



Clinical Effects of Treatment with Nebulized Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles in an Ovine Model of Acute Respiratory Distress Syndrome

Zanyar Pirkani¹, Mohammad Reza Mokhber Dezfouli^{2,5}, Sirous Sadeghian Chaleshtori^{2,5},
Faezeh Shekari³, Massoumeh Jabbari Fakhr^{4,5}, Neda Sabetzadeh⁵

¹ Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

³ Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

⁴ Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, School of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

⁵ Institute of Biomedical Research, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 12 Feb 2025, Reciver in revised from: 9 Apr 2025, Accepted: 15 Apr 2025, Available online: 10 Jun 2025

doi [10.22059/jvr.2024.382705.3459](https://doi.org/10.22059/jvr.2024.382705.3459)

J Vet Res, Volume 80, Number 2, 2025, 87-97

Abstract

BACKGROUND: Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is an acute clinical condition with several clinical complications. Recent preclinical studies have demonstrated that the use of mesenchymal stem cell (MSC)-derived extracellular vesicles (EVs) can yield beneficial therapeutic outcomes.

OBJECTIVES: This study aims to evaluate the efficacy of nebulized adipose tissue MSC-EVs on clinical symptoms in an experimental ovine model of ARDS.

METHODS: Six male sheep were randomly divided into two groups of treatment and control. The ARDS was induced by intratracheal administration of lipopolysaccharide *Escherichia coli* serotype O55:B5. After one day, upon confirmation of ARDS, allogeneic adipose tissue MSCs-EVs were nebulized into the lungs of the treatment group, while the control group received an adipose tissue MSC culture medium. The sheep were monitored for 7 days, clinical symptoms were recorded, and the data underwent statistical analysis.

RESULTS: The results demonstrated the therapeutic potential of adipose tissue MSCs-EVs in ameliorating the clinical symptoms of ARDS. In the treatment group, heart rate, respiratory rate, and rectal temperature significantly decreased throughout the study and returned to normal levels compared to the control group. Other clinical symptoms, including respiratory sound changes, cough, nasal discharge, mucous membrane status, appetite, and consciousness, showed considerable improvement in the treatment group compared to the control group.

CONCLUSIONS: The treatment using nebulized adipose tissue MSCs-EVs has promising results in improving clinical symptoms in an ovine model of ARDS, although further studies are needed in this field.

Keywords: Acute respiratory distress syndrome, Clinical, Sheep, Nebulizer, Extracellular vesicles

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Sirous Sadeghian Chaleshtori, Tel/Fax: +9821-61117001



How to cite this article:

Pirkani Z, Mokhber Dezfouli MR, Sadeghian Chaleshtori S, Shekari F, Jabbari Fakhr M, Sabetzadeh N. Clinical Effects of Treatment with Nebulized Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles in an Ovine Model of Acute Respiratory Distress Syndrome. J Vet Res, 2025; 80(2): 87-97. doi: 10.22059/jvr.2024.382705.3459

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Changes in the mean levels of clinical signs in two groups at various time points before and after nebulization of adipose tissue MSCs-EVs. ^a A significant difference compared to baseline; ^{*}A significant difference compared to the control group.



اثرات بالینی درمان با وزیکول‌های خارج سلولی نبولایزشده در مدل تجربی سندرم زجر تنفسی حاد در گوسفند

زانبار پیرکانی^۱، محمدرضا مخبردزفولی^{۲،۵}، سیروس صادقیان چالشتی^{۲،۵}، فائزه شکری^۳،

معصومه جبباری فخر^{۴،۵}، ندا ثابت‌زاده^۵

^۱ دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی تکوینی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشگاه سلول‌های بنیادی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران

^۴ گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

^۵ پژوهشکده تحقیقات زیست‌پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۲۴ بهمن ۱۴۰۳، تاریخ بازنگری: ۲۰ فروردین ۱۴۰۴، تاریخ پذیرش: ۲۶ فروردین ۱۴۰۴، تاریخ انتشار: ۲۰ خرداد ۱۴۰۴

doi: [10.22059/jvr.2024.382705.3459](https://doi.org/10.22059/jvr.2024.382705.3459)

دوره ۸۰، شماره ۲، ۱۴۰۴، ۸۷-۹۷

چکیده

زمینه مطالعه: سندرم زجر تنفسی حاد، یک شرایط حاد بالینی است که بیماران طیف وسیعی از پیامدهای بالینی را نشان می‌دهند. مطالعات اخیر در موارد پیش‌بالینی نشان داده است که استفاده از وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌تواند به نتایج درمانی سودمند منجر شود. **هدف:** مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثربخشی نبولایز وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی بر علائم بالینی مدل تجربی سندرم زجر تنفسی حاد در گوسفند انجام شد.

روش کار: ۶ گوسفند نر به‌طور تصادفی به ۲ گروه درمان و گروه شاهد تقسیم شدند. مدل سندرم زجر تنفسی حاد با تجویز داخل نای لیپوپلی ساکارید باکتری/یکلای سویه $O_{55}:B_5$ در هر ۶ گوسفند القا شد. پس از ۱ روز و با تأیید وقوع سندرم زجر تنفسی حاد، درمان با وزیکول‌های آلون در گروه درمان و محیط کشت سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی به‌صورت نبولایز به ریه‌ها تجویز شد. گوسفندها به‌مدت ۷ روز تحت نظر دقیق قرار گرفتند و علائم بالینی ثبت و نهایتاً تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج: مطالعه حاضر پتانسیل درمانی وزیکول‌های خارج سلولی بر بهبود علائم بالینی مدل تجربی سندرم زجر تنفسی حاد در گوسفند را نشان داد. چنان‌که در گروه درمان در مقایسه با گروه شاهد تعداد ضربان قلب، تعداد تنفس و دمای راست روده‌ای در طول مطالعه کاهش معنی‌دار یافتند و به محدوده طبیعی بازگشتند. همچنین سایر علائم بالینی، شامل تغییرات صداهای تنفسی، سرفه، ترشحات بینی، وضعیت غشاهای مخاطی، اشتها و هوشیاری گوسفندها در گروه درمان در مقایسه با گروه شاهد بهبود قابل توجهی یافتند.

نتیجه‌گیری نهایی: درمان مبتنی بر وزیکول‌های خارج سلولی به‌صورت نبولایز، نتایج امیدوارکننده‌ای در بهبود علائم بالینی مدل سندرم زجر تنفسی حاد در گوسفند نشان داده است. این یافته‌ها نشان می‌دهند وزیکول‌های خارج سلولی را می‌توان به‌عنوان یک درمان بالقوه در نظر گرفت، اما توصیه می‌شود مطالعات بیشتری در این زمینه انجام شود.

کلمات کلیدی: سندرم زجر تنفسی حاد، علائم بالینی، گوسفند، نبولایز، وزیکول‌های خارج سلولی

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی‌رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: سیروس صادقیان چالشتی، گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

بیماری‌های ریوی، از جمله سندرم زجر تنفسی حاد (ARDS) به درمان‌های فعلی واکنش‌های متفاوتی نشان می‌دهند و عدم برخورد صحیح می‌تواند به مرگ منجر شود (۱). ARDS یک وضعیت حاد بالینی است که با التهاب شدید در دستگاه تنفسی مشخص می‌شود (۲، ۳). درک ما از عوامل ایجادکننده ARDS از زمان شناسایی اولیه آن در نیم‌قرن پیش به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است. این بیماری می‌تواند به دنبال آسیب مستقیم به بافت ریه، مانند پنومونی، آسپیراسیون محتویات معده، استنشاق مواد سمی، هماتوم ریوی یا به‌عنوان عارضه ثانویه‌ای از آسیب‌های غیرمستقیم، مانند سپسیس، ترومای شدید، پانکراتیت، سوختگی شدید، مصرف بیش‌ازحد دارو و یا عفونت کووید-۱۹ بروز کند. شایع‌ترین علت ARDS، سپسیس است که حدود ۴۰ درصد موارد را شامل می‌شود. پس از آن پنومونی با حدود ۲۰ درصد موارد قرار دارد. در این بیماری، التهاب گسترده در ریه‌ها به نشت مایع به آئول‌ها (کیسه‌های هوایی) منجر می‌شود که تبادل اکسیژن را مختل می‌کند و به تنگی نفس شدید و نارسایی تنفسی می‌انجامد (۴-۶). توصیف اولیه این بیماری در سال ۱۹۶۷ براساس مشاهده کاهش سطح اکسیژن خون، تجمع مایع در ریه‌ها و آسیب به غشای مویرگی-آئولولی صورت گرفت (۷). با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در درمان‌های پزشکی و مدیریت درمانی از طریق ونتیلاسیون، میزان مرگ‌ومیر ناشی از ARDS همچنان به حدود ۴۰ درصد می‌رسد (۸، ۹).

بیماران مبتلا به ARDS طیف وسیعی از پیامدهای بالینی را تجربه می‌کنند که از بهبودی کامل تا اختلال دائمی عملکرد ریه و حتی مرگ متغیر است (۱۰-۱۲). در حال حاضر، رویکرد اصلی مدیریت این بیماری تهدیدکننده حیات، بر درمان حمایتی متمرکز است (۱۲). بااین‌حال، پاسخ به درمان در بیماران متفاوت است. برخی به‌طور کامل بهبود می‌یابند، درحالی‌که در برخی دیگر، بافت فیبروز جایگزین بخشی از ریه می‌شود و عملکرد ریوی کاهش می‌یابد. نبود درمان مؤثر، به بررسی گزینه‌های درمانی پیشرفته‌تر و مؤثرتر منجر شده است. توسعه رویکردهای درمانی نوین که به‌طور خاص بر بیماری‌های زمینه‌ای تمرکز دارند برای پیشگیری از پیشرفت ARDS و درمان آن ضروری است. در این زمینه، سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) و محصولات مشتق‌شده از آن‌ها در مطالعات پیش‌بالینی نتایج اثربخشی داشته‌اند.

مطالعات نشان داده‌اند MSCs توانایی کاهش التهاب و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده را در مدل‌های حیوانی ARDS دارند (۱۳، ۱۴). بی‌خطر بودن استفاده از این سلول‌ها در مطالعات مرتبط با کووید-۱۹ تأیید شده است، اما بهبود قابل توجهی در عملکرد ریه مشاهده نشده است (۱۵، ۱۶). سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق‌شده از بافت‌های مختلف سبب تخفیف علائم بالینی در این سندرم شده و توانایی تنظیم سیستم ایمنی را نشان داده‌اند (۱۷). بااین‌حال باید به چالش‌هایی، مانند بقای پایین در بدن، رد شدن توسط سیستم ایمنی و خطر تومورزایی در درمان با MSCs توجه داشت (۱۸-۲۰).

شواهد فزاینده‌ای حاکی از پتانسیل وزیکول‌های خارج سلولی (EVs) در درمان ARDS و سایر بیماری‌ها وجود دارد (۲۱-۲۵). مطالعات متعدد نشان داده‌اند EVs مشتق از MSCs می‌توانند به درمان ARDS در مدل‌های حیوانی کمک کنند. این وزیکول‌ها اثرات درمانی خود را با کاهش ادم ریه، کاهش التهاب و بهبود اکسیژن‌رسانی نشان داده‌اند (۲۴، ۲۶). اندازه کوچک‌تر و دقت بالاتر وزیکول‌های خارج سلولی می‌تواند در مقایسه با درمان‌های سلول کامل، مسائل مرتبط با واکنش‌های ایمنی را کاهش دهد (۲۷). اثرات درمانی سلول‌های بنیادی در EVs مشتق‌شده از آن‌ها حفظ می‌شود. انتقال مولکول‌های پیام‌رسان و میتوکندری توسط EVs ممکن است یکی از مهم‌ترین روش‌های ترمیم سد مویرگی-آئولولی و کاهش التهاب در ریه‌های آسیب‌دیده باشد (۲۸). این یافته‌ها پتانسیل بالای EVs، به‌ویژه وزیکول‌های مشتق از MSCs را به‌عنوان یک روش درمانی بدون سلول برای ARDS نشان می‌دهد.

نحوه رساندن دارو به ریه‌ها بر طراحی فرمولاسیون آن تأثیر می‌گذارد. تجویز مستقیم دارو به ریه از طریق نای به‌منظور ایجاد اثر درمانی موضعی، روشی مؤثر و متداول است که دارو را سریع و دقیق به ریه‌ها می‌رساند (۲۹). برای هدف‌گیری نواحی خاصی از ریه، دستگاه‌های دارورسانی باید ذرات یا قطرات با اندازه مناسب تولید کنند. نبولایزرها، استنشاق‌کننده‌های metered-dose و استنشاق‌کننده‌های dry powder، از جمله رایج‌ترین دستگاه‌های دارورسانی تنفسی می‌باشند (۳۰، ۳۱). در مطالعه حاضر از روش نبولایز EVs مشتق از MSCs به ریه‌ها به‌جای تزریق وریدی سیستماتیک یا تزریق داخل نایی استفاده شد. نبولایز می‌تواند با پاک‌سازی اولیه رتیکول‌اندوتلیال، تجمع EVs در بافت ریه را افزایش دهد و با پخش یکنواخت وزیکول‌ها در فضای آئولولی، توزیع و کارایی درمان در ریه‌های آسیب‌دیده از ARDS را بهبود بخشد.

در مطالعات مربوط به سندرم زجر تنفسی حاد، گوسفند به‌عنوان یک مدل حیوانی ارزشمند شناخته شده است. شباهت‌های فیزیولوژیکی بین دستگاه تنفسی گوسفند و انسان، امکان بررسی دقیق مکانیسم‌های بیماری و اثربخشی درمان‌های جدید را فراهم می‌کند. همچنین اندازه مناسب گوسفند، دسترسی آسان به آن و قابلیت ایجاد مدل بیماری‌های مختلف، از جمله مزایای استفاده از این حیوان در مطالعات است. در مطالعه حاضر، از مدل حیوانی گوسفند برای القای ARDS با تزریق مستقیم لیپوپلی ساکارید (LPS) باکتری/ویکالای به داخل ریه‌ها استفاده شد. LPS به ظهور ویژگی‌های کلیدی بالینی ARDS در گوسفندها، مانند کاهش اکسیژن‌رسانی، افزایش ادم ریوی و اختلال در عملکرد ریوی منجر شد. هدف اصلی مطالعه حاضر ارزیابی اثرات درمانی نولایز وزیکول‌های خارج سلولی بر علائم بالینی گوسفندهای مبتلا به ARDS بود و یک پلتفرم بالینی مهم برای ارزیابی درمان‌های مبتنی بر EVs در اختلالات شدید تنفسی فراهم کرده است.

مواد و روش کار

حیوانات و طراحی مطالعه: مطالعه حاضر بر روی ۶ رأس گوسفند نر از نژاد شال با میانگین وزن 35 ± 4 کیلوگرم انجام شد. گوسفندها در شرایط محیطی مناسب و یکسان از نظر نور و دما نگهداری شدند و در طی دوره آزمایش، حیوانات با رژیم غذایی شامل یونجه و کنسانتره تغذیه شدند.

پیش از شروع کار، سلامت گوسفندها با انجام معاینات بالینی و پاراکلینیکی تأیید شد. گوسفندها به‌طور تصادفی به ۲ گروه تقسیم شدند: گروه درمان (تعداد=۳) و گروه شاهد (تعداد=۳). در گروه درمان وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی (ADMSCs-EVs) به‌صورت آلوژن و در گروه شاهد از محیط کشت ADMSCs به‌عنوان دارونما استفاده شد.

اخذ نمونه بافت چربی: برای اخذ نمونه بافت چربی ابتدا پشم ناحیه قفسه سینه تراشیده شد. سپس از ۳۵ میلی گرم/کیلوگرم کتامین ۱۰ درصد (Alfasan -Holland) و ۲ میلی گرم/کیلوگرم دیازپام ۲ درصد (Interchemie- Holland) برای القای بیهوشی استفاده شد. قفسه سینه ضدعفونی و پس از ایجاد برش ۱۰ سانتی‌متری در فضای بین دنده، مقداری چربی خارج و در PBS (Phosphate Buffered Sulfate) حاوی ۱ درصد آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین/استرپتومایسین) قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه کشت سلول و مهندسی بافت پژوهشکده تحقیقات زیست پزشکی دانشگاه تهران انتقال یافت. در انتها پوست با نخ نایلون ۲-۰ (طب کیهان - ایران) بخیه زده شد.

جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی (ADMSCs): برای انجام این کار ابتدا بافت چربی با PBS شسته و به قطعات کوچک برش داده شد. سپس با کلان‌ناز نوع II (با غلظت ۰/۱ درصد) (Sigma-Aldrich) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور شیک‌ر دار تیمار شد تا سلول‌ها از ماتریکس خارج سلولی جدا شوند. نمونه با مش استریل ۷۰ میکرونی برای حذف ذرات باقیمانده فیلتر شد و حجم برابری از محیط DMEM (Gibco-USA) برای خنثی‌سازی کلان‌ناز اضافه شد. پس از ۲ بار سانتریفیوژ هر بار به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۴۰۰g، پلت تشکیل شده استخراج و به فلاسک‌های ۲۵ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت DMEM با گلوکز بالا و ۲۰ درصد FBS (Gibco-USA) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک منتقل شدند. فلاسک‌ها در انکوباتور (Memert, USA) با شرایط CO_2 ۵ درصد، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۵ درصد قرار داده شدند. سپس هر ۳ روز ۱ بار محیط کشت تعویض شد تا کف فلاسک به تراکم حداکثری سلولی برسد. پس از رسیدن به تراکم حداکثری، سلول‌ها با استفاده از محلول تریپسین ۰/۰۵ درصد / EDTA ۱ میلی‌مولار (Gibco-USA) جدا شدند و سپس با نسبت ۱:۲ به فلاسک‌های جدید منتقل شدند. فرایند کشت و پاساژ دادن سلول‌ها برای به دست آوردن مقدار موردنیاز سلول برای استخراج EVs تکرار شد. در هر بار کشت و پاساژ سلول‌ها، محیط رویی جهت جداسازی EVs جمع‌آوری در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد (۹).

جداسازی و مشخصه‌یابی وزیکول‌های خارج سلولی: ابتدا محیط جمع‌آوری شده از کشت ADMSCs به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰g سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و مجدداً، به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و بار دیگر به‌مدت ۶۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ انجام شد. پس از جمع‌آوری، مایع رویی برای بار آخر به‌مدت ۳ ساعت با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. درنهایت ذرات باقیمانده در ته ظرف به‌عنوان وزیکول‌های خارج سلولی جمع‌آوری و از طریق آزمایش‌های پراکنش نوری پویا (DLS) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مشخصه‌یابی شدند.

مدل‌سازی ARDS در گوسفند: القای ARDS در گوسفند مطابق مطالعه قبلی انجام شد (۳۲). به‌طور خلاصه، ابتدا علائم حیاتی گوسفندها در هر دو گروه درمان و شاهد ثبت شد. گوسفندها با کتامین و دیازپام بیهوش شدند و لوله‌گذاری نای انجام شد. سپس ۴۰۰

میکروگرم بر کیلوگرم از محلول LPS باکتری/یکلای سویه $O_{55:B5}$ (Sigma-Aldrich) رقیق شده در PBS برای القای التهاب در محل دو شاخه شدن نای به داخل ریه‌ها تزریق شد. ۲۴ ساعت بعد مجدداً علائم بالینی بررسی و ثبت شدند.

پیوند ADMSCs-EVs به روش نبولایز: بعد از تأیید ایجاد ARDS، در گوسفندهای گروه درمان ADMSCs-EVs به میزان ۶۰۰ میکروگرم/کیلوگرم از طریق دستگاه نبولایزر (Omron A3 complete) و با استفاده از ماسک به داخل ریه‌ها پیوند شدند. در گوسفندهای گروه شاهد نیز از محیط کشت ADMSCs به عنوان دارونما برای نبولایز استفاده شد.

معاینات بالینی: ارزیابی بالینی قبل (ساعت ۰-۲۴) و بعد (روز صفر) از ایجاد مدل ARDS و سپس در زمان‌های ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت بعد از نبولایز ADMSCs-EVs در گروه درمان و نبولایز محیط ADMSCs در گروه شاهد انجام شد. علائمی شامل دما، تعداد تنفس، تعداد ضربان قلب، صداهای تنفسی، سرفه، اشتها، وضعیت غشاهای مخاطی، ترشحات بینی و وضعیت جسمانی و هوشیاری در همه گوسفندهای هر دو گروه ارزیابی و ثبت شدند. امتیاز علائم غیرپارامتریک برای هر گوسفند با استفاده از استانداردها و معیارهای علمی شناخته شده که از مطالعات مرتبط و مقالات قبلی گرفته شده بود، تعیین شد (۳۲-۳۵).

تحلیل آماری: برای بررسی آماری نتایج مطالعه حاضر از نرم افزار Graphpad PRISM نسخه ۹ استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری پارامتریک repeated measures one-way ANOVA و independent samples t-test و آزمون‌های آماری غیرپارامتریک Mann-Whitney U و Friedman مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. سطح معنی داری برای همه آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

ریخت‌شناسی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی و تأیید وزیکول‌های خارج سلولی: سلول‌های بنیادی جدا شده از بافت چربی در ابتدا کروی شکل و همراه با سایر سلول‌ها شامل فیبروبلاست‌ها و گلبول‌های قرمز بودند. MSCs به دلیل خاصیت چسبندگی به کف ظرف کشت چسبیدند و به تدریج با افزایش دفعات پاساژ و تعویض محیط، سایر سلول‌ها حذف شدند. بعد از چند روز MSCs ظاهری دوکی شکل پیدا کردند و بعد از ۲ هفته ۸۰ تا ۹۰ درصد کف ظرف کشت را پوشانده بودند که در این شرایط MSCs پاساژ داده شدند. MSCs بعد از ۲ پاساژ متوالی، ریخت‌شناسی کشیده، پهن و الگوی گردابی را نشان دادند. EVs مشتق از ADMSCs نیز از طریق آزمایش‌های پراکنش نوری پویا (DLS) و میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) مشخصه‌یابی و تأیید شدند.

تأیید مدل سندرم زجر تنفسی حاد: ۲۴ ساعت بعد از تزریق LPS، همه گوسفندها علائم التهاب حاد را بروز دادند، به طوری که تعداد ضربان قلب، تعداد تنفس و دمای بدن نسبت به قبل از آن افزایش معنی داری را نشان دادند. همچنین در معاینات بالینی سختی در تنفس، تغییر در صداهای تنفسی و شنیدن کراکل برجسته به صورت یک طرفه یا دوطرفه، خروج ترشحات از بینی، سرفه‌های مرطوب، پر خونی مخاطات، وضعیت جسمانی غیرطبیعی و کاهش اشتها مشهود بود. با مشاهده علائم بالینی و مشابهنه با مطالعه قبلی، القای ARDS در گوسفند تأیید شد.

جدول ۱. تغییرات علائم بالینی گوسفندها در زمان‌های مختلف قبل و بعد از نبولایز ADMSCs-EVs در گروه تیمار و نبولایز محیط کشت در گروه شاهد.

علائم بالینی	گروه	میانگین ± انحراف معیار							
		زمان (ساعت)							
		۰	۳	۶	۱۲	۲۴	۴۸	۷۲	۱۶۸
ضربان قلب	درمان	۱۱۸ ± ۲	۱۰۲/۶۶ ± ۴/۶۱	۹۸ ± ۲*	۹۸/۶۳ ± ۳/۲۱#	۸۰/۶۶ ± ۰/۵۷**	۸۶ ± ۲/۶۴۵**	۸۴/۳۳ ± ۲/۰۸**	۸۷ ± ۲/۶۴**
	شاهد	۷۶ ± ۳/۶۰۵	۸۱/۶۶ ± ۸/۵	۱۱۳/۳۳ ± ۴/۱۶#	۱۲۵/۳۳ ± ۴/۱۶	۱۰۰/۶۶ ± ۱/۵۲#	۱۰۲/۶۶ ± ۲/۰۵#	۱۱۰ ± ۲#	۱۰۱/۶۶ ± ۲/۸۸#
تعداد تنفس	درمان	۲۷ ± ۵/۱۹	۴۴/۶۶ ± ۳/۰۵	۳۴/۶۶ ± ۱/۱۵**	۳۸ ± ۲	۳۲/۶۶ ± ۳/۰۵**	۳۳ ± ۱/۷۳**	۳۷/۳۳ ± ۲/۳۰**	۲۴ ± ۲
	شاهد	۳۲/۶۶ ± ۳/۱۲	۴۴/۶۶ ± ۵/۰۳	۴۷ ± ۲/۶۴	۴۶/۶۶ ± ۲/۳۰	۵۲/۳۳ ± ۲/۵۱	۵۵/۶۶ ± ۱/۵۲#	۵۳/۳۳ ± ۴/۱۶	۵۰/۶۶ ± ۳/۰۵
دمای راست روده‌ای	درمان	۳۹/۴۳ ± ۰/۱۷	۴۰/۲۶ ± ۰/۱۲	۳۹/۷۳ ± ۰/۲۶	۳۹/۷۳ ± ۰/۷	۳۹/۵۳ ± ۰/۱*	۳۹/۴۶ ± ۰/۰۵**	۳۹/۳۳ ± ۰/۱*	۳۹/۳۳ ± ۰/۱*
	شاهد	۳۹/۷۳ ± ۰/۱	۴۰/۲۳ ± ۰/۱۵	۴۰/۶۶ ± ۰/۳	۴۰/۷۳ ± ۰/۲۶	۴۰/۳۳ ± ۰/۱۵	۳۹/۳۹ ± ۰/۰۵	۴۰/۳۳ ± ۰/۱۵	۴۰/۶۶ ± ۰/۱

نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در همان گروه نسبت به زمان صفر، * نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین ۲ گروه درمان و شاهد.

بهبود علائم بالینی بعد از پیوند ADMSCs-EVs (تعداد تنفس): همان‌طور که در **جدول ۱** قابل‌مشاهده است، نتایج نشان دادند ۱ روز بعد از تزریق LPS (زمان صفر) تعداد تنفس در هر دو گروه افزایش معنی‌داری یافت که نشان‌دهنده وقوع ARDS است. در گروه درمان پس از نبولایز ADMSCs-EVs، تعداد تنفس کاهش یافت. چنان‌که کاهش قابل‌توجه و طولانی‌مدت در تعداد تنفس از ۱۲ ساعت پس از نبولایز کردن رخ داد. تجزیه و تحلیل آماری در گروه درمان در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت در مقایسه با زمان صفر (روز وقوع ARDS) کاهش معنی‌دار در تعداد تنفس را نشان داد (در همه زمان‌ها به جز ۴۸ ساعت $P=0/001$ و در زمان ۴۸ ساعت $P=0/048$)، اما در گروه شاهد تعداد تنفس تا انتهای مطالعه (ساعت ۱۶۸) افزایش یافت، به‌طوری‌که در مقایسه آماری روزهای مختلف با زمان قبل از القای ARDS (ساعت ۰-۲۴) افزایش معنی‌دار در تعداد تنفس مشاهده شد. همچنین مقایسه آماری گروه درمان با گروه شاهد کاهش معنی‌دار در تعداد تنفس را پس از نبولایز ADMSCs-EVs نشان داد، به‌طوری‌که این کاهش در زمان‌های ۳ ساعت ($P=0/007$)، ۶ ساعت ($P=0/023$)، ۱۲ ساعت ($P=0/005$)، ۲۴ ساعت ($P=0/002$)، ۴۸ ساعت ($P=0/006$)، ۷۲ ساعت ($P=0/001$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/001$) از لحاظ آماری معنی‌دار بود.

کاهش معنی‌دار در تعداد تنفس پس از نبولایز ADMSCs-EVs نسبت به سطح قبل از نبولایز، نشان‌دهنده اثرگذاری بهینه وزیکول‌های خارج سلولی در ریه آسیب‌دیده است که شرایط تنفسی را بهبود بخشیده است.

تعداد ضربان قلب: ۲۴ ساعت بعد از القای ARDS، تعداد ضربان قلب در هر دو گروه افزایش معنی‌داری یافت (**جدول ۱**)، اما پس از نبولایز ADMSCs-EVs در گروه درمان، تعداد ضربان قلب از ساعت ۳ شروع به کاهش کرد. بررسی آماری نیز نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار در تعداد ضربان قلب در زمان‌های ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت در مقایسه با زمان صفر بود، درحالی‌که در گروه شاهد تعداد ضربان قلب در روزهای مختلف پس از ایجاد ARDS نسبت به قبل از ایجاد آن افزایشی بود و این افزایش در بررسی آماری نیز تا انتهای مطالعه معنی‌دار بود. همچنین مقایسه آماری میان گروه درمان و شاهد نشان داد تعداد ضربان قلب در زمان‌های ۶ ساعت ($P=0/003$)، ۲۴ ساعت ($P=0/002$)، ۴۸ ساعت ($P=0/011$)، ۷۲ ساعت ($P=0/001$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/011$) پس از نبولایز ADMSCs-EVs، به‌طور قابل‌توجهی کمتر از گروه شاهد در همان دوره‌های زمانی بود.

دمای راست روده: همانند تعداد تنفس و ضربان قلب، دمای راست روده نیز ۱ روز پس از تزریق LPS، افزایش معنی‌داری را نشان داد (**جدول ۱**). افزایش دمای راست روده در گروه شاهد تا پایان روز مطالعه ادامه داشت و این افزایش در روزهای مختلف نسبت به ساعت ۰-۲۴ از لحاظ آماری معنی‌دار بود، اما در گروه درمان پس از ۱۲ ساعت دریافت ADMSCs-EVs از طریق نبولایز، کاهش قابل‌توجه در میزان دمای راست روده رخ داد، به‌طوری‌که کاهش دمای راست روده تا پایان روز مطالعه در مقایسه با روز صفر (روز وقوع ARDS) پایدار بود و بررسی آماری نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در زمان‌های ۱۲ ساعت ($P=0/028$)، ۲۴ ساعت ($P=0/020$)، ۴۸ ساعت ($P=0/003$)، ۷۲ ساعت ($P=0/003$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/003$) در مقایسه با روز صفر بود. همچنین مقایسه آماری گروه درمان با گروه شاهد کاهش معنی‌دار در دمای راست روده را پس از نبولایز ADMSCs-EVs در زمان‌های ۱۲ ساعت ($P=0/006$)، ۲۴ ساعت ($P=0/004$)، ۴۸ ساعت ($P=0/004$)، ۷۲ ساعت ($P=0/002$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/001$) نشان داد.

صداها تنفسی و سرفه: قبل از شروع مطالعه و القای ARDS (ساعت ۰-۲۴) صداها تنفسی در همه گوسفندهای هر دو گروه طبیعی و سرفه‌ای نیز مشاهده نشد و میانه اسکور هر دو علامت در هر دو گروه صفر بود، اما پس از تزریق LPS و القای ARDS (روز صفر) صداها تنفسی غیرطبیعی (کراکل و ویز) با میانه اسکور ۳ و حضور سرفه با میانه اسکور ۱ در هر دو گروه مشهود بود.

در گروه درمان تغییرات غیرطبیعی در صداها تنفسی تا ۱۲ ساعت پس از نبولایز ADMSCs-EVs ادامه داشت، اما پس از ۲۴ ساعت از شدت صداها غیرطبیعی تنفس کاسته شد و روند بهبودی رخ داده بود، به‌طوری‌که ۲ روز بعد از نبولایز تا انتهای مطالعه صداها تنفس طبیعی و با میانه اسکور صفر بودند، اما در گروه شاهد تا روز پایان مطالعه (ساعت ۱۶۸) صداها غیرطبیعی تنفس با میانه اسکور ۳ همچنان حضور داشتند. مقایسه آماری گروه درمان با گروه شاهد نیز نشان داد در زمان‌های ۴۸ ساعت ($P=0/034$)، ۷۲ ساعت ($P=0/025$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/025$) تفاوت معنی‌داری در اسکور صداها تنفسی وجود دارد.

ارزیابی نتایج سرفه در گروه درمان نیز نشان‌دهنده کاهش در تعداد سرفه از ۴۸ ساعت پس از نبولایز ADMSCs-EVs تا روز آخر مطالعه با میانه اسکور صفر بود، اما در گروه شاهد تعداد سرفه‌ها تا روز پایان مطالعه با میانه اسکور ۲ حضور داشتند. بررسی آماری اسکور سرفه در گروه درمان با گروه شاهد نیز بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در زمان ۴۸ ساعت بود ($P=0/037$).

ترشحات بینی و وضعیت غشاهای مخاطی: قبل از ایجاد ARDS، در همه گوسفندهای هر دو گروه درمان و شاهد خروج ترشحات از بینی وجود نداشت و غشاهای مخاطی رنگ صورتی روشن داشتند و فاقد ترشحات بودند و میانه اسکور برای هر دو علامت در هر دو گروه صفر بود. ۲۴ ساعت پس از القای ARDS و با شروع التهاب، خروج ترشحات از بینی و پرخونی غشاهای مخاطی (هر دو علامت با میانه اسکور ۱) در هر دو گروه مشاهده شد.

۱ روز پس از نبولایز ADMSCs-EVs، ترشحات بینی در گروه درمان کاهش یافت و در روز پایانی مطالعه (ساعت ۱۶۸) ترشحاتی از بینی مشاهده نشد و میانه اسکور صفر بود، اما در گروه شاهد تا پایان روز هفتم (ساعت ۱۶۸) ترشحات از بینی با میانه اسکور ۲ وجود داشت. مقایسه آماری اسکور ترشحات بینی در گروه درمان با گروه شاهد در زمان‌های ۲۴ ساعت ($P=0/034$)، ۴۸ ساعت ($P=0/034$)، ۷۲ ساعت ($P=0/025$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/025$) تفاوت معنی‌داری را نشان داد. همچنین از شدت پرخونی مخاطها در گروه درمان ۴۸ ساعت پس از نبولایز ADMSCs-EVs کاهش یافت و پس از ۷۲ ساعت به حالت طبیعی با میانه اسکور صفر بازگشت، درحالی‌که در گروه شاهد پرخونی مخاطها تا زمان ۱۶۸ ساعت با میانه اسکور ۲ همچنان آشکار بود. بررسی آماری میان گروه درمان و گروه شاهد در زمان‌های ۴۸ ساعت ($P=0/034$)، ۷۲ ساعت ($P=0/034$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/034$) تفاوت معنی‌دار در اسکور وضعیت غشاهای مخاطی نشان داد.

وضعیت اشتها و شرایط جسمانی و هوشیاری: قبل از القای ARDS (ساعت ۰-۲۴)، وضعیت اشتها و شرایط جسمانی و هوشیاری در همه گوسفندهای هر دو گروه طبیعی بود و میانه اسکور هر دو علامت در هر دو گروه صفر بود، اما ۲۴ ساعت پس از تزریق LPS (روز صفر) کاهش اشتها و شرایط جسمانی غیرطبیعی هر دو علامت با میانه اسکور ۲ در گروه شاهد و میانه اسکور ۱ در گروه درمان مشهود بود.

در گروه درمان پس از گذشت ۱۲ ساعت از نبولایز ADMSCs-EVs، افزایش اشتها مشاهده شد و ظرف ۴۸ ساعت به حالت طبیعی با میانه اسکور صفر بازگشت، اما در گروه شاهد کاهش اشتها تا روز پایانی مطالعه با میانه اسکور ۱ وجود داشت. مقایسه آماری گروه درمان با گروه شاهد نشان داد در زمان‌های ۶ ساعت ($P=0/025$)، ۲۴ ساعت ($P=0/034$)، ۴۸ ساعت ($P=0/034$) و ۷۲ ساعت ($P=0/025$) و ۱۶۸ ساعت ($P=0/025$) تفاوت معنی‌داری در اسکور اشتها مشاهده شد.

شرایط جسمانی و هوشیاری گوسفندها در گروه درمان از ساعت ۱۲ پس از نبولایز ADMSCs-EVs شروع به بهبودی کرد (با میانه اسکور ۱) و در ساعت ۴۸ به حالت طبیعی (مشابه ساعت ۰-۲۴) با میانه اسکور صفر بازگشت، درحالی‌که در گروه شاهد شرایط جسمانی غیرطبیعی تا پایان مطالعه با میانه اسکور ۱ آشکار بود. بررسی آماری گروه درمان با گروه کنترل نشان داد در زمان‌های ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت تفاوت معنی‌دار در اسکور شرایط جسمانی و هوشیاری گوسفندها وجود دارد (در همه زمان‌ها به جز ۲۴ ساعت $P=0/025$ و در زمان ۲۴ ساعت $P=0/034$). این یافته‌ها آشکار کرد پیوند ADMSCs-EVs در گروه درمان در مقایسه با گروه شاهد، اثر قابل توجهی در بهبود علائم بالینی ایجادشده در مدل تجربی ARDS و خصوصاً در ریه آسیب‌دیده داشته و شرایط تنفسی را ارتقا داده است.

بحث

در مطالعه حاضر از ADMSCs-EVs که به صورت استنشاقی به گوسفندهای مبتلا به سندرم زجر تنفسی حاد داده شد، به منظور بررسی تأثیر درمانی آن بر علائم بالینی استفاده شد. نتایج نشان دادند نبولایز EVs بر عملکرد ریه تأثیر گذاشتند و به پاسخ سریع‌تر و قابل توجه‌تر نسبت به گروه شاهد منجر شده است، به طوری‌که بهبود معنی‌دار در علائم بالینی طی ۲۴ ساعت اول و سپس در طول مطالعه تا روز هفتم رخ داد، بدون آنکه اثر سوئی از مصرف EVs در گروه درمان طی روزهای مختلف مطالعه مشاهده شود.

برای بررسی ARDS، گوسفند به‌عنوان یک مدل حیوانی بزرگ انتخاب شد. این انتخاب اجازه داد تا به مشکلات رایج استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کوچک در مطالعات پیش‌بالینی ARDS پاسخ داده شود (۳۴). استفاده از این مدل حیوانی، اعتبار یافته‌ها را بهبود بخشید و در مطالعه اخیر، القای مدل تجربی ARDS توسط LPS به هیپوکسمی شدید با علائم بالینی واضح در گوسفندها منجر شد. همچنین استفاده از نبولایز به‌عنوان یک استراتژی درمانی غیرتهاجمی سبب شد استرس گوسفندها کاهش یابد. مطالعات نشان داده‌اند تزریق داخل وریدی MSCs-EVs می‌تواند به‌طور مؤثر مشکلات تنفسی را در مدل‌های حیوانی درمان کند (۳۶). با این حال، با وجود تأثیر بیشتر و تهاجم کمتر روش نبولایز برای توزیع دارو نسبت به سایر روش‌های متداول درمانی، مطالعات محدودی در مورد استفاده از آن انجام شده است. Dinh و همکاران در سال ۲۰۲۰ (۳۷)، مطالعه‌ای ارائه کردند که در آن از اگزوزوم‌ها و ترشحات سلول اسفروئیدی ریه برای درمان ۲ نوع مدل تجربی فیبروز ریوی در رت توسط بلئومایسین و سیلیس استفاده کردند. یافته‌ها نشان داد درمان با اگزوزوم‌ها و ترشحات سلول اسفروئیدی ریه می‌تواند فیبروز القاشده توسط بلئومایسین و سیلیس را با بازسازی ساختار طبیعی آلئولی و کاهش تجمع کلاژن و تکثیر میوفیبروبلاست‌ها کاهش داده و برطرف کند. همچنین نشان دادند درمان استنشاقی با ترشحات سلولی و اگزوزوم‌ها پتانسیل درمانی برای بازسازی ریه در ۲ مدل تجربی فیبروز ریوی را دارا است (۳۷).

در مطالعه دیگری تأثیر نبولایز وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از بافت چربی انسان (hADMSCs-EVs) بر آسیب ریوی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در موش بررسی شد. استفاده از نبولایز hADMSCs-EVs به افزایش قابل توجه نرخ بقا به ۸۰ درصد پس از ۹۶ ساعت در این مدل حیوانی منجر شد. این بهبود با کاهش التهاب و آسیب بافتی ریه همراه بود (۳۸). Zhao و همکاران در سال ۲۰۲۲ وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از بند ناف انسان (hUCMSC-EVs) را در مدل آسیب حاد ریه (ALI) در موش به‌صورت نبولایز استفاده کردند. وزیکول‌های استنشاق‌شده در درمان ALI نسبت به تزریق وریدی دم مؤثرتر بود و اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری را از خود نشان دادند (۳۹).

ایده معادل‌سازی دُز براساس وزن ممکن است زمانی که مدل حیوانی موش باشد، قابل‌اتکا در کارآزمایی‌های بالینی نباشد. به این دلیل که پیچیدگی سیستم ایمنی انسان و حساسیت آن به محرک‌های محیطی نسبت به موش بسیار متفاوت است. براساس یافته‌های مطالعه حاضر، مشخص شد تجویز یک دُز استنشاقی ADMSCs-EVs که حاوی ۶۰۰ میکروگرم/کیلوگرم وزیکول بود، نه تنها ایمن بود، بلکه توسط گوسفندها نیز تحمل شد و هیچ نشانه‌ای از عوارض جانبی از پیش تعیین‌شده، بی‌ثباتی و تغییر ناگهانی در علائم بالینی یا نشانه‌ای از مسمومیت مرتبط با دُز وجود نداشت. در یک مطالعه در انسان نشان داده شد استنشاق اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی چربی آلون در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ شدید نه تنها ایمن بود، بلکه در بهبود علائم بالینی نیز مؤثر بوده است (۴۰).

وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی اثرات ترمیمی قابل توجهی در آسیب ریوی ناشی از پنومونی شدید باکتریایی نشان می‌دهند. مکانیسم اصلی دستیابی به این هدف، کاهش نفوذ سلول‌های التهابی و فعالیت سیتوکین است (۲۶). اثرات درمانی EVs در اختلالات تنفسی مختلف ثابت شده است. برای ارزیابی اثرات درمانی میکرووزیکول‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs-MVs)، Park و همکاران در سال ۲۰۱۹ (۴۲) از یک مدل انسانی ex vivo پنومونی باکتریایی استفاده کردند. براساس یافته‌های آن‌ها، MSCs-MVs در مدل پنومونی شدید/یکلایی، دارای اثر درمانی بود. یک یافته مهم در مطالعه حاضر، ظرفیت درمانی وزیکول‌های خارج سلولی در بهبود علائم بالینی بود (۴۲). در طول مطالعه حاضر نیز گروه درمانی بهبود قابل توجهی در شاخص‌های بالینی نشان داد که به‌وضوح در مقایسه با گروه شاهد قابل تشخیص بود. ویژگی مهم این بهبود کاهش تدریجی در تعداد تنفس و تعداد ضربان قلب همراه با تعدیل صدهای تنفسی بود. علاوه بر این، شاخص‌های بالینی دیگری نیز وجود داشتند که بهبود سریع را نشان دادند. بنابراین می‌توان بر اثربخشی وزیکول‌های خارج سلولی در درمان این علائم تأکید کرد.

مطالعه حاضر علی‌رغم نتایج امیدوارکننده دارای محدودیت‌هایی بود. اولین محدودیت این است که مدل حیوانی فقط ۱ دُز ADMSCs-EVs دریافت کرد، بنابراین نتایج ممکن است برای دُزهای دیگر تعمیم‌پذیر نباشد. دوم اینکه اطلاعاتی در مورد مسیرهای مولکولی و سلول‌های هدف خاص EVs استنشاقی وجود ندارد که مانع از درک کامل اثرات آن‌ها می‌شود. علاوه بر این مطالعه حاضر به دلیل محدودیت‌های مالی، روش‌های جایگزین تجویز استنشاقی EVs را بررسی نکرد که می‌تواند به نتایج متفاوت منجر شود. این محدودیت‌ها زمینه‌هایی را برای مطالعات آینده براساس نتایج مطالعه حاضر امکان‌پذیر می‌کند.

نتیجه‌گیری نهایی: نتایج مطالعه حاضر نشان داد وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی بافت چربی (ADMSCs-EVs) پتانسیل درمانی امیدوارکننده‌ای در مدیریت سندرم زجر تنفسی حاد (ARDS) دارند، به‌طوری‌که پیوند ADMSCs-EVs در گروه درمان در مقایسه با گروه شاهد اثر قابل‌توجهی در بهبود شاخص‌های بالینی ایجادشده در مدل تجربی ARDS داشت و وضعیت تنفسی را ارتقا بخشید. انجام مطالعات بیشتر برای روشن شدن کامل فرایندهای مسئول اثرات درمانی MSCs-EVs و ارزیابی اثربخشی آن‌ها در کارآزمایی‌های بالینی بزرگ‌تر مفید خواهد بود. به‌طورکلی، یافته‌های مطالعه حاضر چشم‌اندازهای جدید مهمی درمورد امکان درمان‌های مبتنی بر EVs برای مدیریت ARDS و سایر بیماری‌های تنفسی ارائه می‌دهد.

ملاحظات اخلاقی

تمام مراحل و آزمایش‌های حیوانی مطالعه (با کد اخلاق: IR.UT.VETMED.REC.1402.029) در کمیته اخلاق پژوهش‌های حیوانی تأیید و مطابق با پروتکل‌های اخلاقی تحقیقات بر روی حیوانات انجام شده است.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Mokhber Dezfouli MR, Sadeghian Chaleshtori S, Dehghan MM, Tavaneaimanesh H, Baharvand H, Tahamtani Y. The therapeutic potential of differentiated lung cells from embryonic stem cells in lung diseases. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2017;12(1):80-4. doi: [10.2174/1574888x11666160914184255](https://doi.org/10.2174/1574888x11666160914184255) PMID: 27633037
2. Baron RM, Levy BD. Recent advances in understanding and treating ARDS. *F1000Res*. 2016;5:725. doi: [10.12688/f1000research.7646.1](https://doi.org/10.12688/f1000research.7646.1) PMID: 27158460
3. Donahoe M. Acute respiratory distress syndrome: A clinical review. *Pulm Circ*. 2011;1(2):192-211. doi: [10.4103/2045-8932.83454](https://doi.org/10.4103/2045-8932.83454) PMID: 22034606
4. Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: Advances in diagnosis and treatment. *JAMA*. 2018;319(7):698-710. doi: [10.1001/jama.2017.21907](https://doi.org/10.1001/jama.2017.21907) PMID: 29466596
5. Sharma S. Acute respiratory distress syndrome. *BMJ Clin Evid*. 2010;2010:1511. PMID: 21406126
6. Shaver CM, Bastarache JA. Clinical and biological heterogeneity in acute respiratory distress syndrome: direct versus indirect lung injury. *Clin Chest Med*. 2014;35(4):639-53. doi: [10.1016/j.ccm.2014.08.004](https://doi.org/10.1016/j.ccm.2014.08.004) PMID: 25453415
7. Force ADT, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome: The Berlin Definition. *JAMA*. 2012;307(23):2526-33. doi: [10.1001/jama.2012.5669](https://doi.org/10.1001/jama.2012.5669) PMID: 22797452
8. Matthay, MA, Zemans, RL, Zimmerman, GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):18. doi: [10.1038/s41572-019-0069-0](https://doi.org/10.1038/s41572-019-0069-0) PMID: 30872586
9. Sadeghian Chaleshtori S, Mokhber Dezfouli MR, Abbasi J, Dehghan MM, Jabbari Fakhr M, Yadollahi S, et al. Prevention of LPS-induced acute respiratory distress syndrome in sheep by bone marrow-derived mesenchymal stem/stromal cells. *Life Sci*. 2020;263:118600. doi: [10.1016/j.lfs.2020.118600](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118600) PMID: 33068598
10. Herridge MS. Recovery and long-term outcome in acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Clin*. 2011;27(3):685-704. doi: [10.1016/j.ccc.2011.04.003](https://doi.org/10.1016/j.ccc.2011.04.003) PMID: 21742223
11. Herridge MS, Tansey CM, Matte A, Tomlinson G, Diaz-Granados N, Cooper A, et al. Functional disability 5 years after acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2011;364(14):1293-304. doi: [10.1056/NEJMoa1011802](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1011802) PMID: 21470008
12. Hughes KT, Beasley MB. Pulmonary manifestations of acute lung injury: More than just diffuse alveolar damage. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141(7):916-922. doi: [10.5858/arpa.2016-0342-RA](https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0342-RA) PMID: 27652982
13. Edström D, Niroomand A, Stenlo M, Uvebrant K, Bölükbas DA, Hirdman G, et al. Integrin $\alpha 10\beta 1$ -selected mesenchymal stem cells reduced hypercoagulopathy in a porcine model of acute respiratory distress syndrome. *Respir Res*. 2023;24(1):145. doi: [10.1186/s12931-023-02459-6](https://doi.org/10.1186/s12931-023-02459-6) PMID: 37259141

14. Liang TY, Lu LH, Tang SY, Zheng ZH, Shi K, Liu JQ. Current status and prospects of basic research and clinical application of mesenchymal stem cells in acute respiratory distress syndrome. *World J Stem Cells*. 2023;26:15(4):150-164. [doi: 10.4252/wjsc.v15.i4.150](https://doi.org/10.4252/wjsc.v15.i4.150) PMID: 37180997
15. Gorman EA, Rynne J, Gardiner HJ, Rostron AJ, Bannard-Smith J, Bentley AM, et al. Repair of acute respiratory distress syndrome in COVID-19 by stromal cells (REALIST-COVID Trial): A multicenter, randomized, controlled clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2023;208(3):256-69. [doi: 10.1164/rccm.202302-0297OC](https://doi.org/10.1164/rccm.202302-0297OC) PMID: 37154608
16. Wang F, Li Y, Wang B, Li J, Peng Z. The safety and efficacy of mesenchymal stromal cells in ARDS: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Care*. 2023;27(1):31. [PMID: 10.1186/s13054-022-04287-4](https://doi.org/10.1186/s13054-022-04287-4)
17. Zhang H, Slutsky AS. Enhancing the efficacy of mesenchymal stromal cells in COVID-19-related acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2023;208(3):222-224. [doi: 10.1164/rccm.202306-0969ED](https://doi.org/10.1164/rccm.202306-0969ED)
18. Jeong JO, Han JW, Kim JM, Cho HJ, Park C, Lee N, et al. Malignant tumor formation after transplantation of short-term cultured bone marrow mesenchymal stem cells in experimental myocardial infarction and diabetic neuropathy. *Circ Res*. 2011;108(11):1340-1347. [doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.239848](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.239848) PMID: 21493893
19. Cheng Y, Cao X, Qin L. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: A novel cell-free therapy for sepsis. *Front Immunol*. 2020;11:647. [doi: 10.3389/fimmu.2020.00647](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00647) PMID: 32373121
20. Ghasemi S, Dehghan MM, Brujeni GN, Mardjanmehr SH, Vajhi A, Dezfouli MRM, et al. Fabrication of superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic cell targeting purposes. *J Vet Res*. 2021;76(2):224-232. [doi: 10.22059/jvr.2019.286113.2952](https://doi.org/10.22059/jvr.2019.286113.2952)
21. Zhou Y, Xu H, Xu W, Wang B, Wu H, Tao Y, et al. Exosomes released by human umbilical cord mesenchymal stem cells protect against cisplatin-induced renal oxidative stress and apoptosis in vivo and in vitro. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(2):34. [doi: 10.1186/scrt194](https://doi.org/10.1186/scrt194) PMID: 23618405
22. Wang B, Jia H, Zhang B, Wang J, Ji C, Zhu X, et al. Pre-incubation with hucMSC-exosomes prevents cisplatin-induced nephrotoxicity by activating autophagy. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):75. [doi: 10.1186/s13287-016-0463-4](https://doi.org/10.1186/s13287-016-0463-4) PMID: 28388958
23. Lee C, Mitsialis SA, Aslam M, Vitali SH, Vergadi E, Konstantinou G, et al. Exosomes mediate the cytoprotective action of mesenchymal stromal cells on hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation*. 2012;126(22):2601-2611. [doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.114173](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.114173) PMID: 23114789
24. Potter DR, Miyazawa BY, Gibb SL, Deng X, Togaratti PP, Croze RH, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate pulmonary vascular permeability and lung injury induced by hemorrhagic shock and trauma. *J Trauma Acute Care Surg*. 2018;84(2):245-56. [doi: 10.1097/TA.0000000000001744](https://doi.org/10.1097/TA.0000000000001744) PMID: 29251710
25. Trouski FF, Parham A. Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Animal Tendon Injuries: A Review on Their Isolation and Application. *Iran J Vet Med*. 2021;15(3):259-274. [doi: 10.22059/ijvm.2021.322050.1005168](https://doi.org/10.22059/ijvm.2021.322050.1005168)
26. Monsel A, Zhu Y-g, Gennai S, Hao Q, Hu S, Rouby J-J, et al. Therapeutic effects of human mesenchymal stem cell-derived microvesicles in severe pneumonia in mice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(3):324-336. [doi: 10.1164/rccm.201410-1765OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201410-1765OC)
27. Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *J Transl Med*. 2014;12:260. [doi: 10.1186/s12967-014-0260-8](https://doi.org/10.1186/s12967-014-0260-8) PMID: 25304688
28. Sun H, Zhang T, Gao J. Extracellular Vesicles Derived from Mesenchymal Stem Cells: A Potential Biodrug for Acute Respiratory Distress Syndrome Treatment. *BioDrugs*. 2022;36(6):701-715. [doi: 10.1007/s40259-022-00555-5](https://doi.org/10.1007/s40259-022-00555-5) PMID: 36087245
29. Byron PR, Patton JS. Drug delivery via the respiratory tract. *J Aerosol Med*. 1994;7(1):49-75. [doi: 10.1089/jam.1994.7.49](https://doi.org/10.1089/jam.1994.7.49) PMID: 10147058
30. Wilson JG, Liu KD, Zhuo H, Caballero L, McMillan M, Fang X, et al. Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: a phase 1 clinical trial. *Lancet Respir Med*. 2015;3(1):24-32. [doi: 10.1016/S2213-2600\(14\)70291-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70291-7) PMID: 25529339
31. Azari O, Nikzad R, Farsinezhad A, Azizi S. Comparative Regenerative Effects of Allogeneic Bone Marrow and Patellar Ligament Fat Pad Mesenchymal Stem Cells on Experimental Superficial Digital Flexor Tendonitis in New Zealand Rabbits. *Iran J Vet Med*. 2023;17(4):353-362. [doi: 10.32598/ijvm.17.4.1005314](https://doi.org/10.32598/ijvm.17.4.1005314)
32. Mokhber Dezfouli MR, Lotfollahzadeh S, Heidari Sureshjani M, Dehghan M, Nikbakht GR, Eftekhari Z, et al. Changes in clinical signs after treatment in calves with experimental colisepticemia with *Escherichia coli*. *J Vet Res*. 2017;72(1):63-71. [doi: 10.22059/jvr.2017.61293](https://doi.org/10.22059/jvr.2017.61293)
33. Patterson C. Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats, 11th edition, Volumes 1 and 2. *Can Vet J*. 2017;58(10):1116.

34. Abbasi J, Mokhber Dezfouli M, Sadeghian Chaleshtori S, Dehghan M, Vajhi A, Baharvand H, et al. Improvement of clinical signs in experimental model of acute respiratory distress syndrome (ARDS) in sheep following autograft of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs). *J Vet Res*. 2018;73(1):17-26. [doi: 10.22059/jvr.2018.234436.2637](https://doi.org/10.22059/jvr.2018.234436.2637)
35. Tieu A, Hu K, Gnyra C, Montroy J, Fergusson DA, Allan DS, et al. Mesenchymal stromal cell extracellular vesicles as therapy for acute and chronic respiratory diseases: A meta- analysis. *J Extracell Vesicles*. 2021;10(12):e12141. [doi: 10.1002/jev2.12141](https://doi.org/10.1002/jev2.12141) [PMID: 34596349](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34596349/)
36. Dinh PC, Paudel D, Brochu H, Popowski KD, Gracieux MC, Cores J, et al. Inhalation of lung spheroid cell secretome and exosomes promotes lung repair in pulmonary fibrosis. *Nat Commun*. 2020;11(1):1064. [doi: 10.1038/s41467-020-14344-7](https://doi.org/10.1038/s41467-020-14344-7) [PMID: 32111836](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32111836/)
37. Shi MM, Yang QY, Monsel A, Yan JY, Dai CX, Zhao JY, et al. Preclinical efficacy and clinical safety of clinical-grade nebulized allogenic adipose mesenchymal stromal cells-derived extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*. 2021;10(10):e12134. [doi: 10.1002/jev2.12134](https://doi.org/10.1002/jev2.12134) [PMID: 34429860](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34429860/)
38. Zhao R, Wang L, Wang T, Xian P, Wang H, Long Q. Inhalation of MSC-EVs is a noninvasive strategy for ameliorating acute lung injury. *J Control Release*. 2022;345:214-230. [doi: 10.1016/j.jconrel.2022.03.025](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.03.025) [PMID: 35307508](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35307508/)
39. Zhu YG, Shi MM, Monsel A, Dai CX, Dong X, Shen H, et al. Nebulized exosomes derived from allogenic adipose tissue mesenchymal stromal cells in patients with severe COVID-19: a pilot study. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13(1):220. [doi: 10.1186/s13287-022-02900-5](https://doi.org/10.1186/s13287-022-02900-5) [PMID: 35619189](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35619189/)
40. Park J, Kim S, Lim H, Liu A, Hu S, Lee J, et al. Therapeutic effects of human mesenchymal stem cell microvesicles in an ex vivo perfused human lung injured with severe *E. coli* pneumonia. *Thorax*. 2019;74(1):43-50. [doi: 10.1136/thoraxjnl-2018-211576](https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2018-211576) [PMID: 30076187](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30076187/)