

اهمیت اگزوزوم‌ها در پاتوژنز و درمان COVID-19

پرویز بصیری^۱ (MS.C)، محمدحسن سهیلی فر^۲ (Ph.D)، سیما نوبری^۱ (MS.C)، امیرحسن نیکفرجام^۳ (MS.C)، هدی کشمیری نقاب^۴ (Ph.D)، سعید افشار^۱ (Ph.D)، شیما قربانی فر^۲ (MS.C)، علی مهدوی نژاد^۱ (Ph.D, M.D)

۱- مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

۲- گروه پژوهشی لیزر پزشکی، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- گروه علوم آزمایشگاهی، واحد کاشان، دانشگاه آزاد اسلامی، کاشان، ایران

۴- گروه پژوهشی ترمیم نوری، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۸

alimahdavin@gmail.com

تلفن: ۰۸۱۳-۸۳۸۰۵۷۲

چکیده

اگزوزوم‌ها حامل‌هایی با دو لایه چربی هستند که مولکول‌های زیستی مختلفی از جمله پروتئین، لیپید و miRNAها را حمل می‌کنند. اگزوزوم‌های در برگیرنده‌ی SARS-CoV-2 می‌توانند به سلول‌های حساس میزبان وارد شده و اجزای ویروسی را منتقل کنند که با انتقال بین سلولی ویروس و انتشار عفونت مرتبط‌اند. تحریک بیش از حد سیستم ایمنی بدن به دنبال تولید بیش از حد سایتوکاین‌های پیش‌التهابی، مشخصه‌ی COVID-19 است. به علاوه، اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل توانایی در کاهش طوفان سایتوکاین، بهبود ترمیم بافت، و جلوگیری از نارسایی اعضای مختلف بدن، یک گزینه‌ی درمانی بالقوه در COVID-19 می‌باشند. مطالعه‌ی حاضر به بررسی اهمیت اگزوزوم‌ها در COVID-19 می‌پردازد.

واژه‌های کلیدی: SARS-CoV-2، اگزوزوم، COVID-19، درمان

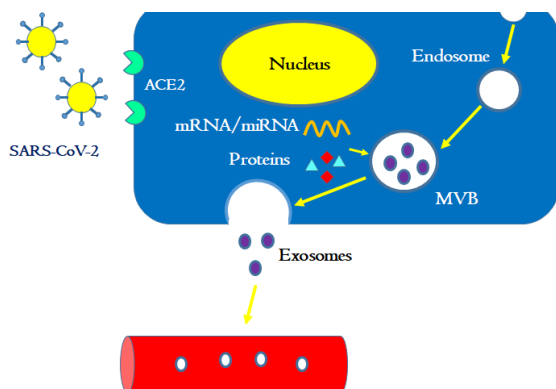
مقدمه

دشوار باشد. پرسش مهم در ارتباط با بیماران مبتلا به عفونت مجدد این است که منشأ RNA مخفی که منجر به مثبت شدن تست Real-Time PCR می‌شود کجاست؟ [۵،۴]. ویروس‌ها می‌توانند برای ورود به سلول‌های آلوده‌نشده، مسیرهای اندوسیتوز و زیکول‌های خارج سلولی و مسیر ترشحی این زیکول‌ها را برای خروج از سلول‌های آلوده به کار گیرند. در نتیجه، زیکول‌ها و ویروس‌ها دارای مکانیسم مشترک بیوژنز و ورود به سلول هستند [۶]. اگرچه زیکول‌های خارج سلولی، خانواده‌ای از ناقلین طبیعی در بدن انسان را تشکیل می‌دهند و در ارتباطات سلول به سلول نقش مهمی ایفا می‌کنند، اخیراً پیشنهاد شده است که از آن‌ها به عنوان حامل‌های دارویی منحصر به فرد برای رساندن مهارکننده‌های پروتاز برای درمان COVID-19 استفاده شود [۷].

بیوژنز اگزوزوم و نقش‌های بیولوژیک آن. حدود ۳۰ سال از کشف اگزوزوم‌ها می‌گذرد، اما در سال‌های اخیر دانشمندان توجه زیادی به استفاده از اگزوزوم‌ها به منظور سلول درمانی نشان داده‌اند [۸]. بسیاری از سلول‌های یوکاریوت از طریق ترشح زیکول‌های خارج سلولی (ECVs) Extracellular Vesicles موجب ارتباط بین سلولی می‌شوند. این زیکول‌های

ویروس‌های کرونا گروه بزرگی از ویروس‌ها هستند. این ویروس‌ها می‌توانند طیف وسیعی از حیوانات را آلوده کنند و از این طریق عفونت‌های تنفسی خفیف تا شدیدی را در انسان ایجاد کنند. کرونا ویروس سندرم حاد تنفسی ۲ (SARS-CoV-2) سویه‌ای جدید از خانواده‌ی کرونا ویروس و عامل ایجادکننده‌ی همه‌گیری جهانی به نام Coronavirus COVID-19 (COVID-19) disease 2019 است. SARS-CoV-2 با اتصال به سلول‌های اپیتلیال در دستگاه تنفسی، شروع به همانندسازی کرده و با مهاجرت به مجاری تنفسی تحتانی وارد سلول‌های اپیتلیال آلوئول ریه‌ها می‌شود [۱]. همانندسازی سریع SARS-CoV-2 در ریه‌ها ممکن است یک پاسخ التهابی قوی کنترل نشده و سیستمیک (سندرم طوفان سایتوکاین) ایجاد کند که علت اصلی مرگ در بیماران مبتلا به COVID-19 در نظر گرفته می‌شود [۲]. نارسایی چندین عضو از بدن نیز در برخی موارد COVID-19 گزارش شده است [۳]. هم‌چنین، وجود پتانسیل نسبتاً بالای ایجاد عفونت مجدد در بیماران ترخیص‌شده‌ی COVID-19 نشان می‌دهد که حداقل در برخی از بیماران، ممکن است دستیابی به یک پاسخ ایمنی از بین‌برنده‌ی ویروس

می‌شوند. وزیکول‌های خارج سلولی به عنوان واکنشی با قابلیت پایداری بالا در گردش خون، سمیت کم و ایمنی‌زایی مطرح شده‌اند [۱۸]. آگزوزوم‌ها می‌توانند به عنوان یک گزینه‌ی درمانی موثر برای بیماری‌های مختلف عمل کنند، هر چند جمع‌آوری و غنی‌سازی آگزوزوم‌ها دشوار به نظر می‌رسد اما تحقیقات نشان داده‌اند که آگزوزوم‌ها می‌توانند کاربردهای درمانی داشته باشند [۱۹، ۲۰].



شکل ۱. بیوژنز آگزوزوم و انتشار ویروس. بیوژنز آگزوزوم‌ها با داخل شدن کمپلکس لیپید-پروتئین شروع می‌شود و به دنبال آن وزیکول‌های اندوسیتوزی به اندوزوم ملحق شده و MCVB ها تشکیل می‌شوند. آگزوزوم‌ها با فیوژن MCVB به غشا سلول از درون آن آزاد می‌شوند. درون آگزوزوم‌ها بیومولکول‌های متنوعی از جمله RNA، miRNA و پروتئین‌های ویروسی یا سلول میزبان قرار دارند که بدین وسیله با ورود به خون در انتشار ویروس می‌توانند موثر باشند.

نقش آگزوزوم‌ها در عفونت‌زایی SARS-CoV-2

بسیاری از ویروس‌ها برای سنتز و گسترش در بدن میزبان، وارد آگزوزوم‌ها یا وزیکول‌های دولایه می‌شوند (شکل ۱) [۶]. وزیکول‌های خارج سلولی آزاد شده توسط سلول‌های آلوده به ویروس، می‌توانند پروتئین‌های ویروسی، گیرنده‌های ویروسی و فاکتورهای پیش‌انتهایی را به سلول‌های گیرنده منتقل کنند. در نتیجه، به گسترش عفونت ویروسی و ایجاد آسیب بافتی کمک می‌کنند [۲۱]. علاوه بر این، پاسخ ایمنی مناسب، به شناخته شدن ذرات خارجی توسط گیرنده‌های سلول میزبان بستگی دارد و آگزوزوم‌ها به عنوان ساختاری محافظ، در انتشار انواع عفونت نقش اساسی دارند. سلول‌های آلوده به ویروس آگزوزوم‌هایی را آزاد می‌کنند که با توجه به ترکیب‌شان می‌توانند موجب مهار و گاهی تحریک پاسخ ایمنی میزبان از طریق آرایه‌ی آنتی‌ژن به سلول‌های عرضه‌کننده‌ی آنتی‌ژن و مهار سلول‌های T القاء‌کننده‌ی آپاتوز شوند [۲۲]. شواهدی مبنی بر استفاده‌ی وزیکول‌های خارج سلولی برای انتشار بیماری به ارگان‌های مختلف توسط ویروس‌های مختلف مانند: HIV، HCV، CMV، و SARS-COV وجود دارد [۱۰].

خارج سلولی دارای ساختار لیپیدی دو لایه هستند و می‌توانند بسیاری از ماکرومولکول‌ها از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدنوکلئیک‌هایی مانند: DNA، RNA، miRNA، LncRNA را از سلول میزبان به سلول هدف تحویل دهند، که موجب تغییر عملکرد و مورفولوژی سلول هدف می‌شوند [۹]. وزیکول‌های خارج سلولی از نظر ساختار و عملکرد، همانند ویروس‌های دارای پوشش عمل می‌کنند [۱۰]. این وزیکول‌ها و ویروس‌ها، خواص فیزیکی و شیمیایی مشابهی مانند اندازه‌ی کوچک و مکانیسم‌های مشترک ورود به سلول، دارند [۱۱]. وزیکول‌های خارج سلولی بر اساس اندازه به سه گروه آگزوزوم، اجسام مولتی وزیکولی (Multi-MVBs) Vesicular Bodies و اجسام آپاتوتیک طبقه‌بندی می‌شوند، که از میان این گروه‌ها دو گروه اول در انتشار ویروس‌ها نقش دارند. آگزوزوم‌ها کوچک‌ترین ECVs هستند [۱۲]. مطالعات نشان می‌دهند که ویروس پس از ورود به سلول میزبان با استفاده از سیستم اندوزن، MVBs را ایجاد می‌کنند که نوعی وزیکول با قطر ۱۰۰-۳۰۰ نانومتر است. MVBs حاوی تعداد زیادی وزیکول درون‌لومنی (ILVs) Intraluminal Vesicle می‌باشند. MVBs یا درون سلول تخریب می‌شوند یا با غشای پلاسمایی ممزوج شده و ILVs درون خود را رها می‌سازند که به ILVs رها شده، آگزوزوم گفته می‌شود (شکل ۱) [۱۳]. آگزوزوم‌ها توسط بسیاری از سلول‌ها ترشح می‌شوند و عملکرد سلول‌های هدف نزدیک و دور را تحت تاثیر قرار می‌دهند. محتویات آگزوزومی به محل سلول، پاسخ ایمنی میزبان و شرایط فیزیوپاتولوژیک سلولی که از آن منشاء می‌گیرد، وابسته است [۱۴]. آگزوزوم‌ها از سد خونی- مغزی می‌توانند عبور کنند [۱۵]. مطالعات علمی بیانگر آن است که افزایش تعامل سلولی از طریق ارتباط سلول به سلول، یکی از منحصر به فردترین وظایف آگزوزوم‌ها است. علاوه بر آن، دفع پروتئین‌های ناخواسته، انتقال مواد ژنتیکی و تحریک پاسخ ایمنی، برخی دیگر از وظایف شناخته شده برای آگزوزوم‌ها می‌باشند. این موضوع، استفاده از آگزوزوم‌ها به عنوان حامل ارسال دارو به نقاط بسیار حساس از نظر ایمونولوژیک را مطرح می‌کند [۱۶]. آنالیزهای صورت گرفته تایید کردند که آگزوزوم‌ها می‌توانند از طریق افزایش سطح واسطه‌های مسیر پیام‌رسانی ضدالتهابی، شدت آسیب ریه را کاهش دهند. هم‌چنین، آگزوزوم‌ها توانایی تسهیل بازسازی بافت ریه را از طریق انتقال به سلول‌های آلوئولی دارند [۱۷]. وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از پلازما حاوی تعداد زیادی از فاکتورهای رشد هستند و باعث القای فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی داخل سلولی، تغییر واکنش‌پذیری عروقی و القای رگ‌زایی برای ترمیم بافت

میکروسکوپ نوری و رنگ‌آمیزی ایمونولوژیک بافت صورت گرفته است؛ حضور SARS-CoV2 درون وزیکول‌های دولایه در سلول‌های میزبان را نشان داده است [۳۶]. بررسی‌های میکروسکوپ الکترونی، حضور ذرات ویروسی مطابق با کروناویروس SARS-CoV2 در نمونه‌های کالبدشکافی رودی کوچک، نمونه‌ی بیوپسی کولون و انتهای ایلئوم افراد مبتلا را نشان داد؛ که با انجام تست PCR Real time تایید شدند [۳۷]. در مطالعات دیگر هم، حضور ذرات ویروسی در MVBs از نمونه‌های بیماران مبتلا به SARS-CoV MERS-COV و SARS-CoV2 گزارش شده است [۳۸]. وزیکول‌های خارج سلولی بیماران مبتلا به SARS-CoV2 سطوح بالاتری از سایتوکاین‌ها از جمله اعضای خانواده اینترلوکین ۶، MCP1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) و CXCL16 (Chemokine (C-X-C motif) ligand 16)، و پروتازها و پپتیدازها، مانند کاتپسین L1 را حمل می‌کنند. هم‌چنین، وزیکول‌های خارج سلولی بزرگ (LECV) پلاسما‌ی بیماران SARS-CoV2 حاوی فاکتورهای مهم دخیل در تنظیم پیام‌رسانی خانواده‌ی IL-6 هستند. این فاکتورها باعث افزایش بیان سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها و افزایش تخریب بافتی می‌شوند [۳۹]. بیماران COVID-19 شدید، علاوه بر سایتوکاین‌های خانواده‌ی IL-6، حاوی مقادیر زیادی از IL-8 در مقایسه با بیمارانی است که به شکل خفیف دچار بیماری شدند. مطالعات حضور LECVs حاوی IL-18 را در بیماران COVID-19 شدید نشان داده‌اند. قابل ذکر است که سطح IL-8 و IL-18 در خون بیماران COVID-19 افزایش نشان داده است [۴۰]. میزان وزیکول‌های خارج سلولی حاوی Receptor for Advanced Glycation End products (RAGE) و (Extracellular Newly identified Receptor for Advanced Glycation End-products binding protein) EN-RAGE بالینی بیماری COVID-19 افزایش می‌یابد. EN-RAGE به طور قابل توجهی با سن و شدت بیماری مرتبط است. این پروتئین‌ها در فیروز ریه و افزایش عفونت SARS-Cov2 دخیل می‌باشد [۴۱،۴۲]. سطوح بالای از فاکتور بافتی TF (tissue factor)، فعال‌کننده بافتی پلاسمینوژن (t-PA plasminogen activator) و فاکتور فون ویلی براند (von Willebrand factor) در LEVs بیماران با SARS-CoV2 شدید در مقایسه با کنترل‌های سالم یافت شده است. وزیکول‌های خارج سلولی مشتق شده از ماکروفاژها دارای مارکرهای التهابی مانند: سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها و پروتازها هستند، که باعث تخریب دیواره‌ی آلوئولی و هم‌چنین عروق ریوی می‌شوند [۴۳،۴۴]. سطوح افزایش‌یافته‌ی tPA، پروتاز

تمام ویروس‌های دارای RNA و گروهی از کرونا ویروس‌ها، ساختار دولایه‌ی اختصاصی MVBs با قطری در حدود ۳۰۰ نانومتر برای حمایت از تکثیر ژنوم خود در سیتوپلاسم میزبان دارند [۲۳]. حضور MVBs حاوی ویروس توسط میکروسکوپ الکترونی در سطح سلول‌های E6 Vero آلوده به SARS-COV نشان داده شده است [۲۴]. مطالعات متعددی وجود ذرات ویروسی در وزیکول‌های دولایه‌ی نزدیک به غشاء و واکوئل‌های بافت آلوده توسط میکروسکوپ الکترونی و ایمونوبلاتینگ در افراد مبتلا به SARS-CoV2 را نشان داده‌اند [۲۵،۲۶]. ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی اگزوزوم‌ها به طور گسترده توسط تکنیک‌های مولکولی وسترن‌بلات، FACS (Fluorescence Activated Cell Sorting)، immuno-EM (Electron Microscopy) و طیف‌سنج جرمی مورد ارزیابی قرار گرفته است [۲۷].

اغلب ویروس‌های دارای RNA مثبت گرد، از پروتئین‌های غیرساختاری برای هماهنگی عملکردهای جانبی مانند تشکیل وزیکول‌های حمل‌کننده‌ی اجزای ویروسی استفاده می‌کنند. بیان پروتئین‌های غیرساختاری مانند: Nsp3 و Nsp4 Non- (Structural Protein) در عفونت‌های ویروسی SARS-COV و MERS-COV برای تشکیل (Double-Membrane Vesicles) DMVs ضروری است، هر گونه جهش در این ساختارها منجر به تغییر در تشکیل DMVs در ویروس می‌شود [۲۸-۳۰].

Owczarek و همکاران در سال ۲۰۱۸ مشاهده کردند که کروناویروس از طریق مسیر اندوسیتوز وابسته به کاوئولین وارد سلول میزبان می‌شود و اجزای ویروسی توسط وزیکول‌ها از غشای سلول آلوده به بیرون ریخته می‌شود [۳۱]. وجود وزیکول‌هایی دو لایه با منشاء دستگاه گلژی در نزدیکی ویروس‌های کرونا، فرضیه‌ی وجود سیستم اگزوزومی برای انتشار و عود مجدد بیماری SARS-CoV2 را مطرح می‌کند [۳۲]. آزادسازی وزیکول‌های دولایه‌ی حاوی اجزای ویروسی و یا ذرات آزاد ویروسی از سلول‌های آلوده‌شده‌ی اولیه به سیستم گردشی به منظور رسیدن به بافت‌های دور دست، در یافته‌های پاتولوژیک اثبات شده است [۳۳]. مشاهدات انجام شده، می‌تواند انتشار عفونت به سایر اندام‌ها و ایجاد التهاب در اندوتلیوم عروق را اثبات کند [۳۴]. در مطالعات اخیر، نشان داده شده است که اگزوزوم‌های آزاد شده توسط سلول‌های اپیتلیال آلوده به ویروس SARS-CoV2 منجر به افزایش بیان ژن‌های التهابی در کاردیومیوسیت‌ها می‌شوند [۳۵]. بررسی‌های بافت‌شناسی بر روی نمونه‌های کلیوی بیماران مبتلا به SARS-CoV2 پس از مرگ، که با روش‌های میکروسکوپ الکترونی،

SARS-COV تمایل بیش‌تری برای اتصال به ACE2 دارد، که این موضوع دلیلی بر انتشار بیش‌تر SARS-COV2 می‌باشد [۵۱]. آگزوزوم‌های حاوی CD9 و TMRSS2 (Transmembrane protease serine 2) ورود ویروس MERS-COV به سلول‌های ریه را تسهیل می‌کنند. حضور CD9 در شکل‌گیری آگزوزوم و انتقال مواد داخل آگزوزوم به درون سلول هدف نقش دارد [۵۲]. عفونت‌های کرونا ویروسی با افزایش تولید آگزوزوم‌های حاوی آنتی‌ژن‌های مرتبط با ریه، آنتی‌ژن‌های ویروسی و پروتئازوم 20S همراه می‌باشند [۵۳]. این موضوع اهمیت هدف قرار دادن آگزوزوم‌ها در درمان و واکسیناسیون بر علیه ویروس‌های خانواده‌ی کرونا را نشان می‌دهد.

آگزوزوم‌های تروجان. وزیکول‌های خارج سلولی در طی عفونت‌های ویروسی حامل اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، و لیپیدها می‌شوند و به یک حامل مواد ویروسی تبدیل می‌گردند. این امر باعث شد که "فرضیه‌ی آگزوزوم تروجان" پیشنهاد شود که در آن رتروویروس‌ها از وزیکول‌های خارج سلولی برای ورود به سلول‌های میزبان، انتشار ویروسی و فرار از پاسخ ایمنی استفاده می‌کنند [۵۴، ۶]. ویروس‌ها با استفاده از استراتژی اسب تروا (Trojan Horse) ویروس‌ها را در داخل وزیکول‌های خارج سلولی کوچک قرار می‌دهند. به این طریق از سیستم ایمنی میزبان فرار می‌کنند و در نتیجه عفونت را در بدن میزبان گسترش می‌دهند. ویروس HIV اولین ویروسی بود که فرضیه‌ی وزیکول‌های کوچک خارج سلولی تروا برای آن پیشنهاد شد [۵۵]. برای اولین بار نشان داده شد که ژنوم HIV درون آگزوزوم‌ها پیچیده شده و در سلول‌ها باعث افزایش عفونت می‌شود. در واقع این عمل از طریق جذب آنتی‌ژن‌های ویروسی HIV به سلول‌های دندریتیک و عرضه به سلول‌های T نزدیک صورت می‌گیرد [۵۶]. در برخی از مطالعات مطرح شده است که ویروس HIV به طور مستقیم از غشای پلاسمایی جوانه زده و به سیستم اندوزن نیازی ندارد [۵۶]. ویروس‌ها با به کارگیری آگزوزوم‌ها به عنوان یک پوشش محافظ در اطراف خود؛ ترفندی هوشمندانه جهت فرار از سیستم ایمنی و ورود به سلول‌ها، و در نهایت افزایش عفونت ایجاد می‌کنند [۵۷]. ممکن است که استراتژی "اسب تروا" توضیحی احتمالی برای ظهور مجدد RNA ویروسی در بیماران SARS-CoV2 بهبود یافته، ۷-۱۴ روز پس از ترخیص و دلیل عود مجدد بیماری باشد؛ به شکلی که RNA ویروسی با این استراتژی می‌تواند از سیستم ایمنی فرار کند و پنهان بماند، اما قطعیت آن هنوز مشخص نشده است. نگرانی در مورد ابتلای مجدد و عود دوباره بیماری SARS-COV2 پس از بهبودی بیماران وجود دارد [۵۸، ۵۹].

مسئول تبدیل پلاسمینوژن به پلاسمین، قبلاً در بیماران عفونی شده با SARS-CoV1 گزارش شده است. به علاوه، کاهش سطح ADAMTS-13 a disintegrin and (metalloprotease with thrombospondin type 1 motif 13) در وزیکول‌های خارج سلولی به دست آمده از بیماران COVID-19 شدید نسبت به افراد سالم مشاهده شده است [۴۵-۴۷]. سطح رنین پلاسما، هورمونی که مسئول شروع آبشار رنین آنژیوتانسین و تنظیم فشار خون است، در وزیکول‌های خارج سلولی بیماران مبتلا به COVID-19 با علائم شدید نسبت به گروه کنترل سالم افزایش نشان داده است. LEVs حاوی پپتیدازها و پروتئازهای دخیل در بازسازی عروق از جمله کاتپسین L (Cathepsin L)، ماتریکس متالوپروتئیناز (Matrix metalloproteinase) و در بای‌پس قلبی-ریوی (Cardiopulmonary bypass) به وفور مشاهده شده است. در نتیجه، آسیب قلبی که مستقیماً از طریق عفونت ویروسی و یا توسط طوفان سایتوکایینی و یا آپوپتوز ناشی از هیپوکسی ایجاد می‌شود، در ۷٪ از تمام بیماران مبتلا و ۲۲٪ از کسانی که در ICU بستری شده‌اند، دیده شده است [۴۸]. ویروس SARS-COV2 و SARS-COV هر دو جزئی از خانواده‌ی B کروناویروس با همولوژی ۷۹٪ و دارای گیرنده‌ی آنزیم مبدل آنژیوتانسین ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2) برای ورود به سلول‌های هدف هستند. این گیرنده در سلول‌های آلوئولار، میوسیت قلب و اندوتلیال عروق و کلیه به وفور یافت می‌شود. داده‌های میکروسکوپ الکترونی، حاکی از حضور این ویروس‌ها در بافت کلیه به عنوان یکی از ارگان‌های ثانویه‌ی حمله‌ی ویروس است [۳۶]. در مطالعات اخیر، شواهد نشان داده است که آگزوزوم‌ها آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ را به سلول‌های گیرنده انتقال می‌دهند که بیانگر نقش آگزوزوم‌ها در انتشار عفونت ویروسی است. گیرنده‌های ACE2 به وفور در رگ‌های خونی انسان و در ریه‌ها بر روی سلول‌های آلوئولی نوع ۲ (AT2) وجود دارند؛ و به همین علت است که کروناویروس اغلب به سلول‌های ریه حمله می‌کند. وجود MVBS در نمونه‌ی بیوپسی کلیه‌ی ۲۰ بیمار مبتلا به SARS-COV2 با کمک میکروسکوپ الکترونی مشاهده شده است [۴۹]. آگزوزوم‌ها ممکن است از طریق انتقال گیرنده‌های CD9 و ACE2، با تسهیل در اتصال و ورود ویروس به سلول جدید، در انتشار کروناویروس نقش داشته باشند [۵۰]. ACE2 به عنوان گیرنده‌ی ویروس SARS-COV2 محسوب می‌شود. گلیکوپروتئین‌های سطحی ویروس SARS-COV2 دارای تمایل بالایی برای اتصال با ACE2 در سلول میزبان می‌باشند. در مطالعه‌ی انجام شده توسط Wen و همکاران مشخص گردید که گلیکوپروتئین SARS-COV2 نسبت به

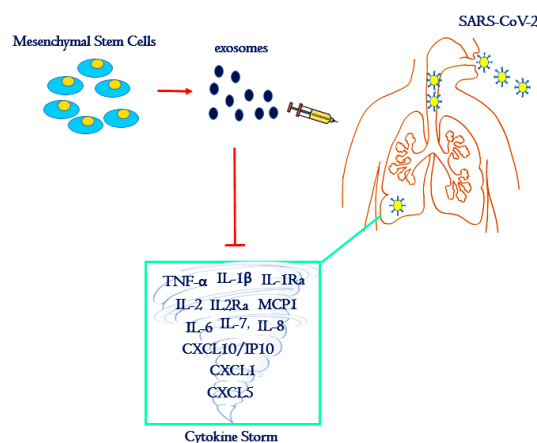
[۶۹]. پژوهش‌ها تایید کرده‌اند که اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC)، miRNAهایی را ترشح می‌کنند که به عنوان یک کمپلکس خاموش‌کننده عمل می‌کند و بیش‌تر بیان گیرنده‌های سلولی را از طریق تغییرات اپی‌ژنتیکی تغییر می‌دهد. این امر به مسدود کردن ورود بسیاری از ویروس‌های RNA دار مانند: آنفولانزا، هپاتیت C و همچنین کروناویروس کمک می‌کند [۷۰، ۷۱]. به نظر می‌رسد استفاده از miRNA در درمان ویروس SARS-CoV2 مفید باشد.

پتانسیل درمانی اگزوزوم‌ها علیه SARS-CoV-2. اگزوزوم‌های تولید شده توسط سلول‌های بنیادی پرتوان توجه بسیاری را به خود جلب کرده‌اند، زیرا تصور می‌شود برای فعالیت‌های MSCs مهم هستند. اگزوزوم‌ها توسط یک لایه چربی احاطه شده‌اند، در نتیجه بسیار پایدار هستند. علاوه بر آن، اگزوزوم‌ها توانایی پایداری در دمای پایین به مدت طولانی را نیز دارند [۷۲]. اگزوزوم‌های مشتق از MSCs، مشابه با سلول‌های بنیادی چندتوان دارای توانایی کم‌تری برای تحریک ایمنی ذاتی می‌باشند. MSCها می‌توانند با بیش‌تر سلول‌های سیستم ایمنی، مانند: سلول‌های B، سلول‌های T، نوتروفیل‌ها، سلول‌های کشنده‌ی طبیعی (NK)، سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها تعامل داشته باشند و در نتیجه پاسخ به پاتوژن‌ها را تعدیل کنند [۷۳]. گیرنده‌ی ACE2 در MSCs وجود ندارد و این سلول‌ها نمی‌توانند توسط ویروس SARS-CoV2 مورد هدف قرار گیرند. بنابراین، MSCها این قابلیت را دارند که به عنوان یک درمان قابل اعتماد برای غلبه بر آسیب‌های ریه مطرح شوند (شکل ۲) [۵۰]. MSCs وزیکول‌های خارج سلولی حاوی miRNA، mRNA، DNA، پروتئین‌ها و دیگر متابولیت‌ها را آزاد می‌کنند، که به طور خاص به سلول‌های ریه میزبان منتقل می‌شوند و در نتیجه بازسازی و ترمیم ساختارها و عملکردهای ریه را افزایش می‌دهند. با چنین خواص شگفت‌انگیزی، MSCs می‌تواند یک درمان امیدوارکننده‌ی SARS-CoV2 باشد. وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از ماکروفاژهای ریوی بسته به زمان جداسازی در طی آسیب ریوی می‌تواند اثرات پیش‌التهابی و ضدالتهابی داشته باشد [۷۴].

مطالعاتی که توسط Ye.G و همکاران انجام شده است حضور RNA ویروسی را ۲۷-۱۰ روز پس از بهبودی در برخی بیماران نشان داده است [۶۰]. در بعضی مبتلایان شواهدی مبنی بر پاک‌سازی RNA ویروسی بین ۵۳ تا حداکثر ۸۳ روز پس از بهبودی مشاهده شده است [۴]. این مشاهدات ممکن است به علت مخفی شدن ذرات ویروسی در اگزوزوم‌ها و وزیکول‌های خارج سلولی باشد.

miRNAهای اگزوزومی. miRNAها زیرگروه بزرگی از RNAهای غیرکدکننده هستند، که توسط اگزوزوم‌ها قابل حمل می‌باشند. در ژنوم چندین خانواده‌ی ویروسی miRNAها بیان می‌شوند، این miRNAها در فرار ویروس از پاسخ ایمنی، تنظیم بیان ژن‌های ویروسی، حمایت از بقای سلول‌های آلوده به ویروس، تغییر پاسخ التهابی میزبان و کمک به حفظ عفونت ویروسی در بدن میزبان نقش دارند [۶۱، ۶۲]. حضور ۲۸-۳۸ miRNA در اگزوزوم‌های جدا شده از انواع بافت‌های ویروسی تایید شده است [۶۳]. اگزوزوم‌های حاوی miRNA در خون، شیر، مایع سینوویال، ادرار و بزاق افراد مبتلا به عفونت ویروسی یافت شده‌اند؛ که محتوا و مقدار آن‌ها بین بافت‌های سالم و ویروسی متفاوت است. اگزوزوم‌ها دارای خاصیت حفاظتی از miRNAها در برابر صدمات RNAase هستند؛ که این موضوع به انتشار miRNAهای ویروسی بین سلول‌ها برای اعمال تغییرات کمک می‌کند [۶۴]. تحقیقات انجام شده حضور اگزوزوم‌های حمل‌کننده‌ی miRNA و پروتئین‌های انکوژنیک ویروسی (LMP1-2) (latent membrane proteins 1 and 2) را در سلول‌های آلوده به ایشترین بار ویروس اثبات کرده‌اند [۶۵]. مطالعات صورت گرفته بر روی اگزوزوم‌های خارج شده از سلول آلوده به ویروس Respiratory Syncytial Virus (RSV) نشان داده است که miRNAهای اگزوزومی می‌توانند در تغییر الگوی ترشح سایتوکاین‌ها و پاسخ ایمنی میزبان موثر باشند [۶۶]. بیان miR-9، miR-98، miR-223، miR-214 توسط سلول‌های آلوده به ویروس SARS-CoV2 باعث تغییر ترشح سایتوکاین‌ها می‌شوند [۶۷]. بیان miR-18 در سلول‌های آلوده به ویروس SARS-CoV2 باعث تنظیم بیان ACE2 و در نتیجه تسهیل ورود ویروس به سلول می‌شود [۶۸]. نتایج بررسی‌ها نشان داده است که miRNAهای ترشح شده توسط اگزوزوم‌ها، جهت تسریع بهبود ریه بسیار مهم هستند. به علاوه Let-7، miR-21، miR-290، miR-200 نقش مهمی در بازسازی ریه، تنظیم ایمنی و تعدیل سیستم ایمنی ایفا می‌کنند. اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی، مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با هیپوکسی را غیرفعال می‌کنند که می‌تواند کاهش فشارخون و التهاب را به ویژه در اختلالات تنفسی تسهیل کند

پروتئین کایمیریک SGTm برای تولید واکسن علیه ویروس SARS-COV2 استفاده شده است [۱۸]. آگروزومها می توانند به عنوان فاکتورهای ایمنوژنیک برای درمان عفونت ویروسی SARS عمل کنند. آگروزومهای حمل کننده پروتئین spike S در عفونت ویروسی SARS، باعث ایجاد تیتر بالایی از آنتی بادی های خنثی کننده ویروس می شوند. همچنین آگروزومهای ترشح شده از کرونا ویروس می توانند در انتقال مستقیم مواد درمانی به سلولهای آلوده که دارای گیرنده اختصاصی ACE2 هستند، مفید باشند. این آگروزومها می توانند دارو و یا تعدیل کننده های بیولوژیکی به منظور مهار انتشار و تکثیر ویروس را به صورت اختصاصی به سلولها آلوده شده برسانند. آگروزومها دارای توانایی تعدیل ایمنی ذاتی و اکتسابی می باشند. مشاهده شده است که آگروزومهای حامل پپتید/کمپلکس MHC II می توانند پاسخ ایمنی را بهبود ببخشند [۷۶]. یکی دیگر از کاربردهای آگروزومها در استفاده از آنها به عنوان ادجوانت در واکسیناسیون علیه عفونت ویروسی می باشد. آلبومین سفیده تخم مرغ (OVL) موجود در آگروزومها می تواند نقش ادجوانت داشته باشد. OVL به همراه آنتی ژنهای درون آگروزوم پاسخ ایمنی اختصاصی هومورال را افزایش می دهد و باعث تقویت پاسخ اختصاصی سلولهای T و سوق دادن پاسخ ایمنی به سمت TH1 می شوند [۷۷]. MSCs-Exo در ۲۴ بیمار با حالت شدید بیماری COVID-19 خاصیت ضد التهابی نشان دادند و ۱۷ بیمار با دریافت آگروزومهای مشتق از MSC مغز استخوان (ExoFloTM) کاملاً بهبود پیدا کردند. این یافته ها نشان می دهند که آگروزومها می توانند به عنوان ابزاری برای درمان بیماری COVID-19 قرار بگیرند [۷۸].



شکل ۲. پتانسیل درمانی آگروزومهای مشتق از MSC در درمان COVID-19. آگروزومهای مشتق از MSC با دارا بودن ویژگی ضد التهابی می توانند در سرکوب طوفان سایتوکاینی موثر باشند.

به علاوه، بررسی پروتئین های حمل شونده توسط آگروزومهای ترشحی از سلولهای آلوده به SARS-CoV2 می تواند به عنوان روشی کارآمد در تشخیص بیماری بشمار آید [۵۰]. اگر چه روش های تشخیصی بر پایه ی Real-Time PCR ممکن است قادر به تمایز بین اسید نوکلئیک ویروس عفونی و غیر عفونی از یکدیگر نباشند ولی مطالعه بر روی محتویات آگروزومی راه مناسبی برای تشخیص ویروس عفونی می باشد چرا که آنالیز آگروزومهای جداسازی شده از خون بیمار می تواند انعکاسی از میزان پاتوژنسیتتهی بیماری باشد [۷۵]. آگروزومهای حاوی پروتئین S ویروس SARS-COV باعث افزایش تیتر آنتی بادی های خنثی کننده ویروس می شوند. همچنین، قرار دادن پروتئین S ویروس SARS-COV به همراه دومین گذرنده از غشای ویروس درون آگروزوم به منظور تولید

جدول ۱. آگروزومهای استخراجی از MSCs در درمان COVID-19 و کاهش التهاب ریه

منابع	اثرات بالینی	مطالعات در ارتباط با آگروزوم و سلولهای بنیادی
[۸۰، ۷۹]	کاهش التهاب ریه و بهبودی بیماران مبتلا به COVID-19	MSCs آگروزوم استخراجی از مغز استخوان
[۸۳-۸۱]	کاهش التهاب، فیبروز، فشارخون ریوی در بیماران مبتلا به COVID-19	آگروزوم استخراجی از MSCs بندناف و مغز استخوان مدل حیوانی موش
[۸۲]	افزایش بیان IL-10 و TGF-1 و در نهایت افزایش عملکرد سلولهای T	آگروزوم استخراج شده از MSCs مغز استخوان
[۸۴]	کاهش سطح سایتوکاینهای التهابی، اتوزینوفیلها، ماست سلها و سلولهای CD ⁸⁺ و CD ²⁰⁶	آگروزومهای استخراج شده از MSCs بافت چربی
[۸۵]	کاهش ترشح بیش از حد سایتوکاینها در ریهها	MSCs - Exo استخراجی از موش
[۸۸-۸۶]	کاهش التهاب در بیماران مبتلا به COVID-19	استخراج شده از چربی
[۸۹]	بهبود عملکرد ریه در بیماران مبتلا به COVID-19	MSCs - Exo استخراج شده از بافت چربی
[۹۰]	افزایش بقای بیماران مبتلا به COVID-19 و روند مثبت در بهبودی	MSCs - Exo انتقال داده شده به بیماران مبتلا به SARS-CoV2
[۹۱]	افزایش میزان CD ¹⁴⁺ CD ^{11c+} CD ^{11bMid} بعد از ۱۴ روز و ایجاد روند مثبت در درمان COVID-19	MSCs-Exo مشتق از بند ناف انسان
[۹۲]	بهبود بیماران مبتلا به COVID-19	EV های مشتق از MSCs

بحث و نتیجه‌گیری

اگزوزوم‌هایی که توسط سلول‌های آلوده شده با SARS-CoV2 تولید می‌شوند حامل RNA ویروس، پروتئین‌های کلیدی ویروسی و پروتئین‌های سلول میزبان هم‌چون ACE که برای ورود ویروس به سلول لازم‌اند هستند و بدین وسیله عفونت را منتشر می‌کنند. با توجه به این ویژگی، اگزوزوم‌ها قابلیت تحریک پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی را دارند و بنابراین می‌توانند کاندیدای واکسن باشند. هم‌چنین اگزوزوم‌ها می‌توانند به عنوان حامل دارو در درمان COVID-19 موثر باشند. پتانسیل اگزوزوم‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزاشیمی به دلیل اثرات ضدالتهابی به عنوان یک گزینه‌ی درمانی نه تنها در COVID-19، بلکه در سایر عفونت‌های ویروسی مطرح هستند. علی‌رغم تلاش‌های صورت گرفته، هم‌چنان درمان قطعی برای COVID-19 وجود ندارد، بنابراین مطالعه اگزوزوم‌ها نه تنها منجر به افزایش آگاهی در خصوص مکانیسم انتشار عفونت ویروسی می‌گردد، بلکه ممکن است راه را برای دستیابی به درمان‌های موثر علیه این همه‌گیری جهانی فراهم‌تر می‌کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله، از نظرات سازنده‌ی جناب آقای عبدالوهاب مشتاقیان در بهبود پیش‌نویس مقاله قدردانی می‌کنند.

مشارکت و نقش نویسندگان

پرویز بصیری و محمد حسن سهیلی فر: ایده و نگارش نسخه اول مقاله، سیما نوبری، امیرحسن نیکفرجام، هدی کشمیری نقاب و شیما قربانی فر: جمع‌آوری داده‌ها، سعید افشار تفسیر نتایج، علی مهدوی نژاد: طراحی مطالعه، بازیابی و ویرایش مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

منابع

[1] Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 2020; 19: 141-154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7> PMID:33024307 PMCid:PMC7537588

[2] Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet (London, England)* 2020; 395: 1033. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)

[3] Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese center for disease control and prevention. *Jama* 2020; 323: 1239-1242. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648> PMID:32091533

[4] Li N, Wang X, Lv T. Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: Not a rare phenomenon. *J Medical Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25952> PMID:32347980 PMCid:PMC7267144

[5] Xiao AT, Tong YM, Zhang S. False-negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: rather than recurrence. *J Med Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25855> PMID:32270882 PMCid:PMC7262304

[6] Badierah RA, Uversky VN, Redwan EM. Dancing with Trojan horses: an interplay between the extracellular vesicles and viruses. *J Biomol Struct Dyn* 2020; 1-27. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1756409> PMID:32351170

[7] Pocsfalvi G, Mammadova R, Juarez AP, Bokka R, Trepiccione F, Capasso G. COVID-19 and Extracellular Vesicles: An Intriguing Interplay. *Kidney Blood Press Res* 2020; 45: 661-670. <https://doi.org/10.1159/000511402> PMID:32957112 PMCid:PMC7573892

[8] Zhang B, Yeo RW, Lai RC, Sim EW, Chin KC, Lim SK. Mesenchymal stromal cell exosome-enhanced regulatory T-cell production through an antigen-presenting cell-mediated pathway. *Cytotherapy* 2018; 20: 687-696. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2018.02.372> PMID:29622483

[9] Statello L, Maugeri M, Garre E, Nawaz M, Wahlgren J, Papadimitriou A, et al. Identification of RNA-binding proteins in exosomes capable of interacting with different types of RNA: RBP-facilitated transport of RNAs into exosomes. *PLoS One* 2018; 13: e0195969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195969> PMID:29689087 PMCid:PMC5918169

[10] Giannesi F, Aiello A, Franchi F, Percario ZA, Affabris E. The role of extracellular vesicles as allies of HIV, HCV and SARS viruses. *Viruses* 2020; 12: 571. <https://doi.org/10.3390/v12050571> PMID:32456011 PMCid:PMC7291340

[11] Cascella M, Rajnik M, Cuomo A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). *Stat Pearls* 2020.

[12] Jabbari N, Karimipour M, Khaksar M, Akbariazar E, Heidarzadeh M, Mojarad B, et al. Tumor-derived extracellular vesicles: insights into bystander effects of exosomes after irradiation. *Lasers Med Sci* 2020; 35: 531-545. <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02880-8> PMID:31529349

[13] Blanchard E, Roingard P. Virus-induced double-membrane vesicles. *Cell Microbiol* 2015; 17: 45-50. <https://doi.org/10.1111/cmi.12372> PMID:25287059 PMCid:PMC5640787

[14] Li CC, Eaton SA, Young PE, Lee M, Shuttleworth R, Humphreys DT, et al. Glioma microvesicles carry selectively packaged coding and non-coding RNAs which alter gene expression in recipient cells. *RNA Biol* 2013; 10: 1333-1344. <https://doi.org/10.4161/rna.25281> PMID:23807490 PMCid:PMC3817155

[15] Yang T, Martin P, Fogarty B, Brown A, Schurman K, Phipps R, et al. Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in Danio rerio. *Pharm Res* 2015; 32: 2003-2014. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1593-y> PMID:25609010 PMCid:PMC4520542

[16] Andaloussi SE, Lakhali S, Mäger I, Wood MJ. Exosomes for targeted siRNA delivery across biological barriers. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65: 391-397. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.08.008> PMID:22921840

[17] Wang M, Yuan Q, Xie L. Mesenchymal stem cell-based immunomodulation: properties and clinical application. *Stem Cells Int* 2018; 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3057624> PMID:30013600 PMCid:PMC6022321

- replication. *mBio* 2017; 8: e01658-01717.
<https://doi.org/10.1128/mBio.01658-17>
 PMID:29162711 PMCID:PMC5698553
- [31] Owczarek K, Szczepanski A, Milewska A, Baster Z, Rajfur Z, Sama M, Pyrc K. Early events during human coronavirus OC43 entry to the cell. *Sci Rep* 2018; 8: 1-12.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25640-0>
 PMID:29740099 PMCID:PMC5940804
- [32] Farkash EA, Wilson AM, Jentzen JM. Ultrastructural evidence for direct renal infection with SARS-CoV-2. *J Am Soc Nephrol* 2020; 31: 1683-1687.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2020040432>
 PMID:32371536 PMCID:PMC7460898
- [33] Mönkemüller K, Fry L, Rickes S. COVID-19, coronavirus, SARS-CoV-2 and the small bowel. *Rev Esp Enferm Dig* 2020; 112: 383-388.
<https://doi.org/10.17235/reed.2020.7137/2020>
 PMID:32343593
- [34] Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *The Lancet* 2020; 395: 1417-1418.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
- [35] Kwon Y, Nukala SB, Srivastava S, Miyamoto H, Ismail NI, Ong SB, et al. Exosomes facilitate transmission of SARS-CoV-2 Genome into human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *BioRxiv* 2020.
- [36] Su H, Yang M, Wan C, Yi LX, Tang F, Zhu HY, et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney Int* 2020; 98: 219-227.
<https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.04.003>
 PMID:32327202 PMCID:PMC7194105
- [37] Leung WK, To KF, Chan PK, Chan HL, Wu AK, Lee N, et al. Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *Gastroenterology* 2003; 125: 1011-1017.
<https://doi.org/10.1016/j.gastro.2003.08.001>
[https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01215-0](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01215-0)
- [38] Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>
 PMID:31978945 PMCID:PMC7092803
- [39] West NR. Coordination of immune-stroma crosstalk by IL-6 family cytokines. *Front Immunol* 2019; 10: 1093-1093.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01093>
 PMID:31156640 PMCID:PMC6529849
- [40] Lee JS, Park S, Jeong HW, Ahn JY, Choi SJ, Lee H, et al. Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe COVID-19. *Sci Immunol* 2020; 5.
<https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd1554>
 PMID:32651212 PMCID:PMC7402635
- [41] Arunachalam PS, Wimmers F, Mok CK, Perera RA, Scott M, Hagan T, et al. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science* 2020; 369: 1210-1220.
<https://doi.org/10.1126/science.abc6261>
 PMID:32788292 PMCID:PMC7665312
- [42] Oczypok EA, Perkins TN, Oury TD. All the "RAGE" in lung disease: The receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is a major mediator of pulmonary inflammatory responses. *Paediatr Respir Rev* 2017; 23: 40-49.
<https://doi.org/10.1016/j.prrv.2017.03.012>
 PMID:28416135 PMCID:PMC5509466
- [43] Li CJ, Liu Y, Chen Y, Yu D, Williams KJ, Liu ML. Novel proteolytic microvesicles released from human macrophages after exposure to tobacco smoke. *Am J Pathol* 2013; 182: 1552-1562.
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.01.035>
 PMID:23499464 PMCID:PMC3644720
- [18] Kuate S, Cinatl J, Doerr HW, Überla K. Exosomal vaccines containing the S protein of the SARS coronavirus induce high levels of neutralizing antibodies. *Virology* 2007; 362: 26-37.
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.12.011>
 PMID:17258782 PMCID:PMC7103344
- [19] Huang-Doran I, Zhang CY, Vidal-Puig A. Vidal-Puig, Extracellular vesicles: novel mediators of cell communication in metabolic disease. *Trends Endocrinol Metab* 2017; 28: 3-18.
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.10.003>
 PMID:27810172
- [20] Liu C, Su C. Design strategies and application progress of therapeutic exosomes. *Theranostics* 2019; 9: 1015-1028.
<https://doi.org/10.7150/thno.30853>
 PMID:30867813 PMCID:PMC6401399
- [21] Mack M, Kleinschmidt A, Brühl H, Klier C, Nelson PJ, Cihak J, et al. Transfer of the chemokine receptor CCR5 between cells by membrane-derived microparticles: a mechanism for cellular human immunodeficiency virus 1 infection. *Nat Med* 2000; 6: 769-775.
<https://doi.org/10.1038/77498>
 PMID:10888925
- [22] Meckes DG. Exosomal communication goes viral. *J Virol* 2015; 89: 5200-5203.
<https://doi.org/10.1128/JVI.02470-14>
 PMID:25740980 PMCID:PMC4442506
- [23] Knoops K, Bárcena M, Limpens RW, Koster AJ, Mommaas AM, Snijder EJ. Ultrastructural characterization of arterivirus replication structures: reshaping the endoplasmic reticulum to accommodate viral RNA synthesis. *J Virol* 2012; 86: 2474-2487.
<https://doi.org/10.1128/JVI.06677-11>
 PMID:22190716 PMCID:PMC3302280
- [24] Snijder EJ, Van Der Meer Y, Zevenhoven-Dobbe J, Onderwater JJ, Van Der Meulen J, Koerten HK, Mommaas AM. Ultrastructure and origin of membrane vesicles associated with the severe acute respiratory syndrome coronavirus replication complex. *J Virol* 2006; 80: 5927-5940.
<https://doi.org/10.1128/JVI.02501-05>
 PMID:16731931 PMCID:PMC1472606
- [25] Zeng Z, Xu L, Xie XY, Yan HL, Xie BJ, Xu WZ, et al. Pulmonary pathology of early-phase COVID-19 pneumonia in a patient with a benign lung lesion. *Histopathology* 2020; 77: 823-831.
<https://doi.org/10.1111/his.14138>
 PMID:32374419 PMCID:PMC7267508
- [26] Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, Rossi RS, Pellegrinelli A, Zerbi P, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2020; 20: 1135-1140.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30434-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30434-5)
- [27] Schorey JS, Cheng Y, Singh PP, Smith VL. Exosomes and other extracellular vesicles in host-pathogen interactions. *EMBO Rep* 2015; 16: 24-43.
<https://doi.org/10.15252/embr.201439363>
 PMID:25488940 PMCID:PMC4304727
- [28] Moriel-Carretero M. The hypothetical role of Phosphatidic Acid in subverting ER membranes during SARS-CoV infection. *Traffic* 2020; 21: 545-551.
<https://doi.org/10.1111/tra.12738>
 PMID:32424954 PMCID:PMC7276787
- [29] Elrashdy F, Aljaddawi AA, Redwan EM, Uversky VN. On the potential role of exosomes in the COVID-19 reinfection/reactivation opportunity. *J Biomol Struct Dyn* 2020; 1-12.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1790426>
 PMID:32643586 PMCID:PMC7441802
- [30] Oudshoorn D, Rijs K, Limpens RW, Groen K, Koster AJ, Snijder EJ, et al. Expression and cleavage of middle east respiratory syndrome coronavirus nsp3-4 polyprotein induce the formation of double-membrane vesicles that mimic those associated with coronaviral RNA

- [58] Yuan J, Kou S, Liang Y, Zeng J, Pan Y, Liu L. PCR assays turned positive in 25 discharged COVID-19 patients. *Clin Infect Dis* 2020.
- [59] Elrashdy F, Aljaddawi AA, Redwan EM, Uversky VN. On the potential role of exosomes in the COVID-19 reinfection/reactivation opportunity. *J Biomol Struct Dyn* 2021; 39: 5831-5842.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1790426>
PMid:32643586 PMCid:PMC7441802
- [60] Ye G, Pan Z, Pan Y, Deng Q, Chen L, Li J, et al. Clinical characteristics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reactivation. *J Infect* 2020; 80: e14-e17.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.001>
PMid:32171867 PMCid:PMC7102560
- [61] Naqvi AR, Shango J, Seal A, Shukla D, Nares S. Viral miRNAs alter host cell miRNA profiles and modulate innate immune responses. *Front Immunol* 2018; 9: 433.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00433>
PMid:29559974 PMCid:PMC5845630
- [62] Guterres A, de Azeredo Lima CH, Miranda RL, Gadelha MR. What is the potential function of microRNAs as biomarkers and therapeutic targets in COVID-19? *Infect Genet Evol* 2020; 85: 104417.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104417>
PMid:32526370 PMCid:PMC7833518
- [63] Chahar HS, Bao X, Casola A. Exosomes and their role in the life cycle and pathogenesis of RNA viruses. *Viruses* 2015; 7: 3204-3225.
<https://doi.org/10.3390/v7062770>
PMid:26102580 PMCid:PMC4488737
- [64] Nahand JS, Mahjoubin-Tehran M, Moghoofei M, Pourhanifteh MH, Mirzaei HR, Asemi Z, et al. Exosomal miRNAs: Novel players in viral infection. *Epigenomics* 2020; 12: 353-370.
<https://doi.org/10.2217/epi-2019-0192>
PMid:32093516 PMCid:PMC7713899
- [65] Meckes DG Jr, Shair KH, Marquitz AR, Kung CP, Edwards RH, Raab-Traub N. Human tumor virus utilizes exosomes for intercellular communication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 20370-20375.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1014194107>
PMid:21059916 PMCid:PMC2996715
- [66] Chahar HS, Corsello T, Kudlicki AS, Komaravelli N, Casola A. Respiratory syncytial virus infection changes cargo composition of exosome released from airway epithelial cells. *Sci Rep* 2018; 8: 1-18.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-18672-5>
PMid:29321591 PMCid:PMC5762922
- [67] Soheilifar MH, Keshmiri Neghab H, Basiri P. Biological impacts of MicroRNAs in Covid-19: implications for anti-viral miRNA-Based therapies. *Arch Clin Infect Dis* 2020; 15: e104140.
<https://doi.org/10.5812/archcid.104140>
- [68] Widiasta A, Sribudiani Y, Nugrahapraja H, Hilmento D, Sekarwana N, Rachmadi D. Potential role of ACE2-related microRNAs in COVID-19-associated nephropathy. *Noncoding RNA Res* 2020; 5: 153-166.
<https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2020.09.001>
PMid:32923747 PMCid:PMC7480227
- [69] Li Y, Yin Z, Fan J, Zhang S, Yang W. The roles of exosomal miRNAs and lncRNAs in lung diseases. *Signal Transduct Target Ther* 2019; 4: 1-12.
<https://doi.org/10.1038/s41392-019-0080-7>
PMid:31728212 PMCid:PMC6851157
- [70] Qian X, Xu C, Fang S, Zhao P, Wang Y, Liu H, et al. Exosomal microRNAs derived from umbilical mesenchymal stem cells inhibit hepatitis C virus infection. *Stem Cells Transl Med* 2016; 5: 1190-1203.
<https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0348>
PMid:27496568 PMCid:PMC4996444
- [71] Khatri M, Richardson LA, Meulia T. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate influenza virus-induced acute lung injury in a pig model. *Stem Cell Res Ther* 2018; 9: 1-13.
- [44] Sharma H, Chinnappan M, Agarwal S, Dalvi P, Gunewardena S, O'Brien-Ladner A, Dhillion NK. Macrophage-derived extracellular vesicles mediate smooth muscle hyperplasia: role of altered miRNA cargo in response to HIV infection and substance abuse. *FASEB J* 2018; 32: 5174-5185.
<https://doi.org/10.1096/fj.201701558R>
PMid:29672222 PMCid:PMC6103174
- [45] Levi M, Thachil J, Iba T, Levy JH. Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19. *Lancet Haematol* 2020; 7: e438.
[https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(20\)30145-9](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(20)30145-9)
- [46] Escher R, Breakey N, Lämmle B. Severe COVID-19 infection associated with endothelial activation. *Thromb Res* 2020; 190: 62.
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.04.014>
PMid:32305740 PMCid:PMC7156948
- [47] Iba T, Levy JH, Levi M, Thachil J. Coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 2103-2109.
<https://doi.org/10.1111/jth.14975>
PMid:32558075 PMCid:PMC7323352
- [48] Clerkin KJ, Fried JA, Raikhelkar J, Sayer G, Griffin JM, Masoumi A, et al. COVID-19 and cardiovascular disease. *Circulation* 2020; 141: 1648-1655.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046941>
PMid:32200663
- [49] Kissling S, Rotman S, Gerber C, Halfon M, Lamoth F, Comte D, et al. Collapsing glomerulopathy in a COVID-19 patient. *Kidney Int* 2020; 98: 228-231.
<https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.04.006>
PMid:32471639 PMCid:PMC7156952
- [50] Hassanpour M, Rezaei J, Nouri M, Panahi Y. The role of extracellular vesicles in COVID-19 virus infection. *Infect Genet Evol* 2020; 104422.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104422>
PMid:32544615 PMCid:PMC7293471
- [51] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Krüger N, Müller M, Drosten C, Pöhlmann S. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. *BioRxiv* 2020.
<https://doi.org/10.1101/2020.01.31.929042>
- [52] Earnest JT, Hantak MP, Li K, McCray Jr PB, Perlman S, Gallagher T. The tetraspanin CD9 facilitates MERS-coronavirus entry by scaffolding host cell receptors and proteases. *PLoS Pathog* 2017; 13: e1006546.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006546>
PMid:28759649 PMCid:PMC5552337
- [53] Gunasekaran M, Bansal S, Ravichandran R, Sharma M, Perincheri S, Rodriguez F, et al. Respiratory viral infection in lung transplantation induces exosomes that trigger chronic rejection. *J Heart Lung Transplant* 2020; 39: 379-388.
<https://doi.org/10.1016/j.healun.2019.12.009>
PMid:32033844 PMCid:PMC7102671
- [54] Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect* 2020; 10.
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022>
PMid:32265180 PMCid:PMC7138183
- [55] Badierah RA, Uversky VN, Redwan EM. Dancing with Trojan horses: an interplay between the extracellular vesicles and viruses. *J Biomol Struct Dyn* 2021; 39: 3034-3060.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1756409>
PMid:32351170
- [56] Wiley RD, Gummuluru S. Immature dendritic cell-derived exosomes can mediate HIV-1 trans infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 738-743.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0507995103>
PMid:16407131 PMCid:PMC1334656
- [57] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science* 2020; 367.
<https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
PMid:32029601 PMCid:PMC7717626

- [82] Pocsfalvi G, Mammadova R, Juarez AP, Bokka R, Trepiccione F, Capasso G. COVID-19 and Extracellular Vesicles: An Intriguing Interplay. *Kidney Blood Press Res* 2020; 1-10.
<https://doi.org/10.1159/000511402>
PMid:32957112 PMCID:PMC7573892
- [83] Yahaya BH. ID2008 Aerosol-based cell delivery as an innovative treatment for lung diseases. *Biomed Res Ther* 2017; 4: S41-S41.
<https://doi.org/10.15419/bmrat.v4iS.251>
- [84] Cho BS, Kim JO, Ha DH, Yi YW. Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis. *Stem Cell Res Ther* 2018; 9: 187.
<https://doi.org/10.1186/s13287-018-0939-5>
PMid:29996938 PMCID:PMC6042362
- [85] Choudhery MS, Harris DT. Stem cell therapy for COVID-19: Possibilities and challenges. *Cell Biol Int* 2020; 44: 2182-2191.
<https://doi.org/10.1002/cbin.11440>
PMid:32767687 PMCID:PMC7436138
- [86] Li Y, Xu J, Shi W, Chen C, Shao Y, Zhu L, et al. Mesenchymal stromal cell treatment prevents H9N2 avian influenza virus-induced acute lung injury in mice. *Stem Cell Res Ther* 2016; 7: 159.
<https://doi.org/10.1186/s13287-016-0395-z>
PMid:27793190 PMCID:PMC5084318
- [87] Du YM, Zhuansun YX, Chen R, Lin L, Lin Y, Li JG. Mesenchymal stem cell exosomes promote immunosuppression of regulatory T cells in asthma. *Exp Cell Res* 2018; 363: 114-120.
<https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2017.12.021>
PMid:29277503
- [88] Maas SLN, Breakefield XO, Weaver AM. Extracellular vesicles: unique intercellular delivery vehicles. *Trends Cell Biol* 2017; 27: 172-188.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.11.003>
PMid:27979573 PMCID:PMC5318253
- [89] Zheng G, Huang L, Tong H, Shu Q, Hu Y, Ge M, et al. Treatment of acute respiratory distress syndrome with allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a randomized, placebo-controlled pilot study. *Respir Res* 2014; 15: 39.
<https://doi.org/10.1186/1465-9921-15-39>
PMid:24708472 PMCID:PMC3994204
- [90] Nile SH, Nile A, Qiu J, Li L, Jia X, Kai G. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine Growth Factor Rev* 2020; 53: 66-70.
<https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.05.002>
PMid:32418715 PMCID:PMC7204669
- [91] Leng Z, Zhu R, Hou W, Feng Y, Yang Y, Han Q, et al. Transplantation of ACE2-mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging Dis* 2020; 11: 216.
<https://doi.org/10.14336/AD.2020.0228>
PMid:32257537 PMCID:PMC7069465
- [92] Yin G, Zhang C, Jin H. Current status on clinical trials and treatments for COVID-19.
<https://doi.org/10.1186/s13287-018-0774-8>
PMid:29378639 PMCID:PMC5789598
- [72] Tsuchiya A, Takeuchi S, Iwasawa T, Kumagai M, Sato T, Motegi S, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells and their exosomes in severe novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases. *Inflamm Regen* 2020; 40: 1-6.
<https://doi.org/10.1186/s41232-020-00121-y>
PMid:32582401 PMCID:PMC7306412
- [73] Börger V, Weiss DJ, Anderson JD, Borràs FE, Bussolati B, Carter DR, et al. International Society for Extracellular Vesicles and International Society for Cell and Gene Therapy statement on extracellular vesicles from mesenchymal stromal cells and other cells: considerations for potential therapeutic agents to suppress coronavirus disease-19. *Cytotherapy* 2020; 22: 482-485.
<https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.05.002>
PMid:32425691 PMCID:PMC7229942
- [74] Soni S, Wilson MR, O'Dea KP, Yoshida M, Katbeh U, Woods SJ, Takata M. Alveolar macrophage-derived microvesicles mediate acute lung injury. *Thorax* 2016; 71: 1020-1029.
<https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-208032>
PMid:27287089 PMCID:PMC5099194
- [75] Jones LB, Bell CR, Bibb KE, Gu L, Coats MT, Matthews QL. Pathogens and their effect on exosome biogenesis and composition. *Biomedicines* 2018; 6: 79.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines6030079>
PMid:30041409 PMCID:PMC6164629
- [76] Shenoda BB, Ajit SK. Modulation of immune responses by exosomes derived from antigen-presenting cells. *Clin Med Insights Pathol* 2016; 9: S39925.
<https://doi.org/10.4137/CPath.S39925>
PMid:27660518 PMCID:PMC5024790
- [77] Qazi KR, Gehrman U, Domange Jordö E, Karlsson MC, Gabrielsson S. Antigen-loaded exosomes alone induce Th1-type memory through a B cell-dependent mechanism. *Blood* 2009; 113: 2673-2683.
<https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-153536>
PMid:19176319
- [78] Sengupta V, Sengupta S, Lazo A, Woods P, Nolan A, Bremer N. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells as treatment for severe COVID-19. *Stem Cells Dev* 2020; 29: 747-754.
<https://doi.org/10.1089/scd.2020.0095>
<https://doi.org/10.1089/scd.2020.0080>
PMid:32380908 PMCID:PMC7310206
- [79] Alzahrani FA, Saadeldin IM, Ahmad A, Kumar D, Azhar EI, Siddiqui AJ, et al. The potential use of mesenchymal stem cells and their derived exosomes as immunomodulatory agents for COVID-19 patients. *Stem Cells Int* 2020; 2020.
<https://doi.org/10.1155/2020/8835986>
PMid:33014070 PMCID:PMC7512102
- [80] Ma ZJ, Yang JJ, Lu YB, Liu ZY, Wang XX. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: Toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *World J Stem Cells* 2020; 12: 814.
<https://doi.org/10.4252/wjsc.v12.i8.814>
PMid:32952861 PMCID:PMC7477653
- [81] Cruz FF, Rocco PR. Stem-cell extracellular vesicles and lung repair. *Stem Cell Investig* 2017; 4.
<https://doi.org/10.21037/sci.2017.09.02>
PMid:29057250 PMCID:PMC5639023

Significance of exosomes in COVID-19 pathogenesis and therapy

Parviz Basiri (M.Sc)¹, Mohammad Hasan Soheilifar (Ph.D)², Sima Nobari (M.Sc)¹, Amir Hasan Nikfarjam (M.Sc)³, Hoda Keshmiri Neghab (Ph.D)⁴, Saeid Afshar (Ph.D)¹, Shima Ghorbanifar (M.Sc)², Ali Mahdavinzhad (M.D, Ph.D)^{*1}

1 - Research Center for Molecular Medicine, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

2 - Dept. of Medical Laser, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran

3- Dept. of Laboratory sciences, Kashan branch, Islamic Azad University, Kashan, Iran

4- Dept. of Photo Healing and Regeneration, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 813 838 0572 alimahdavin@gmail.com

Received: 6 Jan 2021; Accepted: 18 May 2021

Exosomes are lipid bilayer-enclosed nano-sized vesicles, which carry various biomolecules including proteins, lipids, and microRNAs. SARS-CoV-2-loaded exosomes can be entered into the susceptible host cells, and transported viral components which are associated with viral particles intercellular transmission and spread of infection. Overstimulation of the immune system followed by excessive proinflammatory cytokine production is a hallmark of COVID-19. Mesenchymal stem cell-derived exosomes are a potential therapeutic option in COVID-19 due to their ability to decrease cytokine storm, improve tissue regeneration, and prevent multi-organs failure. Unraveling the exact role of exosomes underlying COVID-19 infection will be beneficial in understanding novel aspects of COVID-19 pathogenesis and therapy. This study aimed to investigate the importance of exosomes in COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2, Exosome, COVID-19, Therapy