The PI3k/Akt pathway is associated with angiogenesis, oxidative stress and survival of mesenchymal stem cells in pathophysiologic condition in ischemia." Physiological research **68**: S131-S138.

SAMUEL, J. (2011). "FUNCTIONAL RECOVERY OF SPINAL CORD INJURY FOLLOWING APPLICATION OF INTRALESIONAL BONE MARROW MONONUCLEAR CELLS EMBEDDED IN POLYMER SCAFFOLD."

Schlosser, S., C. Dennler, R. Schweizer, D. Eberli, J. V. Stein, V. Enzmann, P. Giovanoli, D. Erni and J. A. Plock (2012). "Paracrine effects of mesenchymal stem cells enhance vascular regeneration in ischemic murine skin." Microvascular Research **83**(3): 267-275.

Seitz, O., C. Schürmann, N. Hermes, E. Müller, J. Pfeilschifter, S. Frank and I. Goren (2010). "Wound healing in mice with high-fat diet-or ob gene-induced diabetes-obesity syndromes: a comparative study." Experimental diabetes research **2010**.

Sheykhasan, M. and M. Ghiasi (2016). "Evaluation of the Production Methods of Induced Pluripotent Stem Cells: A Short Review." Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences **15**(4): 355-376.

Shiva, A., A. Maboudi and S. Arab (2016). "A review of the complications and oral manifestation of diabetes mellitus." ClinExc **5**(2): 17-27.

Song, S.-H., M.-O. Lee, J.-S. Lee, H.-C. Jeong, H.-G. Kim, W.-S. Kim, M. Hur and H.-J. Cha (2012). "Genetic modification of human adipose-derived stem cells for promoting wound healing." Journal of dermatological science **66**(2): 98-107.

Tahergorabi, Z. and M. Khazaei (2012). "Imbalance of angiogenesis in diabetic complications: the mechanisms." International journal of preventive medicine **3**(12): 827.

Theodoridis, P. G., C. H. Davos, I. Dodos, N. Iatrou, A. Potouridis, G. M. Pappas, D. Staramos, P. Antoniadis, V. Argitis and K. Dervisis (2018). "Thrombolysis in acute lower limb ischemia: review of the current literature." Annals of vascular surgery **52**: 255-262.

Tian, H., Y. Lu, S. P. Shah and S. Hong (2011). "14S, 21R-dihydroxydocosaheptaenoic acid remedies impaired healing and mesenchymal stem cell functions in diabetic wounds." Journal of Biological Chemistry **286**(6): 4443-4453.

Toma, I. and T. A. McCaffrey (2012). "Transforming growth factor- β and atherosclerosis: interwoven atherogenic and atheroprotective aspects." Cell and tissue research **347**(1): 155-175.

Watt, F. M. and R. R. Driskell (2010). "The therapeutic potential of stem cells." Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences **365**(1537): 155-163.

Zhao, Y., H. Wang and T. Mazzone (2006). "Identification of stem cells from human umbilical cord blood with embryonic and hematopoietic characteristics." Experimental cell research **312**(13): 2454-2464.

Zisch, A. H., M. P. Lutolf, M. Ehrbar, G. P. Raeber, S. C. Rizzi, N. Davies, H. Schmökel, D. Bezuidenhout, V. Djonov and P. Zilla (2003). "Cell-demanded release of VEGF from synthetic, biointeractive cell-ingrowth matrices for vascularized tissue growth." The FASEB journal **17**(15): 2260-2262.